



**HAL**  
open science

# **Approche écologique, épidémiologique et génétique de la biodiversité de *Toxoplasma gondii* en zone tropicale humide : exemples du Gabon et de la Guyane Française**

Aurélien Mercier

## **► To cite this version:**

Aurélien Mercier. Approche écologique, épidémiologique et génétique de la biodiversité de *Toxoplasma gondii* en zone tropicale humide : exemples du Gabon et de la Guyane Française. Santé publique et épidémiologie. Ecole Doctorale n°523 Gay Lussac "Sciences pour l'Environnement", 2010. Français. ⟨NNT : 2010LIMO310K⟩. ⟨tel-01288750⟩

**HAL Id: tel-01288750**

**<https://unilim.hal.science/tel-01288750v1>**

Submitted on 15 Mar 2016

**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.



HAL Authorization

# UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE ED 523 Sciences pour l'Environnement

Gay Lussac

Faculté de Médecine

Equipe Accueil EA3174

Neuroépidémiologie Tropicale et Comparée

Année : 2010

Thèse N° [   ]

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Biologie Science Santé

Spécialité : Ecologie-Parasitologie

Présentée et soutenue publiquement par

**Aurélien Mercier**

le 23 novembre 2010

**Approche écologique, épidémiologique et génétique de la biodiversité de *Toxoplasma gondii* en zone tropicale humide : exemples du Gabon et de la Guyane Française**

**Directeur de thèse : Pr. Marie-Laure Dardé**

**JURY :**

Pr. Isabelle Villena (Université de Reims)

Pr. Renaud Piarroux (Université de la Méditerranée, Marseille)

Pr. Emmanuelle Gilot (Université de Lyon I)

Dr. Sébastien Devillard (Université de Lyon I)

Dr. Daniel Ajzenberg (Université de Limoges)

Pr Marie-Laure Dardé (Université de Limoges)

Examineur

Rapporteur

Rapporteur

Invité

Invité

Directeur



# Remerciements

**Je remercie sincèrement les personnes qui ont encadré et évalué ce travail.**

J'adresse toute ma reconnaissance à mon directeur de thèse, le Pr. Marie-Laure Dardé pour m'avoir donné la chance d'effectuer un travail passionnant et permis de vivre des aventures uniques au fin fond de l'Afrique équatoriale ou de l'Amazonie. Je la remercie également de m'avoir guidé et formé sur un sujet qui au départ ne m'était pas si familier, pour m'avoir toujours laissé une précieuse indépendance dans mes prises d'initiatives (parfois farfelues), mes mouvements parfois malencontreux comme au Gabon et mes réflexions. Je ne saurais oublier sa disponibilité constante, sa patience et son aide durant ces quatre années.

Je tiens vivement à remercier Daniel Ajzenberg, pour avoir entrepris de me transmettre son expérience de la biologie moléculaire du toxoplasme, pour son enthousiasme à tout point de vue, ses conseils toujours pertinents et son souci du détail qui m'auront été précieux pour la réalisation de mes travaux.

Un grand merci à Aurélien Dumètre avec qui j'ai eu la chance de travailler au tout début de ma thèse et qui m'a initié aux différentes techniques d'études et d'analyses du toxoplasme, sans oublier ses précieux conseils. Qu'il soit assuré de ma considération et de mon amitié.

J'adresse tous mes remerciements à mes rapporteurs, les Prs. Emmanuelle Gilot et Renaud Piarroux pour avoir pris le temps d'évaluer ce travail et d'avoir apporté à celui-ci leurs points de vue et esprits critiques.

Je remercie vivement le Pr. Isabelle Villena d'avoir accepté de juger ce travail, ainsi que le Dr. Sébastien Devillard en tant que membre du jury mais aussi collaborateur pour de nombreux travaux. J'espère voir se poursuivre cette collaboration initiée entre les laboratoires de Lyon et de Limoges concernant l'étude de la structure génétique des populations de *T. gondii* à différentes échelles.

Je tiens à remercier le Pr. Pierre-Marie Preux pour son accueil dans l'EA 3174. Je remercie également le Pr. Dumas pour sa gentillesse et ses conseils de terrain toujours utiles, sans oublier son rôle dans ma mésaventure gabonaise. Je tiens à remercier l'ensemble du personnel de l'Institut d'Epidémiologie et de Neurologie Tropicale de Limoges ainsi que l'équipe de l'Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistiques du CHU de Limoges. Je remercie le Pr. Dreyfuss pour son accueil au sein du laboratoire de parasitologie de la faculté de pharmacie.

Ce travail a nécessité avant tout l'échantillonnage de souches de toxoplasme en zones tropicales (Gabon et Guyane Française). Je voudrais sur ce point remercier toutes les équipes scientifiques du Centre International de Recherche Médicale de Franceville au Gabon, de l'EA 3593 d'Épidémiologie des Parasitoses Tropicales de Cayenne et de l'Institut Pasteur de la Guyane. J'ai une pensée toute particulière pour le directeur du CIRMF en poste en 2007, le Pr. Philippe Blot, qui a porté un très grand intérêt à ce travail et mis à disposition tous les moyens nécessaires à sa bonne réalisation au Gabon. Je voudrais y associer le Dr. Barthélemy Ngoubangoye avec qui j'ai partagé de nombreux moments inoubliables sur le terrain, sans oublier l'actuel directeur du CIRMF, le Pr. Jean-Paul Gonzalez. Je tiens aussi à remercier les Prs. Bernard Carne et André Spiegel respectivement responsable de l'EA 3593 et directeur de l'Institut Pasteur de la Guyane pour avoir permis la réalisation des travaux en Guyane Française.

**Je remercie la Région Limousin, l'université de Limoges, et l'équipe accueil 3174 Neurologie tropicale et comparée (Limoges) pour leur soutien financier, qui m'a permis de me consacrer entièrement à la recherche durant ces trois années.**

**Je remercie également tous ceux que j'ai pu côtoyer, de près ou de loin, et qui ont contribué à la motivation ou la réflexion dans mon travail, ou simplement à rendre ces quelques années passionnantes et agréables.**

Merci à Virginie Roy, Anne-Laure Bañuls, Patrick Durand, Dominique Aubert et Jeanne Cook-Moreau qui ont été d'une aide précieuse dans nos différentes collaborations et au moment de la relecture de mes travaux. Je les remercie pour leur aide, leurs conseils, et les discussions qui ont suivi.

Je remercie également Henri Bonnabau pour sa collaboration aux travaux de statistiques qui nous aura emmenés dans des réflexions parfois extrêmes. J'adresse aussi toute ma reconnaissance à Farid Boumediene qui a su m'ouvrir les portes du monde des systèmes d'informations géographiques sans oublier Philippe Vignoles.

Je remercie le personnel des laboratoires de Parasitologie-Mycologie du CHU et de la faculté de médecine de Limoges qui m'a toujours accueilli avec beaucoup de gentillesse, malgré la pagaille que je pouvais répandre sur leurs paillasses, plus particulièrement Murielle Mathias, Martine Gatet et Roselyne Mouzet. Elles ont su me prodiguer aide et conseils.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon collègue de bureau le Dr. Bertrand Courtioux qui m'a accompagné et supporté durant ces années. Je ne saurais comment le remercier pour son soutien et ses conseils, mais aussi pour sa disponibilité et son aide précieuse à l'extérieur du travail.

Un grand merci à l'équipe du laboratoire Biotech de la faculté des Sciences de Limoges qui m'a accueilli et soutenu l'année passée lors de mes enseignements d'ATER, avec une pensée particulière à Agnès Germot, Anne Blondeau da Silva, Daniel Petit, Gaëlle Saladin et Fabrice Dupuy.

Je remercie les amis et comparses de thèse avec qui j'ai partagé ces dernières années : Florentina, Mayotte, Félicité, Laurent, Clémence, Tu Luong, Susana et tout le 4<sup>ème</sup> étage de la faculté de médecine sans oublier les autres.

**Enfin, il y a les proches, ceux qui nous voient de l'extérieur et ne comprennent pas toujours très bien ce que l'on fait, ni pourquoi.**

Je remercie mes parents et mes trois frères, Pierre, Rémi et Victor ainsi que la famille de Clémence, pour leur soutien, leur aide sans faille et leurs encouragements.

Un grand merci à mes ami(e)s, particulièrement à Jo Kerson, Pattie, Blandine, Vincent, Solène, Chloé et Ronan, pour m'avoir encouragé et pour leur indulgence face à la désociabilisation qu'implique parfois la thèse.

Enfin je ne pourrais jamais assez remercier Clémence et mon petit Arthur qui m'ont toujours aidé, soutenu dans les bons et les mauvais moments de la thèse et plus. Je n'oublierai pas les concessions qu'ils ont faites allant jusqu'à m'accompagner pendant mes six mois de terrain en Guyane Française.

*à Clémence et Arthur*



# Sommaire

<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>13</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>15</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b>	<b>17</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	<b>19</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>21</b>
<b>CHAPITRE 1 Généralités et spécificités de <i>Toxoplasma gondii</i> en milieu tropical humide</b>	<b>25</b>
I. DESCRIPTION DU PARASITE	26
II. CYCLE EVOLUTIF ET TRANSMISSION	26
II. 1. Description des cycles	26
II. 2. Stades parasitaires, résistance et transmission	29
III. EPIDEMIOLOGIE EN ZONE TROPICALE HUMIDE	32
III. 1. Description du milieu : climat, environnement et populations	32
III. 1. 1. Délimitation de la zone tropicale humide	32
III. 1. 2. Caractéristiques générales des zones climatiques des tropiques humides	33
III. 1. 3. Caractéristiques générales des populations humaines de ces zones	35
III. 2. Spécificités de la transmission en milieu tropical humide	36
III. 2. 1. Circulation dans l'environnement et chez les hôtes animaux	36
III. 2. 2. Transmission à l'homme et séroprévalence	41
III. 3. Diversité génétique de <i>Toxoplasma gondii</i>	49
III. 3. 1. Outils d'analyses	49
III. 3. 2. Structure de la population de toxoplasmes	50
III. 4. Corrélation entre génotype et pathogénicité expérimentale	57
IV. ASPECTS CLINIQUES DE LA TOXOPLASMOSE HUMAINE EN ZONE TROPICALE HUMIDE	58
V. CONCLUSION ET OBJECTIFS	60

## **CHAPITRE 2 Séroépidémiologie animale et humaine de la toxoplasmose au Gabon (Afrique équatoriale) 63**

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA SEROPREVALENCE DE LA TOXOPLASMOSE EN AFRIQUE	64
II. PRESENTATION GENERALE DU GABON	67
II. 1. Géographie	67
II. 2. Population	69
II. 3. Climat	69
III. ÉTUDE DE SEROEPIDEMIOLOGIE DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i> EN MILIEU URBAIN (LIBREVILLE) ET EN MILIEU RURAL (VILLAGE DE DIENGA) AU GABON	70
III. 1. Méthodes	70
III. 1. 1. Sites d'études	70
III. 1. 2. Prélèvements	74
III. 1. 3. Sérologie	77
III. 1. 4. Analyses des données	78
III. 2. Résultats	80
III. 2. 1. Étude de prévalence globale	80
III. 2. 2. Étude spatiale de la séroprévalence à Dienga	85
III. 3. Discussion	94
III. 3. 1. Prévalence animale	94
III. 3. 2. Prévalence humaine à Dienga	99
III. 3. 3. Analyse spatiale de la prévalence animale et humaine à Dienga	103
IV. CONCLUSION GENERALE	108

## **CHAPITRE 3 Epidémiologie moléculaire de *Toxoplasma gondii* au Gabon et en Guyane Française 109**

I. INTRODUCTION	110
II. ÉTUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DE LA STRUCTURE DES POPULATIONS DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i> AU GABON	112
II. 1. Principaux résultats de l'article 1	115
III. 2. Résultats annexes non présentés dans l'article 1	146

III. ÉTUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DE LA STRUCTURE DES POPULATIONS DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i> A TRAVERS SES CYCLES DOMESTIQUES ET SAUVAGES EN GUYANE FRANÇAISE	153
III. 1. Présentation générale de la Guyane Française	153
III. 1. 1. Géographie	153
III. 1. 2. Population	155
III. 1. 3. Climat	156
III. 2. Étude	156
III. 2. 1. Principaux résultats de l'article 2	181
III. 2. 2. Résultats annexes non présentés dans l'article 2	182
<b>CHAPITRE 4 Discussion générale, perspectives et conclusion</b>	<b>191</b>
<b>PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS PERSONNELLES</b>	<b>203</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>208</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>243</b>



# Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Cycle évolutif de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	28
<b>Figure 2</b> : Les zones tropicales humides dans le monde .....	33
<b>Figure 3</b> : Distribution des richesses spécifiques des oiseaux et des mammifères à travers le monde .....	38
<b>Figure 4</b> : Distribution mondiale de la séroprévalence de <i>T. gondii</i> chez les femmes enceintes ou en âge de procréer .....	45
<b>Figure 5</b> : Répartition géographique par pays de la séroprévalence de la toxoplasmose humaine .....	64
<b>Figure 6</b> : Principaux résultats en chiffre de la recherche bibliographique et de la sélection des articles .....	65
<b>Figure 7</b> : Carte géographique du Gabon indiquant les lieux de prospection pour l'ensemble des études .....	67
<b>Figure 8</b> : Carte de l'empreinte de l'homme sur l'environnement dans l'extrémité ouest du bassin du Congo (Gabon, République du Congo) .....	68
<b>Figure 9</b> : Différentes vues de Libreville .....	71
<b>Figure 10</b> : Différentes vues du village de Dienga .....	73
<b>Figure 11</b> : Répartition de la séroprévalence de <i>T. gondii</i> chez les enfants de moins de 15 ans à Dienga .....	83
<b>Figure 12</b> : Comparaison 2 à 2 des prévalences pour les 4 espèces partagées par Libreville et Dienga .....	84
<b>Figure 13</b> : Schéma représentant la disposition du village et de ses foyers .....	85
<b>Figure 14</b> : Cartes de présentation de l'enquête épidémiologique géolocalisée .....	87
<b>Figure 15</b> : Carte de Dienga des unités de regroupement et description des populations qui les composent .....	88
<b>Figure 16</b> : Représentation de la séroprévalence de la toxoplasmose au travers des 11 unités de regroupement pour chacune des 5 populations : chats, poules, chiens, enfants de 1 à 7 ans et population humaine d'âge supérieur ou égale à 8 ans .....	90
<b>Figure 17</b> : Analyse en Composantes Principales : valeurs propres et carte factorielle des axes F1 et F2 .....	92
<b>Figure 18</b> : Importance des circulations humaines et modes de transport entre les 4 localités étudiées .....	145
<b>Figure 19</b> : Structures génétiques spatiales des 69 isolats de <i>T. gondii</i> géolocalisés au Gabon selon l'analyse sPCA .....	148
<b>Figure 20</b> : Carte de la structure génétique spatiale des 69 isolats de <i>T. gondii</i> gabonais correspondant à la première valeur propre de la sPCA après bruitage de leurs géolocalisations .....	149
<b>Figure 21</b> : Carte de la structure génétique spatiale des 18 isolats de <i>T. gondii</i> géolocalisés au sein du village de Dienga selon l'analyse sPCA comparée à l'analyse sous Structure) .....	150

<b>Figure 22 :</b> Cartes de la structure génétique spatiale des 17 isolats de <i>T. gondii</i> géolocalisés au sein des 3 quartiers de Libreville (Plaine Orey, Nzeng-Ayong et IAI) selon l'analyse sPCA .....	151
<b>Figure 23 :</b> Carte géographique de la Guyane Française indiquant les lieux de prospection pour notre étude .....	154
<b>Figure 24 :</b> Structure génétique spatiale des 41 isolats de <i>T. gondii</i> géolocalisés en Guyane Française selon l'analyse sPCA .....	183
<b>Figure 25 :</b> Proportion de survie des souris infectées en fonction de la dose inoculée et de l'appartenance à un des 2 groupes <i>Caribbean 1</i> et <i>Caribbean 2</i> .....	186

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Durée d'infectiosité des oocystes de <i>T. gondii</i> selon les conditions environnementales .....	31
<b>Tableau 2</b> : Prévalences sérologiques de la toxoplasmose chez des mammifères sauvages et péri-domestiques de la zone tropicale humide .....	39
<b>Tableau 3</b> : Prévalences et observations épidémiologiques de la toxoplasmose chez les Amérindiens d'Amérique du Sud, les Aborigènes d'Asie tropicale, les Papous d'Océanie et les Pygmées d'Afrique centrale en zone tropicale humide .....	46
<b>Tableau 4</b> : Nombre de prélèvements réalisés pour chacune des différentes populations animales de Dienga et Libreville .....	75
<b>Tableau 5</b> : Séroprévalences de la toxoplasmose dans les différentes populations animales prélevées de Libreville .....	80
<b>Tableau 6</b> : Séroprévalences de la toxoplasmose dans les différentes populations prélevées à Dienga .....	81
<b>Tableau 7</b> : Détails des espèces sauvages (rongeurs et viande de brousse) prélevées à Dienga et ses alentours et séroprévalence de la toxoplasmose .....	82
<b>Tableau 8</b> : Répartition de la séroprévalence de la toxoplasmose humaine en fonction des classes d'âge .....	83
<b>Tableau 9</b> : Évaluation des facteurs de risques pour les différentes populations testées .....	85
<b>Tableau 10</b> : Séroprévalence de la toxoplasmose (en %) dans les 11 unités de regroupement pour chacune des 5 populations d'intérêt .....	91
<b>Tableau 11</b> : Contribution pour chacun des axes F1 et F2 des variables « prévalence » de chacune des 5 populations .....	93
<b>Tableau 12</b> : Virulence à l'isolement chez la souris des souches de <i>T. gondii</i> nouvellement isolées en Guyane Française .....	185
<b>Tableau 13</b> : Virulence chez la souris entre les différents groupes de <i>T. gondii</i> .....	184
<b>Tableau 14</b> : Valeurs de $p$ et hazard ratios (IC 95 %) pour le temps de survie des souris estimés à l'aide de l'analyse du modèle de Cox à risque proportionnel vis-à-vis de la dose et des 2 principaux groupes de génotypes : <i>Caribbean 1</i> et <i>Caribbean 2</i> .....	186



# Liste des annexes

<b>Annexe 1</b> : Position taxonomique de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	245
<b>Annexe 2</b> : Comparaison phylogénétique de certaines coccidies basée sur deux régions de l'ADN ribosomal .....	247
<b>Annexe 3</b> : Pays en partie ou majoritairement intégrés à la zone tropicale humide .....	249
<b>Annexe 4</b> : Liste des espèces de félins recensés en milieu tropical humide .....	251
<b>Annexe 5</b> : Références bibliographiques de la séroprévalence de la toxoplasmose sur le continent africain de 1955 à 2006 ayant permis la réalisation de la figure 5 .....	257
<b>Annexe 6</b> : Tableaux des données extraites des études incluses pour la revue bibliographique de la séroprévalence de la toxoplasmose sur le continent africain de 1950 à 2006 (tableaux A à G) .....	263
<b>Annexe 7</b> : Questionnaire de recensement des espèces domestiques et de certains facteurs épidémiologiques réalisé pour le travail de prospection au village de Dienga .....	281
<b>Annexe 8</b> : Détection des toxoplasmes dans les tissus (trypsine) et isolement chez la souris. Protocole prenant en compte l'expérience acquise sur l'ensemble des travaux d'isolement de la thèse .....	283



# Liste des abréviations

ACP : Analyse en composantes principales  
ADN : Acide désoxyribonucléique  
ADHS : Agglutination directe haute sensibilité  
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments  
CIRMF : Centre International de Recherches Médicales de Franceville  
CITES : « Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora »  
DFID : « UK Department for International Development »  
DL<sub>100</sub> : Dose létale totale  
EA : Équipe accueil  
ELFA : « Enzyme Linked Fluorescent Assay »  
GPS : « Global Positioning System »  
HI : Hôte intermédiaire  
IC : Intervalle de confiance  
Ig : Immunoglobuline  
INSEE : Institut National de la Statistique et des Études Économiques  
MAT : « Modified Agglutination Test »  
MLST : « Multilocus Sequence Typing »  
mya : « million years ago »  
pb : Paire de bases  
PCR : « Polymerase Chain Reaction »  
PI : Post inoculation  
RFLP : « Restriction Fragment Length Polymorphism »  
SIG : Système d'information géographique  
SNP : « Simple Nucleotide Polymorphism »  
STR : « Simple Tandem Repeats »  
UGENET : Unité Génétique des Écosystèmes Tropicaux  
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine  
WCS : « Wild Conservation Society »  
ZTH : Zone tropicale humide



# INTRODUCTION

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire intracellulaire responsable d'une anthroponose largement répartie dans le monde : la toxoplasmose. Les félinés domestiques ou sauvages représentent les hôtes définitifs de ce parasite. L'ensemble des homéothermes, mammifères terrestres ou marins et oiseaux, quel que soit le continent et la latitude, peuvent héberger le toxoplasme en tant qu'hôtes intermédiaires. Le toxoplasme a ainsi été décrit comme étant capable d'infecter plus de 350 espèces différentes de mammifères et d'oiseaux (Tenter *et al.*, 2000; Lindsay and Dubey, 2007; Duszynski *et al.*, 2000). La transmission de ce parasite à l'homme, et plus généralement à l'ensemble des hôtes intermédiaires, se fait par consommation de viande infectée, mais aussi par l'ingestion du stade parasitaire (oocystes) présent dans les fèces de félinés sauvages ou domestiques pouvant souiller le sol, les eaux de ruissellement et tout aliment en contact. C'est sous cette dernière forme que le toxoplasme circule dans l'environnement extérieur.

Cette vaste répartition n'est pas que zoologique, elle est aussi géographique. L'infection toxoplasmique est présente sous toutes les latitudes. Ainsi, le tiers de la population humaine mondiale serait infectée par la toxoplasmose (Petersen and Dubey, 2001) avec des variations selon les zones géographiques en lien avec les facteurs climatiques mais aussi socioculturels. La prévalence humaine est particulièrement élevée dans la zone tropicale humide (ZTH). Cette zone présente des caractéristiques qui peuvent favoriser la circulation du toxoplasme : des facteurs physiques et environnementaux (climat humide, biotopes avec une richesse faunistique importante, interpénétration de faunes sauvages et domestiques), ou des facteurs humains (pratiques socio-culturelles, niveau d'hygiène, mode de vie). Cependant, la description de la circulation du toxoplasme en lien avec les différents facteurs épidémiologiques qui découlent de ces caractéristiques a été peu évaluée jusqu'ici.

Ceci est d'autant plus important que la ZTH héberge des populations humaines parmi les plus infectées au monde par le virus VIH, dont on connaît le rôle majeur dans le développement de maladies opportunistes, dont la toxoplasmose. De plus, des études récentes en Amérique du Sud montrent l'existence de formes de toxoplasmoses humaines plus sévères que celles présentes en Europe et en Amérique du Nord (Carme *et al.*, 2009b; Nunura *et al.*, 2010; Gilbert *et al.*, 2008). Ainsi, une fréquence plus élevée de la toxoplasmose oculaire, qu'elle soit congénitale ou acquise, a été décrite dans certaines régions du Brésil (Khan *et al.*, 2006; Gilbert *et al.*, 2008) et des formes multiviscérales, parfois mortelles, de toxoplasmoses acquises ont été décrites chez des patients immunocompétents infectés en forêt amazonienne à partir de viande de brousse ou d'eau de rivière (Carme *et al.*, 2009b).

La ZTH se caractérise aussi par une grande diversité génétique du toxoplasme. En effet, si les premières études sur le polymorphisme génétique de *T. gondii*, effectuées sur des isolats d'Europe ou d'Amérique du Nord étaient en faveur d'un faible polymorphisme avec 95% de souches appartenant à 3 lignées clonales, types I, II, et III (Dardé *et al.*, 1992; Howe and Sibley, 1995; Ajzenberg *et al.*, 2002a), l'application du génotypage à des isolats d'autres régions du globe a révélé une structure de population plus complexe. Les génotypes nouvellement décrits correspondent d'une part à des génotypes mixtes (combinaison des allèles classiques : I/II, I/III, II/III, I/II/III) et d'autre part à des génotypes atypiques (combinaison partielle ou totale d'allèles non I, II ou III) (Ajzenberg *et al.*, 2004; Ajzenberg, 2006). Alors qu'ils ne représentaient qu'environ 5% des cas dans les populations d'isolats d'Europe ou d'Amérique du Nord, ils sont prépondérants en Amérique du Sud où de nouvelles lignées clonales ont été décrites (Khan *et al.*, 2007). Les génotypes les plus atypiques ont été observés sur des isolats provenant de régions faiblement anthropisées de la ZTH, peu étudiées jusqu'à présent (Ajzenberg *et al.*, 2009), et/ou d'hôtes inhabituels asymptomatiques (animaux sauvages) (Demar *et al.*, 2008; Dubey *et al.*, 2010b; Dubey *et al.*, 2008b). Ces génotypes particuliers pourraient être chez l'homme en Amérique du Sud à l'origine des formes sévères de toxoplasmose, multiviscérales ou oculaires précédemment décrites. En Guyane française, des isolats atypiques ont ainsi été obtenus à partir de patients immunocompétents présentant des toxoplasmoses disséminées (Bossi *et al.*, 1998; Dardé *et al.*, 1998; Carme *et al.*, 2002b; Ajzenberg *et al.*, 2004; Demar *et al.*, 2007).

Ces diverses observations proviennent essentiellement d'études réalisées en Amérique du Sud. Les autres régions tropicales, notamment l'Asie et l'Afrique tropicale, restent donc sous-représentées dans les études sur la biodiversité du toxoplasme.

La notion de répartition géographique différente des génotypes selon les zones géographiques et les biotopes qui émerge de ces études doit amener à reconsidérer la génétique de la population parasitaire sur les continents, tel que l'Afrique, pour lesquels nous disposons de très peu d'informations. Elle doit aussi porter sur un spectre d'hôtes plus large orienté aussi bien vers la faune domestique que sauvage. Les différentes caractéristiques climatiques, environnementales, faunistiques et socio culturelles de la ZTH doivent nous interroger sur les spécificités épidémiologiques en termes de circulation et de transmission du parasite dans cette zone. Un certain nombre d'outils récemment développés dans d'autres thématiques ou disciplines (SIG, logiciel de génétique des populations) peuvent être envisagés afin d'appréhender plus finement la circulation et la structure des populations de *T. gondii* et

plus généralement les connaissances sur l'épidémiologie de ce dernier dans un environnement tropical humide.

Ce travail de thèse a été réalisé dans ce contexte, avec un double objectif :

**- l'isolement de nouvelles souches de toxoplasme en zone tropicale humide d'Afrique (Gabon) et d'Amérique du Sud (Guyane Française).**

**- la caractérisation génétique et phénotypique et la compréhension de la circulation de ces souches dans leur environnement tropical (épidémiologie au travers de la séroprévalence et génétique des populations).**

- ✓ Le premier chapitre présente des généralités sur le toxoplasme avec ses spécificités en milieu tropical humide.
- ✓ Le chapitre 2 est consacré à la présentation des travaux réalisés sur la séroépidémiologie du toxoplasme en Afrique équatoriale au travers d'études menées au Gabon, sur la séroprévalence humaine et animale, en milieu urbain ou rural, avec analyse spatiale. Ces études séroépidémiologiques ont constitué un préalable à l'analyse de la circulation du toxoplasme par l'épidémiologie moléculaire.
- ✓ Le chapitre 3 est dédié à l'épidémiologie moléculaire du toxoplasme au Gabon et en Guyane Française. Cette partie correspond à deux études de terrain qui ont permis l'isolement de nouvelles souches. L'étude de leur biodiversité, la génétique des populations du toxoplasme qui en découle et l'analyse de leur virulence chez la souris en lien avec le génotype y sont abordées. Au Gabon, la biodiversité rapportée a été comparée aux rares données préexistantes pour le continent africain, alors qu'en Guyane Française, l'analyse s'est essentiellement focalisée sur la comparaison entre le cycle « sauvage » et le cycle « domestique » du toxoplasme dans cette région.
- ✓ Le chapitre 4 présentera une discussion et conclusion générales sur l'ensemble des différentes études présentées, ainsi que les perspectives de ce travail.

# **CHAPITRE 1**

## **Généralités et spécificités de *Toxoplasma gondii* en milieu tropical humide**

## I. DESCRIPTION DU PARASITE

---

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire intracellulaire obligatoire appartenant à l'ordre des coccidies, phylum des Apicomplexa. C'est la seule espèce décrite du genre *Toxoplasma* (annexes 1 et 2).

Il est considéré comme l'un des parasites les plus communs, capable de coloniser un grand nombre d'espèces hôtes homéothermes (annexe 2. C) sur une vaste gamme d'habitats.

Découvert au début du XX<sup>ème</sup> siècle simultanément en Afrique du Nord [chez le gondi en Tunisie ; (Nicolle and Manceaux, 1908)] et en Amérique du Sud [chez un lapin de laboratoire au Brésil ; (Splendore, 1908)], les premières études se sont surtout focalisées sur les risques infectieux chez l'homme, en temps qu'agent responsable de la toxoplasmose, puis chez les animaux domestiques des pays tempérés (Tenter *et al.*, 2000).

## II. CYCLE EVOLUTIF ET TRANSMISSION

---

Comme tous les Apicomplexa, le cycle de vie du toxoplasme comporte une multiplication asexuée et un cycle sexué, (figure 1), mais contrairement à la plupart d'entre eux, ce cycle sexué est facultatif avec des possibilités de transmission directe à travers le cycle asexué (Smith and Rebeck, 2000).

### II. 1. Description des cycles

#### **Le cycle sexué : uniquement chez les félinés.**

Chez les félinés, après infection par voie orale, les parasites envahissent les cellules épithéliales de l'intestin pour une phase de multiplication asexuée par schizogonie (figure 1). Ces formes asexuées vont produire par la suite des gamétocytes mâles et femelles (gamétogonie) (Speer and Dubey, 2005; Speer *et al.*, 1997). La fécondation va alors conduire à la formation d'oocystes non sporulés (non infectieux). Ceux-ci sont excrétés dans les fèces

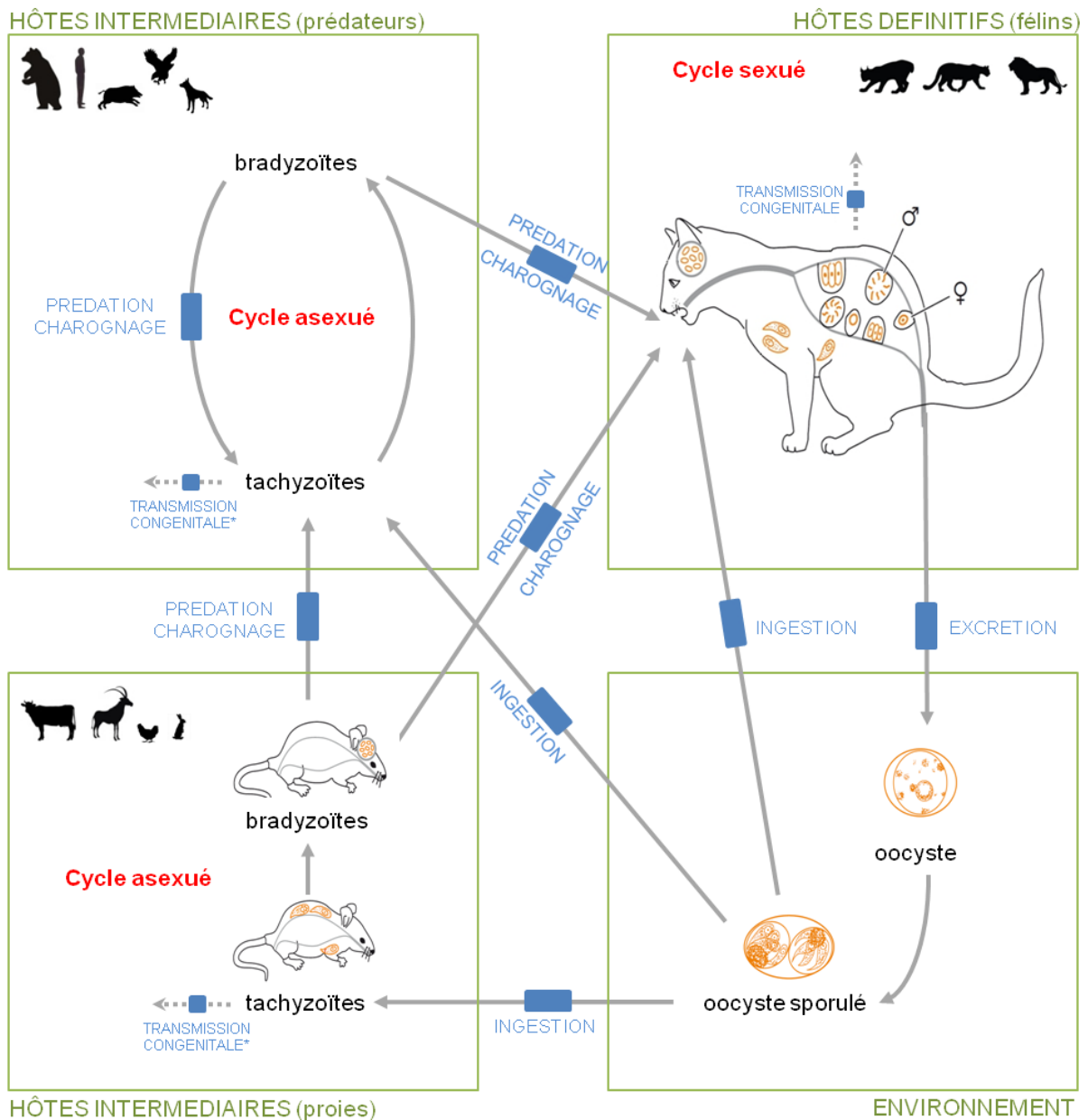
des félidés 3 à 5 jours après la primo-infection et pendant une brève période (7 à 15 jours). Après une primo-infection à partir de kystes ou d'oocystes un seul félin peut excréter jusqu'à plusieurs dizaines millions d'oocystes pendant cette période (Dubey, 2006; Jackson and Hutchison, 1989; Omata *et al.*, 1990). Dans le milieu extérieur, ces oocystes deviennent infectieux en 1 à 5 jours après un processus appelé sporogonie qui permet la formation des sporozoïtes. Les oocystes sporulés, de 12 µm sur 11 µm, peuvent rester quiescents pendant plusieurs mois dans le sol ou dans l'eau avant d'infecter un nouvel hôte. Ils sont infectants pour les hôtes intermédiaires comme pour les hôtes définitifs (avec une moins grande efficacité dans ce dernier cas).

### **Le cycle asexué : chez tous les mammifères et oiseaux**

Les oocystes, après ingestion par l'hôte intermédiaire (en théorie, tout animal homéotherme, mammifères ou oiseaux) (figure 1), libèrent les sporozoïtes qui vont alors pénétrer dans les cellules épithéliales intestinales, se transformant en tachyzoïtes (de 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large) (Dubey *et al.*, 1997; Tilley *et al.*, 1997). Ceux-ci se disséminent rapidement dans tous les organes (phase aiguë) par l'intermédiaire des monocytes/macrophages sanguins et lymphatiques. Les tachyzoïtes se transforment ensuite en bradyzoïtes de manière réversible (Soete *et al.*, 1993) : une phase chronique s'établit. Les bradyzoïtes sont rassemblés au sein de kystes (de 50 à 200 µm) pouvant contenir jusqu'à un millier de bradyzoïtes (de 3 à 4 µm) principalement dans les tissus nerveux et musculaires. Ils semblent perdurer toute la vie de l'hôte (Ferguson *et al.*, 1989; Dubey *et al.*, 1997). Il existe deux possibilités pour la transmission des stades asexués (figure 1) :

- la chaîne alimentaire. Les bradyzoïtes enkystés dans les tissus d'un animal infecté peuvent transmettre l'infection directement à un nouvel hôte via leur consommation. Cette partie du cycle de vie est tout aussi importante pour l'infection des félidés, très sensibles aux bradyzoïtes (Dubey, 2001), que pour la transmission aux hôtes intermédiaires (Dubey, 2006).

- La transmission congénitale. On la retrouve uniquement chez les mammifères. Il est bien établi que les tachyzoïtes ont la capacité de traverser le placenta pour infecter le fœtus en développement (Remington *et al.*, 2001). Il est prouvé que, chez certaines espèces, cette transmission verticale permet de maintenir le parasite dans la population au fil des générations (Morley *et al.*, 2005; Beverley, 1959; Owen and Trees, 1998).



**Figure 1 :** Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* (à partir des illustrations de Sibley et Ajioka, 2008).

## II. 2. Stades parasitaires, résistance et transmission

Le toxoplasme présente donc trois stades potentiellement infectieux pour les organismes homéothermes :

- le stade tachyzoïte : forme végétative qui permet au parasite d'augmenter sa densité chez l'hôte en se multipliant dans divers types cellulaires (phase aiguë de l'infection). Ce stade a la particularité de pouvoir infecter n'importe quel type cellulaire nucléé (Carruthers and Sibley, 1997). Mais il ne résiste pas dans le milieu extérieur et sa sensibilité à la digestion pepsique et trypsique rend incertaine sa transmission par voie orale (Dubey, 1998a). Son rôle dans la transmission épidémiologique serait donc mineur.

Ce sont les formes bradyzoïtes et sporozoïtes, protégées dans des structures kystiques, qui vont permettre l'essentiel de la transmission entre les différents hôtes avec une résistance accrue.

- le stade bradyzoïte : nous venons de voir que les kystes qui contiennent les bradyzoïtes peuvent persister pendant toute la vie de l'hôte. De cette façon, ce stade permet la survie du parasite à l'intérieur des hôtes intermédiaires ou définitifs quelles que soient les conditions climatiques du milieu extérieur. Sa persistance dans les tissus entretient une immunité cellulaire qui prévient en principe toute réinfection sauf en cas de contamination par un isolat de génotype différent (Elbez-Rubinstein *et al.*, 2009). Le stade bradyzoïte peut survivre à la mort de l'hôte (carcasses ou viande de consommation) jusqu'à plusieurs semaines entre 1 et 4°C (Dubey *et al.*, 1990; Dubey and Kirkbride, 1989), et d'après Dubey (2000), probablement aussi longtemps que la viande demeure consommable. Cela laisse amplement le temps à l'homme ou aux charognards de s'infecter. Les bradyzoïtes vont aussi survivre à la congélation pendant une semaine pour des températures entre -1 et -8°C, alors qu'ils sont inactivés à partir de -12°C pendant 3 jours (ou 5 heures à -18°C) (Kotula *et al.*, 1991; Dubey, 1988; Kucic and Wikerhauser, 1996). Cependant, la littérature rapporte de rares cas de kystes qui auraient survécu à de très fortes congélations (Dubey, 2000). En revanche, les bradyzoïtes vont être totalement détruits à partir d'une température de cuisson de 67°C au cœur de la viande (Dubey *et al.*, 1990; Dubey, 2000).

- le stade sporozoïte présent dans les oocystes sporulés est l'élément infectant résultant de la reproduction sexuée dans les cellules épithéliales intestinales des félinés. L'oocyste constitue la principale forme de résistance et de dissémination dans l'environnement extérieur (sol, végétaux, eau...). L'habitude des félins d'enterrer leur fèces va à la fois permettre la contamination des 10 premiers centimètres de la surface du sol et empêcher la dessiccation des oocystes (Frenkel *et al.*, 1975; Aramini *et al.*, 1999). Des oocystes ont ainsi été plus facilement isolés de sols humides et ombragés (Ruiz *et al.*, 1973). Les eaux de ruissellement et la microfaune du sol peuvent aussi favoriser leur dissémination. Ainsi, des vers de terre maintenus au contact de sols contaminés sont capables de transmettre l'infection (Frenkel *et al.*, 1975; Ruiz and Frenkel, 1980; Bettioli *et al.*, 2000). En surface, d'autres invertébrés (cafards, mouches) et leurs fèces ont également été décrits comme pouvant être porteurs ou contenir des oocystes infectants (Frenkel *et al.*, 1975; Wallace, 1973a; Smith and Frenkel, 1978). Des oocystes ont été isolés du sol après des cas groupés de toxoplasmose au Royaume-Uni et au Brésil (Fleck *et al.*, 1972; Coutinho *et al.*, 1982). De même, en dehors de tout contexte épidémique, des bio-essais positifs chez la souris ont été obtenus à partir de sols naturellement contaminés (Dubey and Beattie, 1988; Ruiz *et al.*, 1973; Dubey *et al.*, 1995; Frenkel *et al.*, 1995).

La résistance des oocystes leur permet de rester vivants pendant plusieurs mois, voire plusieurs années dans le sol (tableau 1). Cependant, ils restent sensibles à la chaleur, puisqu'ils sont rapidement inactivés à partir de 55°C (dans l'eau) et dans une moindre mesure à la congélation (28 jours à -21°C dans l'eau) (Dubey, 1998b). Il a été démontré que les oocystes pouvaient survivre pendant plus de 2 ans à 4°C (Frenkel *et al.*, 1975; Dubey, 1998b). Dans l'eau, l'infectiosité est maintenue pendant 4 ans et demi à 4°C et 1 an et demi à 20-22°C (Hutchison, 1967). La résistance dans les substrats solides (sol et aliments) est moindre : les oocystes restent tout de même infectants pendant 30 jours à un peu plus d'un an selon la température et les conditions d'expositions dans l'environnement (tableau 1). Dans le cas de fluctuations naturelles de température et d'exposition, les oocystes peuvent maintenir leur pouvoir infectant pendant une durée de 46 jours à un an et demi selon les substrats. Ces oocystes sont extrêmement infectants pour les hôtes intermédiaires : un seul suffit à initier l'infection chez la souris, mais un inoculum plus important est requis pour infecter les félins (Dubey, 2006; Dubey, 2007). Enfin, la paroi des oocystes est hautement imperméable, ce qui confère aux oocystes une grande résistance aux désinfectants (Dubey *et al.*, 1970).

**Tableau 1 : Durée d'infectiosité des oocystes de *T. gondii* selon les conditions environnementales, d'après Dumètre (2005) et AFFSA (2005) (Dumètre, 2005; AFSSA, 2005).**

Température (°C)	Conditions*	Durée de survie* <sup>a</sup>	Références
<b>En laboratoire</b>			
-20	Eau	14 à 28 jours	(Frenkel and Dubey, 1973; Kuticic and Wikerhauser, 1996)
-10/-5	Eau	106 jours	(Dubey, 1998b)
0	Eau	13 mois	(Dubey, 1998b)
+4	Eau	54 mois	(Dubey, 1998b)
	<i>Baies</i>	56 jours	(Kniel <i>et al.</i> , 2002)
	<i>Suspension fécale</i>	183-410 jours <sup>b</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
+4/+24	Eau de mer à 15 ppt	180 jours	(Lindsay <i>et al.</i> , 2003)
+20/+22	Eau	548 jours	(Hutchison, 1967)
+22,5	Eau	306-410 jours <sup>b</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
	<i>Suspension fécale</i>	153-410 jours <sup>b</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
+23 →+29	<i>Sols humides</i>	117 jours	(Dubey <i>et al.</i> , 1970)
+30	Eau	107 jours	(Dubey, 1998b)
+35	Eau	32 jours	(Dubey, 1998b)
+37	Eau	91-306 jours <sup>b</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
	<i>Suspension fécale</i>	46-199 jours <sup>b</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
+40	Eau	9 jours	(Dubey, 1998b)
+45	Eau	1 jour	(Dubey, 1998b)
+50	Eau	30-60 minutes	(Dubey <i>et al.</i> , 1970; Dubey, 1998b)
+55/+58	Eau	< 15 minutes	(Kuticic and Wikerhauser, 1996; Dubey, 1998b)
+60/+70	Eau	< 1 minute	(Dubey, 1998b)
<b>En conditions naturelles</b>			
-20/+35	<i>Fèces dans le sol</i>	18 mois	(Frenkel <i>et al.</i> , 1975)
-6/+39	Eau	122-306 jours / 153-410 jours <sup>c</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
	<i>Fèces</i>	46-183 jours / 76-334 jours <sup>c</sup>	(Yilmaz and Hopkins, 1972)
+15/+30	<i>Fèces dans le sol</i>	56-357 jours	(Frenkel <i>et al.</i> , 1975)
+20/+27	<i>Sol humide</i>	106 jours	(Ruiz <i>et al.</i> , 1973)
<b>Cas particulier de la dessiccation des oocystes dans les fèces : température et humidité</b>			
+22→+26	100% d'humidité	32 jours	(Frenkel and Dubey, 1972)
	80% d'humidité	18 jours	(Frenkel and Dubey, 1972)
	37% d'humidité	11 jours	(Frenkel and Dubey, 1972)

Notes : \* matrices solides *en italique*

<sup>a</sup> Durée d'infectiosité globale de la suspension d'oocystes évaluée par inoculation à la souris.

<sup>b</sup> Durée de l'infectiosité globale d'une suspension découverte (sujette à la dessiccation) – durée de l'infectiosité globale d'une suspension couverte.

<sup>c</sup> Durée de l'infectiosité globale d'une suspension découverte – d'une suspension couverte, exposées au soleil / ou placées à l'ombre.

L'examen du cycle et des différents stades du toxoplasme donne une idée des stratégies de transmission et de résistance qui s'offrent à ce parasite. Les deux principales étant soit sous forme d'oocystes présents directement au sein de l'environnement dans les différentes matrices (sol, eau, végétaux, autres supports...), soit sous forme de kystes à l'intérieur des hôtes et donc à l'abri des aléas du milieu extérieur. Ce sont ces caractéristiques qui lui confèrent une certaine souplesse dans ses modes de contamination et d'infection de ses hôtes et qui, associées à sa capacité d'infecter un très grand nombre d'espèces animales, en font le parasite ubiquiste par excellence. Il est cependant très difficile d'évaluer l'importance relative de ces différents modes de transmission dans l'environnement extérieur en conditions naturelles.

### **III. EPIDEMIOLOGIE EN ZONE TROPICALE HUMIDE**

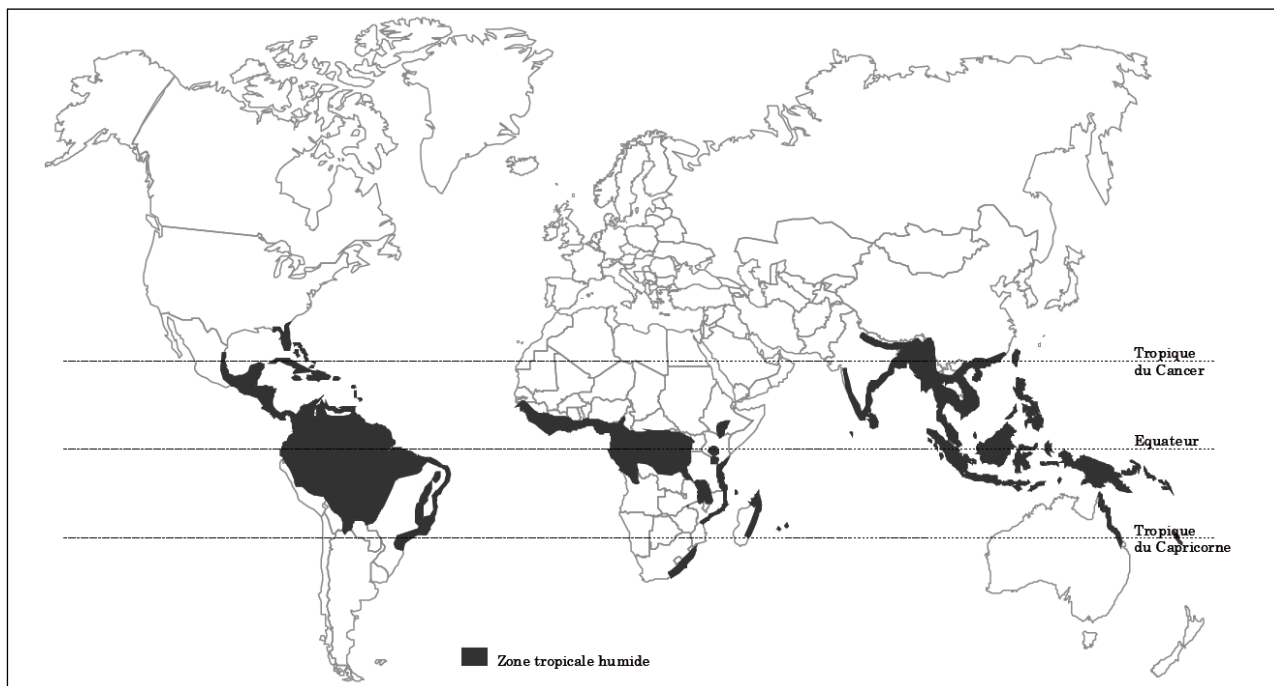
---

#### **III. 1. Description du milieu : climat, environnement et populations**

La zonalité bioclimatique conditionne la diversité des milieux naturels, la densité des populations mais aussi la distribution géographique des organismes, dont de nombreux agents pathogènes. L'environnement bioclimatique engendre des écosystèmes favorables ou non à ces organismes dont le toxoplasme fait partie. Des considérations sur l'épidémiologie de *T. gondii* en zone tropicale humide ne sauraient se concevoir sans une présentation du climat et de l'environnement associé. De cette manière, nous pourrions mieux appréhender les conditions particulières de ce milieu qui pourraient interférer dans le cycle du toxoplasme.

##### **III. 1. 1. Délimitation de la zone tropicale humide**

Plus qu'une limite géographique nette (entre les tropiques), c'est surtout une limite environnementale, type savane-steppe, qui va nous indiquer les zones sous influence tropicale humide. La carte suivante (figure 2) donne une idée plus précise de la localisation de cette zone.



**Figure 2 : Les zones tropicales humides dans le monde (d'après Losch, 1996).**

Les tropiques humides représentent un total d'environ 20 millions de kilomètres carrés essentiellement en Afrique centrale, Asie du Sud-Est et en Amérique latine avec plus de 70 pays représentés pour partie (région) ou dans leur totalité et de nombreuses îles (annexe 3). Elles englobent l'ensemble de la zone équatoriale (Locatelli, 2000).

### **III. 1. 2. Caractéristiques générales des zones climatiques des tropiques humides**

Ces zones sont caractérisées par une chaleur constante avec de faibles amplitudes thermiques annuelles (inférieures à 12°C) (Puig, 2001). La température moyenne mensuelle est toujours supérieure à 18°C quel que soit le mois de l'année (Oliver, 2005). A cette chaleur vient s'ajouter un régime hydrique particulier avec des pluies fréquentes et saisonnières plus ou moins marquées (mars-avril et septembre-octobre) (Puig, 2001). On considère comme tropicales humides les régions où la pluviométrie annuelle moyenne est supérieure à 1500 millimètres et où la saison sèche ne dépasse pas 4 mois (Losch, 1996). Enfin, en ce qui concerne les sols de ces régions, ceux-ci vont être généralement ferrugineux avec la formation de cuirasse latéritique dans les zones découvertes (villages, pistes...) sur lesquelles les eaux de pluies vont ruisseler pouvant entraîner des problèmes d'érosion.

On distingue deux principaux types de climats dans ces zones :

### **La zone équatoriale**

Les terres situées à proximité de l'équateur comptent parmi les plus humides de la planète. Les précipitations y sont abondantes tout au long de l'année (précipitations annuelles supérieures à 2000 mm, pouvant aller jusqu'à 5000 mm) et l'humidité atmosphérique y est permanente (Puig, 2001). La température moyenne mensuelle est de 27°C tout au long de l'année et les vents sont rares (Oliver, 2005). Cependant, l'ensoleillement y est tout de même réduit par la présence permanente de nuages (nébulosité) avec seulement 2000 heures d'ensoleillement par an en moyenne (Puig, 2001; Walsh, 1996). On peut noter l'existence d'une saison sèche inférieure à 3 mois (saison sèche imparfaite car il y a des pluies à cette période) (Puig, 2001).

En l'absence d'intervention humaine, ces régions sont caractérisées par une couverture de forêts denses appelée la forêt pluviale tropicale. Ces immenses espaces forestiers rendent les déplacements difficiles et n'autorisent pas ou ralentissent les installations humaines à grande échelle.

### **La zone tropicale humide ou subéquatoriale**

Le climat tropical humide se retrouve de part et d'autre de la zone équatoriale. Il se différencie de cette dernière par une alternance de saison sèche et de saison humide plus contrastée : les températures restent relativement élevées avec des moyennes mensuelles qui oscillent entre 18-21°C en hiver et 24-27°C en été. Certaines parties de cette zone connaissent deux pics de précipitations. Ceux-ci se situent entre 1000 et 2000 mm par an (Oliver, 2005). Ce type de climat occupe la majeure partie de la ZTH.

Dans le cas de la zone tropicale humide, le couvert végétal correspond à de la forêt moyennement dense ou à des savanes selon l'humidité.

De façon générale, l'association chaleur et humidité, ajoutée aux rythmes saisonniers spécifiques de ces zones, a façonné les paysages de ces régions et permis la prolifération de formes de vie d'une grande diversité, que l'on retrouve aussi bien chez les hôtes et vecteurs d'agents pathogènes que chez les agents pathogènes eux-mêmes (figure 3).

### **III. 1. 3. Caractéristiques générales des populations humaines de ces zones**

Environ 1,5 milliard de personnes vivent en zone tropicale humide. La majorité appartient à des pays en voie de développement avec le plus souvent un environnement sanitaire défavorable. Ces populations présentent des densités variables d'un continent à l'autre. Ainsi, l'Afrique comme l'Amérique tropicale humide sont aujourd'hui encore peu peuplées, avec des densités allant respectivement de 5 à 166 habitants/km<sup>2</sup> et 3 à 126 habitants/km<sup>2</sup> alors que l'on trouve des taux de 26 à 1229 habitants/km<sup>2</sup> pour l'Asie tropicale humide (Usherbrooke, 2010). Ces populations vont se partager entre les grandes agglomérations et les zones rurales. Le pourcentage de population urbaine varie selon les pays et les continents considérés. Sur les continents africain et asiatique, ce pourcentage tourne autour de 50%, à quelques exceptions près, alors qu'en Amérique centrale et du Sud ce pourcentage est plus proche des 80% avec là aussi quelques exceptions (Usherbrooke, 2010). De ce fait, une des caractéristiques de ces zones va être la coexistence d'un milieu naturel relativement conservé (forêt ou savanes), mais malheureusement actuellement menacé (déforestation), et de zones telles les villes marquées par les activités humaines. Toutefois, il faut relativiser le côté urbain des grandes agglomérations : s'il est indéniable dans les parties centrales (centres historiques) de ces villes où se concentre l'activité administrative et tertiaire, il se transforme dès que l'on s'éloigne de celles-ci et que l'on arrive dans les zones d'habitations d'abord de standing, puis très vite populaires où les services urbains de base (eau, assainissement, voirie, électricité) ne sont pas toujours assurés. De plus, dans cette périphérie qui a tendance à s'étaler dans l'espace, on trouve une forte proportion de populations d'origine rurale qui occupent le sol de manière irrégulière. Il va en découler un fonctionnement qui ressemble plus à celui du village que de la ville (animaux d'élevages dans les rues, pas de réelle clôture entre les maisons, effluents d'eaux usées pouvant s'écouler à l'air libre, chemins de terre...). Cette description varie selon les pays et surtout les niveaux de développement de chacun, mais de manière générale on peut dire que les grandes agglomérations en zone tropicale humide forment des mosaïques très complexes où l'habitat et les infrastructures sont distribués de façon extrêmement inégales en fonction du cadre socioéconomique et des origines des populations qui y vivent.

## **III. 2. Spécificités de la transmission de *T. gondii* en milieu tropical humide**

La description du cycle et celle des caractéristiques de la zone tropicale humide font apparaître un certain nombre de facteurs favorisant la transmission du toxoplasme dans ces zones.

### **III. 2. 1. Circulation du parasite dans l'environnement et chez les hôtes animaux**

#### Félinés

Quels que soient les continents considérés, les félins sont bien représentés en zones tropicales humides. En effet, sur un total de 37 à 39 espèces sauvages décrites (Johnson *et al.*, 2006; IUCN *et al.*, 1996), 20 sont présentes dans cette zone (annexe 4) avec une diversité plus importante en Asie (11 espèces) et en Amérique tropicale (8 espèces) qu'en Afrique tropicale (seulement 4 espèces recensées) (IUCN *et al.*, 1996). La possibilité d'excrétion d'oocystes a été démontrée chez un certain nombre d'entre elles et des prévalences élevées ont été retrouvées dans des conditions naturelles (annexe 4).

Le chat domestique (*Felis catus*) va s'ajouter, de façon plus récente, à ces espèces sauvages. Ainsi le chat domestique s'est implanté en Asie tropicale entre le VI<sup>ème</sup> et IX<sup>ème</sup> siècle : il était cependant déjà présent en Inde et en Chine depuis 2000 ans (Driscoll *et al.*, 2009). Il n'est arrivé en Amérique tropicale qu'au XVI<sup>ème</sup> siècle, avec les conquistadors espagnols (Amérique centrale) et les soldats portugais (côtes brésiliennes) (Driscoll *et al.*, 2009). En ce qui concerne l'Afrique tropicale, le chat a pu s'implanter de façon assez ancienne sur la côte Est de l'Afrique compte tenu des échanges avec l'Afrique du Nord (l'Égypte étant le berceau majeur de la domestication du chat depuis le Moyen Empire égyptien, c'est-à-dire depuis au moins 2000 av. J.-C.) et l'Orient, et de façon plus récente dans les comptoirs d'Afrique de l'Ouest, où il a été amené par les bateaux européens. L'intérieur de l'Afrique tropicale humide n'a été réellement soumis à l'influence occidentale, avec un apport éventuel de chats domestiques, qu'à partir du XIX<sup>ème</sup> siècle. La banalisation des transports et des échanges commerciaux a permis au chat de conquérir les terres les plus reculées de la planète. On le retrouve actuellement dans toutes les zones tropicales humides où l'homme est présent, aussi bien en milieu urbain que rural. On va le retrouver jusque dans les villages amérindiens reculés de Guyane Française (Carme *et al.*, 2007) où il a été implanté récemment

comme dans de nombreux endroits pour lutter contre des rongeurs, avant de devenir un animal de compagnie. Il reste peut-être encore quelques groupes humains telles certaines ethnies pygmées d'Afrique équatoriale ou certains groupes amérindiens qui ont gardé un mode de vie traditionnel et nomade et ne possèdent pas de chat domestique (Amendoeira *et al.*, 2003; Sobral *et al.*, 2005; Berengo *et al.*, 1974).

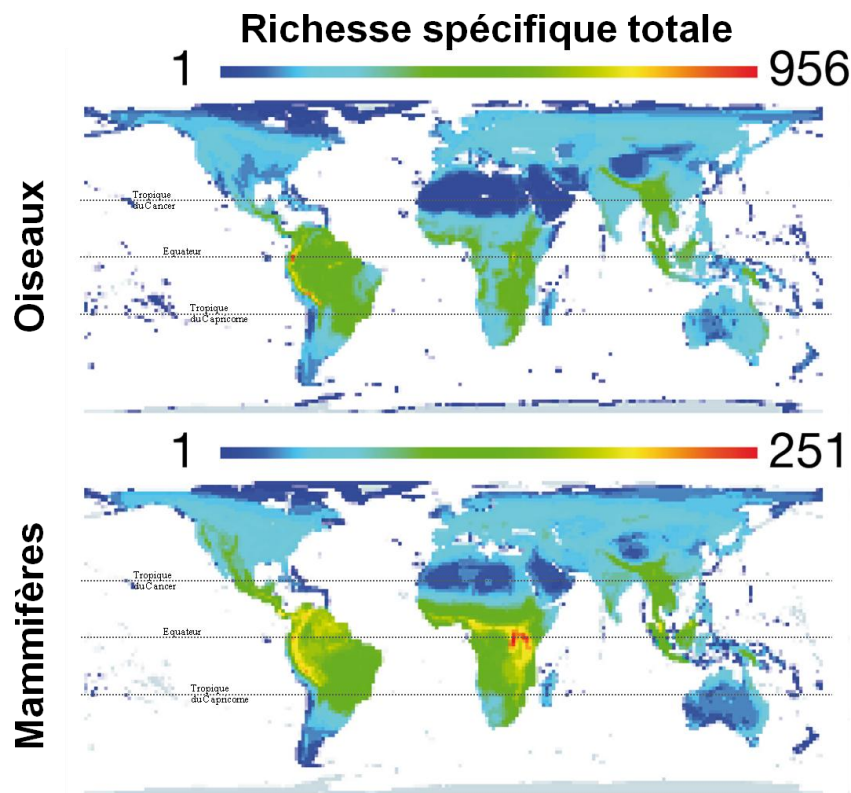
Une partie de la circulation et de la transmission du toxoplasme va donc être assurée par le chat domestique et l'ensemble des espèces de félinés sauvages présents en zone tropicale humide. Cette différence dans la nature même des félinés (domestique et sauvage), associée à la grande diversité des félins sauvages va avoir comme première conséquence une différence dans les comportements des hôtes définitifs du toxoplasme, notamment dans les comportements défécatoires (Afonso, 2007), mais aussi de prédation, qui vont se faire sur de plus grandes distances que chez les chats domestiques. Ces différences vont interférer avec le nombre et la nature des proies ingérées, la dissémination des oocystes en terme de fréquence d'excrétion, de taille du territoire et donc de zone contaminable, mais aussi de milieu de vie. En effet, une des caractéristiques du milieu tropical humide qui a été abordée lors de la description de cet environnement est la coexistence de biotopes sauvages (forêts, savanes) et domestiques (zone « urbanisée »). Les spécificités de ces environnements se retrouvent jusque dans les espèces d'hôtes définitifs rencontrées. Ceci va entraîner d'importantes différences épidémiologiques pour le toxoplasme entre ces deux milieux avec l'existence de deux cycles distincts (domestique et sauvage) (Ajzenberg *et al.*, 2004). Ainsi la diversité des hôtes définitifs dans le milieu sauvage pourrait induire une diversité plus importante des souches de *T gondii* dans cet environnement. De même, cette diversité des félinés sauvages en termes de niches écologiques et trophiques différentes va permettre un maillage plus dense dans le milieu sauvage que dans le milieu domestique (défense du territoire). Cela pourrait déboucher sur une circulation potentielle accrue dans le cycle sauvage, même si le facteur densité de populations peut jouer pour les chats domestiques.

Les félinés, qu'ils soient sauvages ou domestiques vont donc excréter des oocystes dans ces environnements particuliers.

### Hôtes intermédiaires

Comme pour les hôtes définitifs, les hôtes intermédiaires sont de nature différente : domestique ou sauvage. Ces derniers présentent une diversité importante en zone tropicale humide. En effet, la richesse spécifique des mammifères et des oiseaux sauvages de cette zone

est la plus élevée du globe (figure 3), contrairement aux animaux domestiques d'élevage ou de compagnie dont le nombre d'espèces est restreint et correspond pour l'essentiel aux espèces rencontrées en Occident (poule, canard, chèvre, mouton, porc, chien).



**Figure 3** : Distribution des richesses spécifiques des oiseaux et des mammifères à travers le monde d'après Grenyer et collaborateurs. Les gradients de couleurs sont linéaires par rapport au nombre d'espèces (Grenyer *et al.*, 2006).

En ce qui concerne les animaux de rente, les espèces correspondent à celles chez lesquelles on observe le plus fréquemment la présence de kystes du parasite (chèvres, moutons, porcs ...) (Tenter *et al.*, 2000). Une des spécificités de la zone considérée est la libre circulation d'une partie de ces animaux en milieu périurbain et rural, augmentant leurs chances de se contaminer. De ce fait, les prévalences de la toxoplasmose chez les animaux domestiques et de rente en zone tropicale vont généralement être élevées ( $\geq$  à 50%) (Tenter *et al.*, 2000).

Pour les hôtes intermédiaires sauvages et péri-domestiques (rongeurs), plusieurs études séro-épidémiologiques ont été menées chez des mammifères en zone tropicale humide, essentiellement sur le continent sud-américain, mais aussi dans quelques pays des continents africain et asiatique. Une partie de leurs résultats sont rassemblés dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Prévalences sérologiques de la toxoplasmose chez des mammifères sauvages et péri-domestiques de la zone tropicale humide.**

Catégorie	Espèce	Pays	Prévalence % (n/N)	Auteur
Mammifères arboricoles	<i>Choloepus didactylus</i> (paresseux à deux doigts)	Guyane française	0 % (0/50)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
	<i>Nasua nasua</i> (coati)	Brésil	0 % (0/3)	(da Silva <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Saguinus midas</i> (tamarin à mains jaunes)	Guyane française	0 % (0/25)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2001)
		Guyane française	0 % (0/50)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Alouatta seniculus</i> (singe hurleur roux)	Guyane française	4 % (2/50)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
	<i>Cebus apella</i> (Sapajou de Guyane)	Brésil	30.2 % (13/43)	(Garcia <i>et al.</i> , 2005)
<i>Alouatta caraya</i> (singe hurleur noir)	Brésil	17.6 % (3/17)	(Garcia <i>et al.</i> , 2005)	
Mammifères terrestres et arboricoles	<i>Macaca sinica</i> (macaque à toque)	Sri Lanka	12 % (21/170)	(Ekanayake <i>et al.</i> , 2004)
	<i>Eulemur macaco</i> (Lémur noir)	Madagascar	4 % (1/25)	(Junge and Louis, 2007)
	<i>Lemur catta</i> (Maki mococo)	Madagascar	0 % (0/20)	(Miller <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Didelphis albivensis</i> (opossum à oreilles blanches)	Guyane française	20 % (3/15)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Metachirus nudicaudatus</i> (opossum à queue de rat)	Guyane française	8 % (1/13)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Didelphis marsupialis</i> (opossum commun)	Guyane française	14,7 % (5/34)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
		Brésil	0 % (0/2)	(da Silva <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Coendou prehensilis</i> (porc-épic américain)	Guyane française	0 % (0/19)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
<i>Tamandua tetradactyla</i> (fourmilier à collier)	Guyane française	46,1 % (6/13)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)	
Mammifères terrestres herbivores, frugivores et omnivores	Rongeurs (non spécifié)	Chine	0,9 % (9/955)	(Lin <i>et al.</i> , 1990)
	Murinae	Thaïlande	4.2 % (17/408)	(Jittapalapong <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Mus musculus</i> (souris grise)	Panama	0.035 % (2/571)	(Frenkel <i>et al.</i> , 1995)
	<i>Rattus norvegicus</i> (rat gris)	Panama	23 % (52/226)	(Frenkel <i>et al.</i> , 1995)
		Thaïlande	0 % (0/34)	(Jittapalapong <i>et al.</i> , 2010)
		Costa Rica	30 % (7/23)	(Chinchilla, 1978)
			21 % (22/107)	(Ruiz and Frenkel, 1980)
		Floride	12 % (2/8)	(Burridge <i>et al.</i> , 1979)
		Ile de Grenade	33,6 % (80/238)	(Dubey <i>et al.</i> , 2006a)
		Hawaï	1,4 % (1/73)	(Wallace, 1973a; Wallace, 1973b)
		Philippines	60 % (50/83)	(Salibay and Claveria, 2005)
	<i>Rattus rattus</i> (rat noir)	Atoll micronésien	3 % (7/238)	(Wallace, 1973a; Wallace, 1973b)
		Hawaï	8 % (36/476)	(Wallace, 1973a; Wallace, 1973b)
		Philippines	50 % (37/74)	(Salibay and Claveria, 2005)
	<i>Rattus exulans</i> (rat polynésien)	Hawaï	7 % (5/85)	(Wallace, 1973a; Wallace, 1973b)
Sciuridae	Thaïlande	7.5 % (4/53)	(Jittapalapong <i>et al.</i> , 2010)	
<i>Moyprocta acouchy</i> (acouchi)	Guyane française	4 % (1/26)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)	

Catégorie	Espèce	Pays	Prévalence % (n/N)	Auteur
Mammifères terrestres herbivores, frugivores et omnivores	<i>Thryonomys swinderianus</i> (grand aulacode)	Nigeria	100 % (104/104)	(Arene, 1986)
	<i>Agouti paca</i> (paca)	Guyane Française	60,9 % (14/23)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
			60 % (22/37)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
			0 % (0/2)	(Sancho, 2007)
	<i>Dasyprocta agouti</i> (agouti)	Guyane Française	23,3 % (10/43)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
			18 % (8/45)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Dasypus novemcinctus</i> (tatou à 9 bandes)	Guyane Française	46 % (23/50)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
			40 % (2/5)	(Halos <i>et al.</i> , 2007)
		Brésil	0 % (0/9)	(da Silva <i>et al.</i> , 2006)
			12,9 % (4/31)	(da Silva <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Blastocerus dichotomus</i> (cerf des marais)	Brésil	27,3 % (18/66)	(Ferreira <i>et al.</i> , 1997)
	<i>Mazama spp.</i> (biche)	Guyane Française	36,4 % (4/11)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)
			40 % (6/15)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Ozotoceros bezoarticus</i> (cerf des pampas)	Brésil	12,2 % (5/41)	(Ferreira <i>et al.</i> , 1997)
	<i>Tapirus terrestris</i> (tapir)	Guyane Française	14,3 % (1/7)	(Halos <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Tayassu pecari</i> (pécari à lèvres blanche)	Guyane Française	54,5 % (18/33)	(Halos <i>et al.</i> , 2007)
<i>Tayassu tajacu</i> (pécari à collier)	Guyane Française	61,5 % (8/13)	(Carme <i>et al.</i> , 2002a)	
		68 % (15/22)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)	
		28,6 % (4/14)	(Halos <i>et al.</i> , 2007)	
<i>Tapirus terrestris</i> (tapir)	Brésil	10 % (1/10)	(Furtado <i>et al.</i> , 2010)	
<i>Elephas maximus</i> * (éléphant d'Asie)	Thaïlande	45,5 % (71/156)	(Tuntasuvan <i>et al.</i> , 2001)	
	Sri Lanka	26,4 % (14/53)	(Dangolla <i>et al.</i> , 2006)	
Mammifères semi-aquatiques	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i> (capybara)	Brésil	69,8 % (104/149)	(Canon-Franco <i>et al.</i> , 2003)
			75 % (48/64)	(Yai <i>et al.</i> , 2008)
			61,5 % (16/26)	(Truppel <i>et al.</i> , 2010)
		Guyane Française	6,7 % (2/30)	(Halos <i>et al.</i> , 2007)
			25 % (1/4)	(Sancho, 2007)
Mammifères terrestres carnivores	<i>Potos flavus</i> (Kinkajou)	Guyane Française	10 % (1/10)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Eira barabara</i> (tayra)	Guyane Française	71,4 % (5/7)	(de Thoisy <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Cerdocyon thous</i> (Renard crabier)	Bolivie	66,6 % (2/3)	(Fiorello <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Pseudalopex gymnocercus</i> (Renard d'Aszara)		20 % (1/5)	(Fiorello <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Ursus americanus floridanus</i> (Ours noir)	Floride	56,1 % (37/66)	(Dunbar <i>et al.</i> , 1998)

\* Eléphants domestiques et sauvages mélangés.

Ces travaux ont mis en évidence l'infection toxoplasmique de très nombreuses espèces de mammifères sauvages et péri-domestiques. La séroprévalence est faible chez les espèces arboricoles comme certains singes, alors qu'elle est généralement comprise entre 40 et 60 % pour des espèces granivores, insectivores et fouisseuses (Carme *et al.*, 2002a). Une autre étude sérologique en Guyane Française, menée chez 18 espèces sauvages (n=456), a révélé une séroprévalence variant de 0 à 71 % : les animaux terrestres carnivores ou fouisseurs étaient significativement plus infestés que les autres mammifères (de Thoisy *et al.*, 2003). La faible prévalence trouvée chez les rongeurs résulterait de leur régime alimentaire strictement granivore et de leur comportement lors de la prise alimentaire : ils pratiquent un tri qui leur permet d'ingérer moins de terre que des espèces fouisseuses (de Thoisy *et al.*, 2003). Il est à noter qu'en ce qui concerne ces rongeurs, les rares études retrouvant des prévalences supérieures ou égales à 50 % ont été menées dans des régions tropicales humides (Dubey and Frenkel, 1998; Dubey, 2010) : chez deux espèces de *Rattus spp.*, aux Philippines (Salibay and Claveria, 2005), chez des capybaras au Brésil (*Hydrochaeris hydrochaeris* : plus grand rongeur au monde aux mœurs aquatiques) (Truppel *et al.*, 2010; Canon-Franco *et al.*, 2003; Yai *et al.*, 2008), et chez des aulacodes (*Thryonomys swinderianus*) dans le delta du Niger (Arene, 1986) (tableau 2).

### III. 2. 2. Transmission à l'homme et séroprévalence

La prévalence de la toxoplasmose humaine dans une région donnée est le reflet d'une part de la circulation du parasite dans l'environnement (animaux, sols, eaux, végétaux ...) et d'autre part des modes de vie et autres habitudes culturelles (mode d'alimentation), mais aussi des conditions socio-économiques (Bobic *et al.*, 1998; Cook *et al.*, 2000; Buffolano *et al.*, 1996). Ceci explique la diversité des situations qui peuvent être rencontrées, y compris dans une même zone bioclimatique.

#### Transmission à l'homme en zone tropicale humide

##### Contamination par les kystes

La contamination via la consommation de viande peu ou mal cuite semble prédominer dans les régions au mode de vie dit occidental (Europe, Amérique du Nord et certaines zones d'Amérique du Sud). En considérant l'importante circulation du toxoplasme chez les animaux consommés (élevage et chasse) en zone tropicale humide, on aurait pu s'attendre, là aussi, à

ce que cette voie d'acquisition du parasite joue un rôle important. Mais les études semblent démontrer le contraire : les traditions culinaires du monde tropical (viande bien cuite ou bouillie) laissent peu de chances de survie aux kystes de *T. gondii* (Work, 1971; Thimossat, 1985). Il existe pourtant certaines pratiques traditionnelles ou religieuses pouvant être responsables de contamination par la consommation de viande infectée crue ou très peu cuite. Ainsi, hors zone tropicale humide, l'exemple d'un foyer de toxoplasmose aiguë associé à l'ingestion de viande de porc crue lors d'un rite en Corée (Choi *et al.*, 1997) illustre bien ces pratiques socioculturelles dont l'existence en zone tropicale humide présage de risques accrus de contamination (Olusi *et al.*, 1994; Fan *et al.*, 2002; Fan *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2008; Adesiyun *et al.*, 2007; Carme *et al.*, 2002b). Thimossat parle aussi de cuisine traditionnelle expéditive chez les pygmées qui ne permettrait pas d'éliminer totalement le parasite (Thimossat, 1985). Enfin, certains travaux font référence à la « petite chasse » dans les zones rurales d'Afrique équatoriale (Dumas *et al.*, 1990; Thimossat, 1985). Les enfants et préadolescents (entre 7 et 15 ans) vont essentiellement s'alimenter de petits gibiers qu'ils piègent eux-mêmes ou attrapent au lance pierre (rongeurs sauvages, oiseaux). Et leur consommation est généralement réalisée sur place avec une cuisson superficielle. Mais tous ces exemples restent des pratiques isolées et rares pour ces zones. Enfin, on peut se demander si, à l'avenir, la contamination par la viande dans les zones urbanisées ne risque pas de prendre de l'ampleur avec l'influence de plus en plus importante des modes de vie occidentaux et la perte des traditions culinaires locales (Thimossat, 1985).

### **Contamination par les oocystes**

L'ingestion d'oocystes à partir de l'environnement pourrait donc être la voie prépondérante d'acquisition de la toxoplasmose dans les zones tropicales humides, d'autant plus que de nombreuses propriétés de ce milieu semblent favoriser leur persistance dans l'environnement.

Différents travaux mettent bien en relief le rôle joué par le climat dans l'épidémiologie du toxoplasme (Cantella *et al.*, 1974; Rifaat *et al.*, 1975; Wallace, 1976). La température optimale de sporulation se situe aux alentours de 24°C, elle s'arrête au delà de 37°C (Yamaura, 1976). Les oocystes sporulés résistent plusieurs mois jusqu'à 30°C et cela d'autant plus que le pourcentage d'humidité est élevé (Frenkel and Dubey, 1972) (tableau 1). Les conditions climatiques de la zone tropicale humide vont donc être très favorables à la

résistance des oocystes dans l'environnement. De plus, le couvert végétal en milieu forestier (forêt primaire ou secondaire), va jouer un rôle protecteur vis-à-vis de la dessiccation des oocystes. En effet, en conditions naturelles, l'exposition directe des fèces de félinés aux rayonnements solaires accélère la perte d'infectiosité des oocystes (tableau 1) (Yilmaz and Hopkins, 1972; Frenkel *et al.*, 1975).

On peut ajouter le rôle des pluies tropicales fréquentes dans ces zones. En Guadeloupe, il a été montré que la séroprévalence était significativement corrélée avec la pluviométrie annuelle du lieu de résidence (de 48 % pour des précipitations de 100-125 cm/an à 65 % pour 200-225 cm/an) (Barbier *et al.*, 1983). Ces pluies en tombant sur les sols nus soit des zones urbaines (bitumés ou non), soit des zones rurales (souvent en latérite), vont ruisseler et permettre aux oocystes une dissémination encore plus large. On peut ainsi imaginer la contamination de puits (réservoirs) ou de zones où s'abreuvent des animaux. Des études font état d'épidémies ou de cas isolés de toxoplasmose dus à la consommation d'eaux de rivière ou de réservoir contaminées par des oocystes d'origine sauvage ou domestique en zone tropicale humide (Demar *et al.*, 2007; de Moura *et al.*, 2006; Benenson *et al.*, 1982; Balasundaram *et al.*, 2010; Carme and Demar-Pierre, 2006; Vaudaux *et al.*, 2010).

À ces facteurs, s'en ajoutent d'autres inhérents au comportement humain. En effet, ces zones tropicales humides correspondent pour l'essentiel à des pays en voie de développement aux conditions d'hygiène souvent précaires : réseaux d'assainissement des eaux inadéquats, promiscuité avec le sol et les animaux (cuisine à l'extérieur ou sur des sols en terre battue, prise des repas assis à même le sol, divagation des chats...), qui vont favoriser la contamination par les oocystes (Magnaval *et al.*, 1981; Stagno and Thiermann, 1973; Etheredge *et al.*, 2004; Jewell *et al.*, 1973; Nozais *et al.*, 1975). Le rôle que peuvent jouer les conditions d'hygiène a parfaitement été démontré par les travaux de Zigas en Papouasie Nouvelle Guinée, où il a comparé les prévalences dans quatre îles où l'on trouve des conditions d'hygiène et d'habitat différentes (Zigas, 1976). Dans le même ordre d'idée Bahia-Oliveira et collaborateurs ont montré que la prévalence à Rio de Janeiro était liée au niveau socioéconomique des populations ainsi qu'à la qualité des eaux de consommation du lieu de résidence, les deux aspects étant liés (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003). Ils ont ainsi obtenu des prévalences de 84 % chez les populations de plus bas niveau socioéconomique contre respectivement 62 % et 23 % chez les populations de niveau socioéconomique moyen et élevé. Les modes de vie et certaines pratiques culturelles favorisent également la contamination par les oocystes (Etheredge *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2002).

Ce mode de transmission du parasite expliquerait l'acquisition généralement précoce d'une immunité toxoplasmique observée chez les enfants des zones tropicales humides (Duong *et al.*, 1992a; Bahia-Oliveira *et al.*, 2003; Nozais *et al.*, 1975). Ainsi, Nozais et collaborateurs rapprochent de cette infection d'origine tellurique la grande fréquence (93 %) des parasitoses intestinales chez les enfants en zones tropicales (Nozais *et al.*, 1975).

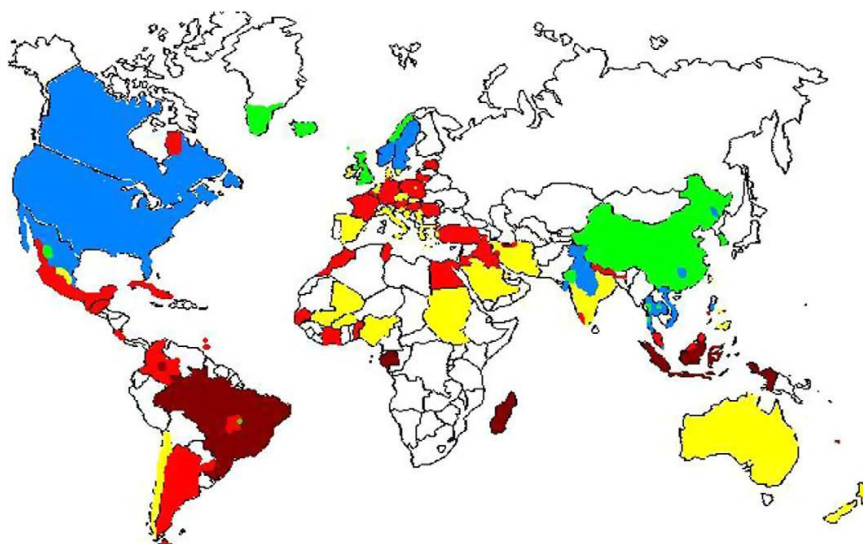
## Séroprévalence humaine

La persistance pendant toute la vie de l'hôte d'une production d'IgG spécifiques après l'infection permet, en mesurant la séroprévalence, d'évaluer le degré d'exposition à la toxoplasmose dans une population donnée. De cette façon, on s'est aperçu au travers de nombreuses études que, bien que la toxoplasmose soit cosmopolite, sa prévalence est très variable selon les zones géographiques : elle diffère d'un pays à l'autre (de 1 à 100 %) et parfois à l'intérieur même d'un pays (Tenter *et al.*, 2000), ceci en rapport avec les différents facteurs que nous venons de voir jusqu'ici (climat, environnement, mode de vie, culture...). Les données examinées reflètent rarement l'échelle nationale de la prévalence, mais plutôt celle des populations échantillonnées (échelles régionales, voire locales). Ces données peuvent être considérées comme comparables si elles sont interprétées comme des évaluations reflétant les niveaux différents de prévalence parmi des populations semblables, c'est-à-dire les populations comparables en ce qui concerne l'âge, les habitudes culturelles, les facteurs exogènes, et les autres facteurs qui peuvent avoir un impact sur l'épidémiologie de la toxoplasmose (Tenter *et al.*, 2000). À l'échelle du globe, les différences de prévalence mettent donc en avant ces différents facteurs épidémiologiques.

La tendance générale donne les séroprévalences les plus élevées dans les pays qui se trouvent de part et d'autre de l'équateur, donc pour l'essentiel en zone tropicale humide (Zuber and Jacquier, 1995; Dupouy-Camet *et al.*, 1993; Tenter *et al.*, 2000). On va ainsi retrouver pour les pays d'Amérique latine des prévalences qui sont dans leur ensemble supérieures ou égales à 50 %, entre 32 % et 92 % (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). Il en est de même en Afrique, où les prévalences les plus fortes se retrouvent dans la zone équatoriale ouest africaine et plus largement dans la zone tropicale humide (39 % à 84 %), avec la majorité des prévalences entre 50 % et 80 % (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). En ce qui concerne le continent africain, ces résultats seront détaillés dans une revue de la littérature présentée dans le chapitre 2. Enfin, en Asie tropicale, les prévalences sont plus contrastées

avec une majorité de pays situés sous la barre des 30% (Inde, Thaïlande, Philippines, Viêtnam et Papouasie-Nouvelle-Guinée) et quelques-uns supérieurs ou égaux à 50 % (Malaisie, Indonésie, Mélanésie, Micronésie et Polynésie) (Tenter *et al.*, 2000; Wallace, 1976; Dubey, 2010). Le très faible nombre de félinés domestiques et sauvages dans certains pays (ex : Thaïlande) pourrait expliquer ces faibles prévalences (Jittapalpong *et al.*, 2010).

En ce qui concerne le reste du monde, les séroprévalences les plus élevées en Europe ont été observées en France et en Allemagne (40 % à 50 %). Ces régions constituent le deuxième « point chaud » de prévalence au niveau mondial avec les régions tropicales. Globalement, la prévalence semble plus élevée en Europe Centrale qu'en Scandinavie (11 % à 28 %) ou au Royaume-Uni, avec des prévalences intermédiaires dans la zone méditerranéenne (20 % à 50 %). Ces tendances européennes semblent se retrouver en Amérique du Nord avec des variations selon les régions (de 5 % à 60 %). Enfin l'Extrême-Orient (Chine, Japon, Corée...), comme la région tropicale humide de cette zone, présente des séroprévalences assez basses (4 % à 39 %) (Zuber and Jacquier, 1995; Dupouy-Camet *et al.*, 1993; Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). Pour illustrer partiellement cette description de la prévalence de la toxoplasmose à travers le monde et la zone tropicale humide, la figure 4 reprend la carte réalisée par Pappas et collaborateurs qui présente le statut mondial de la séroprévalence de *T. gondii* chez les femmes enceintes ou en âge de procréer (15-45 ans), carte obtenue à partir de travaux publiés durant les dix dernières années (Pappas *et al.*, 2009).



**Figure 4** : Distribution mondiale de la séroprévalence de *T. gondii* chez les femmes enceintes ou en âge de procréer (rouge foncé : > 60 %, rouge clair : entre 40 et 60 % inclus, jaune : entre 20 et 40 % inclus, bleu : entre 10 et 20 % inclus, vert ≤ 10 %, blanc : absence de données) (Pappas *et al.*, 2009).

Cette représentation a l'avantage de prendre en compte une partie des spécificités régionales pour chacun des pays considérés. Même si le nombre de pays et d'études pris en compte pour ce travail est limité, cette carte donne une assez bonne image de la séroprévalence à travers le monde et notamment des pays des tropiques humides pour des populations comparables en âge, ce qui n'est pas le cas des études présentées par Dupouy-Camet et collaborateurs et pour Dubey (Dupouy-Camet *et al.*, 1993; Dubey, 2010).

Le tableau 3 résume l'ensemble des études et les prévalences correspondantes concernant des populations de la zone tropicale humide vivant encore de façon traditionnelle en marge des sociétés contemporaines tels les Amérindiens d'Amérique du Sud, les Aborigènes d'Asie tropicale, les Papous d'Océanie (Nouvelle-Guinée) et les Pygmées d'Afrique centrale.

**Tableau 3 : Prévalences et observations épidémiologiques de la toxoplasmose chez les Amérindiens d'Amérique du Sud, les Aborigènes d'Asie tropicale, les Papous d'Océanie et les Pygmées d'Afrique centrale en zone tropicale humide.**

Population	Pays	Groupe ethnique (ou lieu d'origine)	Prévalence % (n/N)*	Chats domestiques	Facteurs épidémiologiques	Remarque	Auteurs
Amérindiens	Brésil	Xavante	100 % (ND)	ND	ND		(Neel <i>et al.</i> , 1968)
	Brésil	Alto Xingu	51,1 % (130/254)	non	poisson +++ gibier +		(Baruzzi, 1970)
	Guyane Française	Wayana, Oyampi et Emerillon	49,6 % (184/371)	non	gibier, variable en fonction des ethnies	apprentissage de l'hygiène et diminution de la prévalence chasse responsable des forts taux	(Fribourg-Blanc <i>et al.</i> , 1975)
	Guyane Française	Wayana, Oyampi et Emerillon	62,2 % (115/185) de 26,5 % à 81,4 %	non	gibier ++ félins sauvages +++	différence selon les villages	(Seguela <i>et al.</i> , 1975)
	Brésil	Kren-Akorore	88,6 % (62/70)	ND	ND	groupe découvert 2ans avant l'étude (très isolé)	(Leser <i>et al.</i> , 1977)
	Brésil	Ticuna	39 % (159/408)	ND	poisson +++		(Lovelace <i>et al.</i> , 1978)
	Brésil	Roraima	64,9 % (24/37)	oui (forte prévalence)	gibier +++ félins sauvages +++	prévalence chez les animaux domestiques et sauvages	(Ferraroni and Marzochi, 1980)
	Équateur	Waorani	42 % (95/226)	ND	ND	acculturation augmentant la prévalence	(Kaplan <i>et al.</i> , 1980)
	Venezuela	Guajibo	88 % (106/121)	ND	ND	infection tellurique dès l'enfance	(de la Rosa <i>et al.</i> , 1999)
	Venezuela	Bari	49,7 (222/447)	oui	sol +++ poisson +++ gibier et viande d'élevage + (bien cuite) eau non filtrée +++ félins sauvages +++	acculturation augmentant la prévalence présence de chiens	(Chacin-Bonilla <i>et al.</i> , 2001)
Brésil	Enawenê-Nawê	80,4 % (119/148)	non	viande rouge – poisson et insecte +++ félins sauvages +++	félins sauvages proches des réservoirs d'eau	(Amendoeira <i>et al.</i> , 2003)	

Population	Pays	Groupe ethnique (ou lieu d'origine)	Prévalence % (n/N)*	Chats domestiques	Facteurs épidémiologiques	Remarque	Auteurs
<b>Amérindiens (suite)</b>							
	Venezuela	Yucpa	62,7 % (59/94)	oui	gibier et viande d'élevage + (bien cuite) eau non filtrée +++ sol +++ félidés sauvages +++	libre circulation des animaux d'élevage infection précoce acculturation augmentant la prévalence	(Diaz-Suarez <i>et al.</i> , 2003)
	Panama	Kuna et Embera	12,4 % (100/760) de 0 à 42,5 %	oui (forte prévalence)	chats domestiques +++ sol +++ chien +++ vecteur mécanique (viande bien cuite)	étude portant sur les enfants de 2 à 12 ans (villages sur le continent et sur des îles) présence de chiens	(Etheredge and Frenkel, 1995; Etheredge <i>et al.</i> , 2004)
	Brésil	Tiriyò, Waiãpi et Enawenê-Nawê	60,4 % (615/1018) (55,6 %, 59,6 % et 80,4 %)	non	insectes +++ gibier et/ou poisson +++ félins sauvages + eau non filtrée +++	différence entre les 3 communautés plus forte prévalence pour celle qui ne consomme pas de viande (découverte 2 ans avant l'étude) acculturation augmentant la prévalence	(Sobral <i>et al.</i> , 2005)
	Brésil	Maku Hupda, Tukano Oriental et Aruak	73,5 % (191/260)	ND	mauvaise hygiène +++ eau non filtrée +++ gibier ++		(Boia <i>et al.</i> , 2008)
<b>Aborigènes</b>							
	Taïwan	Santimen	3 % (4/132)	oui	ND		(Wallace, 1976)
	Malaisie	Orang Asli	19 % (51/268)			population générale de Malaisie 34 % (prévalence)	(Thomas <i>et al.</i> , 1980)
	Malaisie	Orang Asli	17,5 % (ND)	ND	ND		(Sinniah <i>et al.</i> , 1984)
	Malaisie	Orang Asli	10,6 % (44/415)	ND	sol +++		(Hakim <i>et al.</i> , 1994)
	Taïwan	Atayal	21,8 % (92/422)	ND	gibier ++	chiens 19,6 % (10/51) rats sauvages 7,7 %	(Fan <i>et al.</i> , 1998a; Fan <i>et al.</i> , 1998b)
	Taïwan	Atayal et Paiwan	23,7 % (246/1039)	non	rat, cochon sauvage et chèvre +++ crue ou peu cuite ++ eau non filtrée +++	présence de chiens	(Fan <i>et al.</i> , 2002)
	Thaïlande	Akka et Yau	26,4 % (102/386) 9,1 % 37,9 %	ND	gibier et viande d'élevage +++ crue +	aborigènes de Chine réfugiés en Thaïlande différence entre ethnies	(Fan <i>et al.</i> , 2003)
	Taïwan	Atayal, Bunun, Amis, Yami et Palwan	40,6% (99/244)*	oui	crue ou peu cuite ++ eau non filtrée +++ sol +++		(Lin <i>et al.</i> , 2008)
<b>Papous</b>							
	Papouasie Nouvelle Guinée	Kitawa	43 % (52/120)	ND	ND	comparaison à des groupes contrôle d'origines géographiques différentes	(Agmon-Levin <i>et al.</i> , 2009)
<b>Pygmées</b>							
	République Centrafricaine	Babinga	39,8 % (191/480)	non	insectes, gibier et viande d'élevage +++ peu cuit + félidés sauvages +++	présence de chiens	(Berengo <i>et al.</i> , 1974)

ND pour non défini.

\* « n » représente le nombre d'individus séropositifs et « N » l'effectif total de la population d'étude.

On peut ainsi voir que le toxoplasme circule aussi dans des populations qui sont principalement isolées des pratiques de l'élevage et de la présence du chat domestique. De forts taux ont même été trouvés chez des populations qui en plus de l'absence des facteurs précédents, ne mangeaient pas de viande (Sobral *et al.*, 2005). Ceci montre l'importance du

réservoir tellurique et des félins sauvages dans l'épidémiologie de la toxoplasmose de ces communautés.

Les études de séroprévalence chez les Amérindiens semblent montrer que ces prévalences dépendent des conditions sanitaires et des pratiques alimentaires. Cependant, certaines des prévalences importantes sont aussi souvent associées au degré d'acculturation grandissant dans ces populations et particulièrement chez les Amérindiens et les Pygmées (Kaplan *et al.*, 1980; Chacin-Bonilla *et al.*, 2001; Diaz-Suarez *et al.*, 2003; Sobral *et al.*, 2005).

Curieusement, les prévalences chez les Aborigènes d'Asie tropicale sont faibles comparées à celles des autres populations, rejoignant les niveaux de prévalence décrits précédemment pour la population générale de ces régions. Excepté une étude réalisée à Taïwan (40,6 %) (Lin *et al.*, 2008) où le taux de prévalence est comparable aux 43 % trouvés chez des Papous de l'île de Kitava (Papouasie Nouvelle Guinée) (Agmon-Levin *et al.*, 2009), le reste des prévalences rapportées d'Asie tropicale ne dépassent pas les 30 %, alors même que certaines études mettent en évidence la pratique fréquente de consommation de viande crue ou peu cuite dans certaines de ces communautés (Fan *et al.*, 2002; Fan *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2008). Le faible nombre de félinidés domestiques et sauvages dans ces pays pourrait aussi expliquer les faibles prévalences de ces communautés. Aucun félinidé sauvage n'a été recensé dans ces études, contrairement à celles traitant des Amérindiens et des Pygmées pour lesquels le cycle selvatique du toxoplasme semble important.

En conclusion sur cette partie, il ne fait aucun doute que, globalement, la toxoplasmose est très répandue dans l'ensemble de la population humaine avec de réelles différences d'exposition selon les pays et plus précisément selon les régions. Pour les régions tropicales humides, les forts taux observés sont la conséquence du climat, du niveau socioéconomique de ces populations et des habitudes culturelles. Cependant, les prévalences plus contrastées et même faibles des régions d'Asie tropicale relativisent ces causes.

### III. 3. Diversité génétique de *Toxoplasma gondii*

#### III. 3. 1. Outils d'analyses

De nombreux marqueurs moléculaires ont été élaborés pour mesurer la diversité génétique de *T. gondii*. Les isoenzymes ont été les premiers outils qui ont permis de subdiviser les variations de 35 isolats en 4 principaux groupes de zymodèmes (Dardé *et al.*, 1992; Dardé *et al.*, 1988) tout en montrant une relation claire entre le génotype et le phénotype de ces souches. Les premières études génotypiques (Sibley and Boothroyd, 1992) ont analysé 28 isolats sur un polymorphisme nucléotidique simple de gènes codant pour des protéines connues. Elles ont également permis de constater que les isolats considérés comme virulents formaient un seul groupe. La mise au point de nouveaux marqueurs, SNPs (Su *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2005) ou microsatellites (Ajzenberg *et al.*, 2002a; Blackston *et al.*, 2001) a permis une meilleure résolution des relations entre les souches :

- les marqueurs SNPs pour « Single Nucleotide Polymorphism » correspondent à des mutations ponctuelles du génome (groupe le plus abondant de marqueurs génétiques pour ce parasite). Ces SNP peuvent être étudiés par PCR-RFLP (« Restriction Fragment Length Polymorphism »), lorsqu'ils entraînent l'apparition ou la disparition d'un site de restriction. La PCR-RFLP de gènes à copie unique est la méthode la plus largement utilisée pour typer les isolats de *T. gondii* (Sibley and Boothroyd, 1992; Howe and Sibley, 1995; Howe *et al.*, 1997; Binas and Johnson, 1998; Su *et al.*, 2006). Toutefois, cette technique ne permet que de détecter la présence ou l'absence d'un site de restriction. Elle ne permet pas de détecter des mutations présentes éventuellement sur le gène en dehors du site de restriction. Le manque de résolution de chacun des marqueurs peut être compensé par un nombre élevé de marqueurs analysés. Actuellement, pour *T. gondii*, un génotypage reposant sur l'utilisation de 9 à 11 marqueurs PCR-RFLP est couramment pratiqué (Su *et al.*, 2006). Le séquençage multilocus (MLST pour « Multilocus Sequence Typing ») est la technique de référence pour un typage optimal. Mais sa lourdeur la rend peu propice aux études épidémiologiques. Pour *T. gondii*, il a été utilisé pour des études phylogénétiques sur un nombre restreint de souches déjà caractérisées par d'autres méthodes (Sibley and Ajioka, 2008; Khan *et al.*, 2007).

- les marqueurs microsatellites ou STR (« Simple Tandem Repeats ») sont des fragments d'ADN composés de répétitions en tandem (jusqu'à plusieurs dizaines de fois) dont

le motif de base est très court : de 1 à 6 nucléotides. Ces éléments sont largement répandus dans le génome des eucaryotes. L'analyse du polymorphisme de taille (analyse de fragment) de ces marqueurs est la technique la plus employée pour leur caractérisation. Le polymorphisme observé réside dans la variabilité du nombre de répétitions en tandem des microsatellites, il est analysé en terme de longueur : nombre de paires de bases. Un séquençage peut être réalisé pour confirmer la nature des bases qui forment le motif.

Les microsatellites sont des marqueurs neutres, non soumis à la pression de sélection. Ils sont habituellement considérés comme les segments les plus polymorphes d'un génome, caractérisés par une évolution rapide (« horloge moléculaire rapide ») (Tibayrenc, 2005; Tibayrenc, 1998). Chez *T. gondii*, 17 marqueurs microsatellites ont été utilisés pour le typage des isolats (Ajzenberg *et al.*, 2002a; Ajzenberg *et al.*, 2005; Blackston *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2010). L'association de plusieurs marqueurs microsatellites permet d'atteindre un fort pouvoir discriminant, autorisant la distinction quasi-individuelle des isolats (Blackston *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2002a; Lehmann *et al.*, 2004; Lehmann *et al.*, 2003; Sreekumar *et al.*, 2003). Cependant, chez ce parasite, certains microsatellites ont un polymorphisme modéré (Costa *et al.*, 1997; Ajzenberg *et al.*, 2004; Ajzenberg *et al.*, 2005). L'association de ces microsatellites relativement stables et de microsatellites plus polymorphes permet à la fois d'établir une corrélation avec les résultats du typage par SNPs ou allozymes et d'obtenir un meilleur pouvoir de résolution, ce qui en fait des marqueurs idéaux dans l'étude de la structure de la population de *T. gondii*. Les microsatellites sont devenus des marqueurs incontournables dans l'étude du polymorphisme génétique des eucaryotes, très utilisés dans les études multilocus de génétique des populations.

Quels que soient les marqueurs utilisés, le typage génétique doit être multilocus, c'est-à-dire reposer sur un nombre de loci suffisant pour permettre la détection de recombinaisons alléliques ou d'allèles inhabituels (Dardé, 2004).

### **III. 3. 2. Structure de la population de toxoplasmes**

#### Diversité globale

Les études portant majoritairement sur des isolats originaires d'Europe ou des USA regroupent ces isolats en 3 géotypes multilocus principaux : Types I, II et III, qui équivalent à des lignées clonales, stables dans le temps et l'espace (Ajzenberg *et al.*, 2002a; Howe and

Sibley, 1995). Cette structure clonale témoigne d'un faible taux de recombinaison génétique, *a priori* étonnant pour un organisme à reproduction sexuée. Ce paradoxe trouve des explications biologiques dans les possibilités de transmission entre hôtes intermédiaires (ne faisant intervenir que des divisions mitotiques) et d'auto-fertilisation chez les félinés (entre gamètes mâles et femelles d'une même souche et donc au génotype identique). Cette structure clonale n'exclut pas la possibilité de transferts génétiques occasionnels entre les trois principales lignées, comme en témoigne l'existence d'isolats présentant un mélange d'allèles de Type I, II et III (Howe and Sibley, 1995; Boyle *et al.*, 2006; Lindström Bontell *et al.*, 2009). Ces génotypes recombinants attestent l'existence d'une sexualité, mais les recombinaisons issues de cette sexualité seraient beaucoup trop minoritaires pour pouvoir modifier la structure globalement clonale de la population de *T. gondii*, du moins dans la population étudiée majoritairement composée d'isolats du cycle domestique des USA et d'Europe (Ajzenberg *et al.*, 2005).

En marge de ces isolats recombinants qui sont issus du même pool de gènes que les trois types majeurs, il existe des isolats dit atypiques (Grigg *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2002a). Ces isolats ont un génotype complexe, avec des allèles classiques I, II ou III pour certains marqueurs et d'autres uniques, non rencontrés parmi les isolats des trois lignées clonales pour d'autres marqueurs. La diversité allélique et génotypique de ces isolats atypiques est beaucoup plus importante que celle observée parmi les trois lignées clonales (Grigg *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2004). Ceci suggère que ces isolats atypiques sont issus d'un pool de gènes différents, même si la présence d'allèles de Type I, II ou III dans leurs génotypes montre qu'il y a eu rencontre avec les trois lignées clonales par recombinaisons successives (Grigg *et al.*, 2001; Su *et al.*, 2003). Ces divers isolats atypiques sont plus volontiers retrouvés dans des biotopes éloignés de l'influence humaine et de celle des chats domestiques. Ces souches inhabituelles suggèrent que les échanges sexuels par recombinaison seraient plus fréquents parmi les isolats du cycle sauvage du toxoplasme (ex : forêt amazonienne en Guyane Française) et dans des régions où l'élevage récent ou non intensif d'animaux domestiques est associé à une domestication récente des chats (ex : Brésil, Afrique centrale et de l'Ouest, Caraïbes) (Ajzenberg *et al.*, 2004). Ainsi, la sous-représentation d'isolats du cycle sauvage ou de régions tropicales pourrait expliquer la prédominance des trois lignées clonales dans toutes les études précédentes. L'existence d'un réservoir sauvage de la biodiversité du toxoplasme semble donc apparaître au fur et à mesure des isollements de souches en provenance de régions reculées telle que la partie amazonienne de l'Amérique du Sud ou provenant d'animaux sauvages.

Les génotypes « classiques » I, II et III seraient, au moins en Europe et aux Etats-Unis, des lignées particulièrement bien adaptées à l'homme et aux animaux domestiques, sources habituelles de la contamination humaine (chat, mouton, porcs, volaille ...) d'où la prédominance de certains de ces trois types dans ces régions.

## Histoire évolutive

Des tentatives visant à reconstruire l'histoire évolutive de ces souches ont été réalisées. Elles ont permis d'établir la divergence des trois lignées clonales aux alentours de 10.000 ans (Su *et al.*, 2003; Boyle *et al.*, 2006) tout en proposant que la base de leur succès à travers le monde n'était autre que l'adaptation à la transmission orale entre hôtes intermédiaires. Toutefois cette explication reste à relativiser, puisque l'expansion de ces souches coïncide aussi avec celle de l'homme et des espèces domestiquées qui, en changeant l'environnement du toxoplasme, peuvent également avoir aidé au développement de ces trois lignées. La domestication du chat daterait d'ailleurs de cette période de 10 000 ans (O'Brien *et al.*, 2008) ; le plus ancien fossile de chat supposé apprivoisé ou domestiqué, datant de 9 500 ans a été trouvé à Chypre (Vigne *et al.*, 2004).

Une autre analyse plus poussée intégrant des données supplémentaires à partir de souches d'Amérique du Nord et du Sud s'est intéressée à la séparation nord-sud de ces souches du continent américain (Khan *et al.*, 2007). Onze haplotypes englobant les trois grandes lignées clonales et d'autres clones d'Amérique du Sud, ont ainsi été différenciés. Ces haplotypes montrent une forte ségrégation géographique entre le Nord et l'Amérique du Sud. Certains de ces génotypes possèdent des polymorphismes uniques à certains loci, qui n'ont été retrouvés dans aucune des trois lignées majeures et les analyses phylogénétiques ont montré que ces génotypes ne peuvent être reliés à aucune de ces trois lignées. Ils correspondent donc aux souches qui ont été désignées comme atypiques (Ajzenberg *et al.*, 2004). À partir de là, la scission entre le Sud et le Nord de l'Amérique a été estimée à 1 million d'années (Sibley and Ajioka, 2008; Khan *et al.*, 2007). Cette divergence est cependant discutée. Lehmann et collaborateurs émettent l'hypothèse que les souches d'Amérique du Nord seraient moins anciennes que les souches plus diversifiées d'Amérique du Sud et donc que cette dernière pourrait être le lieu d'origine du toxoplasme (Lehmann *et al.*, 2006). Cette période coïncide avec la reconnexion du pont terrestre du Panama après une séparation de plus de 50 millions d'années (Marshall *et al.*, 1982). Presque simultanément, des membres de la famille des félins, venus d'Amérique du Nord, sont passés en Amérique du Sud pour ensuite subir une spéciation

rapide aboutissant la grande diversité des félidés qui y est observée actuellement (Johnson *et al.*, 2006). Ces deux éléments sont repris par Sibley et Ajioka pour suggérer que *T. gondii* aurait suivi les flux migratoires des félidés et une fois géographiquement isolé, aurait subi la dérive génétique pour aboutir à la diversité qu'on lui connaît actuellement dans ces régions (Sibley and Ajioka, 2008).

Quoi qu'il en soit, il serait intéressant d'élargir ces modèles à l'ensemble du globe et d'y intégrer l'hypothèse d'une coévolution entre *T. gondii* et ses hôtes définitifs, les félidés, qui se vérifie chez un certain nombre de couples hôte-parasite (Nieberding and Olivieri, 2007; Martinez-Hernandez *et al.*, 2009; Hume *et al.*, 2003; Barrett *et al.*, 2008; Falush *et al.*, 2003; Hoberg, 2006; Tanabe *et al.*, 2010). De plus, si l'on regarde les dates approximatives des ancêtres des félidés et du toxoplasme (annexe 2. A), on arrive autour de 11 à 12 millions d'années (Johnson *et al.*, 2006; Su *et al.*, 2003), ce qui présage d'une évolution commune ou tout du moins partielle du toxoplasme et des félins. Enfin, la mise en exergue de la manipulation du comportement par le toxoplasme notamment chez certains rongeurs vis-à-vis de leurs prédateurs, hôtes définitifs du toxoplasme, pourrait être une preuve de cette coévolution (Webster, 1994; Webster, 2001; Berdoy *et al.*, 2000; Webster *et al.*, 1994; Berdoy *et al.*, 1995; Lamberton *et al.*, 2008; Vyas *et al.*, 2007a; Vyas *et al.*, 2007b; Kannan *et al.*, 2010).

Tout ceci nous amène à la notion de répartition des génotypes selon les zones géographiques et les biotopes. Cette notion est entièrement dépendante des collections d'isolats. Ainsi, on connaît une part de la répartition des types I, II et III et des isolats atypiques ou recombinants pour l'Europe, l'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud, mais très peu de données existent pour l'Afrique et celles concernant l'Asie ou l'Océanie ne sont qu'au stade de prémices.

## Distribution géographique

### **Zones autres que les tropiques humides**

En Europe, la population de *T. gondii* est largement clonale avec une suprématie d'un seul génotype, le Type II sur tous les autres génotypes, et ce, dans toutes les niches écologiques étudiées aussi bien domestiques que sauvages (Ajzenberg *et al.*, 2002b; Aubert *et al.*, 2010; Schares *et al.*, 2008; Nowakowska *et al.*, 2006; Morisset *et al.*, 2008; Dubey *et al.*,

2008a). On peut noter la présence peut-être plus fréquente du Type III dans des pays du sud de l'Europe (Portugal, Chypre) (Dubey *et al.*, 2006d; de Sousa *et al.*, 2006; Messaritakis *et al.*, 2008; Antoniou *et al.*, 2007). Le Type I est très rarement rencontré (Ajzenberg *et al.*, 2009; Ajzenberg, 2010) et se retrouverait essentiellement sur le continent américain. On peut vraisemblablement étendre ce modèle à tous les pays d'Europe avec élevage ancien et intensif d'animaux de rente (Ajzenberg *et al.*, 2004), associé à une domestication ancienne du chat domestique. Toutefois, une étude récente réalisée en Allemagne portant sur 68 isolats obtenus à partir d'oocystes de fèces de chat a mis en évidence, à côté d'une majorité d'isolats de Type II, un isolat de Type I, un isolat de Type III et surtout 3 isolats recombinants (I/II et II/III) (Herrmann *et al.*, 2010). De même, Dubey et collaborateurs avaient déjà décrit 2 souches polonaises recombinantes I/II/III (Dubey *et al.*, 2008a).

L'Amérique du Nord est classiquement dominée par le Type II avec là encore la présence occasionnelle du Type III (Velmurugan *et al.*, 2009). Cependant, des études récentes tentent à montrer l'existence plus fréquente que ce que l'on pensait de souches atypiques dans le réservoir sauvage et même domestique (Dubey *et al.*, 2008b; Dubey *et al.*, 2010b; Dubey *et al.*, 2008c; Velmurugan *et al.*, 2009). L'introduction plus récente de l'agriculture et de la domestication du chat en Amérique du Nord pourrait expliquer la plus grande diversité observée par rapport à l'Europe (Beck *et al.*, 2009).

La connaissance de la biodiversité des souches de toxoplasme dans le reste du monde commence à émerger.

De façon anecdotique, une souche de Type II a été retrouvée en Arctique (Prestrud *et al.*, 2008a; Prestrud *et al.*, 2008b).

En Iran, ce sont les Types II et III qui ont été retrouvés (Zia-Ali *et al.*, 2007).

En Australie, la présence du Type II (Al-Qassab *et al.*, 2009) pourrait s'expliquer par une introduction récente du toxoplasme coïncidant avec l'arrivée des premiers colons européens et de leurs chats domestiques il y a 300 ans (Parameswaran *et al.*, 2010). Depuis, ces souches et d'autres auraient subi une dérive génétique qui a abouti à l'existence de souches divergentes du Type II (large majorité de locus de Types II et quelques locus atypiques), décrites récemment chez des marsupiaux sauvages (Parameswaran *et al.*, 2010). Cette dernière étude fait aussi état de l'existence de souches de Type I en Australie.

Dans les zones non tropicales humides d'Amérique du Sud et notamment en Argentine et au Chili, il a été recensé des souches de Type II et III (Dubey *et al.*, 2006b; Moré *et al.*, 2010; Basso *et al.*, 2009).

Enfin, l'Asie est d'un intérêt particulier pour l'étude du toxoplasme, car elle est considérée comme l'origine géographique des félidés (Johnson *et al.*, 2006), alors que celle des chats domestiques serait plus eurasiatique (O'Brien *et al.*, 2008). Les premières données en provenance d'Asie révèlent une diversité génétique limitée à certains génotypes qui sont aussi communs à l'Amérique du Nord et du Sud (Dubey *et al.*, 2007g; Quan *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2009). Les Types I et II y ont été retrouvés, associés à 3 autres génotypes mixtes (II/III) dont l'un (génotype #3) semble prédominer en Asie (Zhou *et al.*, 2009). Ce dernier a préalablement été décrit en Chine (Dubey *et al.*, 2007g), au Sri Lanka (Dubey *et al.*, 2007e) et au Viêt Nam (Dubey *et al.*, 2007c), mais aussi sur les continents américains, aux USA (Dubey *et al.*, 2008c), en Colombie (Dubey *et al.*, 2007b) et au Brésil chez des poulets de l'état du Pará (Dubey *et al.*, 2007f).

### Zones tropicales humides

Il semble qu'il y ait une plus grande diversité dans cette zone comme le montre une bonne partie des études réalisées en Amérique du Sud (Guyane Française, Brésil, Costa Rica, Colombie), avec de nombreux isolats atypiques et recombinants, notamment I/III. Ainsi le déséquilibre de liaison trouvé plus faible dans une population d'isolats du Brésil comparé à celui d'une population nord-américaine pourrait indiquer un degré plus élevé de recombinaisons entre les souches de ces régions tropicales (Lehmann *et al.*, 2004).

En Amérique centrale et du Sud, les Types I, II et III sont rares (Dubey *et al.*, 2008d; Dubey *et al.*, 2010a) et sont remplacés par différents haplogroupes, certains étant considérés comme clonaux : BrI, BrII, BrIII et BrIV (Pena *et al.*, 2008). Parmi les 11 haplotypes proposés par (Khan *et al.*, 2007) (Cf. Histoire évolutive p 42), 6 sont présents en Amérique du Sud (haplotypes 4, 5, 6b, 8, 9 et 10). Ces groupes ont pu être définis grâce aux nombreuses études qui ont échantillonné ces régions d'Amérique du Sud, ce qui n'empêche pas encore actuellement de trouver de nouveaux génotypes (Dubey *et al.*, 2010a; Ragozo *et al.*, 2010). La plus grande diversité observée en Amérique du Sud et la plus notable se trouve dans la région amazonienne (Dubey *et al.*, 2007a; Ajzenberg *et al.*, 2004; Carme *et al.*, 2009a), avec une grande quantité de souches atypiques en Guyane Française inféodées au milieu sauvage.

Dans les îles des Caraïbes qui présentent aussi un climat tropical humide, (Dubey *et al.*, 2009; Dubey *et al.*, 2007d) ont relevé la présence des Types I, II et III associée à des génotypes non archétypaux sur les îles de Saint-Kitts-et-Nevis, et de Mona Island (Puerto Rico). De même, Ajzenberg et collaborateurs font état d'un même génotype recombinant I/III

avec un locus atypique (*Caribbean I*) isolé chez des patients de l'île de la Guadeloupe ou de la Martinique. Il propose ce génotype comme pouvant être une lignée majeure dans les Caraïbes (Ajzenberg *et al.*, 2009).

En ce qui concerne l'Afrique tropicale, Velmurugan et collaborateurs, [Kenya, Nigeria, Congo, Mali, Burkina Faso, et Ghana ; (Velmurugan *et al.*, 2008)], et Linström et collaborateurs, [Ouganda ; (Lindström *et al.*, 2008)] suggèrent que, comme en Europe et aux USA, les Types I, II et III circuleraient avec de possibles recombinants II/III (Lindström Bontell *et al.*, 2009), bien que des génotypes différents des précédents aient été rapportés (Ajzenberg *et al.*, 2009; Lehmann *et al.*, 2006). Ainsi quelques isolats obtenus à partir de patients immunodéprimés d'Afrique tropicale (Sénégal, Cameroun, Côte d'Ivoire, Ghana, République Centrafricaine, République Démocratique du Congo, Guinée et Bénin), indiquent la circulation en Afrique de génotypes recombinants I/III et I/II/III (Ajzenberg *et al.*, 2004; Ajzenberg *et al.*, 2009), désignés respectivement sous les termes d'*Africa 1* et *Africa 2*. Il se peut que le génotype *Africa 1*, qui a principalement été détecté chez des patients immunodéprimés d'Afrique de l'Ouest et centrale soit une lignée clonale (Ajzenberg *et al.*, 2009). Le fait de retrouver ce même génotype I/III dans plusieurs isolats brésiliens plaide en faveur de cette hypothèse (Pena *et al.*, 2008; Ajzenberg, 2006).

Dans l'Océan Indien, sur l'île de la Réunion, une souche atypique a été décrite comme étant un génotype atypique avec des allèles de Type II et III (Marie-Laure Dardé, CRB *Toxoplasma*, communication personnelle).

Enfin, en Asie tropicale, le peu d'études effectuées confirment ce qui a été observé en Chine (Zhou *et al.*, 2009) avec une diversité légèrement plus grande. Au Sri Lanka (Dubey *et al.*, 2007e), le Type II est rapporté associé à 3 nouveaux génotypes dont le génotype #3 décrit plus tard par Zhou et collaborateurs (Zhou *et al.*, 2009). Il pourrait peut-être lui aussi former une lignée clonale majeure au vu de sa représentation en Asie et sur le continent américain (Zhou *et al.*, 2009). Au Vietnam, Dubey et collaborateurs ont trouvé les deux mêmes génotypes qu'en Chine dont le génotype #3 (Dubey *et al.*, 2007g; Dubey *et al.*, 2008a; Dubey *et al.*, 2007c). Enfin, une souche recombinante I/III a été décrite en Indonésie (Dubey *et al.*, 2008a). Comme l'Afrique tropicale, l'Asie tropicale reste encore à explorer, notamment en ce qui concerne la faune sauvage. En Nouvelle Calédonie, ce sont deux souches de Type III qui ont été décrites (Marie-Laure Dardé, CRB *Toxoplasma*, communication personnelle).

On voit ainsi, que les trois lignées, Type I, II et III, gardent une répartition assez restreinte et ne sont au final sans doute que des lignées majeures parmi tant d'autres en cours

de caractérisation ou restant à découvrir.

De façon générale, il est difficile de comparer toutes ces études de génotypage entre elles, en raison de l'utilisation de multiples marqueurs souvent différents d'une étude à l'autre. Il sera donc nécessaire à l'avenir d'envisager une synthèse globale de toutes ces souches, qui utilisera l'ensemble des marqueurs (RFLP, microsatellites, séquençage) et qui permettra de résoudre en partie la structure globale du toxoplasme. De plus, il ne faut pas perdre de vue que l'analyse de cette structure géographique reste actuellement préliminaire et n'est pas figée, dépendant des découvertes de nouveaux isolats à venir et de la qualité de l'échantillonnage prenant en compte les différents milieux sauvages et domestiques. Cette approche a jusqu'ici été peu abordée.

### **III. 4. Corrélation entre génotype et pathogénicité expérimentale**

Au vu de la diversité génétique du toxoplasme que nous venons de voir, il est normal de se poser la question d'un lien possible entre les différents génotypes observés et leur phénotype de pathogénicité chez leurs hôtes.

Il est tout d'abord fondamental de définir la virulence d'une souche pour un hôte donné. En effet la « virulence » d'un parasite est observée et estimée à travers un hôte, ce que l'on observe n'est qu'une expression de la virulence pour cet hôte et ne peut donc être généralisé à d'autres hôtes, ni être interprété comme la virulence intrinsèque du parasite. C'est pourquoi nous précisons toujours la « virulence » pour un hôte donné.

La virulence des trois types a ainsi été caractérisée chez la souris. Les différences de virulence chez la souris sont nettes lorsque l'on compare les isolats de Type I avec ceux de Type II. Ces derniers sont avirulents chez la souris, entraînant une toxoplasmose chronique totalement inapparente avec présence de kystes dans les tissus des souris. Les isolats de Type I, au contraire, sont virulents et entraînent une toxoplasmose aiguë avec mort de 100 % des souris en moins de 10 jours après inoculation. En ce qui concerne les isolats de Type III, ceux-ci présentent une virulence variable : soit ils entraînent une toxoplasmose chronique avirulente comme les isolats de Type II, soit ils présentent une virulence intermédiaire entraînant une toxoplasmose subaiguë avec mort d'une partie des souris 10 à 30 jours après

l'inoculation et mort des autres souris 3 à 6 mois plus tard dans un tableau d'encéphalite (Ajzenberg, 2006).

En ce qui concerne les souches atypiques ou recombinantes, qui sont retrouvées notamment dans les tropiques humides, tous les phénotypes de virulence chez la souris ont été observés pour les souches recombinantes (virulent, avirulent et intermédiaire), alors que les souches atypiques présentent en général un phénotype de virulence intermédiaire, dépendant de la dose inoculée, mais pouvant aller jusqu'à la mort de la souris entre 10 et 15 jours après inoculation. Ces différences dans la virulence pour la souris et dans d'autres propriétés biologiques reflèteraient des différences dans la combinaison des gènes dont chaque génotype a héritée (Grigg and Suzuki, 2003).

## **IV. ASPECTS CLINIQUES DE LA TOXOPLASMOSE HUMAINE EN ZONE TROPICALE HUMIDE**

---

Le polymorphisme clinique de la toxoplasmose humaine est très large, allant de formes totalement asymptomatiques à des formes graves potentiellement mortelles. Parmi les facteurs influençant la sévérité des formes cliniques, l'hôte joue un rôle fondamental. Ainsi, la sévérité d'une toxoplasmose est étroitement corrélée au statut immunitaire de l'hôte ; de plus, dans le cas des toxoplasmoses congénitales, la date de contamination fœtale joue un rôle dans la gravité ou non des symptômes (Ajzenberg *et al.*, 2002b; Ajzenberg *et al.*, 2009). Il existe cependant des cas où le rôle de facteurs parasitaires, et notamment le génotype de la souche, peut être fortement suggéré (Boothroyd and Grigg, 2002). Etant donné la répartition géographique des génotypes, on peut se poser la question d'une expression clinique différente selon les continents.

En raison du rôle majeur de l'état immunitaire, ce sont chez des patients immunocompétents que l'influence de la souche est la plus évidente. Ainsi, en zone tropicale, et notamment en Amérique du Sud, des aspects cliniques particuliers de la toxoplasmose ont été décrits, que l'on suppose en relation avec des génotypes différents de ceux qui circulent en Europe. Le rôle du génotype dans la survenue de formes disséminées potentiellement mortelles en Guyane Française chez l'immunocompétent a été évoqué (Bossi *et al.*, 1998; Dardé *et al.*, 1998; Carme *et al.*, 2002b; Carme *et al.*, 2009b). Des cas similaires ont été évoqués au Brésil (De Salvador-Guillouët *et al.*, 2006; Leal *et al.*, 2007) et dernièrement au

Pérou chez un militaire de retour de mission en forêt amazonienne (Nunura *et al.*, 2010). Au Brésil comme en Amérique du Nord, des formes sévères ou cliniquement atypiques de toxoplasmose oculaire acquise pourraient être associées à certains génotypes, notamment types I et recombinants (Grigg *et al.*, 2001; Vallochi *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2006). Ces particularités dans la virulence chez l'homme semblent aussi se retrouver en Afrique tropicale. Une étude épidémiologique comparant l'incidence des toxoplasmoses oculaires chez des patients nés en Grande-Bretagne (quelle que soit leur origine ethnique) et en Afrique de l'Ouest fait apparaître une incidence 100 fois plus élevée des toxoplasmoses oculaires chez les patients africains (Gilbert *et al.*, 1999). Elle pourrait s'expliquer par la circulation en Afrique de génotypes proches de ceux circulant au Brésil.

En ce qui concerne la toxoplasmose congénitale dans ces zones des tropiques humides, il est important de faire la différence entre les formes symptomatiques graves liées à un génotype particulier de la souche infectante, de celles dues à des contaminations materno-fœtales précoces. Mais ceci reste difficile à évaluer en raison de l'absence la plupart du temps de dépistage pergestationnel systématique dans les tropiques. Les données françaises (Ajzenberg *et al.*, 2002b) montrent que les rares cas de toxoplasmoses congénitales sévères après infection tardive en cours de grossesse sont souvent dus à des génotypes atypiques, suite à des infections acquises en milieu tropical. Gilbert et collaborateurs montrent que *T. gondii* cause de plus graves atteintes oculaires chez les enfants infectés congénitalement au Brésil qu'en Europe (Gilbert *et al.*, 2008). Ces différences marquées dans la fréquence, la taille et la multiplicité des lésions de rétinobulbochoroïdite seraient dues à une infection par des génotypes plus virulents du parasite qui prédominent au Brésil. De plus, plusieurs cas de réinfection potentielle pendant la grossesse chez des femmes ayant une immunité anti-toxoplasmique ancienne (préalable à la grossesse) ont déjà été décrits. Dans ces cas très particuliers, les auteurs ont parfois évoqué le rôle du génotype, mais aussi celui de l'origine géographique particulière de la souche infectante parmi d'autres facteurs parasitaires (Lebas *et al.*, 2004). Elbez-Rubinstein et collaborateurs ont ainsi décrit un cas de toxoplasmose congénitale avec réinfection potentielle durant la grossesse chez une femme française ayant mangé de la viande de cheval crue, en provenance probable d'Amérique du Sud (Elbez-Rubinstein *et al.*, 2009). Cette même étude récapitule pour les dix dernières années tous les cas de réinfection lors de grossesse chez des mères anciennement immunisées. Sur 6 études recensées, 4 présentaient une origine d'infection potentielle en zone tropicale humide (Haïti, Guyane Française, Angola et Brésil) (Kodjikian *et al.*, 2004; Lebas *et al.*, 2004; Hennequin *et al.*, 1997; Elbez-

Rubinstein *et al.*, 2009). Ces femmes ont donc pu avoir été infectées par des souches plus virulentes pour l'homme qui sont plus fréquentes dans ces zones.

Chez l'immunodéprimé, 30-50 % des patients VIH+ ayant une immunité toxoplasmique ancienne développent une toxoplasmose cérébrale en cas d'immunodépression profonde (Luft and Remington, 1992). Ce qui n'est pas négligeable en zone tropicale humide si l'on considère que les pays de cette zone présentent des taux élevés de personnes infectées par le VIH [entre 0,3 % et 6,4 % de la population en 2007 (ONUSIDA, 2008)]. Cependant, alors que nous venons de voir qu'une corrélation semble possible entre la toxoplasmose sévère chez les patients immunocompétents et dans les cas de toxoplasmose congénitale, avec un génotype atypique de la zone tropicale humide, cela ne semble pas être le cas chez les patients immunodéprimés. Ajzenberg et collaborateurs n'ont ainsi pas trouvé de différence clinique entre des patients immunodéprimés qui avaient réactivé une toxoplasmose suite à une primo-infection avec une souche de Type II acquise en Europe ou avec une souche non-Type II acquise en Afrique ou en Amérique du Sud (ex : génotypes *Africa 1* et *2* ou *Caribbean 1*) (Ajzenberg *et al.*, 2009).

## V. CONCLUSION ET OBJECTIFS

---

Nous avons pu ainsi dégager les points essentiels à retenir concernant les caractéristiques du toxoplasme et de son épidémiologie en milieu tropical.

- *Toxoplasma gondii* a la capacité d'infecter un très grand nombre d'espèces animales homéothermes au travers d'un cycle qui se caractérise par la souplesse de ses modes de transmission, avec une résistance des formes infectantes aussi bien dans l'environnement que chez les hôtes. Et ceci à tel point que le cycle sexué en est rendu non obligatoire chez ce parasite. Le toxoplasme est en effet capable de ne circuler qu'entre hôtes intermédiaires si besoin.
- Seuls les félins assurent la dissémination primaire des oocystes. Des facteurs biotiques (invertébrés) et abiotiques (eau, sol) permettent une dissémination secondaire. Les hôtes non strictement carnivores sont particulièrement soumis à une contamination par les oocystes, alors que les carnivores et les autres charognards vont s'infecter à la fois

par les oocystes de l'environnement et par les kystes présents dans leur proie créant un gradient de prévalence dans la chaîne alimentaire.

- L'environnement tropical humide est caractérisé par :
  - la chaleur et l'humidité de son climat qui favorisent la survie des oocystes dans le sol,
  - la grande diversité des hôtes définitifs et intermédiaires qui assure un important réservoir de parasites et de niches écologiques
  - des conditions d'expositions accrues aux microorganismes des populations qui y vivent (mode de vie conditions sanitaires, hygiène, pratique culinaires, aspects culturels, ...), mais aussi la cohabitation de milieux sauvages et anthropisés qui peut favoriser l'interpénétration de souches circulant dans ces deux environnements.
  
- Toutes ces caractéristiques vont faire de cette zone un lieu propice à la circulation du toxoplasme, mais celle-ci reste encore à être caractérisée.
  
- En conséquence, dans la zone tropicale humide, la prévalence humaine (rurale et urbaine) et animale (sauvage et domestique) est globalement très élevée en comparaison avec le reste du monde.
  
- Des manifestations cliniques plus sévères y ont été décrites chez des adultes immunocompétents (atteintes oculaires ou multi viscérales) et dans les toxoplasmoses congénitales en relation possible avec des génotypes différents de ceux qui circulent en Europe,
  
- La diversité génétique du toxoplasme y est plus élevée que dans le reste du monde. Elle a été particulièrement étudiée en Amérique tropicale, beaucoup moins en Afrique ou en Asie tropicale.
  
- Des génotypes atypiques liés à un cycle selvatique ont été mis en évidence, notamment en Guyane Française. Mais l'étude de ces souches reste fragmentaire et les liens entre cycle sauvage et domestique n'ont pas ou peu été étudiés

**Au final, on manque de données concernant la diversité du toxoplasme dans une grande partie de la zone tropicale humide et la circulation de ce parasite dans ces environnements particuliers aussi bien domestiques que sauvages.**

Les objectifs de ce travail vont donc être :

- ✓ d'une part, d'acquérir des données sur la diversité du toxoplasme en Afrique équatoriale (Gabon), mais aussi au sein du cycle domestique très peu étudié jusqu'ici en Guyane Française.
- ✓ d'autre part, au travers de différentes approches utilisant les données de prévalences, mais aussi de caractérisation génétique et phénotypique, d'appréhender la circulation de ces souches dans leur environnement tropical en tenant compte des spécificités de celui-ci.

Pour cela, deux études de terrain ont été réalisées :

- ✓ au Gabon en milieu urbain et rural, avec différentes approches :
  - séroprévalence de la toxoplasmose humaine et animale en milieu urbain et rural et analyse spatiale de celle-ci au sein d'un village reculé du Gabon.
  - analyse de la diversité génétique et de la structure des populations du toxoplasme au travers de différentes localités (urbaines et rurale) et comparaison avec les connaissances actuelles pour le continent africain.
- ✓ en Guyane Française portant sur la caractérisation et la comparaison génétique des souches circulant dans le cycle « sauvage » et le cycle « domestique » du toxoplasme dans cette région, afin d'évaluer l'interpénétration (flux de gènes ou de souches) entre les deux cycles.

Le plan comportera deux parties :

une première partie rapportant les études de séroprévalence et d'analyse spatiale de celle-ci réalisées au Gabon

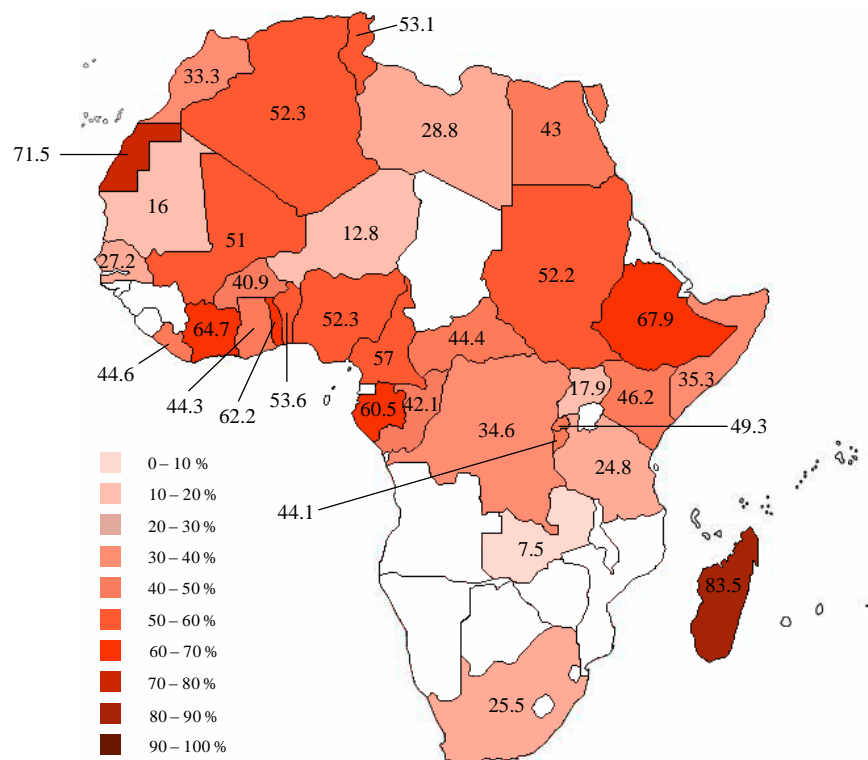
une deuxième partie rapportant les études génétiques des souches isolées au Gabon et en Guyane Française.

## **CHAPITRE 2**

# **Séroépidémiologie animale et humaine de la toxoplasmose au Gabon (Afrique équatoriale)**

# I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA SEROPREVALENCE DE LA TOXOPLASMOSE EN AFRIQUE

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'Afrique équatoriale. L'essentiel des études déjà réalisées sur ce continent à propos de la toxoplasmose portait sur la description de la prévalence dans différents types de populations humaines (générale, enfants, femmes enceintes, VIH) et animales (essentiellement animaux domestiques). Une revue bibliographique (annexes 5 et 6) nous a permis de juger de la circulation du toxoplasme dans la zone tropicale humide, qui s'est avérée être élevée avec de fortes prévalences aussi bien chez l'homme que chez les animaux (encadré, figure 5 et annexes 5 et 6). De manière générale, la séroprévalence de la toxoplasmose humaine variait au travers des études analysées, de 3,9 % au Niger (Decroix and Laporte, 1989), à 83,5 % à Madagascar (Lelong *et al.*, 1995).



**Figure 5 : Répartition géographique par pays de la séroprévalence de la toxoplasmose humaine (en %) sur le continent africain. Établie à partir de 91 études de 1955 à 2006 (fond blanc correspondant aux pays pour lesquels aucune étude n'a été retenue ou obtenue).**

## Revue bibliographique de séroprévalence de la toxoplasmose en Afrique

### • Méthodes

La recherche bibliographique a été faite de janvier 2006 à août 2006 de manière rétrospective dans un premier temps puis prospective. Internet a été le principal moyen employé pour effectuer la revue de la littérature avec l'utilisation des bases de données suivantes : *Medline*, *Pascal-Biomed* et *Google Scholar* (version bêta). Les mots-clés et les équations de recherche suivants ont été utilisés :

« toxoplasmosis [OR] toxoplasma [AND] Africa »

« toxoplasmosis [OR] toxoplasma [AND] prevalence [AND] Africa »

De façon systématique, les références citées dans ces articles ont permis de compléter notre bibliographie avec les articles de revues non référencées dans les bases de données comme certaines revues africaines, mais également les revues dont le sujet principal n'était pas l'un des mots clés cité ci-dessus.

Nous nous sommes intéressés aux études où la séroprévalence de la toxoplasmose a été mesurée à partir d'un des sept types de population suivants : population générale, patients venus en consultations, femmes enceintes, femmes en âge de procréer, donneurs de sang, patients infectés par le VIH et enfin, les études portant sur des populations d'animaux domestiques ou sauvages. Chaque population étudiée devait être d'origine géographique connue sur le continent africain.

### • Résultats

La figure 6 représente la synthèse des résultats de la recherche bibliographique et de la sélection des articles.

La carte de la figure 5 donne la distribution des prévalences humaines de la toxoplasmose obtenue à partir de 91 des études humaines incluses (annexes 5 et 6), 8 études n'ayant étudié la prévalence que pour des tranches d'âge trop restreintes et donc non représentatives de l'ensemble de la population n'ont pas été utilisées. Pour chaque pays, la moyenne des séroprévalences a été réalisée (annexe 6 tableau G) en prenant en compte l'échantillonnage de chaque étude (quantité, homogénéité des âges, ...).

$$M = \frac{\text{somme des échantillons positifs}}{\text{somme des échantillons totaux}} \times 100$$

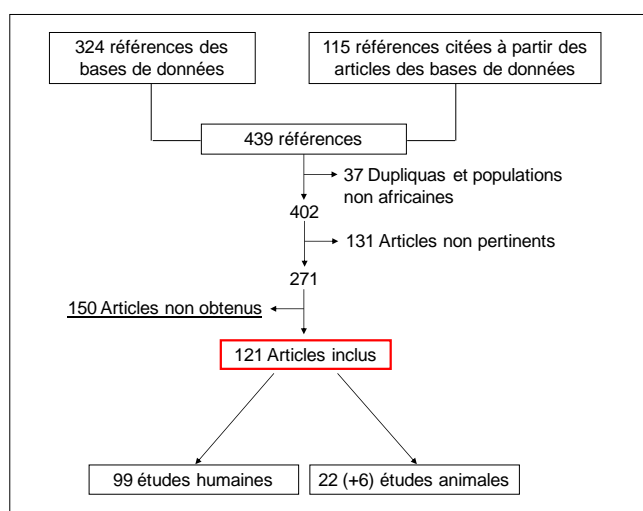
### • Discussion

La séroprévalence varie alors de 7,5 % en Zambie (Zumla *et al.*, 1991), à 83,5 % à Madagascar (Lelong *et al.*, 1995) ; cependant, ces 2 valeurs ne correspondent qu'à une seule étude chacune.

On peut aussi voir que la prévalence est globalement plus élevée pour les pays africains situés au niveau de l'équateur avec en particulier la Côte d'Ivoire, le Togo, le Gabon et l'Éthiopie où une prévalence supérieure à 60% a été trouvée. Les pays avoisinant présentent généralement des prévalences proches ou supérieures à 50%. Toutefois, les résultats sur l'ensemble de l'Afrique restent assez contrastés avec un certain nombre de pays manquants.

Certains auteurs ont donné des résultats pour des zones géographiques précises et rapportent des séroprévalences inférieures en milieu urbain par rapport au milieu rural (Dumas *et al.*, 1989; Develoux *et al.*, 1988; Excler *et al.*, 1988; Quilici *et al.*, 1976). Cependant d'autres études rapportent des résultats contraires (Bouratbine *et al.*, 2001) alors que d'autres ne trouvent pas de différence significative entre les deux types d'habitats (Beauvais *et al.*, 1978).

Toutefois, la variabilité entre les études des techniques et des méthodes d'investigation employées et le recueil de ces études sur une période de plus de 40 ans doivent relativiser les résultats présentés par la figure 5. Un autre biais tient au fait que pour de nombreux pays la prévalence repose sur une seule étude (Annexe 6 tableau G). Enfin, les données de chaque étude ne sont généralement valables que pour une région précise du pays considéré. Ce type de carte devrait donc, lorsque cela est possible, être réalisée par région et non par pays comme les auteurs de la figure 4 l'ont fait (Pappas *et al.*, 2009). La figure 5 permet tout de même d'avoir une idée globale des valeurs de la prévalence de la toxoplasmose pour chaque pays et de leur répartition sur le continent africain.



**Figure 6 :** Principaux résultats en chiffre de la recherche bibliographique et de la sélection des articles.

De ce fait, nous avons pu envisager un site d'étude qui présentait de fortes prévalences, mais aussi choisir les espèces domestiques d'intérêt en sélectionnant les plus séropositives. Les volailles domestiques peuvent être ainsi utilisées comme bio-indicateurs d'une contamination tellurique par les oocystes, surtout dans les pays où les conditions climatiques sont très favorables à la survie des oocystes (da Silva *et al.*, 2003). Des séroprévalences élevées ont été rapportées dans des élevages traditionnels de poulets en Ouganda (47 %) (Lindström *et al.*, 2008), en République Démocratique du Congo (50 %) (Dubey *et al.*, 2005), ou encore au Ghana (64 %) (Dubey *et al.*, 2008a). En ce qui concerne les ovins et caprins, leur rôle épidémiologique est important dans la transmission du parasite à l'homme car ils sont les animaux de boucherie les plus infectés (Tenter *et al.*, 2000). En Afrique, la séroprévalence chez les ovins varie de 6,7 % au nord du Nigeria (Kamani *et al.*, 2010) à 72,5 % dans le Delta du Niger (Nigeria) (Arene, 1984). Pour les caprins, elle varie de moins de 4,5 % au Zimbabwe (Pandey and Van Knapen, 1992) à 81,6 % toujours dans le Delta du Niger (Arene, 1984).

La justification scientifique du choix du Gabon, pour initier ces travaux sur l'épidémiologie et la diversité génétique du toxoplasme en Afrique a reposé sur :

- la forte prévalence sérologique de la toxoplasmose humaine (environ 60 %) (Beauvais *et al.*, 1978; Billiault *et al.*, 1987; Duong *et al.*, 1992a; Duong *et al.*, 1992b; Nabias *et al.*, 1998; Bisvigou *et al.*, 2009; Mpiga Mickoto *et al.*, 2010) suggérant une forte présence du parasite non seulement chez les patients, mais également dans l'environnement,
- l'existence d'un milieu naturel relativement conservé (cohabitation de zones urbaines et sauvages) et éloigné d'échanges avec l'Europe et l'Amérique dans sa partie centrale qui auraient pu influencer le génotype du toxoplasme africain de cette zone.

Un autre facteur de choix a été la présence d'une structure d'accueil permettant ce type d'études (animalerie pour les souris et moyens logistiques). La présence du Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) au Gabon, structure disposant d'un fort potentiel scientifique et logistique, d'équipes travaillant sur la faune sauvage (WCS, UGENET), d'une animalerie et d'un laboratoire de biologie moléculaire, a été cruciale dans ce choix. De plus, le CIRMF possède une station d'étude de terrain implantée dans un village isolé à 180 km au sud de Franceville, comportant un dispensaire et un laboratoire. Cette base était l'opportunité de pouvoir effectuer concomitamment une étude séroépidémiologique de la

toxoplasmose et d'essayer de caractériser les « souches » d'origine sauvage et domestique qui pourraient y circuler.

## II. PRESENTATION GENERALE DU GABON

### II. 1. Géographie

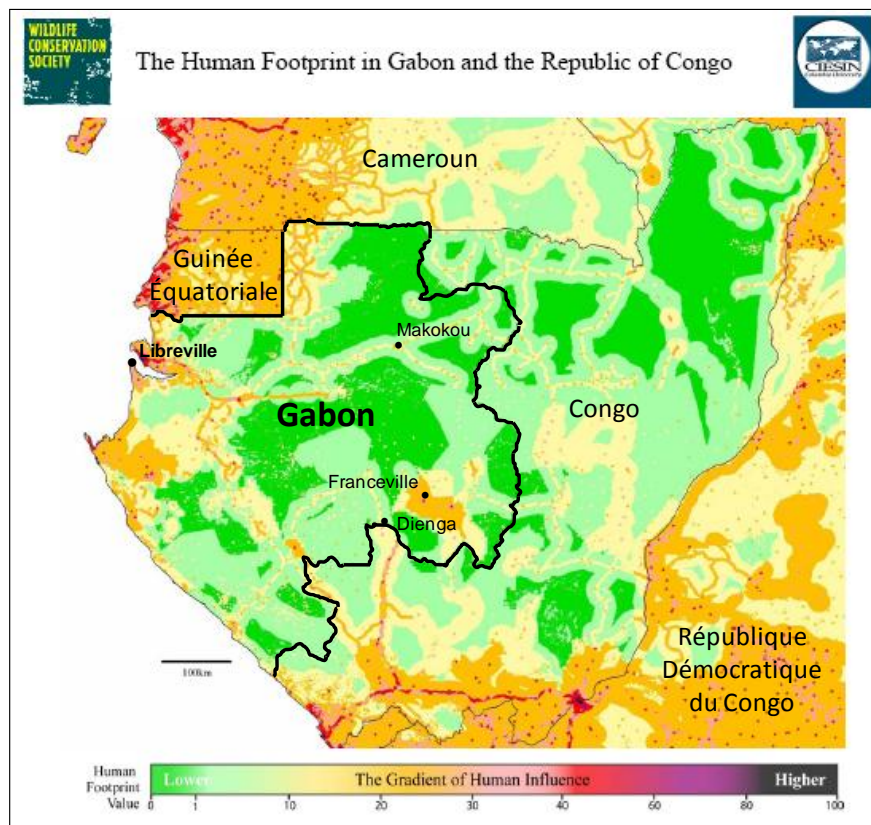


**Figure 7 :** Carte géographique du Gabon indiquant les lieux de prospection pour l'ensemble des études (séroprévalence et isolement de souches), d'après Bourrichon (2008). Source :

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/af/Topographic\\_map\\_of\\_Gabon-fr.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/af/Topographic_map_of_Gabon-fr.svg).

Le Gabon est situé sur la côte ouest de l’Afrique centrale de part et d’autre de l’équateur (figure 7). Voisin au nord ouest de la Guinée Équatoriale, au nord du Cameroun et à l’est et au sud de la République du Congo, le Gabon est ouvert à l’ouest sur l’océan Atlantique avec 950 km de côtes.

D’une superficie de 267 667 km<sup>2</sup>, les forêts équatoriales denses couvrent environ 220 000 km<sup>2</sup> du territoire (Witte, 1992) et sont relativement bien conservées (figure 8). L’unité géographique du pays est liée au caractère équatorial de son climat, de son hydrographie et de sa végétation. On distingue trois régions : les plaines côtières (larges de 20 à 300 km), les massifs montagneux (au nord-est de Libreville et le massif du centre du pays), et les plateaux de l’intérieur. Le Gabon est parcouru par de nombreux cours d’eau dont le principal est le fleuve Ogooué qui s’étend sur 1 200 km.



**Figure 8** : Carte de l’empreinte de l’homme sur l’environnement dans l’extrémité ouest du bassin du Congo (Gabon, République du Congo) modifiée de Sanderson et collaborateurs (Sanderson *et al.*, 2002).

## II. 2. Population

Le Gabon est un pays sous-peuplé, sa densité est la plus faible d'Afrique et est estimée à 4,6 habitants au km<sup>2</sup>. Un peu moins de 1,5 million (1 448 160) d'habitants vivaient au Gabon en 2008, dont plus du tiers à Libreville, la capitale (DFID, 2000; Usherbrooke, 2010). 85,4 % de la population est considérée comme urbanisée et est, pour les trois quarts, concentrée sur la zone côtière (Usherbrooke, 2010). De ce fait, la part de la population qui dépend directement de la forêt pour survivre est relativement faible. La mosaïque ethnique comprend une soixantaine de groupes parmi lesquels on distingue les Fangs (le tiers de la population), les Etsiras, les Bapounous, les Myenes, les Bandzabis et les Batékés. On compte également 3 000 Pygmées appartenant à 3 ethnies (Babongo, Baka, et Bakoya) qui vivent pour une bonne part au nord, nord-est du Gabon (province de l'Ogooué-Ivindo et du Woleu-Ntem) et au sud (province de la Ngounié).

## II. 3. Climat

Le climat du Gabon est de type équatorial. De façon générale, il se caractérise par :

- une température moyenne oscillant entre 25 et 28°C, avec des minima de 18°C en juillet, et des maxima de 35°C en avril.
- une pluviométrie annuelle moyenne variant de 1 800 à 2 800 mm au centre (diagonale allant de Libreville, nord-ouest au sud-est) et de 1 500 à 1 800 mm dans le nord-est et le sud-est (Richard and Léonard, 1993).
- un degré hygrométrique généralement supérieur à 80 %, atteignant 100 % en saison des pluies.
- quatre saisons : une grande saison sèche de juin à septembre, une petite saison des pluies d'octobre à mi-décembre, une petite saison sèche de mi-décembre à mi-janvier, et une grande saison des pluies de mars à juin, avec quelques variations d'une année sur l'autre.

### **III. ÉTUDE DE SEROÉPIDÉMIOLOGIE DE *TOXOPLASMA GONDII* EN MILIEU URBAIN (LIBREVILLE) ET EN MILIEU RURAL (VILLAGE DE DIENGA) AU GABON**

---

Jusqu'ici, peu d'études s'étaient intéressées dans cette zone du globe à l'épidémiologie fine aussi bien en milieu urbain que rural et à différentes échelles. Nous proposons ici une étude permettant d'aborder ce type d'approche. Celle-ci a été menée conjointement dans la capitale du Gabon, Libreville et dans le village de Dienga au sud-est du Gabon à la frontière avec le Congo. Cette étude se divise en 2 parties :

- une première partie descriptive comparant les séroprévalences dans des populations d'animaux domestiques des deux localités et des populations d'animaux péri-domestiques et sauvages ainsi que d'humains à Dienga.
- une seconde partie portant uniquement sur le village de Dienga où la séroprévalence de la toxoplasmose chez certaines espèces animales domestiques a été mise en relation avec la séroprévalence de la toxoplasmose humaine, pour une analyse spatiale destinée à caractériser la circulation du toxoplasme dans ce village rural et de voir s'il est possible de mettre en évidence un lien géographique entre les chats et la séroprévalence d'autres populations animales et humaines.

#### **III. 1. Méthodes**

##### **III. 1. 1. Sites d'études**

###### **Libreville**

Libreville est la capitale politique et administrative du Gabon. Avec une population estimée à 578 156 d'habitants en 2005, c'est la ville la plus peuplée du Gabon. Libreville est située sur la côte nord-ouest du pays au niveau de l'estuaire du Gabon. Sa périphérie sud-est longe l'embouchure du delta du fleuve Komo qui se jette dans l'océan Atlantique, dans le golfe de Guinée, tandis qu'au nord, la ville est délimitée par un vaste espace quasi inhabité de forêt et de mangrove.



**Figure 9** : Différentes vues de Libreville : A) vue du centre ville, B) zone pavillonnaire de la périphérie la plus proche du centre, C) abords du marché d’Oloumi en périphérie de Libreville.

Le climat équatorial chaud et humide qui caractérise cette région est composé d'une courte saison sèche de juin à août et d'une longue saison humide de septembre à mai entrecoupée d'une diminution des précipitations de trois mois maximum de décembre à février. Les précipitations varient entre 2 et 4 mètres selon les années avec une tendance à rarement dépasser les 3 mètres.

En raison d'une expansion démographique et d'un exode rural importants, le développement de Libreville est assez anarchique et correspond tout à fait à la description des grandes villes en zone tropicale humide (figure 9). Les infrastructures urbaines ne suivent pas le rythme des constructions nouvelles et la ville s'étale avec en périphérie un style d'habitation et de fonctionnement qui se rapproche parfois du milieu rural. Les animaux tels que les chèvres, les moutons ou les poules peuvent ainsi se déplacer librement dans certains quartiers.

### **Dienga**

Le village de Dienga est situé en zone de forêt tropicale secondaire dans le sud de la province de l'Ogooué-Lolo à la frontière avec la République du Congo. Il s'étale sur 2 km de part et d'autre de la piste qui relie Bakoumba à Pana (figure 10). La population appartient majoritairement à l'ethnie Bandzabis. Elle est estimée à 1 500 habitants répartie dans 186 foyers. Un foyer correspond généralement à une habitation principale qui peut avoir des dépendances et au sein de laquelle vivent les individus d'une même famille avec souvent plusieurs générations sous le même toit.

Le climat est de type équatorial avec une longue saison sèche de Juin-Septembre et une plus courte de Janvier à Février séparées par 2 saisons de pluies. La pluviométrie annuelle varie autour de 1 800 mm.

Les modes d'alimentation reposent essentiellement sur l'agriculture et la chasse de petits et moyens gibiers. Dans ce village, le CIRMF dispose depuis 1994, d'une base équipée d'un dispensaire et d'un laboratoire qui ont été primordiaux pour la réalisation de ces travaux, ce village constituant l'une des principales sources de prélèvement pour cette étude mais aussi pour les travaux portant sur la génétique des populations du toxoplasme au Gabon.

Dienga et Libreville sont distants de 435 km à vol d'oiseau et 676 km si l'on prend la piste (entre 2 et 4 jours de voyage en voiture) qui est le seul moyen de rejoindre ces deux localités.



**Figure 10** : Différentes vues du village de Dienga : A) vue de l'axe principal pris au nord du village en direction du sud, B) enfants se lavant et jouant devant leur foyer, C) axe secondaire au sud du village avec au premier plan un troupeau de mouton.

### III. 1. 2. Prélèvements

Pour ces deux localités, une partie des données provient de prospections réalisées par les différentes équipes du CIRMF.

#### **Animaux**

Quelle que soit la localité, les prélèvements ont été réalisés dans leur majeure partie sur des animaux adultes (âge  $\geq 1$  an). Les rats (*Rattus rattus*) capturés à Dienga font exception puisque le mode de capture a privilégié le piégeage de jeunes individus (estimé entre 3 et 6 mois).

Les chats ont été systématiquement endormis pour le prélèvement (mélange d'anesthésique et d'analgésique Kétamine-Xylazine utilisé respectivement à 50 mg/kg et 0,15mg/kg en intraveineux) et la prise de sang a été réalisée au niveau de la saphène comme pour les chiens. Les petits ruminants ont été prélevés à la veine jugulaire, les poules et les canards à la veine alaire et les porcs à la veine de l'oreille. Pour les rongeurs, les prélèvements de sang ont été réalisés au niveau du sinus rétro orbitaire sous anesthésie (mélange d'anesthésique et d'analgésique Kétamine-Xylazine utilisé respectivement à 10 mg/kg et 0,15mg/kg en intraveineux) ou plus rarement après euthanasie.

L'ensemble de ces sérums a été conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à leur analyse soit au laboratoire de Dienga, soit au laboratoire du CIRMF à Franceville, voire à Limoges en ce qui concerne la banque de sérums de Libreville.

#### *Libreville*

Nous avons profité d'une banque de sérums d'animaux domestiques réalisée par le Dr Xavier Pourrut dans le cadre de l'étude sérologique du chikungunya courant 2007 à Libreville. Vingt cinq à 50  $\mu\text{l}$  de chaque sérum constituant cette banque nous ont été cédés avec l'autorisation du chef de service de l'équipe de l'unité maladie virale émergente du CIRMF, le Dr Éric Leroy. Au total ce sont 400 sérums qui ont pu être analysés (tableau 5). Ils provenaient d'animaux domestiques prélevés chez des particuliers de divers quartiers de la capitale de mai à juin 2007 (Agondjé, Alibandeng, Ambowé, Avéa II, Avorbam, Awendjé, Bel-Air, IAI, Diba-Diba, Nzenz-Ayong, Okala, Plaine Orey, Venez-voir), mais aussi des alentours de la ville (Cap Santa Clara, village Avana Yong, quartier Alenakiri sur la commune

d'Owendo). Les animaux de rentes provenaient pour la plupart d'élevages familiaux et étaient en contact avec l'environnement extérieur excepté en ce qui concerne les porcs.

### *Dienga*

Animaux domestiques :

Un recensement de tous les animaux du village a été réalisé auprès des habitants (questionnaire ; annexe 7) de telle sorte que pour chaque foyer le nombre de chats, chiens, poules, chèvres et moutons était connu (tableau 4).

**Tableau 4 : Nombre de prélèvements réalisés pour chacune des différentes populations animales de Libreville et Dienga.**

Population	Nombre de prélèvements	
	Libreville	Dienga (nombre recensé)
<b>Chats</b>	-	31 (48)
<b>Chiens</b>	59	70 (129)
<b>Poules</b>	227	172 (581)
<b>Canards</b>	33	-
<b>Chèvres</b>	40	93 (95)
<b>Moutons</b>	14	45 (56)
<b>Porcs</b>	27	-
<b>Rats</b>	-	43
<b>Rongeurs sauvages</b>	-	38
<b>Animaux sauvages (viandes de brousse)</b>	-	23
<b>Total</b>	<b>400</b>	<b>499</b>

Sur les 186 foyers connus, 171 se sont avérés réellement occupés. Au cours de ce recensement, un questionnaire (annexe 7) en rapport avec l'épidémiologie du toxoplasme a été réalisé auprès des habitants de chaque foyer, les autorisations de prélèvement auprès des propriétaires ont été demandées et la localisation GPS de chaque foyer a été relevée (centre du foyer à une précision de 4 m). Les prélèvements ont été réalisés de février à mars 2007 pour les trois-quarts des animaux et d'août à novembre 2007 pour le restant. L'échantillonnage s'est voulu le plus exhaustif possible en ce qui concerne les chats, en dehors de quelques chats le plus souvent retournés à la vie semi-sauvage. Pour les petits ruminants (chèvres et

moutons), l'ensemble du cheptel du village a été prélevé à l'exception d'un troupeau pour lequel nous n'avons pas eu l'autorisation du propriétaire. Pour les autres espèces, en fonction du nombre total d'individus, le nombre d'animaux à prélever a été maximisé de façon à obtenir une représentation la plus homogène possible de l'ensemble du village.

Espèces péri-domestiques et sauvages :

- Rongeurs : il s'agissait d'une part de rongeurs péri-domestiques (*Rattus rattus*) piégés dans les maisons des habitants du village et d'autre part, d'espèces sauvages capturées en périphérie du village (dans un périmètre de 800 m depuis le centre du village). L'ensemble des rongeurs ont été capturés à l'aide de pièges Sherman. Les pièges étaient relevés au minimum tous les matins. Ces animaux ont été systématiquement euthanasiés après prélèvement (dose de 50 µl de Doléthal en intracardiaque) dans le but de pouvoir déterminer les espèces et ainsi servir à augmenter les connaissances sur la diversité des rongeurs sauvages de cette région du Gabon (collaboration avec le Muséum d'Histoire Naturelle de Paris : Dr Violaine Nicolas qui a réalisé les déterminations par séquençage). Tous les individus ont donc été mesurés et pesés dans cette optique. Le foyer ou le point GPS du lieu de capture a été relevé systématiquement.

- Autres espèces : d'autres prélèvements ont été réalisés sur des espèces sauvages provenant d'animaux tués à la chasse aux abords de Dienga par certains habitants du village, communément appelés « viandes de brousse ». Si l'animal était assez frais du sang a pu être récupéré, dans le cas contraire, du "jus" de viande a été utilisé pour la réalisation des sérologies.

Un certain nombre d'animaux d'espèces sauvages prélevées faisait l'objet d'une réglementation en ce qui concerne la convention sur le commerce international des espèces de la faune et de la flore sauvages menacées d'extinction (CITES/Convention de Washington). Des certificats CITES ont donc été obtenus pour le transport des prélèvements correspondant à ces espèces.

Pour le village de Dienga, ce sont donc 499 sérums et jus de viande qui ont été obtenus à partir de la faune domestique, péri-domestique et sauvage (tableau 4).

Au total, pour les localités de Libreville et Dienga, 899 prélèvements ont été analysés.

## Humains

L'étude de séroprévalence humaine ne concerne que Dienga. Nous avons réutilisé les résultats obtenus dans le cadre d'une étude de la séroprévalence de la toxoplasmose à Dienga (Bisvigou *et al.*, 2009) menée en parallèle à nos travaux sur les animaux. Les prélèvements de sang veineux ont été effectués par une équipe du CIRMF entre décembre 2006 et décembre 2007 auprès de patients résidant dans le village de Dienga et venus en consultation au dispensaire du CIRMF, sans stratification ni sélection des individus. Les patients inclus ne présentaient aucun signe évocateur d'une toxoplasmose. Tout prélèvement a fait l'objet d'un consentement éclairé individuel auprès des patients. Les sérums ont été récupérés sur place après centrifugation, conservés à -20°C avant d'être envoyés au laboratoire d'analyses médicales du CIRMF pour le dépistage de la toxoplasmose. Pour ce travail de thèse, sur les 355 patients retenus par (Bisvigou *et al.*, 2009), seuls 344 ont été conservés. Le sexe, l'âge et le lieu de résidence (foyer numéroté) ont été relevés pour l'ensemble des prélèvements avec cependant quelques données manquantes pour l'âge et le lieu de résidence, réduisant à 332 le nombre de prélèvements d'âge connu et 328 celui de foyer connu.

### III. 1. 3. Sérologie

#### Animaux

Le sérum des animaux a été testé selon la technique d'agglutination directe haute sensibilité (ADHS) appelée aussi « MAT » (pour Modified Agglutination Test) (Desmonts and Remington, 1980). Un test ADHS commercial (ToxoScreen®, bioMérieux) a été utilisé en suivant les instructions du fabricant. Les sérums ont été testés aux dilutions 1/20<sup>ème</sup>, 1/40<sup>ème</sup>; 1/400<sup>ème</sup> et 1/800<sup>ème</sup> excepté pour les poules et les autres espèces d'oiseaux sauvages (viande de brousse) pour lesquelles la première dilution était de 1/10<sup>ème</sup>. De ce fait, les seuils de positivité retenus en fonction des données de la littérature étaient 1/10<sup>ème</sup> pour les oiseaux et 1/20<sup>ème</sup> pour les autres espèces animales. Les deux dernières dilutions ont été utilisées pour éviter les faux négatifs dus à « l'effet de zone » possible avec cette technique.

#### Humains

Le dosage des IgG a été réalisé avec le système automatisé Mini Vidas® (bioMérieux, France), utilisant la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay), selon les instructions du fabricant. Un titre inférieur à 4 UI/ml a été considéré comme négatif, compris entre 4 et moins de 8 UI/ml comme équivoque, et supérieur ou égal à 8 UI/ml comme positif.

### **III. 1. 4. Analyses des données**

#### **Tests statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2008.5.02 ; Addinsoft) ainsi que SAS (version 9.1.3; SAS Institute).

Le test du Chi<sup>2</sup> a été utilisé pour tester les différences et lorsque l'un des effectifs d'au moins une des populations était inférieur à 5, le test de Fischer l'a remplacé. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque la valeur de  $p$  était inférieure à 0,05.

Les facteurs de risque vis-à-vis de la séropositivité tels que l'âge, le sexe, la présence de chat, de chien ou de chasseur au sein du foyer, mais aussi la consommation de viande de brousse ont été testés pour le village de Dienga à l'aide de régressions logistiques. Pour déterminer ces facteurs de risque, les variables explicatives présentant un degré de significativité inférieur à 20 % à l'issue des analyses univariées ont été incluses dans le modèle logistique initial. Le modèle a alors été simplifié selon la méthode pas à pas descendante, le degré de significativité d'entrée de la variable dans le modèle étant de 20 % et de 5 % pour son maintien ( $p$ ). Ces facteurs de risque ont été testés sur l'ensemble des 328 prélèvements (de foyer et d'âge connus) : tranches d'âge de 1 à 14 ans ( $n=112$ ) et supérieur à 14 ans ( $n=216$ ), ainsi que pour les trois populations animales : chats, chiens et poules, pour lesquelles l'âge n'a pas été pris en compte.

#### **Analyses utilisant le système d'information géographique (SIG)**

Cette partie a pu être réalisée grâce à la collaboration entre notre équipe et Farid Boumediene du laboratoire GEOLAB de Limoges (UMR CNRS 6042).

Cette analyse n'a concerné que les prélèvements de Dienga. La base de données spatiale (facteurs associés à des coordonnées géographiques) comportait l'ensemble des foyers habités du village ainsi que les effectifs recensés, le nombre de séropositifs et la prévalence pour chacune des populations d'intérêts : chats, chiens, poules et humains (tranches d'âge de 1 à 7 ans et supérieur ou égale à 8 ans).

L'analyse SIG s'est conduite en 4 étapes :

- La première étape a consisté en la réalisation de la carte du village de Dienga avec la géolocalisation de chaque foyer à partir de leurs coordonnées GPS. Pour cela, les coordonnées géographiques de chacun des foyers ont été rentrées en degré décimal dans le logiciel

MapInfo v6.5 (MapInfo Corporation, Troy, NY, USA). De cette façon, une couche cartographique dans un format SIG a été obtenue.

- Dans un second temps, une base alphanumérique a été constituée à partir des données géolocalisées et celles correspondant au recensement et aux prélèvements. De cette manière, chaque individu (animal ou humain) a pu être référencé dans l'espace via son rattachement à un foyer. Une table compatible avec la cartographie du village a ainsi été réalisée afin de pouvoir y reporter toutes les informations se rapportant à l'unité géographique foyer (géocalage). La représentation des individus se fait donc au travers des foyers.

- L'étape suivante a consisté en la sectorisation du village pour visualiser la distribution des effectifs et de la prévalence de la toxoplasmose à travers les différentes populations. Des unités de regroupement au sein du village ont été délimitées de façon à ce qu'elles soient comparables entre elles (effectif testé des différentes populations d'intérêts de taille significative et comparable d'une unité à l'autre) et qu'elles reflètent une certaine réalité géographique et socioculturelle du village. Pour cela, nous avons étudié les différentes possibilités de définition des unités de regroupement en se basant sur la continuité entre les foyers avec différentes distances possibles : moins de 10 m, moins de 15 m, moins de 25 m et moins de 30 m séparant 2 foyers. Les effectifs et prévalences ont ensuite été recalculés et reportés pour chacune des populations au travers des différentes unités de regroupement ainsi définies et le meilleur découpage a été conservé. Dans cette analyse, nous avons priorisé, en ce qui concerne la population humaine, les classes d'âge de 1 à 7 ans et supérieure ou égale à 8 ans. La prévalence sur l'ensemble du village a donc été recalculée pour ces 2 classes d'âge. Pour les populations animales, les résultats de la partie précédente ont été repris et ces valeurs ont été comparées à celles obtenues pour chaque unité de regroupement au sein d'une même population.

- La dernière étape a été la mise en œuvre d'une analyse statistique multivariée de la représentation spatiale de la prévalence à différentes échelles. Ainsi, en se basant sur les unités de regroupement, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée entre les prévalences correspondant aux différentes populations en y intégrant les unités de regroupement en tant qu'objets. Les données manquantes ont été traitées en « suppression par paires » proposé par le logiciel XLSTAT : les observations comportant des données manquantes ont été supprimées uniquement lorsque les variables impliquées dans les calculs comportent des données manquantes. Par exemple, lors du calcul d'une corrélation entre deux variables, une observation ne sera ignorée que si la donnée correspondant à l'une des deux

variables est manquante. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux donnés avec un traitement plus classique des données manquantes qui est l'estimation de la moyenne.

## III. 2. Résultats

### III. 2. 1. Étude de prévalence globale

#### Libreville

La séroprévalence de la toxoplasmose chez les animaux domestiques de Libreville était élevée avec un minimum de 51,5 % pour les poules et des maxima de 82,5 % et 84,8 % respectivement chez les chèvres et les canards (tableau 5).

**Tableau 5 : Séroprévalences de la toxoplasmose dans les différentes populations animales prélevées de Libreville.**

Populations	Positifs/testés (%)	IC 95%
Chiens	33/59 (55,9)	[43,2-68,6]
Poules	117/227 (51,5)	[45,0-58,1]
Canards	28/33 (84,8)	[68,1-94,9]
Chèvres	33/40 (82,5)	[67,1-92,6]
Moutons	9/14 (64,3)	[35,1-87,2]
Porc	11/26 (42,6)	[23,4-63,1]

#### Dienga

Les prélèvements humains représentaient 21,8 % (344 sur 1578 habitants recensés) de la population totale de Dienga répartie sur l'ensemble du village. Pour les espèces animales, exceptées les poules où la part prélevée ne représentait que 29,8 %, le nombre d'individus prélevés était toujours supérieur à 50 % de la population recensée avec un maximum pour les chèvres de 98,9 % du cheptel (tableau 4, page 75).

## Animaux

### *Espèces domestiques et péri-domestiques*

Chez les espèces domestiques, la prévalence variait de 50,6 % chez les poules à 97,8 % chez les moutons (tableau 6). En comparaison, la prévalence chez les rongeurs péri-domestiques (*Rattus rattus*) était très faible avec un seul individu trouvé positif sur les 43 prélevés dans les foyers (2,3 %).

**Tableau 6 : Séroprévalences de la toxoplasmose dans les différentes populations prélevées à Dienga.**

Populations	Positifs/testés (%)	IC 95 %
<b>Humains</b>	256/344 (74,4)	[69,8-79,1]
<b>Chats</b>	26/31 (84,0)	[66,3-94,5]
<b>Chiens</b>	43/70 (61,4)	[50,0-72,9]
<b>Poules</b>	87/172 (50,6)	[43,1-58,1]
<b>Chèvres</b>	79/93 (84,9)	[77,6-92,3]
<b>Moutons</b>	44/45 (97,8)	[88,2-99,9]
<b>Rats (<i>Rattus rattus</i>)</b>	1/43 (2,3)	[0,001-12,1]
<b>Rongeurs sauvages</b>	1/37 (2,7)	[0,001-14,2]
<b>Animaux sauvages (viande de brousse)</b>	11/23 (47,8)	[25,6-67,2]

### *Espèces sauvages*

Pour les rongeurs sauvages, 37 individus (6 espèces au total) ont été capturés en bordure de village et prélevés (tableau 7). Le seul individu séropositif appartenait à l'espèce *Hybomys univittatus* qui était la plus représentée.

Les autres espèces sauvages issues des viandes de brousse avec 23 prélèvements étaient réparties en 11 espèces. La prévalence globale était de 47,8 %. Parmi les animaux positifs, on compte 3 espèces de rongeurs dont *Atherurus africanus* avec 2 individus sur 5 séropositifs. *Cephalophus dorsalis* (bovidé) était l'espèce sauvage qui présentait le plus grand nombre d'individus séropositifs, mais aussi le plus grand nombre de prélèvements (4 sur 7).

**Tableau 7 : Détails des espèces sauvages (rongeurs et viande de brousse) prélevées à Dienga et ses alentours et séroprévalences de la toxoplasmose.**

	<b>Espèces (nom vernaculaire)</b>	<b>Nombre prélevé</b>	<b>Nombre de positifs</b>
<b><u>Rongeurs</u></b>			
	<i>Praomys petteri</i>	5	0
	<i>Hylomyscus walterverheyeni</i>	3	0
	<i>Hybomys univittatus</i>	20	1
	<i>Lemniscomys striatus</i>	7	0
	<i>Malacomys longipes</i>	1	0
	<i>Lophuromys nudicaudus</i>	1	0
<b>Total</b>		<b>37</b>	<b>1</b>
<b><u>Viandes de brousse</u></b>			
<b>Rongeur</b>	<i>Heliosciurus sp</i> (écureuil)	1	0
	<i>Atherurus africanus</i> (porc-épic)	5	2
	<i>Thryonomys swinderianus</i> (aulacode)	1	1
<b>Tenrecidé</b>	<i>Potamogale velox</i> (potamogale)	1	0
<b>Tragulidé</b>	<i>Hyemoschus aquaticus</i> (chevrotain aquatique)	2	1
<b>Bovidé</b>	<i>Cephalophus dorsalis</i> (céphalophe baie)	7	4
	<i>Cephalophus monticola</i> (céphalophe bleu)	2	1
	<i>Cephalophus nigrifrons</i> (céphalophe à front noir)	1	0
<b>Viverridae</b>	<i>Nandinia binotata</i> (nandinie à 2 taches)	1	0
<b>Oiseaux</b>	<i>Centropus senegalensis</i> (coucal du Sénégal)	1	1
	<i>Tauraco macrorhynchus</i> (touraco à gros bec)	1	1
<b>Total</b>		<b>23</b>	<b>11</b>

Les deux seuls oiseaux prélevés (*Centropus senegalensis* : omnivore et *Tauraco macrorhynchus* : frugivore) étaient séropositifs, alors que le seul mammifère omnivore prélevé (*Nandinia binotata*) était négatif.

## Humains

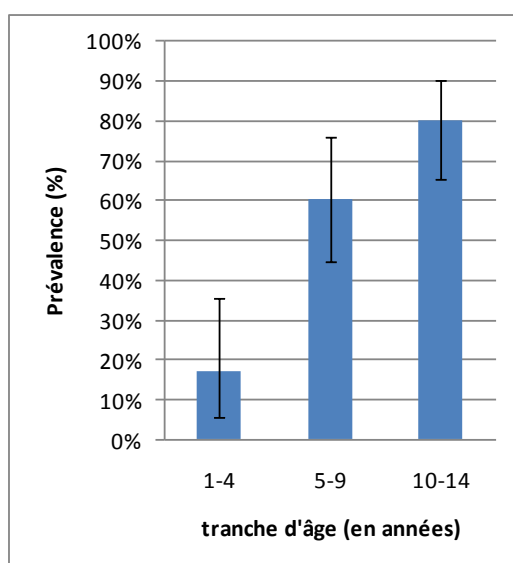
Les prélèvements analysés provenaient de 344 personnes. Pour les 332 individus d'âge connu, l'âge s'échelonnait de 1 à 84 ans, avec une moyenne de 23,6 ans. Le sex-ratio était de 0,71.

Au total, ce sont 74,4 % des individus de la population d'étude qui présentaient des anticorps anti-toxoplasme (IgG) (IC 95 % = [69,8-79,1]) (tableau 6).

**Tableau 8 : Répartition de la séroprévalence de la toxoplasmose humaine en fonction des classes d'âge.**

Classes d'âges	Positifs/testés (%) (n=332)	IC 95 %	<i>p</i>
1-14	64/112 (57,1)	[47,9-66,4]	Référence
15-29	103/129 (79,8)	[72,9-86,8]	< 0,0003
30-44	49/56 (87,5)	[72,0-96,3]	< 0,0002
≥45	29/35 (82,8)	[66,3-93,4]	< 0,02

L'acquisition de l'immunité était précoce avec une séroprévalence atteignant 57,1 % avant l'âge de 15 ans et se maintenant autour de 80 %, au-delà de 15 ans (tableau 8).



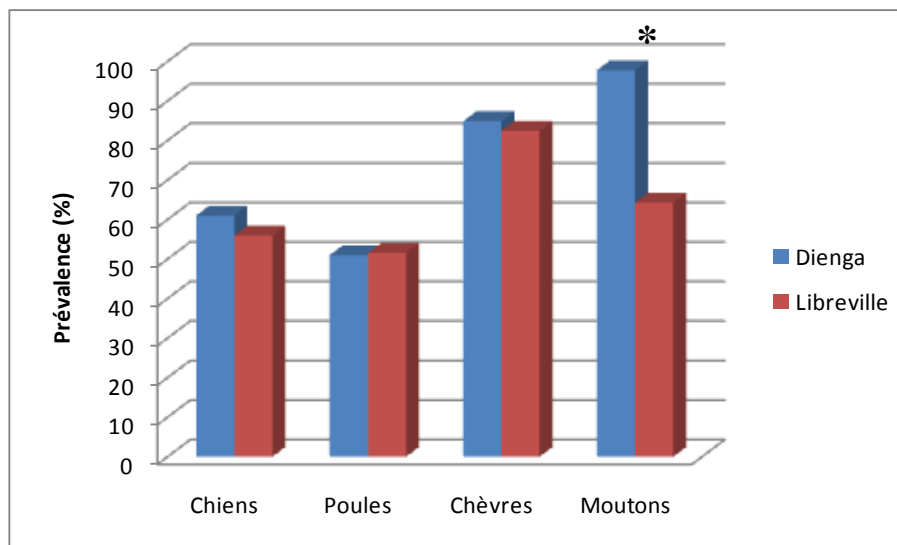
**Figure 11 : Répartition de la séroprévalence de *T. gondii* chez les enfants de moins de 15 ans à Dianga.**

Une croissance rapide de la prévalence a été observée dans les trois sous-classes d'âges des moins de 15 ans, avec des taux de 17,2 % (5/29) entre 1 et 4 ans (IC 95 % = [5,8-35,8]), 60,5 % (23/38) entre 5 et 9 ans (IC 95 % = [44,9-76,1]) et 80,0 % (36/45) entre 10 et 14 ans

(IC 95 % = [65,3-90,4]) (figure 11). La séroprévalence augmente significativement avec l'âge jusqu'à 14 ans.

### Comparaison Dienga / Libreville

Si l'on compare deux à deux les espèces communes à Libreville et Dienga (figure 12), seule la prévalence chez les moutons est significativement différente en faveur de Dienga ( $p < 0,002$ ).



**Figure 12 :** Comparaison 2 à 2 des prévalences pour les 4 espèces partagées par Libreville et Dienga (\* indique que la différence entre Dienga et Libreville est significative).

### Facteurs de risque à Dienga

Aucun des facteurs de risque testé sur la population humaine d'âge supérieur ou égal à 15 ans ou sur la population de chats n'a été trouvé significativement en lien avec le fait d'être séropositif. Chez les humains de 1 à 14 ans, l'âge et la présence de chat dans le foyer ressortent clairement comme facteur explicatif d'une séropositivité (tableau 9).

Chez les poules, ce sont la consommation de gibier au sein du foyer et le sexe qui semblent expliquer la séropositivité. Notons que le sexe est à la limite de la significativité, comme la présence de chats pour la population de chiens. Cette dernière a un effet protecteur paradoxal sur la séropositivité des chiens.

**Tableau 9 : Évaluation des facteurs de risques pour les différentes populations testées.**

Populations	Facteurs	Odds Ratio	IC 95 %	<i>p</i>
<b>Humains</b>				
1-14 ans	Age	1,3	[1,1-1,5]	< 0,001
	Présence de chat	6,1	[1,1-31,9]	0,03
<b>Animaux</b>				
poules	Consommation de viande de brousse	3,7	[1,4-10,1]	0,008
	Sexe (femelle vs mâle)	2,0	[0,9-4,3]	0,059
chiens	Présence de chat	0,4	[0,1-1,1]	0,06

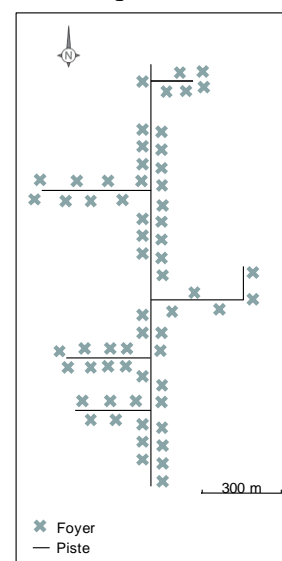
Les prévalences entre filles et garçons de la tranche d'âge 7-15 ans étaient respectivement de 73,7 % (28/38) (IC 95 % = [56,9-86,6]) et 75,6 % (31/41) (IC 95 % = [59,6-87,6]). La différence entre les deux n'a pas été trouvée significativement différente ( $p=0,95$ ).

### III. 2. 2. Étude spatiale de la séroprévalence à Dienga

#### *Description du village (cartes) et de la répartition des populations*

L'ensemble des résultats concernant la cartographie du village et des effectifs obtenus grâce à l'analyse SIG sont repris dans la figure 14. Le village apparaît comme un « village rue » sur 2 km de long, avec une piste principale orientée nord-sud et une partie des habitations s'organisent de part et d'autre de celle-ci. Des pistes secondaires se détachent perpendiculairement de l'axe principal avec des habitations (figures 13 et 14) qui vont créer des quartiers annexes étendus jusqu'à 300 m depuis la piste principale.

Malgré la non exhaustivité de l'échantillonnage et le hasard des prélèvements humains (patients venus de leur plein gré au centre médical), l'échantillonnage des différentes populations (humains, chats, poules et chiens) est assez représentatif du village d'un point de vue spatial. La part d'individus prélevés pour chaque population sur l'ensemble du village a déjà été présentée (p 80).



**Figure 13 : Schéma représentant la disposition du village et de ses foyers.**

En revanche, la représentativité géographique du village est moins vraie lorsque l'on considère les enfants de 1 à 7 ans qui ont été prélevés. Les 50 enfants testés vivaient dans seulement 23 foyers essentiellement situés dans le sud (unités 5 et 8) et le nord (unités 1, 8 et 11) du village (figure 15 p 88).

En ce qui concerne la population humaine prélevée et géolocalisée (n=328 dont 5 individus d'âge inconnu) la nouvelle prévalence avec ces effectifs était de 74,1 % (figure 13) :

- les enfants de 1 à 7 ans (n=50) étaient répartis dans 23 foyers avec un nombre d'individus prélevés par foyer variant de 1 à 8.

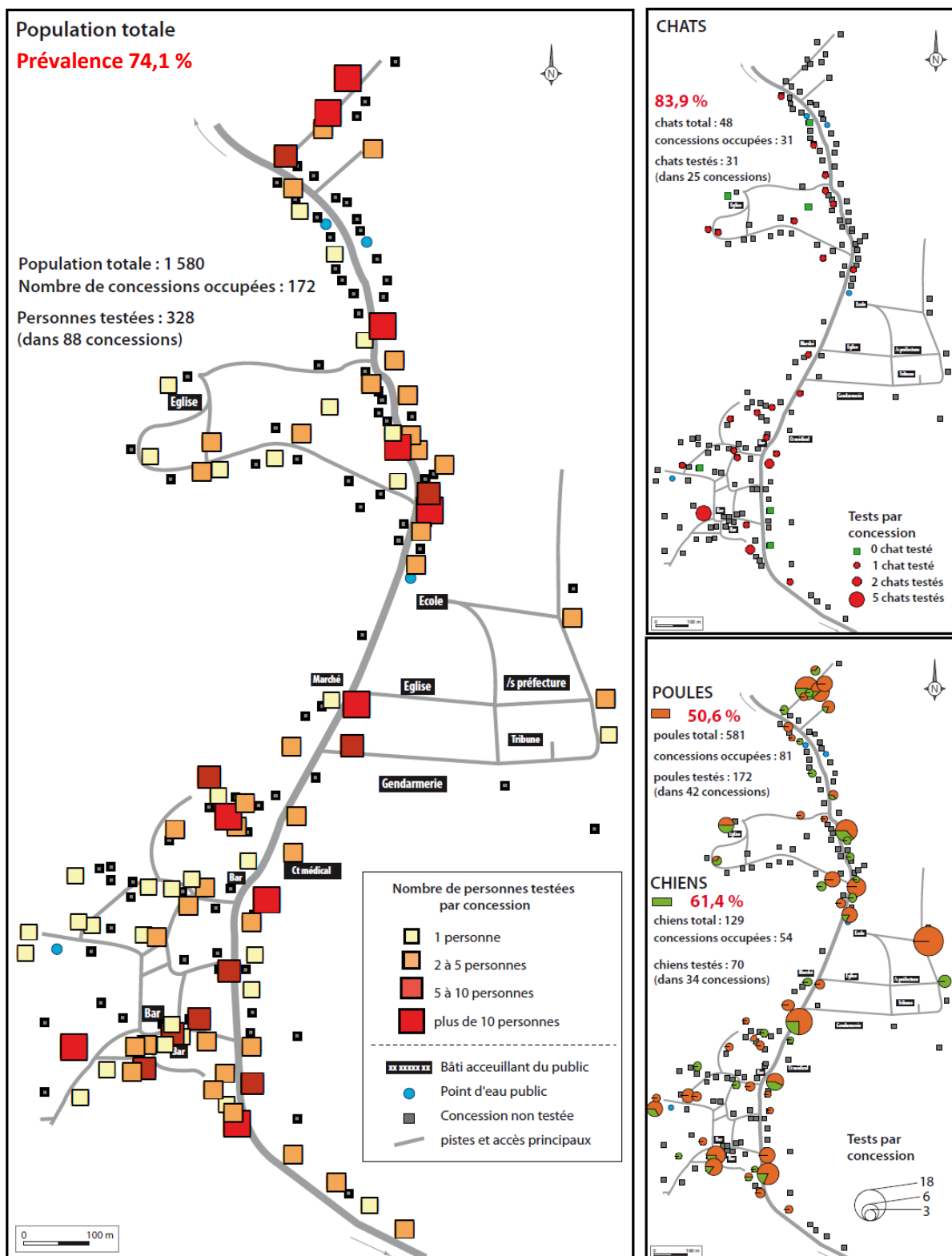
- la population humaine d'âge supérieur ou égal à 8 ans (n=273) représentait 86 foyers (3 foyers où des enfants de 1 à 7 ans ont été prélevés ne font pas partie de ces foyers). Trente trois de ces foyers ne présentaient qu'une seule personne testée, 40 entre 2 et 5, 9 entre 5 et 10 et 5 autres plus de 10 personnes testées (figure 14).

Pour la population de chats, les 31 individus testés représentaient 25 foyers. Les 17 chats non testés (Cf. recensement) appartenaient à 6 foyers répartis sur l'ensemble du village : 3 dans le sud et 3 dans le nord du village. On peut remarquer que la distribution du nombre de chats dans le village se fait selon un gradient nord-sud avec la plus forte concentration dans le sud du village. On comptabilise ainsi 21 chats dans la partie sud du village avec un maximum de 5 chats testés au sein d'un même foyer, contre seulement 10 dans la partie nord du village avec 1 seul chat testé par foyer (figure 14).

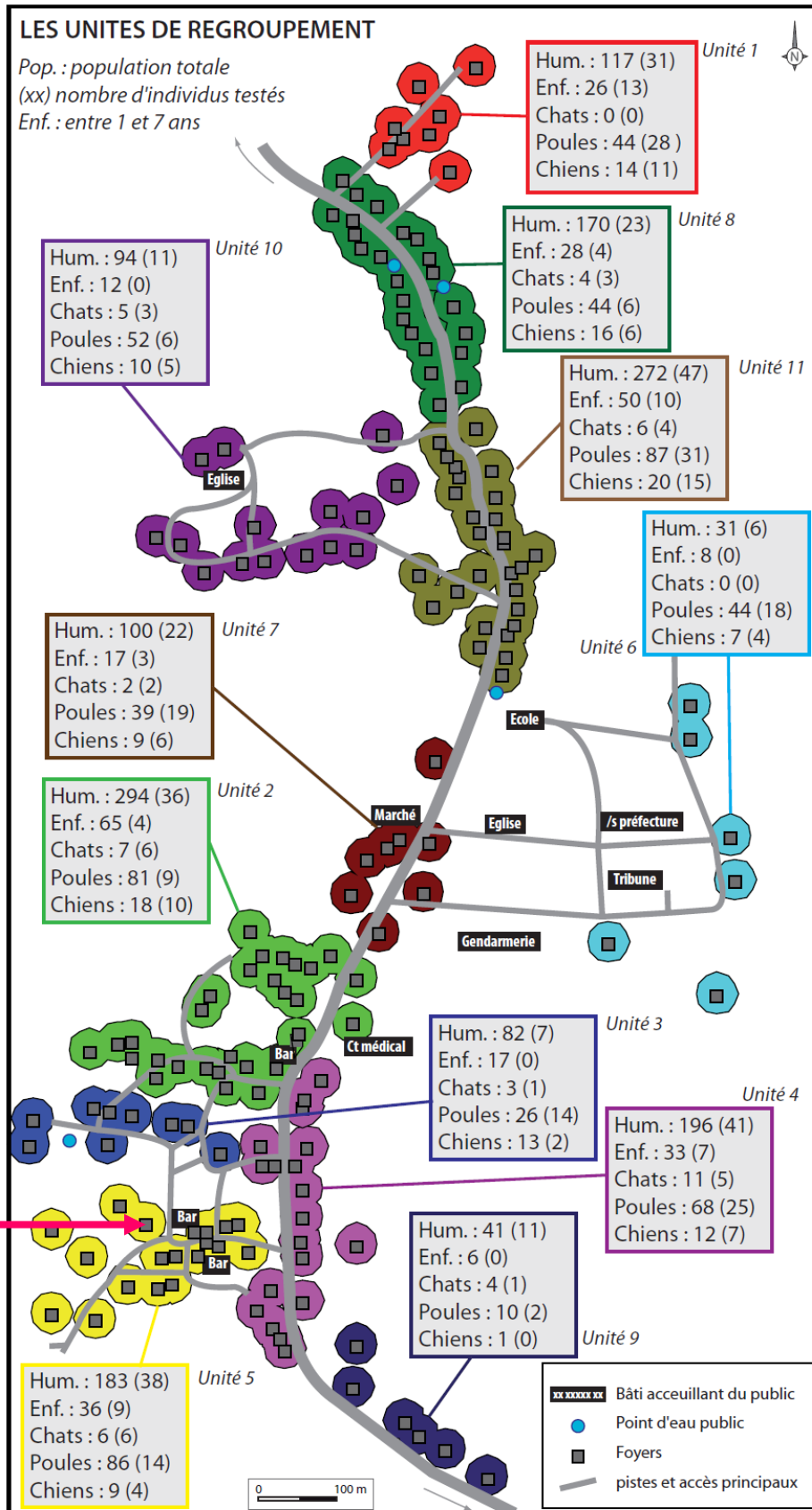
Les 172 poules et les 70 chiens testés étaient répartis respectivement dans 42 et 34 foyers. Le nombre de poules testées par foyer allait de 1 à 18 contre 1 à 5 pour les chiens (figure 14).

#### *Définition des unités de regroupement*

Après avoir regardé l'ensemble des découpages possibles et des effectifs correspondants pour les différentes valeurs de continuité entre les foyers (10, 15, 25 et 30 m séparant deux foyers), les unités de regroupement ont été définies à partir d'une continuité de 25 m entre les foyers. Cette solution permettait l'analyse la plus juste et la plus représentative du jeu de données, avec un certain équilibre entre le nombre d'unités de regroupement et la représentativité des populations qui les composaient. Onze unités de regroupement ont ainsi été définies coïncidant avec la géographie et les aspects socioculturels du village (figure 15).



**Figure 14** : Cartes de présentation de l'enquête épidémiologique géo-localisée (effectif des populations et prévalence).



**Figure 15** : Carte de Dienga des unités de regroupement et description des populations qui les composent. La flèche rouge indique la situation du foyer n° 24 discuté dans le texte.

Elles ont ainsi permis la sectorisation du village en territoires de proximité au sein et entre les différentes populations (unités de regroupement : zone d'échange privilégiée des populations vivant en leur sein). Sur ces bases, certains foyers malgré un éloignement supérieur à 25 m ont tout de même été rattachés à une unité de regroupement dans le but d'obtenir des populations équilibrées et représentatives entre unités de regroupement. C'est le cas au moins d'un foyer par unité, excepté pour les unités 8 et 11. Pour les mêmes raisons, certaines de ces unités ont été définies alors que la distance entre leurs foyers concomitants était supérieure à 25 m et donc n'auraient dû former qu'une seule et même unité de regroupement, comme entre les unités 3 et 4, et 8 et 11 (figure 15).

#### *Unités de regroupement, populations et prévalence*

- Unité de regroupement et représentativité des populations

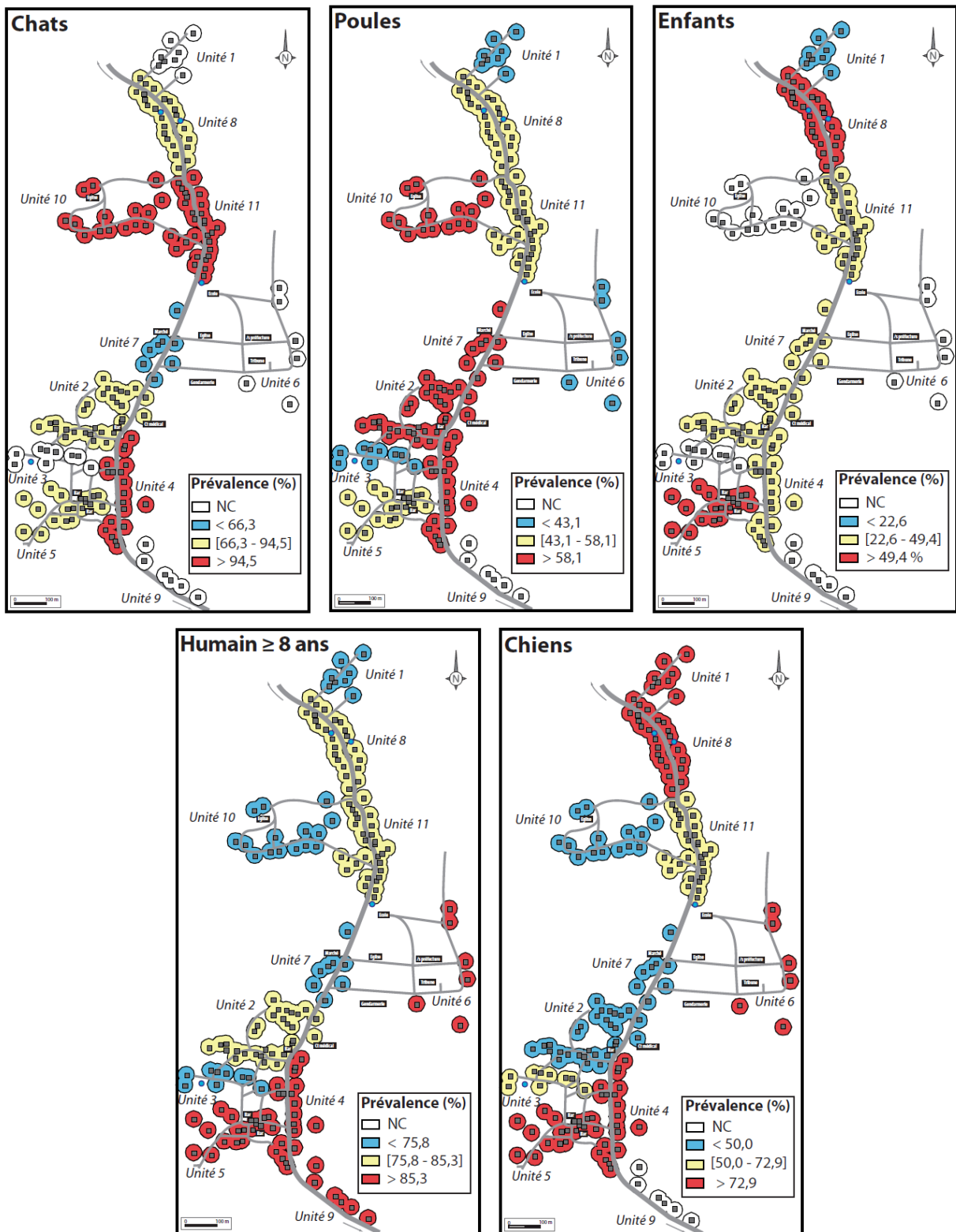
Le jeu de données de départ n'a pas permis une bonne représentativité de toutes les populations au sein de chaque unité de regroupement. C'est pourquoi lorsque, au sein d'une unité de regroupement, l'effectif testé d'une population donnée n'était pas représentatif de l'effectif recensé, la prévalence calculée à partir de l'effectif testé n'a pas été rapportée dans les cartes, comme dans le cas des effectifs nuls. Cela a été le cas en ce qui concerne les populations des enfants des unités 3, 6, 9 et 10, des chats des unités 1, 6 et 9 et des chiens de l'unité 9 (figure 15 et 16).

- Unités de regroupement et prévalence

Sur la figure 16, pour chaque population considérée, les 3 classes de séroprévalence choisies caractérisent à la fois :

- les prévalences inférieures à la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la prévalence obtenue pour l'ensemble du village (couleur bleue) (cf. étude de la prévalence globale p 81),
- les valeurs de prévalence comprises dans cet intervalle de confiance à 95 % (couleur crème),
- les valeurs de prévalences supérieures à la borne supérieure du même intervalle de confiance à 95 % (couleur rouge).

On peut ainsi voir comment évolue la prévalence à travers les unités de regroupement pour chacune des populations considérées (figure 16).



**Figure 16 :** Représentation de la séroprévalence de la toxoplasmose au travers des 11 unités de regroupement pour chacune des 5 populations : chats, poules, chiens, enfants de 1 à 7 ans et population humaine d'âge supérieur ou égal à 8 ans (les 3 classes de couleurs ont été présentées dans le texte p 89).

Le tableau 10 reprend les prévalences de chacune des populations pour chacune des unités de regroupement avec les couleurs correspondantes à celles de la figure 16.

Pour les enfants de 1 à 7 ans, la prévalence sur l'ensemble du village était de 36 % (18/50) (IC 95 % = [22,6-49,4]). En ce qui concerne la population d'âge supérieur ou égal à 8 ans, la prévalence était de 80,6 % (220/273) (IC 95 % = [75,8-85,3]).

**Tableau 10 : Séroprévalence de la toxoplasmose dans les 11 unités de regroupement pour chacune des 5 populations d'intérêt.** Les couleurs reprennent celles de la figure 15, excepté pour le gris (Ø) qui indique l'absence totale de chats dans l'unité de regroupement. Les cases sans couleur correspondent à des effectifs testés nuls ou trop faibles par rapport à la population recensée.

Unités de regroupement	Prévalence pour chaque population (en %)				
	Chats	Poules	Enfant de 1 à 7 ans	Population humaine (≥ 8 ans)	Chiens
1	Ø	21,4	15,4	74,2	81,8
2	66,7	66,7	25,0	83,3	30,0
3	1 positif sur 3 recensés	28,6	Non testé	42,9	50
4	100	72,0	42,9	92,7	85,7
5	83,3	57,1	55,6	92,1	75,0
6	Ø	33,3	Non testé	100,0	100
7	50,0	78,9	33,3	50,0	16,7
8	66,7	50,0	50	82,6	83,3
9	1 positif sur 4 recensés	2 négatives sur 10 recensés	Non testé	100	Non testé
10	100	66,7	Non testé	63,6	20,0
11	100	54,8	40,0	78,7	66,7
<b>Population globale*</b>	<b>83,9</b> [66,3-94,5]	<b>50,6</b> [43,1-58,1]	<b>36,0</b> [22,6-49,4]	<b>80,6</b> [75,8-85,3]	<b>61,4</b> [50,0-72,9]

\* En plus de la prévalence, l'IC 95 % a été reporté.

Lorsque l'on compare entre elles ces géographies de la prévalence chez les 5 populations, les unités 4, 5, 8 et 11 présentent un consensus de prévalences élevées, supérieures ou égales aux prévalences globales du village pour chacune des populations (figure 16 et tableau 10).

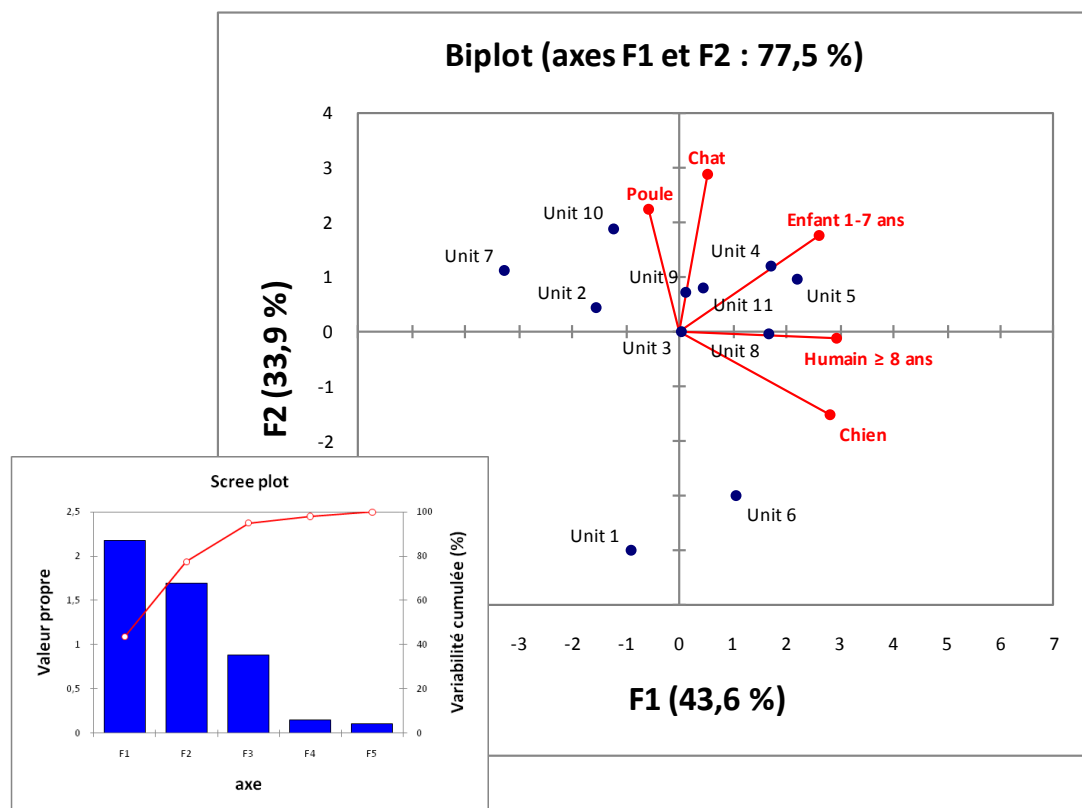
Au niveau de l'unité 6, seuls les chiens et la population humaine de 8 ans et plus avaient une prévalence supérieure à celle du village. Pour l'unité 7, seules les poules ont des prévalences supérieures à la prévalence globale. Dans l'unité 1, ce sont les chiens qui présentent cette caractéristique.

### Analyses statistiques

- Analyse en Composantes Principales sur la distribution des prévalences des populations au travers des unités de regroupement

Lors de la réalisation de l'ACP, dès la matrice de corrélation de Spearman, il semble se dégager 2 groupes avec les chats, les poules et les enfants de 1 à 7 ans d'un côté et les chiens et le reste de la population humaine ( $\geq 8$  ans) de l'autre. Ces 2 dernières populations étaient significativement corrélées positivement entre elles (Coefficient de Spearman = 0,73 ;  $p=0,02$ ).

Les 3 premières valeurs propres expliquent un peu plus de 95 % de la variabilité observée avec respectivement 43,6 %, 33,9 % et 17,6 % pour les axes F1, F2 et F3. Seuls les 2 premiers axes représentant 77,5 % de la variabilité ont été retenus pour l'interprétation. La carte factorielle des axes F1 et F2 (figure 17) sépare nos 5 populations ainsi que les unités de regroupement entre elles. Le tableau 11 représente la contribution des variables pour chacun des axes F1 et F2. Ces résultats étaient similaires à ceux obtenus par un traitement des données manquantes avec l'estimation de la moyenne (résultats non présentés).



**Figure 17 : Analyse en Composantes Principales : valeurs propres et carte factorielle des axes F1 et F2.**

**Tableau 11 : Contribution pour chacun des axes F1 et F2 des variables « prévalence » de chacune des 5 populations.**

<b>Contributions des variables (%)</b>		
	F1	F2
Prévalence CHAT	1,1	44,5
Prévalence CHIEN	33,1	12,5
Prévalence POULE	1,4	26,6
Prévalence ENFANT	28,1	16,3
Prévalence HUMAIN $\geq$ 8 ans	36,3	0,1

L'axe F1, pour lequel les prévalences chez les humains  $\geq$  8 ans et chez les chiens contribuent majoritairement, suivies de la prévalence des enfants (tableau 11), oppose les populations que nous venons de citer à celles des poules et des chats. On peut penser que cet axe ordonne les prévalences des populations en fonction de la multiplicité des modes d'acquisition du parasite. L'interprétation possible de cet axe est que, alors que, la prévalence chez les poules n'est liée qu'au seul mode de contamination tellurique, les humains et les chiens possèderaient un plus grand panel d'acquisition du toxoplasme, partagé en partie par les enfants.

De façon complémentaire, l'axe F2 semble clairement distribuer les prévalences en fonction du degré de contamination tellurique suivant les associations déjà observées lors de l'étude de la matrice des corrélations : chats-poules-enfant (contribuant majoritairement à l'axe F2 avec un maximum pour les chats) *versus* chiens-population humaine  $\geq$  8 ans. Les enfants combindraient ainsi le mode de contamination tellurique avec l'ensemble des autres modes d'acquisition, expliquant leur place intermédiaire dans l'ACP.

La population humaine  $\geq$  8 ans présente tout de même une situation intermédiaire dans l'interprétation de l'axe F2 entre les chiens, les autres animaux et les enfants, avec une contribution à l'axe F2 proche de 0.

Sur cet axe, les unités de regroupement semblent, elles aussi, caractériser ces deux groupes de populations vis-à-vis de leurs prévalences. L'axe F2 oppose ainsi distinctement les unités 1 et 6 qui correspondent uniquement pour les chiens et/ou les humains  $\geq$  8 ans à des prévalences supérieures à celles de l'ensemble du village et qui n'ont pas de chat, aux unités 4, 5, 7, 10 et 11 qui sont associées à des prévalences supérieures à celles de l'ensemble du village dans le cas des chats et/ou les poules et/ou les enfants. Alors que dans le cas des unités 7 et 10, chiens et population humaine  $\geq$  8 ans présentaient des prévalences inférieures à celles de l'ensemble du village.

- Tentative d'analyses annexes

L'unité 5 présentait un certain nombre de caractéristiques qui nous ont incités à essayer d'approfondir les résultats présentés jusqu'ici. Sa situation géographique au sein du village, en partie isolée des autres unités (figure 15) et sa densité de foyers en font une unité de regroupement cohérente et homogène. De plus, les 5 populations étudiées y sont toutes représentées et testées sur des effectifs plus importants que dans les autres unités. Les chats ont ainsi été prélevés dans leur totalité (6/6) et présentaient la particularité d'être à plus de 80 % (5/6) issus d'un même foyer (foyer n°24 ; figure 15) dont la distance au foyer le plus proche possédant un chat excédait les 170 m. Le foyer n°24 présente en plus une situation centrale dans l'unité de regroupement. Enfin, comme nous venons de le voir, cette zone a une prévalence élevée quelle que soit la population considérée, dépassant dans la plupart des cas les prévalences globales du village.

Au sein de cette unité de regroupement, nous avons voulu regarder comment évoluait la prévalence des 5 populations au fur et à mesure que l'on s'éloignait du foyer n°24. La prévalence cumulée à partir de ce foyer a donc été calculé jusqu'à une distance maximum de 156 m.

La tendance globale est à la diminution de la prévalence au sein des populations au fur et à mesure que l'on s'éloigne du foyer n°24. Cependant les effectifs étudiés très réduits nous empêchent de présenter les résultats et ne nous permettent pas de conclure.

### **III. 3. Discussion**

Cette enquête séroépidémiologique est la première de cette ampleur pour le Gabon et notamment en ce qui concerne l'analyse de la prévalence chez les animaux puisqu'aucune étude jusqu'ici ne s'y était intéressée dans ce pays. Dans son ensemble, elle a démontré une prévalence élevée et donc une circulation intense du toxoplasme aussi bien chez l'homme que chez les animaux, quelque soit le biotope (urbain ou rural).

#### **III. 3. 1. Prévalence animale**

L'étude chez les animaux de Libreville et de Dienga a ainsi montré des taux de prévalences extrêmement élevés pour certaines espèces en comparaison de la littérature. C'est le cas des chats pour lesquels les rares études qui retrouvent des taux aussi élevés ont été

réalisées dans leur majeure partie dans des pays de la zone tropicale humide (Brésil : état de l'Amazonie et du Paraná, Colombie, île de St Kitts, Chine : province du Guangzhou) (Cavalcante *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2004; Moura *et al.*, 2007; Dubey *et al.*, 2007g; Montoya-Londoño *et al.*, 1998). On peut déplorer le fait de ne pas avoir eu de sérums provenant de chats de Libreville ; cependant, la logistique demandée pour ce type de prélèvement (anesthésie) n'était pas envisageable pour l'équipe collaboratrice qui nous a fourni la banque de sérums. Au vu de cette forte prévalence chez les chats de Dienga, mais aussi de leur effectif important pour un village de cette taille (1 chat pour un peu plus de 3 habitations en moyenne), il semble cohérent de retrouver des taux de prévalence importants chez les autres espèces domestiques et chez les humains avec un fort risque de contamination tellurique.

Les petits ruminants de Libreville et de Dienga présentent aussi de très fortes prévalences avec pour les moutons des taux équivalents à ceux rapportés en Indonésie, au Bangladesh, en Côte d'Ivoire ou au Suriname (Deconinck *et al.*, 1996; Samad *et al.*, 1993; Bastiaensen and Dorny, 1999). En ce qui concerne les chèvres, très peu d'études rapportent des taux aussi élevés (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010).

Une quatrième espèce domestique a présenté une prévalence extrêmement élevée, il s'agissait des canards de Libreville. Dans la littérature, la prévalence chez les canards est généralement inférieure à 20% et une seule étude rapporte un taux de prévalence de 50% chez des canards d'Egypte (El-Massry *et al.*, 2000). Il est vrai que l'effectif de Libreville n'était pas important (équivalent à El-Massry *et al.* 2000), mais, avec 33 individus provenant de 9 élevages différents, cela permet tout de même une bonne évaluation de la circulation du toxoplasme chez cet hôte dans la capitale. Ce résultat est intéressant d'un point de vue épidémiologique puisque le type d'élevage de canards échantillonné à Libreville, essentiellement familial se développe de plus en plus actuellement en Afrique centrale comme au Gabon (observations personnelles), mais aussi en République Démocratique du Congo où il a été relevé par Huart et collaborateurs que plus de 40% des élevages familiaux de certaines communes urbaines possédaient des canards pour la consommation (Huart *et al.*, 2003). On pourrait penser que cette viande, qui n'est pas dans les habitudes culinaires de ces pays, pourrait devenir une source de contamination humaine pour la toxoplasmose. Au vu du faible nombre d'études sur le sujet, il serait intéressant d'approfondir la question en particulier dans ces régions d'Afrique équatoriale. Cependant, ces observations se cantonnent aux milieux

urbain et périurbain, comme le montre le fait de ne pas avoir recensé de canards à Dienga, ni en avoir observé de manière générale en milieu rural.

Pour ce qui est des chiens, poules et porcs, les prévalences trouvées restent dans la tranche élevée des prévalences retrouvées dans la littérature (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). La plus faible prévalence obtenue pour les porcs de Libreville pourrait s'expliquer par le mode d'élevage : il s'agissait des seuls animaux parmi ceux prélevés qui étaient élevés en stabulation.

Il faut tout de même relativiser ces comparaisons avec les prévalences obtenues dans la littérature ; celles-ci ont souvent été mesurées avec des tests sérologiques différents d'une étude à l'autre et très peu d'études ont utilisé le MAT, en particulier chez les petits ruminants, porcs et chiens (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). De plus, les effectifs et la qualité des animaux peuvent varier, même si nous avons fait attention à ces points lors des comparaisons.

Cette importante circulation du toxoplasme aussi bien en milieu urbain que rural a été confirmée par la non significativité des différences entre les prévalences chez des espèces partagées par les deux localités, sauf pour les moutons dont le faible effectif de Libreville a pu biaiser le résultat. La description des grandes villes urbaines en milieu tropical humide dont le fonctionnement peut être parfois proche de celui du milieu rural se vérifie en ce qui concerne l'épidémiologie de la toxoplasmose à Libreville. De plus, Libreville et Dienga partagent un climat qui est sensiblement le même, ce qui n'est pas le cas de toutes les régions du Gabon, pouvant là aussi expliquer la proximité des prévalences observées entre ces deux localités au vu de l'importance que ce facteur peut avoir dans l'épidémiologie du toxoplasme.

Concernant Dienga, un certain nombre de facteurs de risque ont été testés sur les populations animales vivant à proximité du foyer (les facteurs de risque ayant été mesurés au sein de chaque foyer). Les petits ruminants ayant une vaste aire de vie n'ont donc pas été pris en compte comme dans le cas de l'analyse SIG. Quasiment aucun facteur n'a été trouvé significativement en lien avec la séropositivité des animaux, excepté pour les poules et les chiens. La consommation de gibier au sein du foyer semble en lien avec la séropositivité des poules adjacentes. Ce lien reste difficilement interprétable et sans lien épidémiologique direct, et il faut donc rester prudent quant à nos interprétations. Si l'on s'en tient à la stricte description des modes de vie du village, il est vrai que le gibier est généralement préparé à l'extérieur des foyers et que les abats et restes de la préparation (eaux de lavage et carcasse) sont jetés sur les fumiers ou dans les « arrières-cours » où se retrouvent les poules qui sont les premières à s'en nourrir (observations personnelles). Cependant, ces abats et restes sont a

priori peu pourvoyeurs de kystes et s'il y avait réellement contamination par ce lien, on aurait dû observer cette même tendance chez les chats et les chiens susceptibles eux aussi de s'en nourrir.

Les autres facteurs mis en évidence (séropositivité plus fréquente chez les poules femelles et effet protecteur de la présence de chats sur la séropositivité des chiens) n'étant qu'à la limite de la significativité et sans lien direct avec l'épidémiologie du toxoplasme ne seront pas discutés ici.

Pour ce qui est des rongeurs, qu'ils soient sauvages ou péri-domestiques, les faibles prévalences obtenues correspondent à ce que l'on rencontre généralement dans la littérature (Dubey and Frenkel, 1998; Dubey, 2010). Les prévalences sont rarement élevées chez les petits rongeurs tels que les rats (<5-10 %) et peuvent être expliquées par le régime alimentaire de ces espèces (de Thoisy *et al.*, 2003), mais aussi par la taille de leur territoire et leur courte durée de vie (Afonso *et al.*, 2007). Ainsi, la forte prévalence observée chez les petits ruminants de Dienga pourrait s'expliquer par leur grande aire de pâture (l'ensemble du village et ses abords) qui augmente les chances de rencontre avec le parasite, alors que les rats domestiques se cantonnent à l'intérieur des foyers où les chats font rarement leurs besoins. Afonso et collaborateurs ont aussi mis en relation directe le taux de prévalence avec la masse corporelle des espèces (Afonso *et al.*, 2007). Cependant, au vu de l'importante circulation du toxoplasme dans la faune domestique de Dienga, on aurait pu s'attendre à une circulation plus importante du toxoplasme chez les rats (*Rattus rattus*). Un certain nombre d'études recensées en 1<sup>ère</sup> partie (tableau 2 p 39), laissent à penser que les prévalences chez les petits rongeurs seraient supérieures en zone tropicale humide. Ainsi elles rapportent des prévalences qui vont de 12 % à 66 % chez *Rattus norvegicus* ou encore 50 % aux Philippines chez *Rattus rattus*, quelque soit le biotope. Le biais du jeune âge des individus de *Rattus rattus* capturés pourrait avoir conduit à sous-estimer la prévalence du toxoplasme chez ces derniers (seulement 11 adultes sur les 43 individus prélevés) contrairement aux rongeurs sauvages qui, dans leur ensemble, étaient représentés par des individus adultes.

Ces faibles prévalences n'enlèvent rien au rôle de ces rongeurs dans l'épidémiologie du toxoplasme à Dienga. Au vu des populations de rats domestiques que nous avons pu observer, ils doivent jouer un rôle important (réservoir) dans la transmission aux chats domestiques du village dont ils sont une ressource alimentaire non négligeable (Frenkel, 1990). Il pourrait en être de même pour les chiens (Chambouris *et al.*, 1989; Dubey, 1985). De plus, il a été montré en particulier chez *Rattus norvegicus* que le toxoplasme aurait la

capacité de modifier le comportement des individus infectés. Ces rongeurs porteurs du parasite présentent alors une activité accrue accompagnée d'une inhibition des craintes (peur de la nouveauté) et de l'anxiété pouvant aller jusqu'à la perte totale des réactions d'aversion vis-à-vis des odeurs de chat, voire même l'attraction spécifique vis à vis de celles-ci (Webster, 1994; Webster *et al.*, 1994; Berdoy *et al.*, 1995; Berdoy *et al.*, 2000; Vyas *et al.*, 2007a; Vyas *et al.*, 2007b; Lamberton *et al.*, 2008; Gonzalez *et al.*, 2007; Kannan *et al.*, 2010). On peut alors imaginer qu'un faible nombre de rongeurs infectés suffirait à contaminer une large partie des prédateurs et en particulier les chats, les proies les plus faciles à capturer étant en partie celles qui sont porteuses du parasite.

On peut se poser la question de l'origine des parasites qui circulent chez les espèces de rongeurs sauvages. Ceux-ci ont-ils été infectés par les félidés sauvages ou domestiques ? Les lignes de pièges étant situées à moins de 800 m du village en lisière de forêt secondaire, on peut facilement concevoir que des chats du village puissent s'aventurer jusque dans ces zones. D'autant plus que la plupart des chats recensés, mais qui n'ont pas été prélevés, sont en fait des individus retournés à la vie sauvage aux abords du village. Au vu de la population de chats prélevée à Dienga, ces chats à demi sauvages doivent probablement présenter une prévalence significative. De plus, lors du questionnaire réalisé en même temps que le recensement, il a été demandé si les habitants avaient déjà vu des félidés sauvages (chat doré et panthère) aux abords du village ; or aucune observation n'a été rapportée. Les chasseurs ont précisé qu'il fallait aller loin en forêt (20 km minimum) pour avoir la chance d'en croiser. La forêt regorgeant de gibier, ces prédateurs semblent n'avoir nul besoin de s'aventurer à proximité des villages.

Enfin, en ce qui concerne les animaux sauvages composant la viande de brousse consommée par les habitants du village, le nombre d'échantillons obtenus pour chacune des espèces ne permet pas de discerner des différences de taux d'infection entre elles. Cependant, la prévalence globale n'est pas négligeable, montrant que conjointement à la circulation du toxoplasme au sein d'un cycle domestique, un cycle sauvage du toxoplasme existe réellement au sein de la forêt qui entoure le village de Dienga. D'autant que les espèces s'étant avérées les plus fréquemment positives étaient les plus consommées comme le montre le nombre de prélèvements de porc-épic ou de céphalophe baie.

Peu d'études se sont intéressées à la prévalence de la toxoplasmose chez les animaux composant la viande de brousse. Une étude de Prange et collaborateurs en Côte d'Ivoire a testé 15 viandes de brousses de 6 marchés différents sans mettre en évidence la présence de

*T. gondii* (Prange *et al.*, 2009). Au vu de l'importance du commerce de viande de brousse et des risques liés aux souches du cycle sauvage potentiellement plus dangereuses, il serait intéressant de multiplier et d'approfondir ce type d'études dans ces régions d'Afrique tropicale humide où le cycle sauvage semble subsister (environnements naturels conservés : forêt, savane et félidés sauvages).

En conclusion sur cette partie consacrée à la prévalence animale :

- la circulation du toxoplasme est intense dans la faune domestique aussi bien en milieu rural qu'urbain.

- à Dienga, cette circulation intense ne se vérifie pas chez les rats domestiques, mais pourrait être la source d'infection des rongeurs sauvages en bordure du village.

- en dehors du village, le cycle sauvage du toxoplasme a été mis en évidence au travers des gibiers chassés dans un périmètre d'une vingtaine de kilomètres autour de Dienga.

- les fortes prévalences chez les chats de Dienga laissent à penser à une importante circulation du parasite sous forme d'oocystes dans le sol impliquant un risque accru de contamination tellurique pour l'homme mais aussi pour les autres animaux domestiques. Ces derniers présentent logiquement d'importantes prévalences et les espèces domestiques consommées par l'homme pourraient être une seconde source de contamination via les kystes présents dans la viande. Ce dernier risque est aussi valable en ce qui concerne les viandes de brousse avec le risque supplémentaire d'infection par des souches sauvages potentiellement plus virulentes pour l'homme qui constitue pour elles un hôte inhabituel.

### **III. 3. 2. Prévalence humaine à Dienga**

Les risques élevés de contamination pour les habitants du village de Dienga que nous venons de dégager se sont confirmés par la forte prévalence de la toxoplasmose humaine qui y a été trouvée. Parmi les études de séro-surveillance menées au Gabon depuis 1978, une seule a étudié aussi bien des villages que des villes dans deux provinces dont l'Ogooué-Lolo à laquelle appartient le village de Dienga (Beauvais *et al.*, 1978). Cette étude relevait déjà à l'époque une importante prévalence de la toxoplasmose dans cette région, milieux rural et urbain confondus (62 %). Elle avait aussi rapporté une différence significative entre les taux observés en zone de savane, plus faibles que les taux en zone de forêts du type de Dienga, évoquant l'impact de facteurs telluriques, mais aussi climatiques. Une seconde étude réalisée

en parallèle à la nôtre a révélé une prévalence élevée de 83,3 % chez les populations rurales de la province de la Ngounié voisine de celle de Dienga (Makouloutou, 2007).

Les autres études concernaient essentiellement le milieu urbain (Libreville, Franceville, Makokou et Lastourville), avec là aussi de forts taux de prévalence, supérieurs à 50 % quelle que soit la ville (Beauvais *et al.*, 1978; Billiault *et al.*, 1987; Duong *et al.*, 1992a; Duong *et al.*, 1992b; Nabias *et al.*, 1998; Bisvigou *et al.*, 2009; Mpiga Mickoto *et al.*, 2010) et allant jusqu'à 71,2 % chez les femmes enceintes de Franceville. Ceci confirme le peu de différence entre le milieu rural et urbain observée lors de notre étude chez les animaux domestiques de Dienga et Libreville. Cependant, une étude récente menée à Franceville par Mpiga Mickoto et collaborateurs, semblait indiquer que, depuis plus d'une dizaine d'années, la prévalence de la toxoplasmose aurait tendance à diminuer, en raison notamment de l'urbanisation et du changement des mœurs de la population (accès facile à l'eau potable et amélioration de l'hygiène alimentaire), qui éloignent davantage ces populations urbaines du contact tellurique (Mpiga Mickoto *et al.*, 2010). Nabias et collaborateurs décrivait ainsi une prévalence de 71,2 % chez les femmes enceintes de Franceville entre 1995 et 1997 contre seulement 56 % pour Mpiga Mickoto et collaborateurs en 2007 (Nabias *et al.*, 1998; Mpiga Mickoto *et al.*, 2010). Cependant, cette diminution de la prévalence est toute relative puisqu'une étude encore plus ancienne portant sur la même population en 1984 rapportait une prévalence de 60,5 % donc plus proche de l'étude de (Mpiga Mickoto *et al.*, 2010), et qu'une étude de 1978 sur la population féminine de Franceville relevait une prévalence de 40,5 % (Beauvais *et al.*, 1978). Il faut donc rester prudent quant à la comparaison d'études utilisant des tests sérologiques différents. Globalement, la prévalence de la toxoplasmose au Gabon semble avoir peu évolué depuis plus de 30 ans et correspond à ce qui a été rapporté dans les pays voisins d'Afrique centrale et de l'Ouest (Figure 5 p 64; annexe 6, tableau D).

À Dienga, la séroprévalence chez les enfants de moins de 5 ans était proche de celles observées en milieu urbain à Libreville (Duong *et al.*, 1992a), mais aussi sur l'île de Sao Tomé et Príncipe qui fait face au Gabon avec des conditions géoclimatiques équivalentes (Fan *et al.*, 2006). Ces éléments, associés à la revue de la littérature de la prévalence de la toxoplasmose en Afrique (Annexe 6, tableau D), plaideraient pour une transmission précoce et stable dans ces régions. Cette acquisition très précoce des anticorps associée à l'augmentation rapide des taux de prévalence avec l'âge et leur stabilité après 15 ans évoque le modèle épidémiologique tropical proposé par Carme et Demar-Pierre (Carme and Demar-Pierre, 2006). Dans ce modèle, les conditions d'hygiène et climatiques étant favorables à la dissémination des oocystes de *T. gondii* dans le milieu extérieur et à leur ingestion par les

enfants, les taux de séroprévalence des adultes habituellement peu exposés à la contamination par les kystes tissulaires du fait des coutumes alimentaires sont atteints dès l'adolescence. Les taux plus ou moins élevés dépendraient de l'importance et de la durée des précipitations (humidité du sol) et du réservoir de parasites (densité et taux d'infection des chats, voire d'autres félidés) (Carme and Demar-Pierre, 2006).

Au Gabon, la viande issue de l'élevage traditionnel et de la chasse constitue la principale source protéique des populations rurales. Elle est généralement consommée bien cuite, voire bouillie, comme dans de nombreuses régions de la zone tropicale humide. La forte prévalence observée chez les animaux domestiques, dont les chats, confirmerait le rôle des félidés domestiques en temps que réservoirs et sources de la propagation tellurique. Cette transmission via le sol pourrait être d'autant plus importante à Dienga et plus largement en milieu rural au Gabon, que le sol en terre battue (souvent de latérite) est omniprésent dans ce biotope (figure 10 p 73). Les hommes sont en contact permanent avec celui-ci : pistes, chemins, intérieur et extérieur des maisons (excepté chez les notables) et la plupart des activités humaines sont en relation avec le sol : cuisine, stockage des aliments, agriculture, jeux des enfants...).

Les rongeurs sauvages pourraient aussi être un mode de contamination inattendu pour une partie de la population humaine de Dienga. En effet, les enfants de 7 à 15 ans (généralement les garçons) se livrent régulièrement à ce que l'on a déjà présenté sous le terme de « petite chasse » et les rongeurs sauvages font partie des proies les plus fréquemment capturées. Les animaux piégés sont généralement cuits rapidement et mangés sur place, d'où le risque de contamination, d'autant plus qu'il s'agit d'un complément alimentaire non négligeable pour les enfants de cette tranche d'âge. Donc, malgré la faible prévalence trouvée chez les rongeurs en général, la fréquence de capture par les enfants pourrait constituer chez eux un mode de contamination supplémentaire à partir des kystes. Cependant, l'absence de différence significative de prévalence entre les filles et les garçons de la tranche d'âge 7-15 ans durant laquelle les garçons essentiellement s'adonnent à cette pratique montre que celle-ci n'a que peu d'impact sur l'épidémiologie du toxoplasme. Olusi et collaborateurs avaient déjà montré au Nigéria que la consommation de rongeurs crus ou peu cuits dans la population générale ne jouait pas un rôle majeur dans la contamination toxoplasmique (Olushi *et al.*, 1994).

Comme chez certaines espèces animales, des facteurs de risque ont été testés sur la population humaine du village de Dienga en y ajoutant le facteur âge qui a pu être mesuré pour cette population. Au vu des résultats de prévalence par tranche d'âge, la population a été divisée en 2 : les enfants 1 à 14 ans, tranche d'âge d'acquisition de l'infection (les 10-14 ans ayant déjà atteint la prévalence maximale qui reste ensuite stable dans les tranches d'âge suivantes) et la population d'âge supérieure (15-84 ans). Comme on pouvait s'y attendre pour cette dernière population, il n'a pas été mis en évidence de facteur de risque particulier, alors que la séropositivité chez les individus de 1 à 14 ans était significativement expliquée par la présence de chats au sein du foyer confirmant le mode de contamination tellurique de la toxoplasmose qui semble prédominer dans ce village.

Plusieurs études réalisées en zone tropicale humide : Panama, Brésil, Nigéria (Etheredge *et al.*, 2004; Kamani *et al.*, 2009; Frenkel *et al.*, 1995; Sroka *et al.*, 2010; Germano *et al.*, 1981) ont mis en évidence, lorsque le réservoir tellurique de la toxoplasmose prédominait, un lien entre la prévalence chez les enfants et/ou la population humaine en général et la présence de chiens à proximité de ces populations. D'après Lindsay et collaborateurs, les chiens pourraient ainsi être des vecteurs mécaniques d'oocystes via leur pelage. Ce facteur de risque n'a pas été retrouvé dans notre étude (Lindsay *et al.*, 1997).

D'autres facteurs de risque mériteraient d'être étudiés : préparation de la viande, cuisson des aliments, proximité des chiens vis-à-vis des enfants, pratique de la « petite chasse »... pour évaluer la part du mode de contamination par les kystes.

En conclusion sur cette partie consacrée à la prévalence humaine à Dienga :

- comme pour les animaux domestiques, il semble qu'il n'y ait pas de différence de prévalence entre milieu urbain et rural pour l'homme au Gabon.

- la forte prévalence observée dès l'enfance est en faveur d'une contamination tellurique par les oocystes. La contamination se ferait entre l'âge de 1 et 14 ans avec une période maximale d'acquisition du parasite entre 5 et 9 ans. C'est justement dans ces tranches d'âge que le facteur de risque « présence de chats dans le foyer » a été mis en évidence confirmant la voie tellurique de transmission à l'homme.

- pour le reste de la population (d'âge supérieur à 15 ans), aucun des facteurs de risque testés n'a été retrouvé. D'autres facteurs testés pourraient être à envisager, mais la prévalence élevée et pratiquement stable à partir de 15 ans rend difficile l'identification de tels facteurs.

- la contamination par la viande aurait un rôle mineur en raison des habitudes de cuisson des villageois. Seule la « petite chasse » pourrait avoir un rôle qui reste à démontrer chez les adolescents.

### **III. 3. 3. Analyse spatiale de la prévalence animale et humaine à Dienga**

Nous avons voulu approfondir les analyses sur les données obtenues pour le village de Dienga en y ajoutant une notion supplémentaire : la spatialité à fine échelle.

Pour cela, nous nous sommes tournés vers les outils de géomatique dont l'introduction dans la pratique de l'épidémiologie est assez récente. En ce qui concerne le toxoplasme, ces techniques utilisant des systèmes géographiques informatisés (SIG) n'ont pas encore fait l'objet de publication à notre connaissance. Les méthodes classiquement utilisées en épidémiologie rendent difficile l'utilisation ou la synthèse de données distinctes provenant de petites unités géographiques de manière statistiquement acceptable (Mott *et al.*, 1995). Les SIG ont rendu ce type d'analyse plus abordable. La technologie de la géomatique permet ainsi de faire ressortir des tendances, des corrélations et des interrelations entre environnement et santé, et de ce fait, elle constitue un excellent moyen de visualiser et d'analyser les données épidémiologiques (OMS, 1999). En ce qui concerne l'épidémiologie du toxoplasme à Dienga, c'est la notion d'espace rarement abordée qui a pu être étudiée grâce à ces outils.

Cette partie se veut avant tout un travail exploratoire et précurseur pour de futures études basées sur les SIG, mais qui utiliseront des outils d'analyses plus adaptés que ceux présentés ici et dont l'emploi est dû au manque de temps consenti pour la réalisation de ces analyses.

C'est pourquoi, avant toute chose, il faut préciser les limites de notre étude de la séroprévalence de la toxoplasmose à Dienga vis-à-vis de ce type d'analyse, car si les SIG peuvent permettre la réalisation de cartographie fine de la prévalence ou la mise en évidence de corrélations entre celle-ci et certains facteurs populationnels, ils n'en demandent pas moins un jeu de données qui leur permettent d'être significatifs :

- Le manque d'exhaustivité dans l'échantillonnage des populations aussi bien animales qu'humaine a limité la finesse des résultats obtenus et leur interprétation. Il en va de même pour les effectifs relativement faibles, voire parfois nuls utilisés dans certaines analyses. Ceci

s'explique en partie par le fait que notre étude n'a pas été conçue dès le départ pour ce type d'analyse.

- La rémanence des anticorps tout au long de la vie après une infection toxoplasmique, dans un environnement changeant, est aussi un facteur limitant dans l'interprétation de ces données géographiques et épidémiologiques. En effet, la mesure de la prévalence basée sur les IgG n'est que le résultat d'évènements de contaminations passés dont la datation exacte est difficile sans analyse sérologique supplémentaire. L'analyse SIG de la séroprévalence ne va donc refléter que des contaminations cumulées dans le temps et non une incidence. L'étude de populations jeunes telles que celles des enfants de 1 à 7 ans ou à courte durée de vie comme, pour les animaux, les poules ou les chats, a permis de limiter ce biais.

- Si les unités de regroupement reflètent une réalité socioculturelle du village (correspondant au quartier du village, zone d'échange privilégié entre les foyers qui le composent), celle-ci reste humaine et il est difficile de penser que les populations animales vont se cantonner à leurs limites. Envisager une étude géographique continue sur l'ensemble du village pourrait être une solution qui n'a pas été exploitée ici.

L'interprétation des résultats qui ont été présentés précédemment doit donc être d'autant plus prudente, cependant un certain nombre d'entre eux peuvent être conservés dans la mesure où ils sont soutenus par l'analyse classique de la prévalence.

Le but de ces travaux était de voir s'il existait une relation spatiale entre la présence de chats infectés, ayant potentiellement excrété des oocystes à proximité de leur lieu d'habitation, et la prévalence au sein des différentes populations animales (chiens et poules) et humaine avoisinantes. Parmi la population humaine, nous avons choisi d'étudier plus particulièrement la tranche d'âge des enfants de 1 à 7 ans. Au vu de la courbe de prévalence qui marque un net décrochement entre les tranches d'âge 1-4 ans et 5-9 ans, et au vu de la mise en évidence d'une infection toxoplasmique tellurique prépondérante à Dienga, nous avons voulu voir si cette contamination tellurique chez les enfants pouvait être mise en relation avec la proximité des chats infectés. La tranche d'âge 1-7 ans se trouve à cheval sur la période d'acquisition du parasite. Elle correspond aussi à des âges où les enfants ont un contact récurrent avec le sol (alimentation, jeux) ainsi qu'un certain assignement au foyer (lieu d'habitation) (Etheredge *et al.*, 2004). De cette manière, ils s'infectent très probablement à proximité de leur foyer d'habitation. Ils jouent donc le rôle de sentinelle épidémiologique au même titre que les poules. Cette population des enfants a été définie a posteriori ce qui peut

expliquer le problème de son faible effectif. Le reste de la population humaine ( $\geq 8$ ans) et les chiens diffèrent de la population des enfants de 1-7 ans par le fait que leur taux de prévalence correspond à une aire géographique potentielle d'acquisition beaucoup plus vaste et multifactorielle.

Les premiers résultats de cette analyse spatiale ont été la réalisation des cartes de prévalence de la toxoplasmose à travers les différentes unités de regroupement pour nos cinq populations différentes. Malgré les taux de prévalence importants pour l'ensemble du village au sein de chacune des populations, les unités de regroupement ont permis la mise en évidence de variations de ces prévalences dans l'espace. Ces variations pouvaient être communes ou différentes d'une population à l'autre, mettant en évidence des intensités de circulation différentes d'une zone à l'autre du village ainsi qu'au sein des communautés d'hôtes intermédiaires. Une potentielle structuration a ainsi pu être mise en évidence avec 2 foyers d'infections correspondant à de fortes prévalences pour l'ensemble des populations. L'un était situé au sud du village autour des unités de regroupement 4 et 5 et l'autre, plus au nord, autour des unités 8 et 11. Ces deux points chauds de circulation du parasite à Dienga semblent être liés à de fortes concentrations de chats, mais aussi à leur fort taux d'infection. L'unité 5 présentait 6 chats tous infectés et dont 5 se trouvaient au sein du même foyer (n° 24). Lehmann et collaborateurs ont montré à l'échelle d'une ferme (élevage de porc) à travers l'étude des prévalences chez des animaux d'élevages et commensaux à la ferme (domestiques et sauvages) que la concentration de la transmission de *T. gondii* au niveau d'un des bâtiments diminuait au fur et à mesure que l'on s'en éloignait (Lehmann *et al.*, 2003). De la même manière que Lehmann et collaborateurs, nous avons voulu tester cette hypothèse au niveau du foyer n° 24. Des tendances allant dans le sens d'une diminution de la prévalence avec la distance ont été observées ; cependant, les effectifs extrêmement faibles ne nous permettent pas de conclure.

D'autres zones ont montré de faibles taux de prévalence pour une bonne partie, voire la totalité des populations. Ils peuvent être mis en relation avec la faiblesse des effectifs de chats dans ces unités (cas des unités de regroupement 3 et 7), voire leur absence (cas du nord du village avec l'unité 1). La plus faible prévalence chez les quelques chats présents dans ces unités peut aussi en être la cause.

L'unité 6 ne présentait pas de chats et pourtant la séroprévalence chez les chiens et dans la population humaine générale y était extrêmement élevée. Deux hypothèses s'offrent à nous. La plus simple consiste à considérer que chiens et maîtres se sont infectés dans un autre

lieu ou à une période antérieure, ce qui est fort probable. La seconde hypothèse vient du questionnaire réalisé lors du recensement. Les habitants de cette zone sont pour la plupart des notables qui, contrairement au reste de la population, mangent beaucoup de viande aussi bien de gibier que d'élevage. Les chiens en profitent aussi, contrairement aux autres chiens du village qui sont plutôt sous-alimentés. Les pratiques culinaires de cette population sont aussi moins traditionnelles. Un risque accru de contamination par consommation de kystes existerait pour ces habitants d'autant plus que les taux de prévalence sont importants quelque soient les viandes de consommation provenant du village (viande de brousse, poule ou petit ruminant). La même remarque peut être faite en ce qui concerne l'unité 1 pour laquelle aucun chat n'a été recensé et qui présente pourtant une prévalence importante chez les chiens. L'unité 1 regroupe un certain nombre de chasseurs, dont les chiens reçoivent potentiellement plus fréquemment de la viande crue de gibier, ce qui pourrait expliquer ce taux. Par contre, la population humaine de cette zone a gardé ses traditions culinaires qui implique une cuisson importante de la viande, ce qui peut expliquer que la prévalence dans la population humaine ne suive pas celle des chiens. Ceci reste très hypothétique du fait que ces populations sont très mobiles et peuvent s'infecter de multiples manières, comme semble le montrer l'homogénéité de la prévalence humaine sur l'ensemble du village. Même si l'analyse des facteurs de risque sur l'ensemble du village pour ces 2 populations (humains et chiens) n'a pas mis en évidence de lien entre contamination et consommation de gibier ou la présence de chasseur, cela n'exclut pas un rôle possible de ce facteur au sein de certaines unités.

Contrairement aux enfants et aux chiens, les poules présentent une certaine homogénéité de prévalences élevées sur l'ensemble du village. Elles sont ainsi les seules, avec les chats, à avoir une forte prévalence dans l'unité 10. Cette observation confirme le rôle de sentinelle des poules, témoins de la contamination du sol par les oocystes (da Silva *et al.*, 2003). La forte prévalence chez les humains de plus de 8 ans quelle que soit leur localisation dans le village, n'a pas permis de retrouver d'autres facteurs de risque avec l'analyse SIG. De plus, la prévalence mesurée dans cette tranche d'âge reflète une acquisition passée dont les facteurs épidémiologiques qui l'expliquent ne correspondent pas à ceux mesurés lors de cette étude. Ces derniers ne peuvent expliquer que les contaminations récentes (enfants et animaux).

L'ACP semble confirmer notre hypothèse de départ sur la contamination tellurique en regroupant les prévalences des populations d'enfants et de poules avec celle des chats. A l'opposé, les chiens semblent ne pas être en relation directe avec ce mode de contamination, mais plutôt en lien avec une multiplicité des modes d'acquisition du toxoplasme, au même titre

que les humains d'âge supérieur ou égal à 8 ans. La prévalence chez ceux-ci est totalement indépendante du facteur sol mis en évidence dans l'ACP. La place intermédiaire des enfants dans l'ACP impliquerait une combinaison entre le mode de contamination tellurique, qui joue une place prépondérante dans cette tranche de la population humaine, et l'ensemble des autres modes d'acquisition que partagent les chiens et la population humaine plus âgée. Il faut rester cependant prudent sur l'interprétation de cette ACP pour laquelle les effectifs restreints, les données manquantes et d'autres facteurs non extrapolés pourraient participer à la variabilité observée.

En conclusion :

- Malgré toutes les imperfections de cette analyse, il faut considérer cette étude SIG comme exploratoire et nécessitant des améliorations à la fois dans la méthodologie d'échantillonnage, mais aussi dans les analyses géographiques employées. Elle a cependant permis de retrouver les grandes tendances bien connues dans l'épidémiologie du toxoplasme telles que le lien entre la prévalence chez les enfants et la présence de chats à proximité dans un contexte de contamination tellurique par les oocystes dont les poules sont le premier indicateur de présence.

Il faut néanmoins garder à l'esprit le biais imputé à la persistance des anticorps anti-toxoplasme (IgG) tout au long de la vie des différents hôtes présents au village. Ils ne représentent que des traces de la circulation du toxoplasme à un moment donné de son histoire épidémiologique dans ce village.

Cette étude a permis de retrouver de grandes tendances, tout en mettant en valeur de nouvelles techniques d'analyse prometteuses en ce qui concerne le toxoplasme. Elle a aussi montré l'intérêt de la prise en compte du facteur spatial dans l'épidémiologie infra communautaire du toxoplasme.

- Nous avons ainsi pu mettre en évidence et localiser deux foyers de contamination en relation avec la présence de chats infectés. La dynamique de transmission du toxoplasme proposé par Lehmann et collaborateurs dans le cas de foyer source lié à la présence de chats infectés reste cependant à être confirmée (Lehmann *et al.*, 2003).

- Au travers des différentes analyses, nous avons pu préciser les moyens de contamination spécifique à certaines populations. Les poules et les enfants ont ainsi été confirmés comme étant les plus sensibles au risque tellurique.

## IV. CONCLUSION GENERALE

---

Cette étude de séroprévalence semble confirmer l'ensemble des caractéristiques épidémiologiques du toxoplasme en zone tropicale humide avec une prévalence globale élevée aussi bien en milieu urbain que rural, un risque tellurique prépondérant au sein du cycle domestique du toxoplasme en relation avec le niveau d'hygiène, les conditions climatiques et la coexistence d'un cycle sauvage et domestique. En perspective, le même type d'étude pourrait être envisagé au sein de Libreville avec l'examen de la population de chats. Une recherche de la contamination par les oocystes des différentes matrices telles que le sol ou les eaux de ruissellement ou stagnante serait intéressante pour compléter cette approche (Dumètre and Dardé, 2003; Dumètre and Dardé, 2007; Afonso *et al.*, 2008). Les SIG pourraient être utilisés pour analyser les facteurs de risque et plus généralement les facteurs épidémiologiques et environnementaux en relation avec le toxoplasme. La relation entre la localisation de ces facteurs et celle de la prévalence pourrait alors être abordée de façon plus lisible.

Pour compléter l'étude de Dienga, comme Lehmann et collaborateurs l'ont fait dans leur étude de la dynamique de circulation du toxoplasme dans une ferme porcine où ils ont isolé un certain nombre de souches à partir des animaux ayant permis l'analyse de la prévalence (Lehmann *et al.*, 2003), nous avons voulu analyser les génotypes des souches qui circulaient dans ce village pour affiner la compréhension de la circulation du parasite. Cette enquête séroépidémiologique a donc été un travail préliminaire à l'isolement de souches à Dienga. Ces isollements de souches de toxoplasmes à Dienga ont été complétés par d'autres dans diverses localités du Gabon afin d'évaluer la biodiversité du toxoplasme dans ce pays. Ces travaux font l'objet de la seconde étude menée au Gabon et font l'objet d'une des parties du chapitre 3.

## **CHAPITRE 3**

# **Epidémiologie moléculaire de *Toxoplasma gondii* au Gabon et en Guyane Française**

## I. INTRODUCTION

---

L'épidémiologie moléculaire est un complément aux études basées sur la séroprévalence. L'analyse de marqueurs génétiques permet de caractériser les différentes souches de toxoplasme, mais aussi d'étudier ses modes de reproduction, voire caractériser sa circulation au sein et entre les populations via les flux de gènes.

La mise au point dans notre laboratoire de techniques d'analyses multilocus du génome par microsatellites (Ajzenberg *et al.*, 2002a; Ajzenberg *et al.*, 2005; Ajzenberg *et al.*, 2010) a permis la caractérisation des souches de toxoplasme à deux niveaux de résolution génétique :

- l'identification de ce qu'il est convenu, dans le domaine du toxoplasme, d'appeler des types ou des lignées, qu'il s'agisse des trois lignées clonales classiques (types I, II et III), de lignées ou de souches isolées caractérisées par la combinaison d'allèles classiques et/ou atypiques,
- la caractérisation quasi-individuelle des isolats grâce à un fort pouvoir discriminant pouvant permettre d'aborder la génétique des populations du toxoplasme.

Comme nous l'avons vu dans la partie « Généralités », l'étude des souches circulant en zone tropicale humide a essentiellement porté sur les souches d'Amérique du Sud et plus particulièrement du Brésil. Une grande diversité génétique y a été observée qui s'oppose à l'homogénéité observée en Europe (prédominance du Type II). Ces génotypes sont associés à une plus grande fréquence des toxoplasmoses oculaires dans certaines régions du Brésil (Khan *et al.*, 2006). En Guyane Française, ce sont de nombreuses souches dites atypiques à l'origine de cas sévères de toxoplasmoses qui ont été caractérisées. Ces dernières semblent en relation avec un cycle sauvage du toxoplasme (Carme *et al.*, 2009b; Carme *et al.*, 2002b). Les souches de Type II, pourtant largement majoritaires en Europe, sont plus rarement rencontrées en Amérique du Sud.

Nous disposons de très peu d'informations en ce qui concerne les continents africain et asiatique.

Nous proposons donc deux études portant sur la diversité génétique et la structure des populations de *T. gondii* à partir de souches nouvellement isolées dans deux régions des tropiques humides :

- l'une au Gabon, où l'analyse de la diversité a été réalisée au travers de l'échantillonnage de trois villes et d'un village, géographiquement distants les uns des autres.
- l'autre en Guyane Française, où il s'agissait de compléter l'analyse de la diversité qui portait jusqu'ici essentiellement sur le cycle sauvage, par l'étude de la diversité du cycle domestique du toxoplasme.

Ces deux études ont fait l'objet de deux articles (un accepté, un soumis) présentés dans les parties suivantes.

## **II. ÉTUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DE LA STRUCTURE DES POPULATIONS DE *TOXOPLASMA GONDII* AU GABON**

---

L'Afrique est encore très peu étudiée quant à la biodiversité du toxoplasme. Deux études récentes ont porté sur l'isolement et le génotypage multilocus de souches provenant de poulets du continent africain. La première (Velmurugan *et al.*, 2008), portait sur 19 isolats provenant de 7 pays africains (Egypte, Kenya, Nigeria, Congo, Mali, Burkina Faso et le Ghana) et utilisait 10 marqueurs RFLP. La seconde (Lindström *et al.*, 2008) a analysé 20 isolats provenant d'Ouganda à l'aide de 5 marqueurs RFLP. Ces deux études montrent une prédominance des Types I, II et III avec l'existence de génotypes recombinants notamment II/III (Lindström Bontell *et al.*, 2009). Ce résultat contraste avec la collection d'isolats de toxoplasmes récoltés en France dans le cadre du CRB *Toxoplasma*, parmi lesquels 17 isolats isolés à partir de patients immunodéprimés ayant acquis leur infection en Afrique (Sénégal, Cameroun, Côte d'Ivoire, Ghana, République Centrafricaine, République Démocratique du Congo, Guinée, Bénin). Après un génotypage multilocus à l'aide de 6 marqueurs microsatellites, un seul de ces isolats est de Type II, trois sont de Type III et 13 (71 %) présentent un génotype mixte associant des allèles de Type I et III (*Africa I*), avec en général une majorité d'allèles de Type I (Ajzenberg *et al.*, 2009; Ajzenberg *et al.*, 2004). Cette plus forte proportion de génotypes non-archétypaux diffère des deux précédentes études africaines.

Ces différences nous ont incité à entreprendre des isollements à partir de la faune afin d'améliorer les connaissances sur la diversité du toxoplasme et comprendre la circulation des génotypes sur ce continent. Une étude a été réalisée au Gabon dans ce sens avec l'isolement de souches à partir d'animaux domestiques provenant de trois grandes villes du Gabon (Libreville, Franceville et Makokou) et du village isolé de Dienga (figure 7 p 67) au sein duquel nous avons mis en évidence au préalable une circulation intense du toxoplasme chez l'homme et la faune domestique et sauvage. L'étude séroépidémiologique réalisée dans ce dernier village était donc préliminaire au travail d'isolement.

Dans l'article qui suit, nous présentons les résultats du génotypage de 69 souches de *T. gondii* provenant de différents animaux (poules, chèvres, moutons et un chat) et de biotopes variés (urbain et rural), en utilisant 13 marqueurs microsatellites. La structure des populations des souches isolées a été analysée, ainsi que leur virulence chez la souris à l'isolement.

**Article 1 : Additional Haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa:  
Population structure and mouse-virulence of strains from Gabon**

Aurélien Mercier<sup>a</sup>, Sébastien Devillard<sup>b</sup>, Barthélémy Ngoubangoye<sup>c</sup>, Henri Bonnabau<sup>d</sup>, Anne-Laure Bañuls<sup>e</sup>, Patrick Durand<sup>e</sup>, Bettina Salle<sup>c</sup>, Daniel Ajzenberg<sup>a, f</sup>, Marie-Laure Dardé<sup>a, f\*</sup>.

<sup>a</sup>. *Université de Limoges, IFR 145 GEIST ; EA 3174 NeuroEpidémiologie Tropicale et Comparée, 2 rue du Dr Marcland, Limoges, 87025 Limoges Cedex, France*

<sup>b</sup>. *Université Lyon 1 ; CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, F-69622, Villeurbanne, France*

<sup>c</sup>. *Centre de Primatologie, Centre International de Recherche Médicale de Franceville (CIRMF) BP 769, Franceville, Gabon*

<sup>d</sup>. *CHU Limoges, Service de l'Information Médicale et de l'Évaluation, Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistiques, Limoges, 87042, France*

<sup>e</sup>. *Centre IRD, Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses (UMR CNRS/IRD 2724), 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France*

<sup>f</sup>. *Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / T. gondii Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire Dupuytren, Limoges, 87042, France*

\* Corresponding author

Address : EA3174 NeuroEpidémiologie Tropicale Et Comparée, Faculté de Médecine, 2 rue du Dr Marcland, 87025 Limoges Cedex. Tel.: +33-555-056-206, fax: +33-555-056-177, e-mail: [darde@unilim.fr](mailto:darde@unilim.fr)

Running title: *Toxoplasma gondii* in Gabon (Africa)

Article publié dans *Plos Neglected Tropical Diseases*

## II. 1. Principaux résultats de l'article 1

- 69 isolats nouveaux ont été obtenus pour le Gabon et plus largement pour le continent africain, nombre à comparer aux 58 extraits d'ADN et isolats précédemment publiés, faisant de cette étude la plus importante pour le nombre d'échantillons.

- Excepté le Type III que l'on retrouve partout dans le monde, deux principaux haplogroupes ont été caractérisés pour le Gabon : *Africa 1* et 3. Ces deux haplogroupes correspondent à des mélanges d'allèle de Type I et III. Le premier, *Africa 1*, avait déjà été décrit par Ajzenberg et collaborateurs dans de nombreux pays d'Afrique de l'Ouest et centrale, alors que le second, *Africa 3*, correspond à un nouvel haplogroupe pour l'Afrique (Ajzenberg *et al.*, 2009).

- La caractérisation génétique de ces haplogroupes est renforcée par des caractéristiques phénotypiques distinctes au travers de la virulence à l'isolement chez la souris. L'haplogroupe *Africa 1* a été trouvé le plus virulent pour la souris.

- Des échanges génétiques (flux de gènes) ont été mis en évidence entre les trois centres urbains étudiés qui pourraient être favorisés par les échanges commerciaux et les transports (figure 18). A l'opposé, l'isolement du village de Dienga se traduit par l'absence de flux génétiques significatifs avec les autres populations. Cela montre à quel point l'influence humaine peut être importante sur la circulation de certains pathogènes, allant même jusqu'à structurer génétiquement les populations d'un agent de zoonose tel que le toxoplasme.



**Figure 18 : Importance des circulations humaines et modes de transport entre les 4 localités étudiées.** La couleur rouge correspond à une fréquence élevée des échanges (plus ou moins importante en fonction de l'épaisseur du trait). Les pointillés bleus indiquent des transports possibles mais extrêmement limités en comparaison aux traits rouges et donc ayant, d'après notre étude, très peu d'influence sur les populations locales de toxoplasmes.

- Les haplogroupes africains décrits dans cette étude ont été trouvés proches de certains génotypes d'Amérique du Sud. Cette proximité suggère pour ces souches l'existence d'un ancêtre commun entre les deux continents, qui, là encore, peut être mis en relation avec les échanges humains : traite des noirs entre le XV<sup>ème</sup> et XVI<sup>ème</sup> siècle qui a marqué l'histoire du Gabon (Libreville doit sa création et son nom aux premiers esclaves affranchis). Cette hypothèse a été proposée pour les migrations d'autres parasites tel que *Plasmodium falciparum* (Anderson *et al.*, 2000; Hartl, 2004; Tanabe *et al.*, 2010; Watts, 1997). Une étude phylogénétique du toxoplasme serait nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

- Les similitudes entre génotypes des deux continents et la pathogénicité chez l'homme décrite comme plus importante pour les génotypes d'Amérique du Sud devraient encourager la conduite en Afrique d'études cliniques avec en parallèle l'analyse des génotypes correspondant.

### III. 2. 2. Résultats annexes non présentés dans l'article 1

#### *Tentatives d'isolement à partir de la faune sauvage*

Comme le montre l'étude de la prévalence au niveau de Dienga, nous nous sommes intéressés au départ à l'ensemble de la faune aussi bien sauvage que domestique. Au vu de ce qui était décrit pour le cycle sauvage en termes de souches en Guyane Française, nous voulions aussi caractériser les souches de la faune sauvage au Gabon. Des tentatives d'isolement de souches ont été réalisées sur une partie des 23 viandes de brousse collectées à Dienga associées à 11 autres prélèvements de la faune sauvage collectés dans divers localités (Route entre Franceville et Makokou, alentours de Franceville, Lekonie et Bakoumba) et représentant 9 espèces (2 potamochères, 2 buffles de forêt, 1 impala, 1 chevrotain aquatique, 1 céphalophe rayé, 1 céphalophe baie, 1 panthère, 1 chat huant et 1 engoulevent). Les 16 prélèvements séropositifs qui en sont ressortis ont pour la plupart subi une procédure d'isolement, soit 14 prélèvements (cœur et/ou cerveau) inoculés à la souris. Les 2 seuls rats (1 domestique et 1 sauvage) positifs de Dienga ont aussi fait l'objet d'une tentative d'isolement.

Malheureusement, aucune de ces inoculations n'a permis d'isolement de souche sans que l'on puisse réellement l'expliquer. Pour une partie de ces prélèvements, la sérologie sur jus de viande a peut-être donné de faux positifs, bien que cette technique soit couramment employée. Cependant, cette hypothèse ne peut expliquer l'absence totale d'isolement pour l'ensemble des animaux sauvages.

Des PCR en temps réel (quantitatives) ayant pour cible le gène *AFI46527* (répété 200 à 300 fois dans le génome du toxoplasme) (Homan *et al.*, 2000) ont été réalisées afin de vérifier la présence ou non d'ADN de toxoplasme et d'estimer sa quantité dans les prélèvements de la faune sauvage utilisés pour l'isolement. L'extraction a été réalisée sur 200 µl de la digestion trypsique des organes de 14 animaux séropositifs. La PCR a été effectuée sur 5 µl de l'extrait ADN (Mercier *et al.*, sous presse). Nous y avons ajouté 4 témoins positifs correspondant à des digestions trypsiques provenant de différentes espèces domestiques (chat, poule, chèvre et mouton) qui ont permis l'isolement de souches lors de notre étude au Gabon.

Seules 5 viandes de brousse ont permis la détection d'ADN de toxoplasme à la limite du seuil de détection ( $< 1$  toxoplasme /5 µl d'extrait), alors que les 4 témoins positifs étaient tous positifs avec des quantités supérieures. Si l'on évalue les nombres de toxoplasmes présents par inoculum (700 µl), les 5 viandes de brousse positives oscillaient entre moins de 1 et 13 toxoplasmes par inoculum contre 3 à 1540 toxoplasmes pour les témoins positifs. Ces très faibles quantités n'ont pas permis d'effectuer un génotypage direct car la sensibilité de la

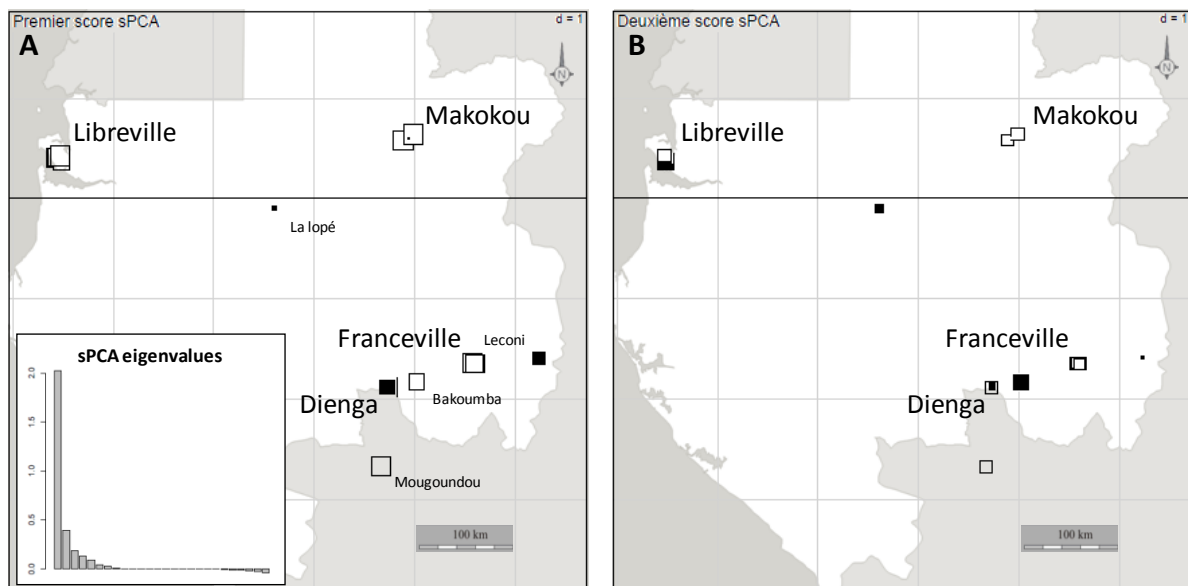
PCR de génotypage, qui repose sur des gènes à copie unique, est moindre que celle de la PCR diagnostique (Ajzenberg *et al.*, sous presse). En comparaison aux témoins positifs, un des 5 inocula d'animaux sauvages présentant la plus grande richesse en parasites (cœur d'un buffle de forêt) aurait dû permettre l'isolement. De plus, si l'on regarde les quantités de parasites estimées dans l'article à partir des inocula correspondant aux souches domestiques isolées, certaines étaient inférieures à 1 toxoplasme par inoculum. La question reste donc ouverte sur ces résultats négatifs et l'isolement de souches sauvages en Afrique reste à faire afin de pouvoir envisager la globalité de la diversité du toxoplasme sur ce continent.

#### *Évaluation de la composante spatiale à différentes échelles de la diversité génétique du toxoplasme au Gabon.*

Comme nous l'avons fait pour la prévalence, il nous a semblé intéressant de regarder si la structure génétique des populations de *T. gondii* décrite au Gabon dans l'article 1 correspondait aussi à une structure spatiale comme semblait le démontrer la répartition des génotypes au sein de chaque ville ou village étudié.

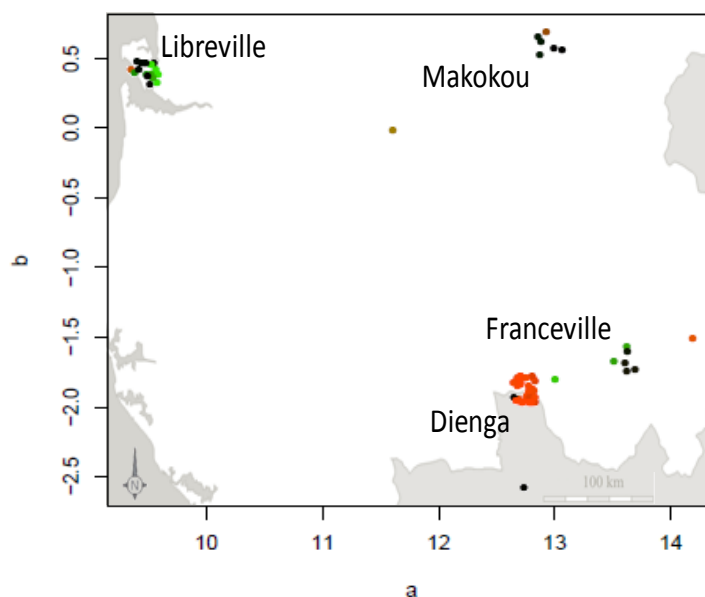
Pour cela, grâce à la contribution de S. Devillard (UMR CNRS 5558, LBBE, Lyon), nous avons utilisé l'analyse spatiale en composantes principales ou sPCA (Jombart *et al.*, 2008), mis en œuvre dans le package *adeigenet* (Jombart, 2008) pour le logiciel R [R development Core (R *et al.*, 2009)]. La sPCA cherche les composantes principales qui permettent d'optimiser le produit de la variance et du *I* de Moran (Moran, 1948; Cliff and Ord, 1981), tout en s'assurant à ce que à la fois la diversité génétique et la structure spatiale soient prises en compte. La sPCA permet l'identification des «structures globales» (sensu Jombart *et al.* 2008) qui correspondent à une autocorrélation spatiale positive entre les génotypes, indiquant la présence de patches ou de gradients dans la distribution spatiale de la diversité génétique. Comme dans d'autres analyses multivariées (Jombart *et al.*, 2009), ces structures globales sont typiquement détectées graphiquement par une chute brutale des valeurs propres positives. Jombart et collaborateurs fournissent un test non paramétrique aléatoire de Monte-Carlo, qui facilite l'évaluation de la robustesse de la structure globale déduite (Jombart *et al.*, 2008). Nous avons utilisé la matrice de l'inverse des distances euclidiennes entre chaque paire de souches comme matrice de proximité, intégrée explicitement dans l'analyse pour le calcul du *I* de Moran. Une telle matrice de proximité implique que la force d'autocorrélation spatiale entre les 2 souches de *T. gondii* soit linéairement liée à la distance géographique qui les sépare. L'ensemble des souches isolées dans cette étude géolocalisée lors des prélèvements a pu être utilisé pour cette analyse.

Le barplot des valeurs propres de la sPCA sur les 69 souches gabonaises de *T. gondii* (figure 19. A, en bas à gauche) laisse apparaître de façon très nette une structure globale, et la possibilité d'une seconde structure globale (correspondant respectivement aux 2 premières valeurs propres positives) (Figure 19. B). Le test global de Monte-Carlo randomisé souligne que ces structures globales ont peu de chances de résulter d'une distribution spatiale aléatoire des génotypes de l'échantillon ( $p < 0,0001$ , 9999 permutations).



**Figure 19 :** Structures génétiques spatiales des 69 isolats de *T. gondii* géolocalisés au Gabon selon l'analyse sPCA (correspondant aux 2 premières valeurs propres de la sPCA : A et B). Les carrés noirs et blancs représentent les scores des isolats pour la première (A) et la seconde (B) composante principale correspondant aux structures globales respectives. En bas à gauche de la figure A, le diagramme en barres des valeurs propres de la sPCA.

La sPCA retrouve aisément la conclusion des analyses réalisées dans l'article 1, à savoir que Dienga semble être un îlot à part dans la variabilité génétique observée, et que Libreville, Franceville et Makokou forment une seule et même population (figure 19. A). Une autre représentation graphique mettant mieux en valeur cette structuration a été obtenue en bruitant les localisations (figure 20). De plus, la seconde structure globale laisse à penser qu'il pourrait y avoir une sous-structuration à l'intérieur même de certaines villes telle que Libreville et peut être, mais de façon moins évidente pour le village de (Dienga).

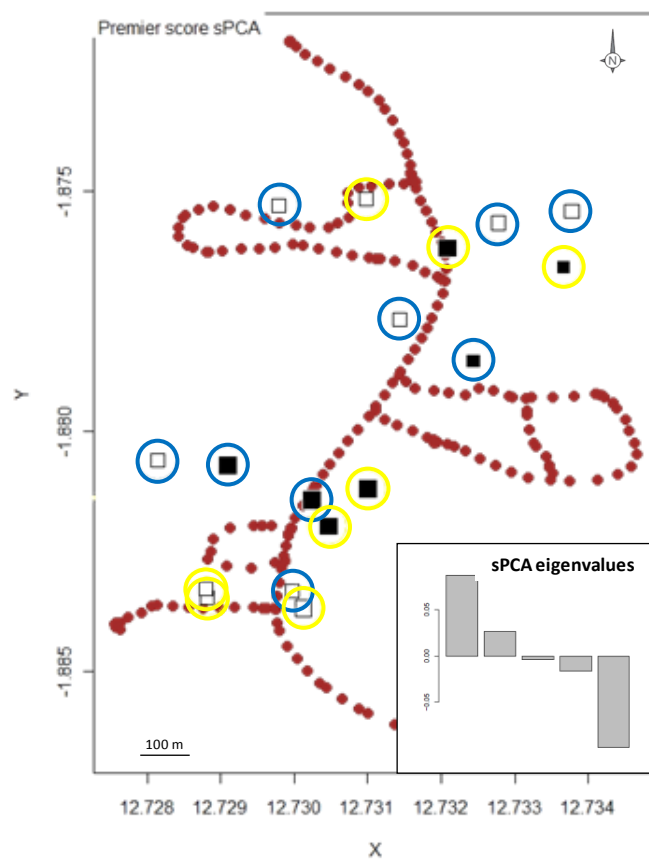


**Figure 20** : Carte de la structure génétique spatiale des 69 isolats de *T. gondii* gabonais correspondant à la première valeur propre de la sPCA après bruitage de leurs géolocalisations.

La sPCA a donc été poursuivie au sein du village de Dienga et de la capitale Libreville.

### Dienga

La sPCA a été réalisée sur 18 souches issues de poules du village de Dienga. Les poules ont été préférées aux souches issues des petits ruminants ou du seul chat pour la même raison que l'étude SIG réalisée sur la prévalence. En effet l'attachement des poules à leur foyer (périmètre de quelques dizaines de mètres autour du foyer) permet de les localiser précisément avec un faible risque d'erreur. Le barplot des valeurs propres de la sPCA sur les 18 souches (Figure 21, en bas à droite) montre que la première composante principale globale pourrait être conservée. Cependant le test global de Monte-Carlo randomisé souligne que cette structure globale pourrait résulter d'une distribution spatiale aléatoire des génotypes de l'échantillon ( $p=0,13$ , 9999 permutations). Le faible nombre d'échantillons pourrait expliquer ce résultat (manque de puissance). La structure génétique spatiale globale a tout de même été affichée graphiquement sur la carte de distribution (figure 21) et celle-ci est comparée avec la sub-clusterisation de Dienga donnée par l'analyse sous STRUCTURE de l'article 1 afin de confirmer ou rejeter une potentielle structure spatiale.



**Figure 21** : Carte de la structure génétique spatiale des 18 isolats de *T. gondii* géolocalisés au sein du village de Dienga selon l'analyse sPCA (carrés noirs et blancs) comparée à l'analyse sous STRUCTURE ( $K=3$  ; cercles jaunes et bleus). En bas à droite de la figure, le diagramme en barres des valeurs propres de la sPCA. Les points rouges représentent les différentes pistes du village.

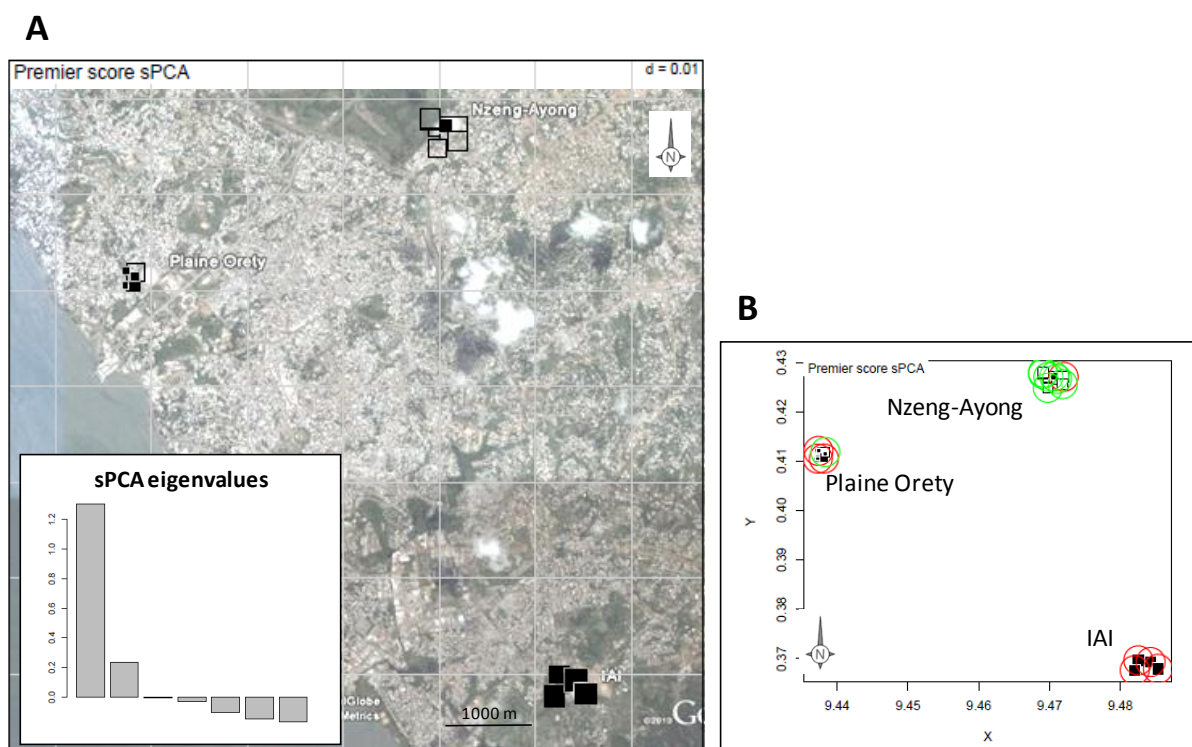
Les 2 structures ainsi exposées ne se superposent pas et ne présentent pas non plus de structure logique. Il semblerait donc qu'il y ait une absence de structuration spatiale de la population de *T. gondii* au sein du village de Dienga. Cependant l'ajout de nouveau marqueur discriminant dans l'analyse pourrait peut être permettre une meilleur lisibilité.

### Libreville

Le jeu de données a été réduit aux 17 souches issues de poules de Libreville et la sPCA a été réalisée sur ces 17 souches. Le barplot des valeurs propres de la sPCA (figure 22, en bas à gauche) montre que la première composante principale globale pourrait être conservée.

Le test global de Monte-Carlo randomisé souligne que cette structure globale a peu de chances de résulter d'une distribution spatiale aléatoire des génotypes de l'échantillon ( $p=0,002$ , 9999 permutations). La structure génétique spatiale globale a pu être affichée graphiquement sur la carte de distribution (figure 22).

On peut ainsi observer malgré le faible nombre de souches analysées une organisation en 3 patches correspondant aux 3 quartiers de Libreville (Plaine Orey au nord-ouest, Nzeng-Ayong au nord-est et IAI plus au sud) où ont été réalisés les prélèvements. Une différenciation plus importante est visible entre les 2 quartiers du nord et celui du sud.



**Figure 22 :** A) Cartes de la structure génétique spatiale des 17 isolats de *T. gondii* géolocalisés au sein des 3 quartiers de Libreville (Plaine Orey, Nzeng-Ayong et IAI) selon l'analyse sPCA. B) Comparaison de la structure trouvée par la sPCA (carrés noirs et blancs) à celle proposée par l'analyse sous STRUCTURE (K=3 ; cercles verts et rouges). En bas à gauche de la figure A, le diagramme en barres des valeurs propres de la sPCA. Le fond de carte de la figure A provient de Google Earth.

Comme pour Dienga nous avons comparé cette structure spatiale aux résultats donnés par l'analyse sous STRUCTURE pour K=3 de l'article 1 et la concordance est visible dans la figure 22. B. De cette façon la structure observée est robuste puisque soutenue par 2 analyses différentes. Il semblerait donc qu'à Libreville la population du toxoplasme puisse être

structurée spatialement à travers les quartiers avec une tendance aux échanges qui paraît logique lorsque ces quartiers sont proches. Ainsi, d'après l'analyse, les 2 quartiers du nord plus proches géographiquement (3,7 km à vol d'oiseau contre 6,5 km) semblent partager des souches génétiquement semblables qui s'opposent aux souches du quartier sud plus éloigné.

### **III. ÉTUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DE LA STRUCTURE DES POPULATIONS DE *TOXOPLASMA GONDII* A TRAVERS SES CYCLES DOMESTIQUES ET SAUVAGES EN GUYANE FRANÇAISE**

---

#### **III. 1. Présentation générale de la Guyane Française**

##### **III. 1. 1. Géographie**

La Guyane Française se situe au nord du continent sud-américain sur le plateau des Guyanes, entre l'équateur et le tropique du cancer. Ses frontières sont délimitées à l'est par l'Oyapock, à l'Ouest par le fleuve Maroni, au sud par les monts Tumuc-Humac et au nord par l'océan Atlantique sur plus de 350 km de côtes. La Guyane est entourée par le Surinam à l'ouest et le Brésil à l'est et au sud (figure 23).

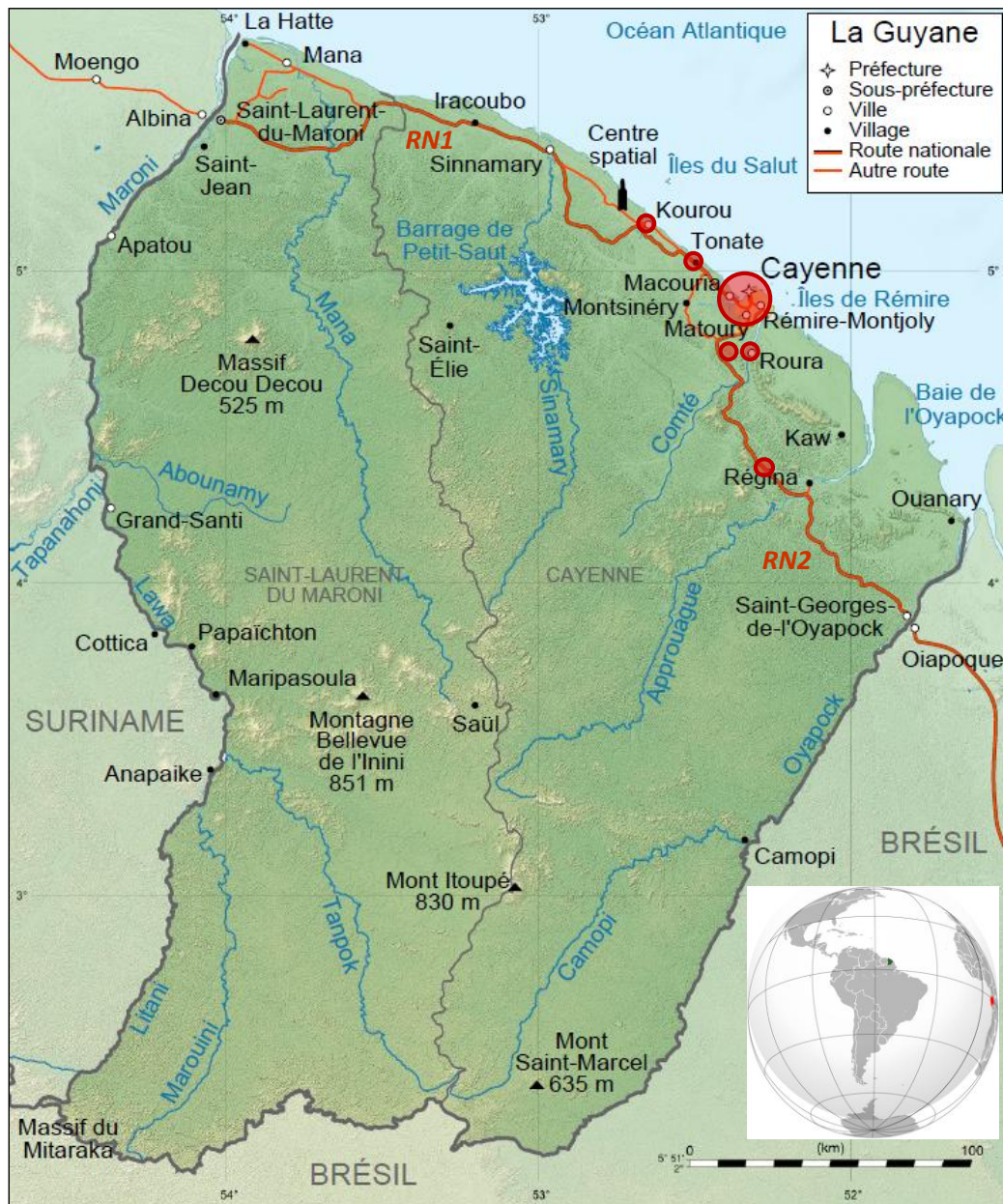
Sa superficie est de 83 846 km<sup>2</sup> (source IGN 2009). Seule la bande côtière est facilement accessible, le reste du territoire est couvert par une forêt équatoriale dense qui représente 89 % de la superficie de la Guyane Française. Il s'agit pour l'essentiel d'une forêt primaire relativement bien conservée qui est similaire à celle de l'Amazonie brésilienne dont elle est un prolongement. Elle n'est accessible que par voie fluviale ou aérienne.

La Guyane peut se décliner sous trois grandes régions :

- les terres hautes : c'est le domaine de la forêt équatoriale qui reste parmi les plus riches et les moins écologiquement fragmentées du monde (186 espèces de mammifères dont 110 espèces de chauves-souris et 740 espèces d'oiseaux). Le sol latéritique est pauvre et peu propice à l'agriculture.

- les terres basses : elles représentent la frange littorale, soit environ 6% du territoire, et sont composées de savanes, marécages ou massifs forestiers. C'est dans cette zone côtière que se trouve la majorité de la population. L'environnement de la frange littorale est celui qui, le long de la RN1, a historiquement connu le plus de modifications. Le même phénomène tend à se développer localement le long de la RN2 et là où les orpailleurs opèrent à l'est de la Guyane (figure 23).

- la côte : elle est bordée d'une mangrove large de plusieurs kilomètres à certains endroits et dont l'emplacement peut varier d'une année sur l'autre.



**Figure 23 :** Carte géographique de la Guyane Française indiquant les lieux de prospection pour notre étude (cercles rouges), d'après Sémhur (2009). Source :

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/61/Guyane\\_map-fr.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/61/Guyane_map-fr.svg).

### III. 1. 2. Population

La population guyanaise comptait 221 500 habitants en 2008 avec une densité aussi faible que celle rencontrée au Gabon, de 2,7 habitants au km<sup>2</sup>. Cependant si l'on tient compte du fait que la population est essentiellement groupée dans les quelques communes du littoral, le long de la RN1 et au bord des grands fleuves et de leurs estuaires, soit sur approximativement 10 % du territoire, la densité "effective" est plus proche de 19 habitants au km<sup>2</sup> (à Cayenne elle atteint 2 725 habitants au km<sup>2</sup>) (INSEE, 2010).

La population est à plus de 80 % urbaine avec 75 % des habitants vivant dans les cinq plus grandes villes de la région (Cayenne, Saint Laurent du Maroni, Matoury, Kourou et Rémire-Montjoly) qui sont les seules villes à dépasser les 10 000 habitants. De ce fait, comme pour le Gabon, la part de la population qui dépend directement de la forêt pour survivre est relativement faible.

De nombreuses communautés d'ethnies et de nationalités différentes coexistent en Guyane Française :

- les Créoles guyanais (environ 40 % de la population)
- les Amérindiens répartis en 6 ethnies (les Arawaks, les Palikus, les Galibis, les Wayanas ou Roucouyennes, les Oyampis ou Wayampis, et les Emerillons). Ils représentent environ 4 500 personnes.
- les Noirs-marrons, (les Saramacas, les Bonis ou Aluqus, les Djukas). Ils représentent environ 4 000 personnes.
- les H'mongs, arrivés en 1977 en provenance essentiellement du Laos, représentent environ 2 000 personnes regroupées sur les communes de Cacao et Javouhey.
- les Métropolitains représentent actuellement environ 12 % de la population.
- les autres populations (Chinois, Libanais, Brésiliens, Haïtiens, Surinamiens) représentent près de 40 % de la population de Guyane.

Cette mosaïque communautaire et les différents afflux qui en découlent ont fait de la Guyane Française une société pluriculturelle où chaque groupe maintient encore ses traditions et spécificités culturelles et tout particulièrement en milieu rural. Ces différences culturelles s'accompagnent de différences dans la prévalence de la toxoplasmose et dans les modes d'acquisition (Carme and Demar-Pierre, 2006).

### III. 1. 3. Climat

La Guyane bénéficie d'un climat équatorial humide que l'on peut caractériser par :

- sa position proche de l'équateur et sa façade océanique qui lui confèrent une bonne stabilité climatique.
- une température annuelle moyenne de 26°C qui ne diffère en général que de quelques degrés entre le mois le plus chaud et le mois le plus froid.
- une pluviométrie annuelle moyenne variant de 2 000 mm à 4 000 mm par an qui fait de la Guyane l'une des régions les plus humides au monde.
- une humidité relative moyenne élevée, entre 80 % et 90 % selon la saison et dont les écarts peuvent s'accroître en saison sèche allant de 50 % à 100 %.
- quatre saisons :
  - la grande saison des pluies, d'avril/mai à mi-août (avec des maxima de précipitations en mai et juin),
  - la grande saison sèche, de mi-août à novembre,
  - la petite saison des pluies, de novembre/décembre à janvier/février,
  - la petite saison sèche appelée aussi « petit été de mars » en février/mars.

A travers cette description de la Guyane Française, il est remarquable de voir le nombre de points communs qui existent avec le Gabon aussi bien en termes de géographie, environnement, climats et population humaine. Il est donc apparu intéressant de comparer la structure de population des souches de Guyane Française à celles du Gabon.

### III. 2. Étude

En Guyane Française, l'hypothèse de l'existence d'un cycle sauvage de *Toxoplasma gondii* est évoquée, mettant en jeu les félinés sauvages (jaguar, puma, jaguarundi, ocelot, chat margay et oncille) et leurs proies, mammifères et oiseaux sauvages dont certaines espèces peuvent être des produits de chasse pour les humains. Diverses études tendent à étayer cette hypothèse : i) séroprévalence élevée chez certains de ces mammifères de Guyane par Carme et collaborateurs et de Thoisy et collaborateurs (Carme *et al.*, 2002a; de Thoisy *et al.*, 2003), ii) isolement d'une souche atypique de *Toxoplasma gondii* chez un jaguar vivant en liberté dans la forêt guyanaise (Demar *et al.*, 2008).

Ce cycle sauvage, aussi appelé cycle selvatique (relatif à la « selve » ou « selva » qui correspond à la forêt vierge équatoriale) semble être en relation de façon non exceptionnelle en Guyane Française avec un certain nombre de cas chez l'homme de primo-infections sévères chez des sujets immunocompétents. Depuis 2002, ce sont près de 50 nouveaux cas qui ont pu être documentés, avec isolement et caractérisation de la souche ou de l'ADN pour une vingtaine d'entre eux (Carme *et al.*, 2009b; Ajzenberg *et al.*, 2004; Carme *et al.*, 2002b; Demar *et al.*, 2007). Le rôle de la consommation de viande de gibier peu cuite ou d'eau de rivière non traitée en forêt entre 6 et 20 jours avant le début des symptômes sont fréquemment retrouvés (Carme and Demar-Pierre, 2006).

Ces formes, rarement rapportées en dehors de la Guyane Française et qui ont été nommées « toxoplasmoses amazoniennes » (Carme *et al.*, 2009b), sont dues à des souches aux génotypes atypiques (i.e. avec des allèles différents des allèles caractérisant les Types I, II et III classiques), bien différentes de celles habituellement retrouvées en Europe et aux USA voire même dans d'autres zones d'Amérique du Sud. Ces souches humaines virulentes présentaient des génotypes similaires à celui de la souche issue du jaguar (Demar *et al.*, 2008) confirmant, en plus de l'origine de contamination, l'appartenance au cycle sauvage de ces souches.

Ce cycle sauvage s'oppose au cycle domestique où l'on retrouve le chat domestique comme unique hôte définitif et tous les mammifères et oiseaux de l'environnement domestique. Ces deux cycles pourraient donc coexister en Guyane Française et ce d'autant plus que l'anthropisation de la forêt guyanaise est grandissant. Paradoxalement, nous savons peu de choses des génotypes des souches circulant au sein de ce cycle domestique et qui sont probablement responsables de formes chroniques ou asymptomatiques circulant silencieusement aussi bien chez les humains que chez les animaux domestiques de cette région.

Dans le cadre de ce cycle domestique, seuls 11 ADN ou isolats avaient pu être caractérisés pour la Guyane (6 à partir du réservoir animal et 5 chez des patients ayant fait des toxoplasmoses dites "classiques"). Il s'agissait essentiellement de génotypes présentant une combinaison d'allèles de Type I et III, mais aussi de génotypes de Type II (Carme *et al.*, 2009b; Carme *et al.*, 2009a) et de Type III (données non publiées correspondant à des ADN provenant de chats). Cependant, ces données ne nous permettaient pas d'avoir une vision globale des différents génotypes de *Toxoplasma gondii* circulant dans le cycle domestique en Guyane Française.

Une étude a donc été réalisée dans ce sens avec l'isolement de souches à partir de diverses espèces domestiques (chats, chiens et poules) et plus occasionnellement d'espèces sauvages qui provenaient pour la plupart de la région de Cayenne ou de la bordure côtière de 20 km de large qui s'étend de Kourou jusqu'à Roura en passant par Cayenne (figure 23). Un prélèvement a été réalisé ponctuellement en milieu sauvage proche de la région de Régina (à 30 km).

Dans le présent article, nous avons isolé 33 nouvelles souches de *T. gondii* provenant pour 32 d'entre elles du milieu « anthropisé » et une du milieu strictement sauvage. Ces souches ont été comparées à 18 autres déjà publiées (Dardé *et al.*, 1998; Bossi *et al.*, 1998; Carme *et al.*, 2009b; Carme *et al.*, 2002b; Ajzenberg *et al.*, 2004; Demar *et al.*, 2007; Demar *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2008) dont une d'origine « anthropisée » et les 17 autres imputées au cycle sauvage. L'ensemble de ces 51 souches a été génotypé à l'aide de 15 marqueurs microsatellites. La structure des populations a pu être analysée pour chacun des 2 cycles.

**Article 2 : Genetic Diversity of *Toxoplasma gondii* strains from two different environments in French Guiana: wild versus anthropized.**

Aurélien Mercier<sup>a</sup>, Daniel Ajzenberg<sup>a, b1</sup>, Sébastien Devillard<sup>c1</sup>, Magalie Pierre Demar<sup>d</sup>, Benoît de Thoisy<sup>e</sup>, Henri Bonnabau<sup>f</sup>, Frédéric Collinet<sup>a</sup>, Rachida Boukhari<sup>g</sup>, Denis Blanchet<sup>d</sup>, Stéphane Simon<sup>d</sup>, Bernard Carme<sup>d</sup>, Marie-Laure Dardé<sup>a, b\*</sup>

<sup>a</sup>. *IFR 145 GEIST ; EA 3174 NeuroEpidémiologie Tropicale et Comparée, Faculté de Médecine, 2 rue du Dr Marcland, Limoges, 87025 Limoges Cedex, France*

<sup>b</sup>. *Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / T. gondii Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire Dupuytren, Limoges, 87042, France*

<sup>c</sup>. *Université de Lyon, F-69000, Lyon ; Université Lyon 1 ; CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, F-69622, Villeurbanne, France*

<sup>d</sup>. *EA3593 – Faculté de médecine Université Antilles-Guyane B.P. 6006 97306 Cayenne cedex – Guyane française*

<sup>e</sup>. *Service des animaleries, Institut Pasteur de la Guyane, BP 6010, 97306 Cayenne, French Guiana*

<sup>f</sup>. *CHU Limoges, Service de l'Information Médicale et de l'Evaluation, Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistique, Limoges, 87042, France*

<sup>g</sup>. *Laboratoire de biologie médicale Centre hospitalier de l'Ouest guyanais 16, av. du Général-de-Gaulle 97320 Saint-Laurent-du-Maroni – Guyane française*

<sup>1</sup> These authors contributed equally to this work and are cited in alphabetical order.

\*Corresponding author

Address: EA3174 NeuroEpidémiologie Tropicale Et Comparée, Faculté de Médecine, 2 rue du Dr Marcland, 87025 Limoges Cedex.

Tel.: +33-555-056-206, fax: +33-555-056-177, e-mail: [marie-laure.darde@unilim.fr](mailto:marie-laure.darde@unilim.fr)

**Word count:** abstract (145 words), text (3500 words)

Article en cours de soumission

39

## Abstract

40 In French Guiana, severe cases of toxoplasmosis in immunocompetent patients are associated  
41 with atypical strains of *Toxoplasma gondii* linked to a wild neotropical rain forest cycle. Few  
42 data are available on strains circulating in the anthropized areas.

43 Thirty-three strains collected mainly in anthropized sub-urban areas and punctually from wild  
44 environment were compared with 18 previously reported isolates chiefly originating from the  
45 Amazon rainforest. The genotyping analysis performed with 15 microsatellite markers  
46 revealed a lower genetic diversity in the anthropized environment. The population structure  
47 analysis clearly showed a genetic differentiation between strains associated to the anthropized  
48 environment and those associated to the wild. The majority of strains from the anthropized  
49 environment were clustered into additional lineages of *T. gondii* that are common in Latin  
50 America and the Caribbean. The interpenetration of both environments leads to hybridization  
51 between strains that may be at risk for human health.

52

53 **Keywords:** *Toxoplasma gondii*, multilocus genotyping, microsatellites, population structure,  
54 domestic animals, anthropized and wild environment, French Guiana

55

56 **Running head:** Genetic diversity of *Toxoplasma* in French Guiana

57

## 58 Introduction

59 In Europe and the USA, *T. gondii* strains are grouped into three lineages, type I, II and  
60 III, based on clonal population structure and virulence in mice (1, 2). In tropical regions of  
61 South America, *T. gondii* displays a high degree of genetic diversity (1, 3) with some unusual  
62 genotypes being highly pathogenic to humans (1, 4). For example, in French Guiana, strains  
63 with atypical genotypes (e.g. with a majority of alleles different from those characterizing  
64 types I, II and III) were isolated from severe cases of acquired toxoplasmosis in otherwise  
65 healthy adults [reviewed in (1, 5)]. Patients presented with multivisceral, mainly pulmonary,  
66 involvement, threatening the vital prognosis. These symptoms appeared between 6 and 20  
67 days after consuming Amazonian undercooked game or drinking untreated river water. Such a  
68 severe outcome in humans may be explained by poor host adaptation to emerging and highly  
69 virulent strains of *T. gondii* circulating in a forest-based cycle involving wild felids (definitive  
70 hosts) and their preys (intermediate hosts) (6).

71 Paradoxically, little is known about the genotypes of strains causing chronic and  
72 asymptomatic human toxoplasmosis in the anthropized area mainly located on a thin coastal  
73 border and along rivers, partly because it is difficult to obtain these strains which have a silent  
74 circulation in immunocompetent humans. However, preliminary data obtained after  
75 genotyping of 11 *Toxoplasma* DNA extracts isolated from patients with classical forms of the  
76 disease (immunocompromised patients, congenital infection, lymphadenopathies) and from  
77 urban domestic animals suggested differences in genetic diversity and pathogenicity between  
78 “wild” and “anthropized” strains and the occurrence of two coexistent cycles: a wild and a  
79 domestic cycle likely locally merging with the anthropization of the Amazonian forest (6, 7).

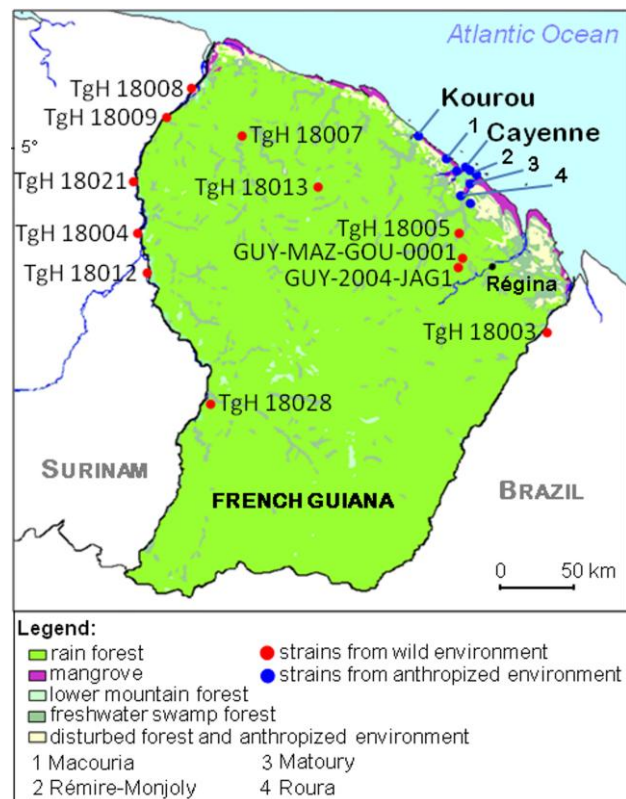
80 To confirm this hypothesis of population structure of *Toxoplasma* in French Guiana,  
81 we collected strains from 31 domestic animals and 2 wild species. Using a genotyping  
82 analysis based on 15 microsatellite (MS) markers, they were compared to 18 French Guiana  
83 isolates previously published, 17 acquired from the wild forest cycle and 1 originating from a  
84 human case acquired in an anthropized environment. Several genetic population tools were  
85 used to define the genetic diversity and population structure of strains in this territory. We  
86 also investigated the interpenetration of strains between anthropized and wild environments,  
87 as the hybridization of “anthropized” strains with strains from the *Toxoplasma* wild cycle may  
88 represent an emerging risk to human health.

89  
90

## 91 **Methods**

### 92 **Animal samples and bioassay in mice**

93 *Toxoplasma gondii* was isolated from  
94 both domestic and wild animals (Appendix  
95 Table 1) originating from different areas  
96 located 4 to 110 km apart from each other in  
97 French Guiana (Figure 1, Appendix Table 1)  
98 between February and July 2009. All  
99 procedures carried out on animals were in  
100 agreement with ethical rules. Stray dogs and  
101 cats were bled and euthanized in the  
102 Cayenne animal pounds. The others were  
103 found freshly dead by the roadside. The  
104 heart and/or the brain (and the tongue for  
105 cats) were collected and stored at +4°C.  
106 Serum was stored at +4°C until use.



108 **Figure 1. Map of French Guiana with locations of sampling.**

110 Eighty eight animals were screened for *T. gondii* antibodies using a modified  
111 agglutination test (MAT) technique (8). Forty-nine out of these 88 animals were seropositive  
112 animals (MAT > 1/20).

113 The collected tissues of these 49 seropositive animals were bioassayed in adult Swiss  
114 mice (Charles River, France). Mice were individually housed in level two bio safety facilities  
115 at the Institut Pasteur of French Guiana. All experimental procedures were performed as  
116 already described by Mercier et al. (9) and conducted according to European guidelines for  
117 animal care (“Journal Officiel des Communautés Européennes”, L358, December 18, 1986).  
118 The isolation protocol was accepted by the Ethics Committee Ile de France Sud (Registration  
119 number: 07-004) and by the French Guiana Directorate Veterinary Services. These bioassays  
120 resulted in isolation of 33 *T. gondii* isolates (Appendix Table 1).

121 **Appendix Table 1. Isolate origins and locations.**

Isolate ID*	Host species	Type of environment <sup>†</sup>	Location	Geographic coordinates (in decimal degrees)	
				Latitude	Longitude
GUY-GAL-VIT-0001	Greater grison	A	Cayenne (N1 road at the city enter)	N 4.891341	W 52.348726
TgH 20001 (IPP-2002-BAT)	Human	A	Cayenne (town center)	N 4.937312	W 52.333760
GUY-CAN-FAM-0009	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.936130	W 52.325863
GUY-CAN-FAM-0011	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.937312	W 52.333760
GUY-CAN-FAM-0013	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.934532	W 52.333996
GUY-CAN-FAM-0014	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.938979	W 52.326614
GUY-CAN-FAM-0015	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.932376	W 52.333642
GUY-CAN-FAM-0019	Dog	A	Cayenne (town center)	N 4.853355	W 52.326507
GUY-FEL-CAT-0005	Cat	A	Cayenne (town center)	N 4.943003	W 52.325059
GUY-FEL-CAT-0006	Cat	A	Kourou (town center)	N 5.158815	W 52.633330
GUY-GAL-DOM-0001	Chicken	A	Kourou (town center)	N 5.153765	W 52.656784
GUY-FEL-CAT-0007	Cat	A	Macouria (Soula 1 district)	N 4.928389	W 52.405117
GUY-FEL-CAT-0008	Cat	A	Macouria (Soula 1 district)	N 4.928389	W 52.405117
GUY-CAN-FAM-0001	Dog	A	Macouria (town center)	N 5.013606	W 52.474136
GUY-CAN-FAM-0003	Dog	A	Macouria (town center)	N 5.013606	W 52.474136
GUY-CAN-FAM-0017	Dog	A	Macouria (town center)	N 5.013606	W 52.474136
GUY-CAN-FAM-0004	Dog	A	Matoury (Balata district)	N 4.885039	W 52.335171
GUY-CAN-FAM-0012	Dog	A	Matoury (Commou district)	N 4.854702	W 52.337086
GUY-CAN-FAM-0005	Dog	A	Matoury (Conyo la Mirande district)	N 4.862719	W 52.333561
GUY-CAN-FAM-0006	Dog	A	Matoury (Conyo la Mirande district)	N 4.862719	W 52.333561
GUY-CAN-FAM-0018	Dog	A	Matoury (le bourg district)	N 4.848901	W 52.326464
GUY-FEL-CAT-0009	Cat	A	Matoury (le bourg district)	N 4.848901	W 52.326464
GUY-GAL-DOM-0005	Chicken	A	milepost 18 RN2 road <sup>‡</sup>	N 4.771844	W 52.386267
GUY-GAL-DOM-0006	Chicken	A	milepost 18 RN2 road <sup>‡</sup>	N 4.771844	W 52.386267
GUY-GAL-DOM-0007	Chicken	A	milepost 18 RN2 road <sup>‡</sup>	N 4.771844	W 52.386267
GUY-CAN-FAM-0008	Dog	A	Montjoly (town center)	N 4.885889	W 52.276167
GUY-CAN-FAM-0016	Dog	A	Montjoly (town district)	N 4.924990	W 52.288151
GUY-CAN-FAM-0010	Dog	A	Remire (town center)	N 4.924990	W 52.288151
GUY-CAN-FAM-0007	Dog	A	Roura (town center)	N 4.726325	W 52.326405
GUY-MAZ-GOU-0001	Gray brocket deer	W	track at milepost125 from RN2 road <sup>§</sup>	N 4.382478	W 52.351741
GUY-2004-JAG1	Jaguar	W	Bélizon track <sup>§</sup>	N 4.309389	W 52.378005
TgH 18039	Human	W	Tropical forest	Not available	
TgH 18040	Human	W	Tropical forest	Not available	
TgH 18001 (GUY-2001-DOS)	Human	W	Tropical forest	Not available	
RUB	Human	W	Tropical forest	Not available	
VAND	Human	W	Tropical forest	Not available	
TgH 18002 (GUY-2002-KOE)	Human	W	Tropical forest	Not available	
TgH 18003 (GUY-2002-MAT)	Human	W	St Georges (Brazil)	N 3.888863	W 51.801223
TgH 18005 (GUY-2003-BAS)	Human	W	milepost 41 from RN2 road	N 4.525706	W 52.368510
TgH 18007 (GUY-2003-MEL)	Human	W	Tamanoir cove	N 5.15	W 53.766666
TgH 18013 (GUY-2004-LAB)	Human	W	St Elie	N 4.82274	W 53.276409
TgH 18008 (GUY-2004-ABE)	Human	W	Patam (Surinam, Maroni area)	N 5.460021	W 54.099640
TgH 18009 (GUY-2004-AKO)	Human	W	Sparouine (Maroni area)	N 5.271795	W 54.258728
TgH 18004 (GUY-2003-ADA)	Human	W	Apagui island (Maroni area)	N 4.527460	W 54.443264
TgH 18012 (GUY-2004-ITI)	Human	W	Grand Santi (Maroni area)	N 4.273918	W 54.382753
TgH 18021 (GUY-2006-TOJ)	Human	W	Nason (Surinam, Maroni area)	N 4.857601	W 54.473208
TgH 18028 (GUY-2007-WAY)	Human	W	Boussassa (Maroni area)	N 3.433378	W 53.966817

Note:

\*: GUY (French Guiana) – abbreviation of latin name of the species (CAN-FAM: *Canis familiaris*, FEL-CAT: *Felis catus*, GAL-DOM: *Gallus domesticus*, GAL-VIT: *Galictis vittata*, MAZ-GOU: *Mazama gouazoupira*). TgH for *Toxoplasma* from human origin

†: A for Anthropized and W for Wild

‡: farm at 3 km from the road

§: at 30 km from Regina

122  
123  
124  
125  
126  
127  
128

129 Definition of environmental populations

130 For this study, all samplings, except a gray brocket deer (*Mazama gouazoubira*,  
131 Cervidae) from the Regina area, were in anthropized environments on the coastal border of a  
132 maximum 20 km-wide in towns, villages or disturbed forests near isolated farms and roads.  
133 The 32 strains isolated from these samples constitute the “anthropized” population. This  
134 “anthropized” population was completed by the only available strain (TgH 20001) from an  
135 asymptomatic case of congenital toxoplasmosis acquired in Cayenne, which has therefore a  
136 putative origin from the anthropized environment (1).

137 The “wild” population was built up with 1 strain isolated during this study from the  
138 gray brocket deer sampled in the Regina area and with 17 previously published isolates or  
139 DNA extracts from French Guiana (1, 5, 6, 10, 11). Sixteen out of these 17 published strains  
140 came from severe cases of acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients and 1  
141 from a free-living jaguar (*Panthera onca*, Felidae). All these strains were selected for their  
142 putative origin from the wild sylvatic cycle in French Guiana (the patients acquired  
143 toxoplasmosis from eating wild game or drinking running water) (6).

144

145 Genotyping of *T. gondii* isolates

146 Genotyping was applied to the composite dataset of these 51 isolates. DNA from 200  
147 µl of mouse ascitic fluids or brain tissue was extracted using the QIAamp® DNA MiniKit  
148 (Qiagen, Courtaboeuf, France). Several reference strains were studied in parallel with the 51  
149 isolates (Appendix Table 2). Genotyping was performed using the length polymorphism of 15  
150 multilocus MS markers located on 12 different chromosomes (12). We also sequenced the  
151 *W35*, *B17* and *B18* marker regions as described elsewhere (1). This was done because their  
152 polymorphisms do not differ only by fragment length, but also by the sequence of tandem  
153 repeats (1).

154

**Appendix Table 2. Multilocus microsatellite (MS) genotyping of the 51 *Toxoplasma gondii* isolates from anthropized and wild environments in French Guiana**

Isolate ID	MS genotype‡															Genotypes	Genotype groups
	TUB2	W35§	TgM-A	B18§	B17§	M33	MIV.1	MXI.1	M48	M102	N60	N82	AA	N61	N83		
<b>Reference strains:</b>																	
GT1	291	248 (1)	209	160 (1 or 3)	342 (1)	169	274	358	209	168	145	119	265	087	306		Type I
ENT*	-	-	-	-	-	-	-	-	209	166	145	121	267	087	308		Type I
B1*	-	-	-	-	-	-	-	-	209	166	147	119	273	087	306		Type I
JONES*	289	242 (2)	207	158 (2)	336 (2 or 3)	169	274	356	235	174	142	111	265	097	310		Type II
Me49	-	-	-	-	-	-	-	-	215	174	142	111	265	091	310		Type II
PRU*	-	-	-	-	-	-	-	-	209	176	142	117	265	121	310		Type II
CTG	289	242 (3)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	278	356	215	190	147	111	269	089	312		Type III
NED*	-	-	-	-	-	-	-	-	209	190	147	111	267	091	312		Type III
VEG	-	-	-	-	-	-	-	-	213	188	153	111	267	089	312		Type III
GAB1-2007-FEL-CAT1	-	-	-	-	-	-	-	-	213	190	149	111	267	089	312		Type III
TgH 29005 (PSP-2003-ERO)*	291	242 (3)	205	162 (4)	342 (1)	165	278	356	211	164	142	109	277	087	312		Caribbean 1
TgH 13006 (CCH-2005-REN)*	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	277	087	312		Caribbean 1
TgCkBr91†	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	279	087	312		Caribbean 1
TgCkGy22†	289	242 (3)	205	162 (4)	336 (2 or 3)	165	278	356	233	164	151	111	277	087	306		Caribbean 3
DPHT	291	248 (1)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	274	354	229	166	147	111	283	091	306		Africa 1
TgH 13002 (CCH-2004-NIA)*	289	248 (1)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	274	354	225	166	145	111	273	089	306		Africa 2
GAB3-2007-GAL-DOM9	291	242 (3)	207	160 (1 or 3)	342 (1)	165	274	354	229	166	142	111	273	095	310		Africa 3
<b>This study:</b>																	
GUY-CAN-FAM-0005	291	242 (3)	205	162 (4)	336 (2 or 3)	165	278	356	211	164	142	109	265	89	312	#1	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#1	Caribbean 2
GUY-FEL-CAT-0005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#1	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0007	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	265	87	312	#2	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0011	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	265	89	312	#3	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#3	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0004	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	267	85	312	#4	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0002	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	267	89	312	#5	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#5	Caribbean 2
GUY-FEL-CAT-0006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#5	Caribbean 2

GUY-GAL-DOM-0006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#5	<i>Caribbean 2</i>
TgH 20001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#5	<i>Caribbean 2</i>
GUY-CAN-FAM-0014	291	242 (3)	205	162 (4)	342 (1)	165	278	356	211	164	142	109	277	87	312	#6	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0001	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	265	87	312	#7	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#7	<i>Caribbean1</i>	
GUY-GAL-DOM-0005	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	277	85	312	#8	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0013	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	277	87	312	#9	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0009	-	-	-	-	-	-	-	-	213	164	142	109	277	89	312	#10	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#10	<i>Caribbean1</i>	
GUY-FEL-CAT-0007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#10	<i>Caribbean1</i>	
GUY-FEL-CAT-0008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#10	<i>Caribbean1</i>	
GUY-CAN-FAM-0019	289	242 (3)	205	162 (4)	336 (2 or 3)	165	278	356	219	164	145	105	273	93	312	#11	<i>Caribbean 3</i>	
GUY-CAN-FAM-0012	-	-	-	-	-	-	-	-	227	164	142	111	265	89	312	#12	<i>Caribbean 3</i>	
GUY-CAN-FAM-0015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#12	<i>Caribbean 3</i>	
GUY-CAN-FAM-0008	289	242 (3)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	278	356	213	190	145	111	269	89	312	#13	<i>Type III</i>	
GUY-FEL-CAT-0009	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#13	<i>Type III</i>	
GUY-CAN-FAM-0003	289	242 (2)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	278	356	213	174	140	111	267	87	316	#14	<i>single isolate 1</i>	
GUY-GAL-VIT-0001	289	242 (3)	203	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	165	272	356	213	176	140	105	279	87	312	#15	<i>single isolate 2</i>	
GUY-MAZ-GOU-0001	289	242 (2)	205	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	169	274	358	211	172	132	111	257	83	318	#16	<i>Amazonian</i>	
GUY-CAN-FAM-0007	289	246 (4)	209	160 (1 or 3)	342 (1)	173	272	356	239	168	138	113	261	87	312	#17	<i>Amazonian</i>	
RUB	289	242 (3)	205	170 (7)	360 (9)	167	274	356	223	190	142	109	259	85	312	#18	<i>Amazonian</i>	
TgH 18007	289	242 (2)	203	158 (2)	344 (5)	171	272	356	209	182	149	121	265	89	318	#19	<i>Amazonian</i>	
GUY-2004-JAG1	289	242 (2)	203	160 (1 or 3)	336 (2 or 3)	169	274	358	209	176	142	111	257	107	340	#20	<i>Amazonian</i>	
TgH 18005	289	242 (2)	203	160 (5)	344 (5)	165	276	356	211	168	142	109	271	87	320	#21	<i>Amazonian</i>	
TgH 18040	289	242 (2)	203	160 (1 or 3)	344 (5)	167	272	356	215	168	145	107	251	103	324	#22	<i>Amazonian</i>	
TgH 18008	289	246 (9)	203	158 (2)	338 (4)	167	276	354	213	168	138	111	281	93	318	#23	<i>Amazonian</i>	
TgH 18002	289	246 (4)	203	160 (5)	337 (4)	165	274	356	209	172	136	111	251	109	310	#24	<i>Amazonian</i>	
TgH 18001	289	246 (4)	203	160 (1 or 3)	344 (5)	167	272	356	229	176	142	113	263	85	312	#25	<i>Amazonian</i>	
TgH 18009	291	242 (10)	203	160 (1 or 3)	338 (4)	167	274	356	209	188	138	115	263	91	312	#26	<i>Amazonian</i>	
TgH 18003	291	242 (7)	203	160 (1 or 3)	339 (11)	165	272	358	221	174	138	107	277	95	312	#27	<i>Amazonian</i>	
TgH 18013	291	242 (8)	203	160 (1 or 3)	346 (17)	167	272	356	217	170	147	127	257	85	310	#28	<i>Amazonian</i>	
VAND	291	242 (2)	203	162 (4)	344 (5)	167	276	356	217	170	142	113	277	91	308	#29	<i>Amazonian</i>	

TgH 18028	291	246 (4)	203	160 (1 or 3)	326 (19)	167	276	356	211	178	147	111	259	87	306	#30	<i>Amazonian</i>
TgH 18039	291	246 (4)	203	160 (1 or 3)	342 (1)	171	274	356	213	172	149	105	273	89	318	#31	<i>Amazonian</i>
TgH 18021	291	246 (4)	205	164 (6)	334 (18)	167	272	356	213	174	151	107	267	87	324	#32	<i>Amazonian</i>
TgH 18004	291	246 (4)	205	166 (6)	338 (4)	165	274	356	213	172	138	119	259	83	312	#33	<i>Amazonian</i>
TgH 18012	291	246 (4)	207	162 (4)	334 (18)	167	274	356	211	176	155	111	275	81	312	#34	<i>Amazonian</i>
<b><i>Number of alleles for each MS Marker</i></b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>9</b>		

156  
157  
158  
159  
160  
161  
162  
163  
164  
165  
166

Note:

Reference strains: Type I (GT1, ENT, and B1), Type II (JONES, Me49 and PRU), and classical Type III (CTG, VEG and NED) and 8 recent strains originated originating from Africa [a Type III strain (GAB1-2007-FEL-CAT1), an *Africa 1* strain (DPHT), an *Africa 2* strain (TgH 13002), and an *Africa 3* strain (GAB3-2007-GAL-DOM9)], from South America (TgCkBr91 and TgCkGy22), and from Caribbean islands (TgH 29005, TgH 13006) (1, 9, 32, 33, 38, 39)

- : Identical to the previous value (located above)

\*: These reference strains were obtained from Biological Resource Centre for *Toxoplasma* (<http://www.toxocrb.com>).

†: DNA extracts from these reference strains were kindly provided by Chunlei Su and Jitender. P. Dubey.

‡: Allelic polymorphism of MS markers is expressed as sizes of PCR products (bp).

§: Numbers relative to classic typing were adjusted after sequencing of *W35*, *B17* and *B18* markers. ( ) Allelic polymorphism of these 3 markers are expressed as numbers relative to classic typing of *T. gondii*: alleles 1, 2, 3 are reserved for clonal lineages I, II and III; allele 1 or 3 means that Types I and III share the allele; allele 2 or 3 means that Types II and III share the allele. The superior numbers corresponded to non classical alleles (atypical) and take into account of the sequencing adjustment.

167 Data analysis

168 *Genetic and genotypic diversity*

169 Genetic polymorphism was measured by the number of alleles per locus ( $n$ ) and by  
170 Nei's unbiased genetic diversity within subsamples,  $H_s$  (13). Genotypic diversity was  
171 calculated from the number of multilocus genotypes on the total number of strains. These  
172 measures of diversity were estimated for the whole population and within previously defined  
173 environmental substructure populations i.e. the "anthropized" and "wild" populations. The  $H_s$   
174 values were calculated with the software FSTAT [version 2.9.4; (14)].

175

176 *Population genetic structure*

177 To evaluate the possible impact of genetic exchanges on environmental populations,  
178  $F$ -statistics ( $F_{ST}$ ) (15) were estimated on samples from the 2 environmental populations. To  
179 take into account the Allendorf-Phelps effect due to small sample size, we corrected  $F_{ST}$   
180 values by subtracting  $1/(2S)$  from the  $F_{ST}$  values,  $S$  being the mean number of sampled  
181 individuals of each pair of colonies (16). Data were analyzed with the software FSTAT,  
182 which computes estimates, and tests their significance using randomization procedure  
183 ( $n=10,000$  randomizations was used).  $F$ -statistics were also estimated between clusters  
184 defined by clustering analyses.

185

186 *Clustering analysis*

187 Three different approaches were used to investigate more precisely how the different  
188 strains cluster together.

189 Firstly, to quantify the extent of genetic distance among Guianan populations and  
190 evaluate their position towards the reference strains, neighbor-joining trees were reconstructed  
191 from the genetic distances [Cavalli-Sforza and Edwards chord distance (17)] among  
192 individual isolates using Populations 1.2.30 (1999, Olivier Langella, CNRS UPR9034,  
193 <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>). This analysis was repeated for 1000  
194 bootstrap replicates in which loci were sampled with replacement. Unrooted trees were  
195 obtained with R 2.10.1 software (18) for individual isolates and with MEGA version 4 (19)  
196 for genotypes.

197 Secondly, the population structure was modeled using a Bayesian clustering algorithm  
198 implemented in STRUCTURE 2.2 software (20) as described by Mercier et al. (9).

199           These 2 previous clustering methods were complemented with a new multivariate  
200 method free of assumptions about Hardy-Weinberg equilibrium or linkage equilibrium, the  
201 Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) (21). This method uses first  
202 sequential *K*-means (22) and model selection to infer the optimal number of genetic clusters.  
203 *K*-means clustering was performed with different numbers of clusters *K*=1 through to *K*=10  
204 and Bayesian Information Criterion (BIC) was used to assess the optimal number of clusters.  
205 Once the optimal number of clusters identified DAPC was performed using the 15 first  
206 principal components of the PCA. As in Bayesian clustering methods, the DAPC also allows  
207 for a probabilistic assignment of genotypes to each group using the linear discriminant  
208 functions. DAPC was performed using the *adegenet* (23) library for R 2.10.1 software.

209

## 210 **Results**

### 211 Allelic polymorphism and genetic diversity

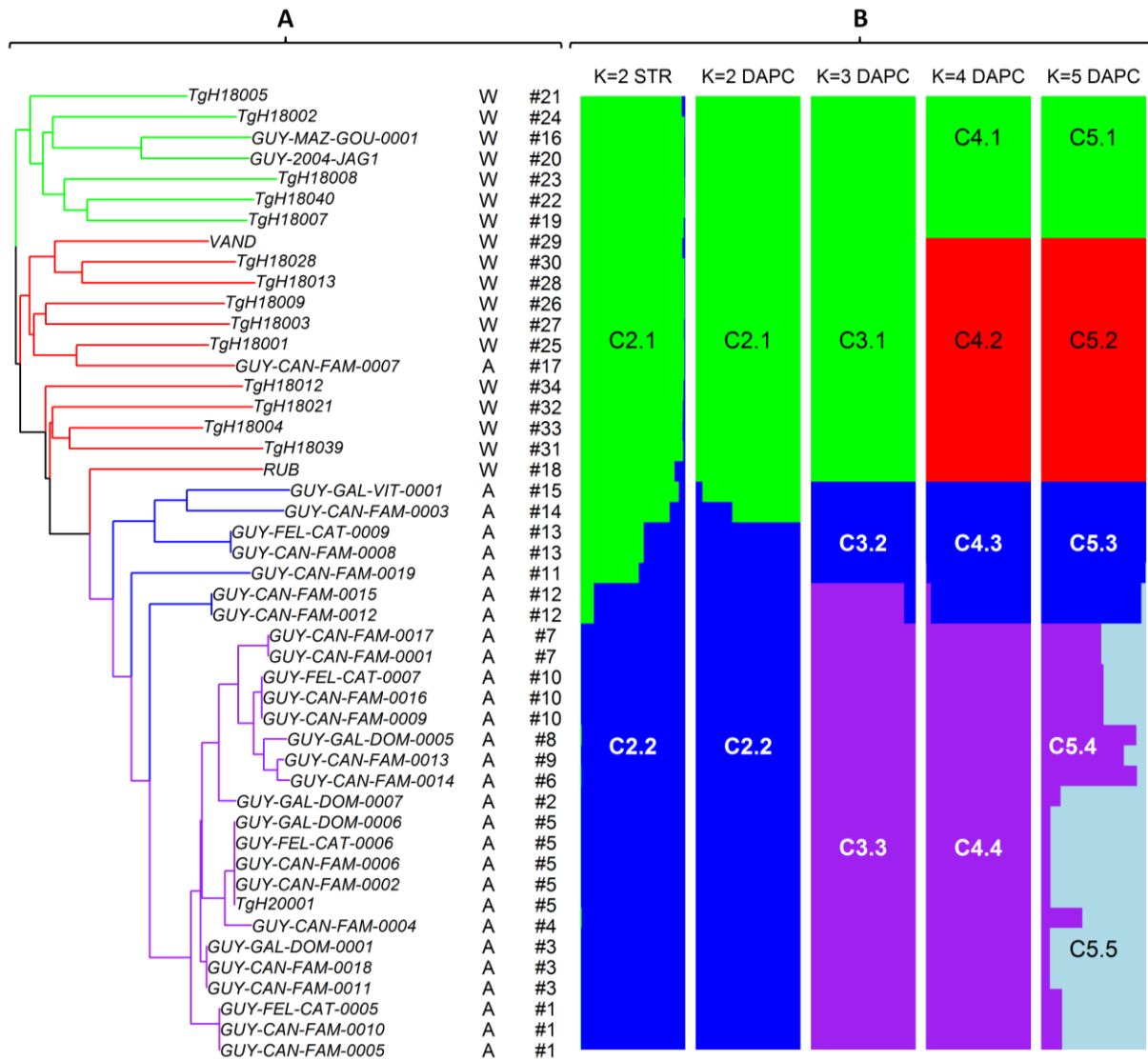
212           Overall, a total of 34 different genotypes based on 15 MS markers were found in the  
213 population of 51 Guianan strains: 18 in the “wild” population and 16 in the “anthropized”  
214 population (Appendix Table 2). For the “wild” population, all the isolates had unique  
215 genotypes. For genotypes from the “anthropized” population, 6 of them differed from another  
216 genotype by only one MS marker, 9 genotypes corresponded to a single isolate, and 7  
217 genotypes comprised 2 or more isolates. Four isolates from the same chicken breeding and 2  
218 isolates from kittens of the same litter showed identical genotypes (#3 and #10 respectively)  
219 for each provenance. They were considered as clones of two strains and thus only one  
220 individual of these 2 genotypes has been considered for the analysis of diversity and  
221 population structure. Other genotypes from the “anthropized” population were shared by 2 or  
222 more isolates, but without obvious epidemiological link. For example, genotype #5 was found  
223 for 1 cat, 2 dogs, 1 chicken, and for the human isolate from 4 different geographic origins  
224 located 8 to 51 km apart from each other (Appendix Table 1 and 2).

225           Finally, 47 strains were retained for analyzing the diversity and the population  
226 structure: 29 associated to the anthropized environment and 18 to the wild environment. The  
227 mean genetic diversity ( $H_S$ ) was 0.52 for the whole Guianan population, 0.28 for the  
228 “anthropized” population, and 0.72 for the “wild” population. The genotypic diversity was  
229 0.57 (27/47) for the whole population, 0.52 (15/29) and 1 (18/18) for the “anthropized” and  
230 “wild” population respectively. The pairwise  $F_{ST}$  value between the 2 populations (“wild” vs.  
231 “anthropized”) equals 0.33 ( $p=0.05$ ).

232 Clustering analysis

233 Distance analysis

234 The distance trees (Figure 2A, 3) identified 2 major clusters corresponding to the  
 235 environmental populations with the majority of strains from the anthropized area on one side  
 236 and from the wild environment on the other. Remarkably, this last cluster included also 1  
 237 strain from the anthropized environment (GUY-CAN-FAM-0007).



238  
 239 **Figure 2. Clustering analyses of the 47 *T. gondii* strains analyzed with 15 microsatellite markers.**

240 A: Neighbor-joining trees inferred from Cavalli-Sforza distances.

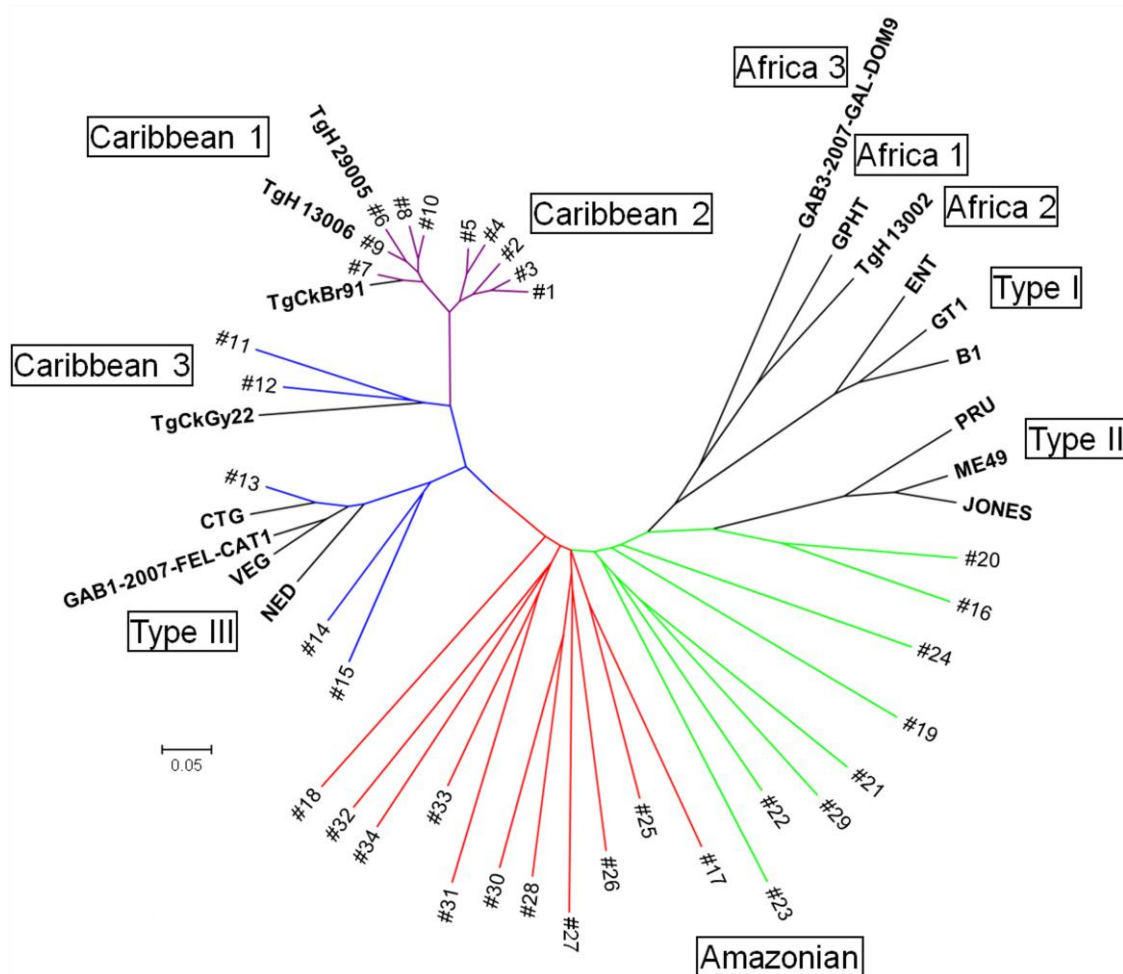
241 Note. Midpoint rooting was applied for the Neighbor-joining tree; no outgroup was used. Environmental origin  
 242 (A: anthropized environment, W: wild environment) and genotype membership (#genotype number) are reported  
 243 for each strain. Colors correspond to colors of populations found with DAPC for  $K=4$  (green, red, blue and  
 244 purple for respectively Cluster C4.1, C4.2, C4.3 and C4.4).

245

246 B: Clusters as inferred by STRUCTURE (STR) and the DAPC.

247 Among these 2 major clusters, 4 main groups and 2 single isolates were identified. A  
 248 group designated as *Amazonian* group included all the “wild” strains and GUY-CAN-FAM-  
 249 0007. The 3 other groups and the 2 single isolates corresponded to the majority of  
 250 “anthropized” strains: *Type III* and the single isolates corresponding to genotypes #14 and  
 251 #15, a group designated as *Caribbean 3* with 2 genotypes, and a last group with 2 subclusters,  
 252 designated as *Caribbean 1* and *Caribbean 2*. The *Amazonian* group revealed 3 discrete  
 253 subclusters (Figure 2A, 3). All these clusters were not supported by significant bootstrap  
 254 values (data not shown). The *Amazonian*, *Caribbean 1*, *Caribbean 2*, *Caribbean 3* and  
 255 *Type III* groups included 18, 10, 12, 3, and 4 strains respectively (Appendix Table 2).

256 On the distance tree analysis which showed the 34 genotypes and reference strains  
 257 (Figure 3), *Type III* and the 2 single isolate genotypes #14 and #15 clustered with Type III  
 258 reference strains. *Caribbean 1* strains clustered with the *Caribbean 1* reference strains.  
 259



260  
 261 **Figure 3. Neighbor-joining tree of genotypes inferred from Cavalli-Sforza distances calculated for the**  
 262 **data from 15 microsatellite markers on 47 Guianan strains and all the reference strains.**

263 Note. Midpoint rooting was applied for the Neighbor-joining tree; no outgroup was used. Colors correspond to colors of populations found  
 264 with DAPC for K=4 (green, red, blue, and purple for respectively Cluster C4.1, C4.2, C4.3 and C4.4 and black for reference strains).

265 The *Africa 1*, 2 and 3, and Type I and II reference strains are not related to any of  
 266 these groups, even if 2 strains of the *Amazonian* group were close to Type II reference strains.  
 267 TgCkBr91 from Brazil and TgCkGy22 from Guyana clustered with *Caribbean 1* and  
 268 *Caribbean 3* strains respectively.

269

270 *STRUCTURE* analysis

271 The variation of the  $\ln P(D)$  values with the number of inferred clusters  $K$  (Figure 4A)  
 272 indicated that  $K=2$  is the most likely number of  
 273 clusters in the *STRUCTURE* analysis. This finding was  
 274 also confirmed using 2 other methods (24, 25) (Figure  
 275 4B and C). From these 2 indexes, the solution  $K=2$   
 276 was the most sustained followed by  $K=4$  with an  
 277 anecdotal peak corresponding to this solution (Figure  
 278 4B and C).

279 The clustering solution  $K=2$  (Figure 2B)  
 280 corresponded to the 2 major environmental  
 281 populations already found by distance trees. Thus,  
 282 cluster C2.1 comprised all the isolates from the “wild”  
 283 population. However 3 isolates collected in the  
 284 anthropized environment (GUY-CAN-FAM-0003, -  
 285 0007, and GUY-GAL-VIT-0001) were also included  
 286 in this cluster, in contrast to distance trees concerning  
 287 GUY-CAN-FAM-0003 and GUY-GAL-VIT-0001  
 288 (Figure 2). All the other isolates originating from the  
 289 anthropized environment belonged to cluster C2.2 or  
 290 were admixed between the 2 clusters (GUY-CAN-  
 291 FAM-0008, -0019, and GUY-FEL-CAT 0009).

292

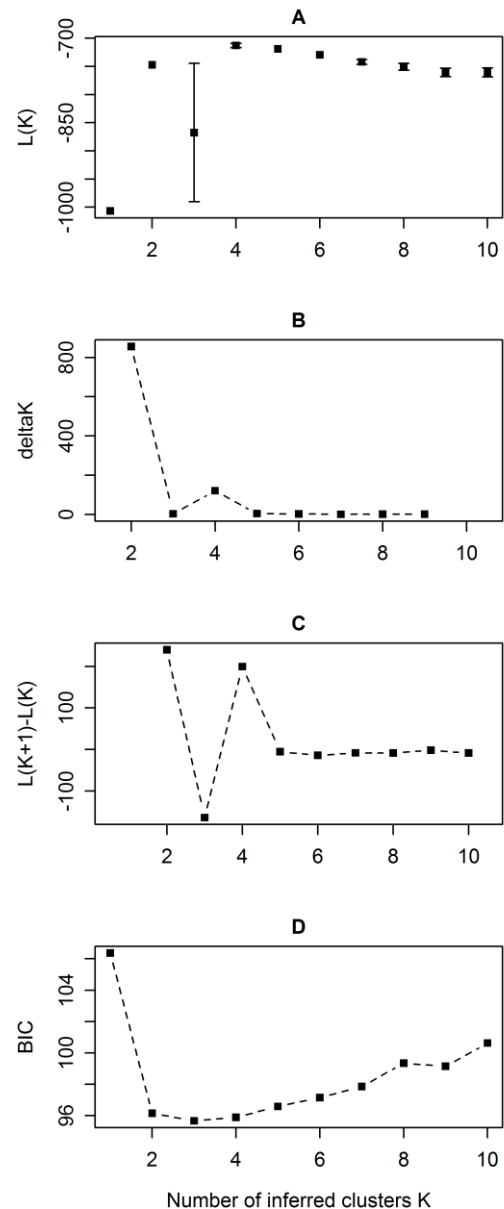
293 **Figure 4. Determination of the optimal value of  $K$  for**  
 294 ***STRUCTURE* and the DAPC.**

295 A. Mean ( $\pm$  SD) of  $\ln P(D)$  over 10 *STRUCTURE* runs for successive  $K$  values ranging from 1 to 10.

296 B. Variations of  $\Delta K$  as calculated by Evanno et al. (24).

297 C. Variations of  $L(K+1)-L(K)$  as calculated by Garnier et al. (25) for successive  $K$  values.

298 D. Bayesian information criterion (BIC) is provided for different numbers of clusters (from one to 10).



299           These 2 main clusters ( $K=2$ ) defined by STRUCTURE were also supported by  $F$ -  
300 statistics. The pairwise  $F_{ST}$  values equals 0.35 ( $p=0.05$ ) indicating strong genetic  
301 differentiation between these clusters. This was not the case of clusters defined in the solution  
302  $K=4$ .

303

304 *DAPC*

305           Using model selection based on the BIC values, the optimal number of clusters is  $K=3$   
306 but clustering solutions for  $K=2$ , 4 and 5 have nearly equivalent BIC (Figure 4D). When  $K=2$   
307 was used as prior group in the DAPC, we found the opposition between wild (C2.1) and  
308 anthropized (C2.2) environmental populations already described by distance analysis and  
309 STRUCTURE and as, in the STRUCTURE analysis, the same “anthropized” strains clustered  
310 with “wild” strains in the cluster C2.1. The 3 admixed strains from STRUCTURE identified  
311 as *Caribbean 3* on distance trees belonged to C2.2 in the DAPC. With the solution  $K=3$ , these  
312 3 last strains were included, together with 2 other “anthropized” strains previously mis-  
313 assigned in C2.1 (GUY-CAN-FAM-0003, and GUY-GAL-VIT-0001), in an intermediate  
314 cluster C3.2 (Figure 2B). Clusters C3.1 and C3.3 were respectively identical to *Amazonian*  
315 group and to a group including *Type III*, *Caribbean 1* and *Caribbean 2* from distance trees.  
316 The solution  $K=4$  as prior groups for the DAPC showed that the previous “wild” cluster C3.1  
317 corresponding to *Amazonian* group was partitioned in 2 sub-clusters, C4.1 and C4.2 already  
318 found by distance trees. Cluster C4.3 corresponded to the association between *Type III* and  
319 *Caribbean 3* groups. These sub-clusters were not identified in the low supported solution  $K=4$   
320 in the STRUCTURE analysis. Finally, the less supported solution  $K=5$  in the DAPC led to a  
321 partition of C4.4 into 2 sub-clusters: C5.4 (*Caribbean 1*) and C5.5 (*Caribbean 2*).  
322 Convergence of the clustering made both by the DAPC ( $K=5$ ) and the distance tree is  
323 remarkable and provide the most detailed description of the genetic structure of the whole  
324 sample. DAPC identified clearly all the clusters defined by the distance analysis except the  
325 small groups *Type III* and *Caribbean 3*, which it gathered.

326           All clusters defined by the DAPC throughout the 4 clustering solutions ( $K=2$  to  $K=5$ )  
327 were also supported by significant  $F$ -statistics (pairwise  $F_{ST}$  [0.04; 0.60], all  $p \leq 0.05$ ).

328

329

330

331

332

333 **Discussion**

334           The development of MS markers in a multiplex PCR assay using 15 of these markers  
335 (12), that discriminate within types, has enabled us to reliably address important  
336 epidemiological issues in French Guiana such as i) the diversity of strains in anthropized and  
337 wild environment, ii) the existence of geographical and environmental subpopulations, and iii)  
338 the interpenetration of them with emerging risks for human health due to the possibility of  
339 hybridization of strains from anthropized areas with strains from the *Toxoplasma* wild cycle.

340           The major finding of this study is the clear opposition between strains from  
341 anthropized and wild environment, but also the possible interpenetration between the 2  
342 populations.

343           *T. gondii* population in the French Guiana area, as in other parts of South America  
344 (26), is diverse. However, considering the isolates from the anthropized environment, the  
345 mean genetic and genotypic diversities were low, compared to the “wild” population. They  
346 were similar to what has been found for domestic Gabonese strains (9), studied with  
347 equivalent MS characterization. On the opposite, and as already described (1, 6), the “wild”  
348 strains from the Amazonian rainforest in French Guiana and Surinam exhibited a remarkably  
349 high diversity. This part of the world may be considered as one of the most important hotspot  
350 of diversity of *T. gondii*. This greater genetic diversity of *T. gondii* in the wild environment,  
351 compared with the anthropized environment, could be connected to the high level of  
352 biodiversity in neotropical rain forest. The numerous ecological niches might explain the need  
353 for *T. gondii* to have a plurality of alleles for increase its colonization potential (6). In addition  
354 to host diversity, the larger home ranges of wild felids than domestic cats can also strongly  
355 influence hybridization patterns of the parasite and thus the genetic structure of pathogen  
356 populations. In French Guiana, Carne et al. (27) and de Thoisy et al (28) have demonstrated a  
357 significant circulation of *T. gondii* in mammalian wildlife. This high prevalence in  
358 intermediate hosts added to wild felid behavior, could suggest that definitive hosts are more  
359 frequently infected by multiple *T. gondii* genotypes, as described for *Plasmodium falciparum*  
360 (29), which then cross and recombine before transmission to a new intermediate host. It could  
361 explain that *T. gondii* populations maintain high levels of genotypic diversity in this wild  
362 environment.

363           But, it is not clear if the level of diversity from this region is the result of frequent  
364 genetic recombinations among a pool of alleles or from a large number of lineages in the  
365 background (30). Further studies by multilocus DNA sequencing for nuclear and organelle

366 genomes as performed by Lindström Bontell et al. (31) will facilitate our understanding of  
367 *T. gondii* population from this region.

368 The Bayesian and the multivariate models for predicting population structure,  
369 distance-based analysis methods, and *F*-statistics analysis resolved partitions among the total  
370 sample. All these tests were concordant and clearly demonstrated the existence of 2  
371 environmental populations among Guianan strains, which correspond to the wild and  
372 domestic cycles of *T. gondii*. The subclustering disclosed a genetic structure, more or less  
373 sustained, within these 2 environmental populations, and the existence of an intermediate  
374 group including *Type III*, *Caribbean 3*, and the 2 single isolates corresponding to the C4.3  
375 cluster of the DAPC analysis.

376 The finding of *Type III* in our Guianan isolates from anthropized environment  
377 confirms the widespread distribution of this *Type*, already described in the Americas, Europe,  
378 Africa, and Asia (32). The remaining strains from anthropized environment were mainly  
379 clustered in *Caribbean 1* and 2 groups, while only 2 strains composed the *Caribbean 3* group.  
380 Despite the small number of strains in each group, the question of endemicity of these  
381 *Caribbean* groups must be addressed. The widespread distribution of the *Caribbean 1* group,  
382 in the anthropized environment from French Guiana, but also in Caribbean islands  
383 (Guadeloupe and Martinique) (32) or in Brazil (TgCkBr91), seems to confirm that *Caribbean*  
384 *1* strains correspond to a common lineage from this part of the world (32), as the *Caribbean 3*  
385 group, which was also found in chickens originating from the Guyana (TgCkGy22) (33).  
386 *Caribbean 2* isolates were found in this study in different locations, and a previous study  
387 described the same genotype in an outbreak of toxoplasmosis that occurred in 2006 in an  
388 outdoor captive breeding colony of squirrel monkeys kept by the Institut Pasteur of French  
389 Guiana (7).

390 The “wild” strains were also subclustered into at least 2 groups (DAPC and distance  
391 tree). This is within one of these subgroups that the GUY-CAN-FAM-0007 isolate was found.  
392 This findings highlighted interpenetration between “wild” and “anthropized” populations of  
393 *T. gondii*. This isolate originating from the town of Roura (anthropized environment) has been  
394 characterized as belonging to the *Amazonian* group. This strain was isolated from a stray dog  
395 that could have been in contact with the wild environment that borders the city of Roura,  
396 through wild game, soil or running water. Such domestic animals infected with strains from  
397 the wild may introduce them in the human environment with the subsequent risks for human  
398 health.

399 The case of the 2 strains with intermediate genotypes (genotypes #14 and #15), placed  
400 by DAPC either among the “wild” population ( $K=2$ ) or the “anthropized” population ( $K\geq 3$ )  
401 could also be the witness of the interaction between both environments. One of these strains  
402 was isolated from a wild animal (greater grison: *Galictis vittata*, Mustelidae) close to an  
403 anthropized environment (disturbed forest near the city of Cayenne) and the other one was  
404 isolated from a dog in the town of Macouria. Their intermediate position may reflect  
405 hybridization between a “wild” and an “anthropized” strain.

406 The interpenetration of different environments, and, hence, of different hosts together  
407 with their parasites is an important phenomenon for modification of pathogen spectrum. For  
408 *Toxoplasma*, this is especially true in Amazonia with continuing anthropization of the tropical  
409 rain forest, increasing the risk of infection of domestic fauna and humans by strains from the  
410 wild environment or by strains from anthropized environment modified by integration of  
411 “wild” gene pool alleles. “Wild” strains are generally responsible of severe clinical forms in  
412 humans, described not only in French Guiana but also in Amazonian Peru (34), justifying the  
413 proposed designation of Amazonian toxoplasmosis (6). The recent introduction of cats and  
414 other domestic animals in Amerindian communities (35-37) or small towns developed in  
415 deforested areas of the remote part of French Guiana and the predatory activity of wild felines  
416 around these houses (consumption of chickens, dogs, cats...) would ensure gene flow  
417 between the 2 populations of strains. The integration of “wild” alleles in “anthropized” strains  
418 may represent a potential risk for humans. These observations can be extended to the entire  
419 Amazonian region presenting similar biotopes with the coexistence of wild and anthropized  
420 environments.

421

422

### 423 **Acknowledgments:**

424 We would like to thank André Spiegel the director of the Institut Pasteur of French Guiana for  
425 its collaboration. We are very grateful to all the researchers from the Institut Pasteur of French  
426 Guiana who participated in this study. The authors want to thank the veterinarian Dominique  
427 Frenay, Gwenaël Quenette, Isabelle Lechat, Bernard Bonnemain, Olivier Louguet, Claude  
428 Vanessche, Tristan Velcin and Ms Leroy, the Directorate of Veterinary Service of the French  
429 Guiana with Céline Dupuy, Mrs and Mr Deveaux (kennel “de la Forêt d’Emeraude”), Mr  
430 Piou, Mr Daudet, the “élevage de la Chaumière”, the SPA from Kourou, Fabien Escalière

431 (ONF) and the Captain Benykrelief responsible of CEFE (Regina) for their respective  
432 participation to the study.

433 We would also like to thank Martine Gatet and Muriel Mathias for their technical assistance,  
434 Virginie Roy (IBIOS-BIOEMCO, Université de Créteil), and Jeanne Cook-Moreau  
435 (Université de Limoges) for critical reading of previous versions of the manuscript and  
436 helpful discussions.

437 This work was supported by funds from Conseil Regional du Limousin (France), from  
438 Université de Limoges (France), from French Ministry of Research, Université Antilles-  
439 Guyane, and from Institut Pasteur of French Guiana.

440

441

## 442 **References**

- 443 1. Ajzenberg D, Bañuls AL, Su C, Dumètre A, Demar M, Carne B, et al. Genetic  
444 diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol. 2004  
445 Sep;34(10):1185-96.
- 446 2. Dardé ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma*  
447 *gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. J Parasitol. 1992  
448 Oct;78(5):786-94.
- 449 3. Lehmann T, Marcet PL, Graham DH, Dahl ER, Dubey JP. Globalization and the  
450 population structure of *Toxoplasma gondii*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jul  
451 25;103(30):11423-8.
- 452 4. Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, Bahia-Oliveira LM, Tan HK, Wallon M, et al. Ocular  
453 sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. PLoS Negl Trop  
454 Dis. 2008;2(8):e277.
- 455 5. Carne B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, et al. Severe acquired  
456 toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J Clin Microbiol.  
457 2002 Nov;40(11):4037-44.
- 458 6. Carne B, Demar M, Ajzenberg D, Dardé ML. Severe acquired toxoplasmosis caused by  
459 wild cycle of *Toxoplasma gondii*, French Guiana. Emerg Infect Dis. 2009  
460 Apr;15(4):656-8.
- 461 7. Carne B, Ajzenberg D, Demar M, Simon S, Dardé ML, Maubert B, et al. Outbreaks of  
462 toxoplasmosis in a captive breeding colony of squirrel monkeys. Veterinary  
463 Parasitology. 2009;163(1-2):132-5.

- 464 8. Desmots G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma*  
465 infection: method for increasing sensitivity and specificity. J Clin Microbiol. 1980  
466 Jun;11(6):562-8.
- 467 9. Mercier A, Devillard S, Ngoubangoye B, Bonnabau H, Bañuls AL, Durand P, et al.  
468 Additional Haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: Population structure and  
469 mouse-virulence of strains from Gabon. PLoS Negl Trop Dis. 2010 Nov;4(11): e876.  
470 DOI:10.1371/journal.pntd.0000876..
- 471 10. Demar M, Ajzenberg D, Maubon D, Djossou F, Panchoe D, Punwasi W, et al. Fatal  
472 outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical,  
473 and parasitological aspects. Clin Infect Dis. 2007 Oct 1;45(7):e88-95.
- 474 11. Demar M, Ajzenberg D, Serrurier B, Dardé ML, Carme B. Atypical *Toxoplasma gondii*  
475 strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. Am J Trop Med  
476 Hyg. 2008 Feb;78(2):195-7.
- 477 12. Ajzenberg D, Collinet F, Mercier A, Vignoles P, Dardé ML. Genotyping of *Toxoplasma*  
478 *gondii* isolates with 15 microsatellite markers in a single multiplex PCR assay. J Clin  
479 Microbiol. 2010 Sep 29.
- 480 13. Nei M, Chesser RK. Estimation of fixation indices and gene diversities. Ann Hum  
481 Genet. 1983 Jul;47(Pt 3):253-9.
- 482 14. Goudet J. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices  
483 Version 2.9.3.2 ed; 2002.
- 484 15. Wright S. The genetical structure of populations. Ann Eugenics. 1951;15:323-54.
- 485 16. Waples RS. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in  
486 high gene flow species. J Hered. 1998 September 1, 1998;89(5):438-50.
- 487 17. Cavalli-Sforza LL, Edwards AW. Phylogenetic analysis. Models and estimation  
488 procedures. Am J Hum Genet. 1967 May;19(3 Pt 1):233-57.
- 489 18. R, Development, Core, Team. R: A language and environment for statistical computing.  
490 R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.; 2009.
- 491 19. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics  
492 Analysis (MEGA) software version 4.0. Mol Biol Evol. 2007 Aug;24(8):1596-9.
- 493 20. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using  
494 multilocus genotype data. Genetics. 2000 Jun;155(2):945-59.
- 495 21. Jombart T, Devillard S, Balloux F. Discriminant analysis of principal components: a  
496 new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genet. 2010  
497 Oct 15;11(1):94.

- 498 22. Legendre P, Legendre L. Numerical ecology. Amsterdam: Elsevier Science B. V.; 1998.
- 499 23. Jombart T. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers.  
500 Bioinformatics. 2008 Jun 1;24(11):1403-5.
- 501 24. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using  
502 the software STRUCTURE: a simulation study. Mol Ecol. 2005 Jul;14(8):2611-20.
- 503 25. Garnier S, Alibert P, Audiot P, Prieur B, Rasplus JY. Isolation by distance and sharp  
504 discontinuities in gene frequencies: implications for the phylogeography of an alpine  
505 insect species, *Carabus solieri*. Mol Ecol. 2004 Jul;13(7):1883-97.
- 506 26. Pena HF, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Population structure and mouse-virulence of  
507 *Toxoplasma gondii* in Brazil. Int J Parasitol. 2008 Apr;38(5):561-9.
- 508 27. Carme B, Aznar C, Motard A, Demar M, de Thoisy B. Serologic survey of *Toxoplasma*  
509 *gondii* in noncarnivorous free-ranging neotropical mammals in French Guiana. Vector  
510 Borne Zoonotic Dis. 2002 Spring;2(1):11-7.
- 511 28. de Thoisy B, Demar M, Aznar C, Carme B. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii*  
512 exposure in free-ranging neotropical mammals. J Wildl Dis. 2003 Apr;39(2):456-9.
- 513 29. Anderson TJ, Haubold B, Williams JT, Estrada-Franco JG, Richardson L, Mollinedo R,  
514 et al. Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria  
515 parasite *Plasmodium falciparum*. Mol Biol Evol. 2000 Oct;17(10):1467-82.
- 516 30. Dubey JP, Sundar N, Gennari SM, Minervino AH, Farias NA, Ruas JL, et al. Biologic  
517 and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the  
518 northern Para state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly  
519 diverse and distinct parasite populations. Vet Parasitol. 2007 Jan 31;143(2):182-8.
- 520 31. Lindström Bontell I, Hall N, Ashelford KE, Dubey JP, Boyle JP, Lindh J, et al. Whole  
521 genome sequencing of a natural recombinant *Toxoplasma gondii* strain reveals  
522 chromosome sorting and local allelic variants. Genome Biol. 2009;10(5):R53.
- 523 32. Ajzenberg D, Yera H, Marty P, Paris L, Dalle F, Menotti J, et al. Genotype of 88  
524 *Toxoplasma gondii* isolates associated with toxoplasmosis in immunocompromised  
525 patients and correlation with clinical findings. J Infect Dis. 2009 Apr 15;199(8):1155-  
526 67.
- 527 33. Dubey JP, Applewhaite L, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OC, et al.  
528 Molecular and biological characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-  
529 range chickens from Guyana, South America, identified several unique and common  
530 parasite genotypes. Parasitology. 2007 Oct;134(Pt 11):1559-65.

- 531 34. Nunura J, Vasquez T, Endo S, Salazar D, Rodriguez A, Pereyra S, et al. Disseminated  
532 toxoplasmosis in an immunocompetent patient from Peruvian Amazon. Rev Inst Med  
533 Trop Sao Paulo. 2010 Apr;52(2):107-10.
- 534 35. Diaz-Suarez O, Estevez J, Garcia M, Cheng-Ng R, Araujo J, Garcia M.  
535 [Seroepidemiology of toxoplasmosis in a Yucpa Amerindian community of Sierra de  
536 Perija, Zulia State, Venezuela]. Rev Med Chil. 2003 Sep;131(9):1003-10.
- 537 36. Etheredge GD, Michael G, Muehlenbein MP, Frenkel JK. The roles of cats and dogs in  
538 the transmission of *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in eastern  
539 Panama. Rev Panam Salud Publica. 2004 Sep;16(3):176-86.
- 540 37. Chacin-Bonilla L, Sanchez-Chavez Y, Monsalve F, Estevez J. Seroepidemiology of  
541 toxoplasmosis in amerindians from western Venezuela. Am J Trop Med Hyg. 2001  
542 Aug;65(2):131-5.
- 543 38. Canada N, Meireles CS, Rocha A, da Costa JM, Erickson MW, Dubey JP. Isolation of  
544 viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. J Parasitol.  
545 2002 Dec;88(6):1247-8.
- 546 39. Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OC, Ashford DA, Thulliez P. Infectivity of  
547 low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. J Parasitol. 1996 Jun;82(3):438-43.

### III. 2. 1. Principaux résultats de l'article 2

- Trente trois isolats nouveaux ont été obtenus, 32 à partir de la faune circulant dans un environnement anthropisé (domestique et forêt dégradée) et 1 à partir de la faune circulant dans un milieu sauvage.

- La diversité génétique était globalement élevée. Cependant la population provenant de l'environnement anthropisé était moins diversifiée que celle d'origine sauvage pour laquelle un génotype différent a été obtenu pour chacune des 18 souches étudiées.

- Les 2 populations environnementales, anthropisée et sauvage, prédéfinies à partir des 33 nouveaux isolats et des 18 préalablement publiés, ont été trouvées clairement distinctes d'un point de vue spatial et génétique au travers des différentes analyses réalisées.

- En plus d'une structuration génétique en 2 populations reflétant les 2 populations environnementales, « anthropisée » et « sauvage », une sous structuration a été trouvée au sein de ces populations avec l'apparition d'un groupe intermédiaire de souches « anthropisées » plus proches de la population « sauvage ». On distingue ainsi :

- les souches « anthropisées » strictes qui appartenaient à 2 groupes différents *Caribbean 1* et *2*,
- les souches « anthropisées » intermédiaires qui appartenaient à 2 autres groupes différents *Caribbean 3* et *Type III* et 2 génotypes uniques,
- les souches sauvages qui formaient un groupe hétérogène appelé « *Amazonian* » qu'il était possible de sous-structurer en 2 ou 3 clusters selon les analyses.

- Les groupes *Caribbean 1* et *3* ont été proposés comme pouvant être de nouvelles lignées majeures de *T. gondii* au sein du cycle domestique en circulation dans les régions d'Amérique du Sud et des Caraïbes.

- Une souche provenant de l'environnement anthropisé a été génétiquement incluse parmi les souches sauvages par l'ensemble des analyses, ce qui suggère l'existence

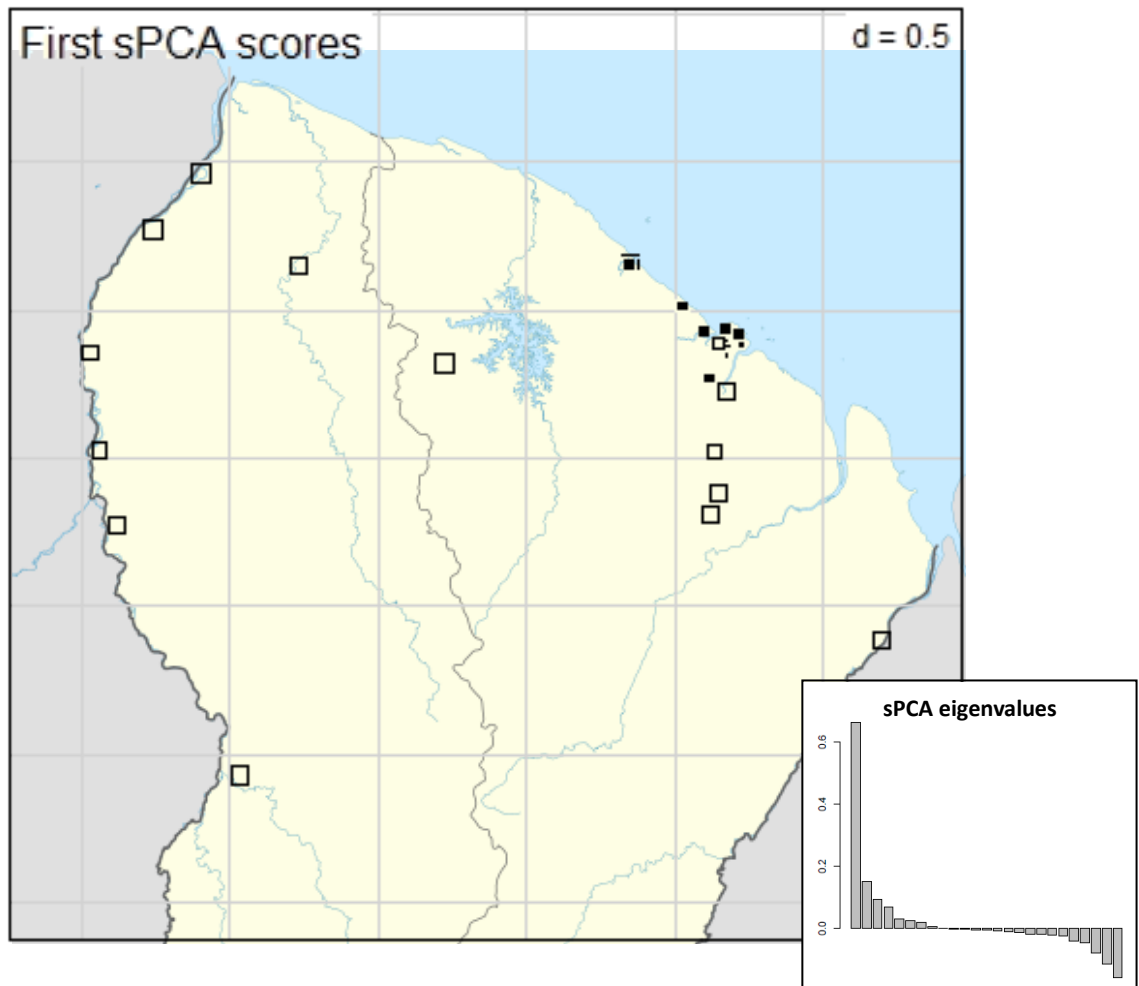
d'interpénétration entre les cycles sauvage et domestique avec les risques potentiels qui en découlent pour les humains. L'acquisition d'allèles sauvages par les souches domestiques, voire l'introduction de souches sauvages au sein de l'environnement domestique, pourraient donner lieu à des manifestations cliniques plus sévères.

### **III. 2. 2. Résultats annexes non présentés dans l'article 2**

#### *Structure spatiale des 2 populations sauvage et domestique du toxoplasme en Guyane*

L'objectif principal de cette étude étant d'étudier la différenciation génétique souches sauvages (environnements selvatiques) vs souches domestiques (environnements anthropisés), nous avons donc cherché à décrire la structure spatiale des souches de *T. gondii* en Guyane Française. La même analyse (sPCA p 147) que celle réalisée pour les souches isolées au Gabon a été appliquée aux 41 souches géolocalisées sur les 51 géotypées dans l'article 2. Cette analyse est particulièrement appropriée à ce jeu de données étant donné que la distribution spatiale de nos isolats de *T. gondii* est continue dans notre échantillonnage.

Le barplot des valeurs propres de la sPCA (figure 24, en bas à droite) portant sur les 41 souches de *T. gondii* géolocalisées, a montré qu'une composante principale globale pouvait être conservée (la première valeur propre positive). Le test global de Monte-Carlo randomisé souligne que cette structure globale a peu de chance de résulter d'une distribution spatiale aléatoire des géotypes de l'échantillon ( $p < 0,0001$ , 9999 permutations). La structure génétique spatiale globale a pu être affichée graphiquement sur la carte de distribution (figure 24). La première composante globale a clairement montré une différenciation génétique spatiale entre les souches localisées dans l'environnement anthropisé (carrés noirs) et celles localisées dans la forêt (carrés blancs) correspondant respectivement au cycle domestique et sauvage. La valeur de *Fst* par paires entre ces 2 groupes environnementaux de souches, égale à 0,35 ( $p=0,05$ ), renforce la robustesse de cette structure spatiale. De cette façon, nous confirmons un des résultats majeurs de l'article 2 qui était l'opposition de ces 2 cycles d'un point de vue génétique et maintenant spatial



**Figure 24 :** Structure génétique spatiale des 41 isolats de *T. gondii* géolocalisés en Guyane Française selon l'analyse sPCA. Les carrés noirs et blancs représentent les scores des isolats pour la première composante principale correspondant à la structure globale. En bas à droite: diagramme en barres des valeurs propres de la sPCA.

De la même façon, 2 souches domestiques (figure 24) semblent d'après la sPCA plus proches génétiquement des souches sauvages que des autres souches domestiques (2 carrés blancs sur la bordure côtière correspondant respectivement aux souches GUY-GAL-VIT-0001 et GUY-CAN-FAM-0007) corroborant ainsi la place intermédiaire entre les cycles sauvage et domestique pour la première et l'interpénétration du cycle sauvage dans le cycle domestique évoqué pour la seconde, discutés dans l'article 2.

Ce dernier point et la structure génétique spatiale globale identifiée par la sPCA renforcent la nécessité d'une meilleure description des relations génétiques entre les souches des cycles sauvages et anthropisées de *T. gondii*, en Guyane Française et soulignent encore

une fois l'importance de l'utilisation d'outils permettant de mesurer la composante spatiale de la structure des populations du toxoplasme.

#### *Virulence chez la souris à l'isolement pour les nouvelles souches*

En ce qui concerne les souches nouvellement isolées, la virulence chez les souris inoculées a été étudiée à l'isolement selon la même méthodologie que pour les souches gabonaises (Mercier *et al.*, sous presse).

Les mêmes facteurs de virulence que lors de l'étude précédente ont été analysés (tableau 12) à la seule différence qu'au lieu d'utiliser 3 classes de dose, seulement 2 ont été retenues pour des raisons d'effectif. En effet, les doses < 100 parasites par inoculum correspondait à 67 souris contre respectivement 20 et 12 pour les classe de dose [100-1000[ et  $\geq 1000$ . Nous avons donc opté pour les 2 classes plus équilibrées < 100 et  $\geq 100$  parasites par inoculum. Les mêmes analyses statistiques ont été effectuées. Les courbes de survie (méthode de Kaplan–Meier) ont été réalisées entre les 2 classes de doses et les 2 groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2* qui présentaient le plus grand nombre de souris analysées.

Les caractéristiques utilisées pour définir la virulence de chaque isolat sont présentées au tableau 13. La dose variait de 1 à 8 484 parasites dans le volume total inoculé avec une majorité de faibles doses (<100 parasites) : 67 doses faibles sur 99 souris inoculées (tableau 13).

**Tableau 13** : Virulence chez la souris entre les différents groupes de *T. gondii*.

Facteurs	Groupes						
	<i>Caribbean 1</i>	<i>Caribbean 2</i>	<i>Caribbean 3</i>	<i>Type III</i>	<i>Single genotype 1</i>	<i>Single genotype 2</i>	<i>Amazonian</i>
Nombre de souches	9	15	3	2	1	1	1
Nombre de souris infectées	26	43	7	9	3	6	3
Classe de dose (nombre de souches) :							
<100 parasites (faible)	17 (65,4)	20 (46,5)	7 (100)	9 (100)	3 (100)	6 (100)	5 (100)
$\geq 100$ parasites (fort)	9 (34,6)	23 (53,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Présence d'ascite (nombre de souris)	22 (76,9)	39 (92,8) <sup>a</sup>	6 (85,7)	8 (88,9)	3 (100)	2 (33,3)	5 (100)
Nombre de souris mortes à 4 semaines p.i.	6 (23,1)	41 (95,3) <sup>c</sup>	4 (57,1)	4 (66,7) <sup>b</sup>	3 (100)	3 (100) <sup>c</sup>	5 (100)

Note. les nombres entre parenthèses correspondent à des pourcentages de sujet.

p.i. : post inoculation.

<sup>a</sup>. ce nombre ne prend pas en compte la souche GUY-FEL-CAT-0005 pour laquelle la présence d'ascite n'a pas été mesurée et correspondait à une seule souris.

<sup>b</sup>. ce nombre ne prend pas en compte la souche GUY-FEL-CAT-0009 dont les 3 souris ont été euthanasiées avant les 4 semaines.

<sup>c</sup>. ce nombre ne prend pas en compte 3 des 6 souris correspondant à la souche GUY-GAL-VIT-0001 qui ont été euthanasiées avant les 4 semaines.

**Tableau 12 : Virulence à l'isolement chez la souris des souches de *T. gondii* nouvellement isolées en Guyane Française.**

Identifiant des isolats	Espèce hôte	Localité d'origine	Quantification de la dose d'inoculum <sup>a</sup>	Virulence			Génotypes	Groupes
				Nombre de souris présentant de l'ascite (No. avec ascite/No. Infecté)	% mortalité (No. morte/No. Infecté)	Jour de mort p.i.		
GUY-CAN-FAM-0005	Chien	Matoury	<100	3/3	66 (2/3)	13-17	#1	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0010	Chien	Rémire	<100	3/3	100 (3/3)	10-14	#1	Caribbean 2
GUY-FEL-CAT-0005	Chat	Cayenne	<100	NE	100 (1/1)	15	#1	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0007	Poule	Route de l'Est (RN2)	≥100	3/3	100 (3/3)	11-13	#2	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0011	Chien	Cayenne	≥100	3/3	100 (3/3)	6-8	#3	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0018	Chien	Matoury	<100	3/3	100 (3/3)	12-28	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0001	Poule	Kourou	≥100	3/3	100 (3/3)	10-13	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0002	Poule	Kourou	≥100	3/3	100 (3/3)	13-15	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0003	Poule	Kourou	≥100	3/3	100 (3/3)	11-12	#3	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0004	Poule	Kourou	≥100	3/3	100 (3/3)	8-12	#3	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0004	Chien	Matoury	<100	3/3	33 (1/3)	14	#4	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0002	Chien	Cayenne	<100	1/3	33 (1/3)	9	#5	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0006	Chien	Matoury	<100	2/2	0 (0/2)	33 <sup>c</sup>	#5	Caribbean 2
GUY-FEL-CAT-0006	Chat	Kourou	<100	3/4	100 (4/4)	8-17	#5	Caribbean 2
GUY-GAL-DOM-0006	Poule	Route de l'Est (RN2)	≥100	3/3	66 (2/3)	11	#5	Caribbean 2
GUY-CAN-FAM-0014	Chien	Cayenne	<100	3/3	0 (0/3)	Survie	#6	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0001	Chien	Macouria	<100	3/3	0 (0/3)	Survie	#7	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0017	Chien	Macouria	<100	0/2	0 (0/2)	Survie	#7	Caribbean 1
GUY-GAL-DOM-0005	Poule	Route de l'Est (RN2)	≥100	2/3	33 (1/3)	14-30 <sup>c</sup>	#8	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0013	Chien	Cayenne	<100	3/3	0 (0/3)	Survie	#9	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0009	Chien	Cayenne	<100	2/3	0 (0/3)	Survie	#10	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0016	Chien	Rémire	≥100	3/3	33 (1/3)	24	#10	Caribbean 1
GUY-FEL-CAT-0007	Chat	Soula 1	<100	3/3	100 (3/3)	11-17	#10	Caribbean 1
GUY-FEL-CAT-0008	Chat	Soula 1	≥100	3/3	33 (1/3)	15-34	#10	Caribbean 1
GUY-CAN-FAM-0019	Chien	Matoury	<100	3/3	100 (3/3)	15-16	#11	Caribbean 3
GUY-CAN-FAM-0012	Chien	Matoury	<100	3/3	0 (0/3 <sup>b</sup> )	Survie	#12	Caribbean 3
GUY-CAN-FAM-0015	Chien	Cayenne	<100	0/1	0 (0/1)	Survie	#12	Caribbean 3
GUY-CAN-FAM-0008	Chien	Montjoly	<100	2/3	33 (1/3)	20	#13	Type III
GUY-FEL-CAT-0009	Chat	Matoury	<100	6/6	100 (3/6 <sup>b</sup> )	12	#13	Type III
GUY-CAN-FAM-0003	Chien	Macouria	<100	3/3	100 (3/3)	7	#14	single isolate 1
GUY-GAL-VIT-0001	Grison	Cayenne	<100	2/6	100 (3/6 <sup>b</sup> )	5-15	#15	single isolate 2
GUY-MAZ-GOU-0001	Cariacou	Regina	<100	2/2	100 (2/2)	11-12	#16	Amazonian
GUY-CAN-FAM-0007	Chien	Roura	<100	3/3	100 (3/3)	11-16	#17	Amazonian

Note : NE : non évalué

<sup>a</sup> nombre de parasites estimé à partir des tests PCR en temps réel sur 200 µl de la préparation des tissus animaux.

<sup>b</sup> les souris considérées comme survivantes correspondent en réalité à des souris euthanasiées avant la fin des 4 semaines.

<sup>c</sup> souris morte de toxoplasmose au-delà de 4 semaines.

Seuls les groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2* ont été isolés à partir de doses fortes (≥ 1000 parasites). Le groupe *Type III* semble modérément virulent alors que les 2 génotypes uniques et le groupe *Amazonian* semble être plus pathogène avec 100 % des souris mortes

dans les 3 cas. Cependant, la taille réduite des échantillons ne nous permet pas de conclure de façon statistique et par conséquent ces souches ont été exclues des analyses qui suivent.

**Tableau 14 : Valeurs de  $p$  et hazard ratios (IC 95 %) pour le temps de survie des souris estimés à l'aide de l'analyse du model de Cox à risque proportionnel vis-à-vis de la dose et des 2 principaux groupes de génotypes : *Caribbean 1* et *Caribbean 2*.**

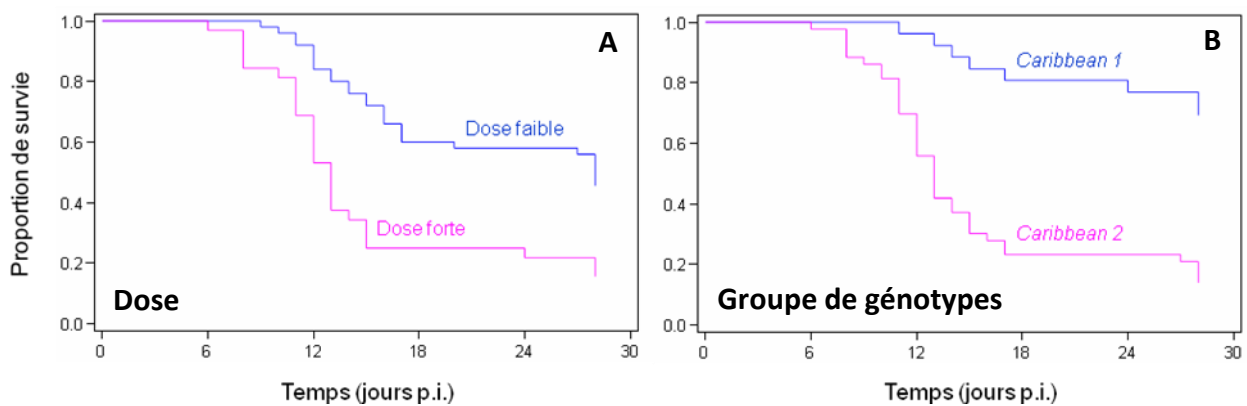
Facteurs	Hazard Ratio*	IC 95%	$p$
<b>Effet de la dose</b>			
<i>fort</i> ( $\geq 100$ ) vs <i>faible</i> ( $< 100$ )	3,9	2,1 – 7,5	$< 0.0001$
<b>Effet de l'appartenance à groupe de génotypes</b>			
<i>Caribbean 2</i> vs <i>Caribbean 1</i>	7,1	3,2 – 15,6	$< 0.0001$

le temps de survie a été mesuré sur une durée de 28 jours après inoculation.

\* Les hazard ratio sont ajustés sur la quantité de parasites inoculés (effet dose).

En utilisant les analyses de régression de Cox à risques proportionnels, nous avons évalué les relations entre le temps de survie et les 2 facteurs: la dose et l'appartenance à un groupe de génotypes. Le facteur dose a été trouvé comme ayant un effet significatif ( $p < 0,0001$ ) sur la durée de survie au même titre que le facteur appartenance à un groupe de génotypes ( $p < 0,0001$ ) (tableau 14).

Les courbes de survie ont permis de confirmer l'effet significatif de la dose, mais aussi les différences observées entre les 2 groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2* vis-à-vis de la survie (figure 25).



**Figure 25 : Proportion de survie des souris infectées (A) en fonction de la dose inoculée et (B) de l'appartenance à un des 2 groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2*.**

En ce qui concerne la dose, les souris infectées à partir de doses fortes avaient une médiane de survie plus courte (13 jours) par rapport aux souris infectées par des doses faibles, la médiane de survie n'étant pas atteinte dans ce cas (figure 25. A). L'estimation du risque-ratio a montré que les isolats issus de fortes doses tuaient les souris 4 fois plus vite que les isolats issus de faibles doses (figure 25. A, tableau 14).

De même, pour les 2 groupes testés, les souris infectées à partir des souches du groupe *Caribbean 2* avaient une médiane de survie plus courte (13 jours) par rapport aux souris infectées par les souches du groupe *Caribbean 1*, la médiane de survie n'étant pas non plus atteinte dans ce cas. L'estimation du risque-ratio ajusté sur la quantité de parasites a ainsi montré que les isolats du groupe *Caribbean 2* tuaient les souris 7 fois plus vite que les isolats du groupe *Caribbean 1* (figure 25. B, tableau 14).

Selon l'analyse de régression logistique, la présence d'ascite ajusté pour l'effet dose était non significativement associée aux groupes ( $p=0,98$ ). L'ascite est survenue chez 61 (95,3 %) des 64 souris qui sont décédées avant les 4 semaines et seulement pour 21 (75,0 %) des 28 souris survivantes. Un test exact de Fisher a constaté que ces différences étaient significativement différentes ( $p=0,008$ ).

Aucune interaction entre la dose, le groupe et la présence d'ascite n'a été trouvée dans les 2 modèles statistiques.

L'analyse de la virulence à l'isolement a de nouveau démontré le rôle de la dose, mais aussi et surtout celui du génotype vis-à-vis de la virulence observée à l'isolement chez la souris. Le groupe *Caribbean 2* était ainsi associé à une survie plus courte des souris que le groupe *Caribbean 1* (figure 25. B), de même pour les doses fortes vis-à-vis des faibles. Le groupe *Caribbean 2* avec ses 95,3 % de mortalité à 4 semaines est donc proche d'un point de vue virulence des souches appartenant aux haplogroupes *Africa 1* et *Africa 3* dont la virulence accrue avait été mis en lien avec la présence d'allèles de Type I au sein de leur génotype (Mercier *et al.*, sous presse). Cette dernière hypothèse n'est pas soutenue par l'analyse de la virulence des groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2*. En effet ces 2 groupes possèdent respectivement 2 et 1 allèles de Type I et celui qui semble le plus virulent : *Caribbean 2* est celui qui en possède le moins. Afin d'approfondir ces observations, il serait bon d'augmenter le nombre de marqueurs de génotypage et surtout de s'intéresser à des marqueurs en lien avec la virulence tels que ROP18 (Khan *et al.*, 2009) ou CS3 (Pena *et al.*, 2008).

On peut regretter le faible effectif de souches de Type III isolées en Guyane qui ne nous a pas permis de comparer sa virulence à l'isolement à celle des souches de Type III obtenues au Gabon. Cependant, la tendance en Guyane semblait aller vers une virulence chez la souris à l'isolement supérieure à celle observée au Gabon (4/9 souris mortes avant 4 semaines en Guyane, contre seulement 10/129 au Gabon). Envisager une étude expérimentale de la virulence en dehors de l'isolement avec des doses infectantes de départ identiques semble donc nécessaire afin de pouvoir comparer réellement l'ensemble de ces groupes. Elle pourrait être couplée à l'étude en parallèle des marqueurs de virulence.

En plus des facteurs génétiques, ces facteurs fournis par l'analyse phénotypique de la virulence ont permis de distinguer les 2 groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2* qui ne l'étaient pas clairement pour toutes les analyses génétiques (STRUCTURE et DAPC) renforçant ainsi leur existence.

#### *Epidémies chez le singe écureuil (Saimiri sciureus)*

Carme et collaborateurs ont rapporté deux épidémies de toxoplasmose chez des singes écureuils (*Saimiri sciureus*) nés et ayant toujours vécu en captivité à l'Institut Pasteur de la Guyane à Cayenne (Carme *et al.*, 2009a). Pour ces deux épidémies, de l'ADN des souches contaminantes de *T. gondii* a pu être isolé et caractérisé à l'aide de 12 marqueurs microsatellites. Les circonstances d'apparition des cas associées aux données cliniques et à l'analyse génétique des parasites leur ont permis de conclure à la survenue de 2 épidémies (2001 et 2006) de toxoplasmose aiguë avec dans chaque cas une seule et unique souche contaminante impliquée : de Type II en 2001 et présentant une combinaison d'allèles de Type I, III et atypique en 2006. Ils ont de ce fait confirmé la pathogénicité élevée de *T. gondii* chez les singes du Nouveau Monde (McKissick *et al.*, 1968; Anderson and McClure, 1982; Dickson *et al.*, 1983; Cunningham *et al.*, 1992; Salant *et al.*, 2009), quelle que soit la souche infectante et notamment des souches de Type II considérées comme avirulentes pour de nombreuses espèces hôtes.

Lors de notre étude, une des nouvelles souches : GUY-FEL-CAT-0005 a été isolée à partir d'un chat âgé de 3 à 5 ans qui vivait avec de nombreux congénères dans l'enceinte de l'Institut Pasteur à proximité des mêmes cages d'élevage de singes écureuils où sont survenues les 2 épidémies. Ce nouvel isolat a été caractérisé comme appartenant au groupe *Caribbean 2*. Après comparaison avec l'ensemble des souches déjà caractérisées pour la Guyane, nous l'avons trouvé identique au génotype de la souche responsable de l'épidémie de

2006 sur les 12 marqueurs pour lesquels celle-ci avait été génotypée. Pour vérifier cette coïncidence, nous avons de nouveau génotypé la souche de l'épidémie avec cette fois-ci 15 marqueurs microsatellites. Le résultat fut un génotype strictement identique à celui de l'isolat de notre chat. Au vu de l'âge de ce chat et du fait qu'il ait été observé depuis plusieurs années sur ce lieu, il est fort probable qu'il puisse être la source de l'épidémie de 2006 ou avoir été contaminé lors de celle-ci par une autre source qui pouvait être un de ces congénères qui aurait excrété des oocystes à cette période. La contamination d'eau de ruissellement ou de rongeurs à proximité des cages aurait alors pu être la cause de contamination des singes. Cependant ce génotype a aussi été retrouvé chez 2 chiens errants, l'un à Matoury et l'autre à Rémire-Montjoly, soit à peu près à 10 km de distance dans les 2 cas des bâtiments de l'Institut Pasteur, montrant l'importante circulation de ce génotype dans la région de Cayenne.

L'épidémie de 2001 dont la souche infectieuse serait de Type II, est la seule présentant ce génotype de toutes les souches isolées en Guyane Française. L'hypothèse la plus probable au vu de la rareté du Type II en Amérique du Sud et surtout faisant suite à un certain nombre d'observations sur le terrain, est l'importation d'un chat de métropole récemment infecté par une souche de Type II fréquente en France métropolitaine et qui aurait excrété à proximité des cages de l'Institut Pasteur. De nombreux expatriés emmènent leurs animaux de compagnie avec eux et notamment des chats renforçant cette hypothèse. Cela a été observé chez certains expatriés vivant au sein de l'infrastructure de l'Institut Pasteur. Ceci serait encore une fois la preuve de l'impact des échanges humains sur la circulation du toxoplasme à travers le monde, comme le rôle qu'a pu jouer indirectement la traite négrière occidentale ou atlantique entre le XV<sup>ème</sup> et le XIX<sup>ème</sup> (Lehmann *et al.*, 2006; Mercier *et al.*, sous presse). Ce rôle des activités humaines peut sans trop de risques être élargi à de nombreux autres pathogènes, et pourrait poser des problèmes de santé publique à l'avenir avec l'augmentation des échanges à travers le monde due à la mondialisation.



## **CHAPITRE 4**

### **Discussion générale, perspectives et conclusion**

Ce travail de thèse avait pour objectif l'étude de l'épidémiologie du toxoplasme en zone tropicale humide. Nous l'avons réalisé au travers de l'étude de la prévalence humaine et animale en tant que travail préliminaire à l'isolement et la caractérisation génétique et phénotypique de nouvelles souches de toxoplasme provenant des continents africain (Gabon) et sud-américain (Guyane Française), afin d'appréhender la structure des populations de ce parasite et la circulation des souches dans l'environnement tropical de ces régions jusqu'alors peu étudiées.

### ***Importance et difficultés du travail de terrain pour l'étude de *T. gondii* en ZTH***

Ces travaux ont d'abord montré l'importance du travail de terrain aussi bien pour les études de prévalence, pour lesquelles un grand nombre de facteurs doivent être pris en compte en amont afin d'anticiper le traitement des résultats qui suivront, que pour l'isolement de souches.

Au Gabon, le travail de terrain a permis des études de séroprévalence préliminaires à cet isolement pour approfondir l'épidémiologie de ce parasite en milieu tropical humide dans divers biotopes urbain et rural avec d'ailleurs très peu de différence entre ces 2 environnements où la contamination tellurique semblait prédominer.

L'isolement des souches demande un travail important d'échantillonnage, complexe en milieu tropical humide :

- missions dans des zones reculées (Dienga) et difficiles d'accès (pistes de latérite) demandant une certaine logistique,
- prise en compte de la culture locale afin de faire comprendre notre travail pour qu'il soit mieux accepté,
- difficulté des prélèvements sur des animaux de rentes qui seront mangés par la population dans le cas où ils ne sont pas retenus par le protocole,
- besoin de prélèvements frais avec les problèmes de conservation amplifiés par les conditions climatiques. Ceci est particulièrement crucial pour les viandes de brousse. En Guyane, les difficultés d'acheminement à Cayenne expliquent les échecs de tentatives précédentes d'isolement à partir du milieu sauvage (M. Demar, communication personnelle). Au Gabon, seuls les animaux domestiques de rente (poules, chèvres et moutons), lorsque cela était possible, étaient ramenés vivants au laboratoire du CIRMF de Franceville pour y être euthanasiés juste avant le protocole d'isolement,
- réglementation concernant certaines espèces sauvages,

- obligation d'une animalerie souris sur place (au Gabon, elle a été créée de toutes pièces au sein d'une structure d'hébergement de primates) avec les contraintes d'élevage que cela engendre (reproduction),
- logistique de transport des échantillons au sein du pays et vers la France...

Ce travail est d'autant plus difficile que le résultat n'est pas garanti. Ainsi, un certain nombre d'échantillons provenant d'animaux séropositifs ne nous ont pas permis d'isoler de souches en raison soit d'inoculum trop faible ou détruit lors de la digestion trypsique, soit de la mort précoce de souris par infection bactérienne sans que l'on puisse récupérer le parasite. Suite à cette expérience, nous proposons un protocole, utilisé en Guyane afin de limiter ces incidents (annexe 8). La difficulté de ces isolements explique le peu d'études consacrées à l'exploration de la biodiversité de *T. gondii* en zone tropicale humide (Velmurugan *et al.*, 2008).

Malgré ces difficultés, une centaine de nouvelles souches originaires du Gabon et de Guyane Française provenant essentiellement de la faune domestique ont pu être isolées. Nos 2 études restent la preuve qu'il est encore possible d'étudier et d'isoler des souches de *T. gondii* dans ces régions reculées. **Les résultats obtenus doivent encourager la poursuite de l'exploration de la biodiversité du toxoplasme en zone tropicale humide et plus généralement dans l'ensemble des zones qui restent inexplorées.**

### ***Coexistence d'un cycle domestique et sauvage avec des interactions potentielles en ZTH***

Au terme de ces travaux d'épidémiologie sur le terrain, un certain nombre de points communs ont été trouvés entre ces 2 régions que sont le Gabon et la Guyane Française. Les climats semblables y sont pour beaucoup, mais aussi l'existence d'une forêt pluviale très conservée dans les 2 zones d'études. Cet environnement sauvage riche en faune d'hôtes intermédiaires (mammifères et oiseaux) (Grenyer *et al.*, 2006), mais aussi en félidés sauvages (annexe 4) permet l'existence d'un cycle sauvage du toxoplasme, en plus du cycle domestique présent en zone anthropisée avec la présence de chats domestiques et l'ensemble des animaux domestiques, de rentes et des humains qui y cohabitent.

Nos 2 études ont permis de mettre en évidence la présence du cycle sauvage dans les 2 régions d'études : au travers du taux de prévalence non négligeable observée au sein de la faune sauvage au Gabon et par la caractérisation de souches provenant des environnements

sauvage et anthropisé en Guyane. Dans cette dernière région, nous avons pu montrer grâce à la caractérisation génétique des souches des 2 cycles, sauvage et domestique, que ceux-ci pouvaient avoir des interactions entre eux (interpénétration et flux de gènes d'un cycle dans l'autre), ce qui n'a pas été possible au Gabon du fait de tentatives non abouties d'isolement à partir de la faune sauvage. Dans le village de Dienga, ces 2 cycles coexistent avec une certaine proximité : village avec de nombreux animaux domestiques dont des chats, proximité de la forêt et importance de la chasse, et il y a fort à parier que ce type d'interaction doit exister aussi dans ce village. Cependant, on peut se demander si la dynamique du cycle sauvage au Gabon est aussi importante et diversifiée qu'en Guyane du fait de la différence du nombre d'espèces de félidés (2-3 espèces seulement au Gabon contre 6 en Guyane ; annexe 4) et d'hôtes intermédiaires dans les 2 zones en faveur de la Guyane. **Pour répondre à cette question, des souches de toxoplasme issues de la faune sauvage provenant d'un environnement sauvage devront être isolées à l'avenir en Afrique mais aussi dans toutes les zones géographiques où le cycle sauvage a été négligé comme au Brésil ou en Amérique du Nord où celui-ci commence seulement à être étudié. L'Asie qui possède la plus grande richesse spécifique de félins devra aussi être explorée.**

#### ***Surreprésentation des génotypes mixtes et atypiques dans la ZTH***

En ce qui concerne la caractérisation génétique des souches isolées au Gabon et en Guyane, excepté le Type III qui a été retrouvé dans les 2 études, confirmant sa distribution mondiale, les autres génotypes décrits présentaient tous des mélanges d'allèles provenant des 3 types majeurs (I/III, II/III ou I/II/III) avec, pour les souches guyanaises, la présence d'allèles atypiques même chez des souches provenant du cycle domestique. La caractérisation de souches de toxoplasme provenant de ces zones encore peu explorées confirme donc le fait que les génotypes mixtes ou atypiques sont bien plus représentés qu'on ne le pensait. Certains de ces génotypes constituent de véritables lignées clonales au même titre que les types majeurs initialement décrits. Il reste cependant à éclaircir l'existence ou non de génotypes recombinants au sein de ces génotypes mixtes. **Le séquençage multilocus de l'ADN de ces souches tel qu'il a été réalisé par Lindström Bontell et collaborateurs (Lindström Bontell *et al.*, 2009), faciliterait la compréhension de ces génotypes mixtes, mais aussi atypiques qui circulent dans ces régions.**

### ***L'Amazonie guyanaise, « Point chaud » de la diversité***

Le niveau global de diversité trouvé chez les souches de *T. gondii* de Guyane Française était bien plus élevé que celui trouvé au sein des souches gabonaises dont l'échantillonnage était pourtant plus important et provenait d'un territoire plus vaste. Ce résultat doit être relativisé car la majeure partie de la diversité des souches de Guyane provient des souches sauvages qui n'ont pu être isolées au Gabon. La diversité au sein des souches domestiques était comparable entre les 2 études (pour les 13 marqueurs MS partagés par les 2 études, Guyane Française :  $H_s = 0,31$ , diversité génotypique = 0,55 ; Gabon :  $H_s = 0,29$ , diversité génotypique = 0,39).

L'extrême diversité des souches sauvages (un génotype différent par isolat) quant à elle, mérite bien qu'on lui décerne, au même titre que la faune et la flore de la forêt pluviale guyanaise, le terme de « point chaud » de la diversité. La découverte chez l'une des souches sauvage, lors de notre étude guyanaise, d'un nouveau polymorphisme allélique pour le locus *M33* habituellement peu polymorphe (Blackston *et al.*, 2001) en est une autre preuve. La plus grande diversité génotypique observée en milieu sauvage doit être relativisée par un échantillonnage plus diversifié en termes spatial et temporel par rapport à l'échantillonnage des souches anthropisées. Cependant, au Gabon, l'échantillonnage effectué sur des distances comparables n'a pas révélé autant de diversité en milieu anthropisé. Une autre limite à discuter dans l'échantillonnage des souches du milieu sauvage en Guyane est le fait qu'elles proviennent pour la plupart de patients ayant développé une toxoplasmose sévère. On peut imaginer une sélection de génotypes particuliers en relation avec ces formes cliniques qui doit nous inciter à **compléter l'étude par l'isolement de souches à partir des animaux sauvages.**

### ***Haplogroupes africains et groupes guyanais***

Ceci nous amène à une différence de dénomination entre les 2 articles qui doit être précisée. En effet dans l'article sur les souches gabonaises, nous avons employé le terme d'« haplogroupe » en ce qui concerne les 3 grands clusters génétiques décrits dans l'étude (*Type III, Africa 1* et *Africa 3*). Dans l'article sur les souches guyanaises, ce terme a été remplacé par celui de « groupe » ou « groupe de génotypes ». Cette différence s'explique par le fait que, contrairement à la population de *T. gondii* gabonaise, les clusters décrits dans la population guyanaise par les différentes analyses n'étaient pas toujours concordants et possédaient des effectifs en souches souvent faibles. Si l'on considère les 2 principaux

groupes en nombre d'isolats: *Caribbean 1* et *2*, ceux-ci étaient clairement distincts dans l'arbre de distance et la valeur de *Fst* par paires entre ces 2 groupes après correction d'Allendorfs Phelps (non présentée dans l'étude) était égale à 0,50 ( $p=0,05$ ), renforçant la robustesse de cette structure. Cependant, ces 2 groupes n'ont pas été clairement définis par la DAPC (Figure 2 de l'article guyanais p 170 ; clusters C5.4 et C5.5) et pas du tout retrouvés par l'analyse avec le logiciel STRUCTURE. Nous avons donc préféré parler de groupe et non d'haplogroupe afin de rester prudent. Le fait que *Caribbean 1* ait été retrouvé pour d'autres souches des Caraïbes et d'Amérique du Sud (Ajzenberg et al. 2009 ; données personnelles) et les différences de virulence entre les 2 groupes pourraient soutenir le fait de se trouver en présence de 2 « haplogroupes » distincts qu'il reste cependant à confirmer par l'analyse génétique (ajout de marqueurs supplémentaires ou séquençage). Quant au cluster « *Amazonian* » qui rassemblait l'ensemble souches sauvages étudiées en Guyane dans un groupe extrêmement hétérogène reflétant son extrême diversité, il ne peut être considéré comme un seul et même « haplogroupe ». Ainsi il n'est pas clair si ce niveau de diversité est le résultat de recombinaisons génétiques fréquentes au sein d'un même pool génétique ou le reflet d'un grand nombre de lignées sauvages dans ce cas en arrière-plan. **Seules les études à venir basées sur le séquençage partiel ou total de souches appartenant à ces différents groupes de géotypes ou haplogroupes pourront soulever ces doutes.**

### ***Différences de virulence mesurée à l'isolement chez la souris en lien avec la diversité génétique***

Les différences phénotypiques entre les haplogroupes africains et entre les 2 groupes *Caribbean 1* et *Caribbean 2* au travers de l'étude de la virulence à l'isolement est un élément qui renforce les données génotypiques. Pour les haplogroupes africains, les haplogroupes présentant le plus d'allèles de Type I ont été trouvés plus virulents. En Guyane, la virulence significativement plus importante pour le groupe *Caribbean 2* le distingue clairement de *Caribbean 1*, La méthode d'analyse de la virulence que nous avons adoptée (virulence à l'isolement avec évaluation de l'effet dose ; critères de mortalité et présence d'ascite) est une méthode pratique. **Cependant, elle ne dispensera pas dans des études ultérieures d'une approche plus expérimentale dans des conditions contrôlées, couplée à l'analyse de marqueurs génétiques en lien avec la virulence.**

### ***Spatialité et épidémiologie du toxoplasme, une suite en devenir***

Dans nos différents travaux, aussi bien sur l'étude de la prévalence que sur l'analyse de la structure des populations, nous avons pu voir l'importance de la prise en compte du facteur spatial. Si celui-ci mérite d'être retravaillé en ce qui concerne l'analyse SIG de la séroprévalence à Dienga qui se voulait plus un travail exploratoire qu'une analyse aboutie, l'étude de la structure génétique spatialisée a montré tout son intérêt aussi bien au Gabon qu'en Guyane. Nous avons pu ainsi caractériser spatialement la structure génétique du toxoplasme à différentes échelles géographiques : celle du pays au Gabon ou de la région en Guyane Française et au sein de la capitale Libreville au Gabon à l'échelle de la ville avec une structuration par quartier. **Ces analyses qui demandent à être approfondies avec des jeux de données plus fournis pourraient aider la compréhension de la distribution de la diversité génétique du toxoplasme.**

### ***Influence des voyages humains et des échanges commerciaux sur la diffusion des génotypes et la structuration des populations de parasites***

La grande différence entre les deux études est dans la qualité des génotypes. En effet, hormis le Type III commun aux deux régions étudiées, tous les autres haplogroupes ou groupes de souches sont distincts comme en témoigne l'arbre de distance de l'article « Guyane » reprenant les souches de référence dont le génotype comprenant un seul isolat et les trois haplogroupes du Gabon.

Au sein du Type III, plusieurs génotypes multilocus sont présents : un seul en Guyane (#13 dans l'article Guyane) et 8 au Gabon. Le génotype #13 guyanais est très proche de celui du génotype #18 du Gabon, puisqu'ils se différencient seulement par 2 marqueurs (sur 15 marqueurs) parmi les plus polymorphes avec des allèles proches (respectivement pour AA : 269/267 et pour N60 : 145/149). Cette proximité au sein du Type III entre génotypes d'isolats d'origines géographiques différentes avait déjà été observée entre un génotype provenant du Portugal [souche TgCkPr1; (Dubey *et al.*, 2006c)] et le même génotype #18 du Gabon. Ces 2 génotypes pourtant d'origine très éloignés géographiquement étaient identiques sur l'ensemble des 15 marqueurs MS. Tout en restant prudent en raison du phénomène d'homoplasie possible avec les microsatellites, cela montre soit la circulation de ces génotypes de Type III à travers le monde et les continents, soit le peu de dérive génétique de cette lignée.

Même si, en dehors du Type III, nous n'avons pas retrouvé entre la Guyane et le Gabon d'autres lignées clonales communes, celles-ci existent entre l'Afrique et l'Amérique du Sud (Ajzenberg *et al.*, 2009; Ajzenberg *et al.*, 2004; Pena *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2007). Les haplogroupes *Africa 1* et *3* sont identiques à certaines souches brésiliennes (Mercier *et al.* Sous presse). Cette dispersion géographique pourrait témoigner des échanges récents entre ces deux continents depuis le XV<sup>ème</sup> siècle (Lehmann *et al.*, 2006; Mercier *et al.*, sous presse). Cependant, contrairement à ce qui se passe pour *Plasmodium falciparum*, *Schistosoma mansoni* ou *Leishmania infantum* pour lesquels cette migration transatlantique des parasites liée aux migrations humaines a été démontrée (Morgan *et al.*, 2005; Mauricio *et al.*, 2007; Tanabe *et al.*, 2010; Hartl, 2004; Anderson *et al.*, 2000; Watts, 1997), l'homme n'est qu'une impasse parasitaire pour le toxoplasme, la migration humaine proprement dite n'a qu'un effet indirect sur la circulation du toxoplasme. Les transports de chats ou d'autres animaux domestiques ou de rentes, ainsi que les rongeurs qui pouvaient se trouver sur les bateaux sont la source possible de l'implantation de nouveaux génotypes dans les pays concernés par ces échanges. Pour relativiser cette hypothèse, on peut cependant se poser la question de l'absence de similarité entre les génotypes trouvés en Europe et ceux trouvés sur les deux autres continents alors que les échanges commerciaux sont sans doute plus fréquents entre Europe et Amérique d'une part, ou Europe et Afrique d'autre part qu'entre Amérique et Afrique. Une explication possible serait la difficulté d'adaptation des hôtes intermédiaires à des climats différents.

La circulation du toxoplasme est donc collatérale aux échanges humains. Cet impact reste tout de même significatif au vu des résultats trouvés à une échelle spatiale différente lors de l'étude menée au Gabon. Une structuration des populations a pu être mise en évidence à l'échelle d'une ville, avec l'exemple des 3 quartiers échantillonnés à Libreville, et à l'échelle du pays puisque les trois grandes villes étudiées, entre lesquelles les échanges (commerciaux, humains, animaux) sont importants, partageaient des populations de toxoplasmes génétiquement semblables contrairement à la population de parasites du village de Dienga. Dans ce village éloigné de ces zones d'échanges, tous les isolats appartenaient au même haplogroupe quasi inexistant dans les grandes villes (Mercier *et al.*, sous presse).

Les marqueurs microsatellites utilisés dans nos études sont bien adaptés au génotypage des souches de *T. gondii* et à l'analyse de la structure génétique des populations à différentes échelles spatiales grâce à leur fort pouvoir discriminant. Ils semblent également adaptés à l'analyse des échanges sur des échelles de temps relativement brèves, comme le montre l'exemple du Gabon. Cependant, ces marqueurs, en raison de leur taux de mutation élevé,

mais aussi du taux élevé de mutation inverse (homoplasie), ne sont pas ou peu adaptés pour relever des structures générées par les événements démographiques relativement anciens. C'est pourquoi il faut faire attention lorsque nous interprétons l'histoire évolutive à partir de ces marqueurs. **Pour résoudre la question de l'origine et de la migration des génotypes sur les différents continents, il faut envisager des études phylogénétiques utilisant des marqueurs, tels les gènes mitochondriaux, capables de mesurer des événements plus anciens.**

***Distribution de la diversité génétique à travers le monde et histoire évolutive incomplètes de *T. gondii****

La distribution mondiale des génotypes de toxoplasmes est encore largement inexplorée. Les travaux d'exploration de cette diversité que nous venons de présenter essentiellement en zone tropicale humide doivent être élargis aux autres continents et principalement l'Eurasie pour laquelle peu de souches ont été isolées paradoxalement au fait qu'il s'agirait du « berceau » des félidés (Johnson *et al.*, 2006). Nos travaux vont donc se poursuivre grâce notamment à une collaboration avec une équipe des USA (C. Su, University of Tennessee, et JP. Dubey, US Department of Agriculture). Le but de cette équipe, la description de la diversité globale du toxoplasme, est similaire au nôtre. Ils disposent de plus de 900 isolats de différents continents. Mais ils ont développé des marqueurs génétiques différents (PCR RFLP) de ceux que nous utilisons (microsatellites). Les résultats respectifs sur les mêmes isolats seront comparés entre eux. Ceci devrait permettre une clarification du regroupement des souches nécessaires pour les chercheurs qui, à travers le monde, veulent entreprendre des études sur les génotypes de toxoplasmes et qui jusqu'ici pouvait rarement comparer les génotypages basés sur les marqueurs RFLP et microsatellites, si ce n'est en terme de typage. Ce regroupement sera également une base pour mieux appréhender les relations génotypes-virulence.

En plus de la distribution de la diversité du toxoplasme à travers le monde, c'est sa phylogénie et son histoire évolutive qu'il faudra étudier avec des marqueurs adéquats et l'utilisation de techniques de séquençage y semble indispensable. Les ébauches d'histoire évolutive proposées jusqu'ici (Lehmann *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007; Sibley and Ajioka, 2008) doivent être revues aux lumières des nouvelles découvertes de souches et doivent intégrer un maximum d'origines géographiques différentes afin d'être la plus représentative possible. De plus, la piste d'une coévolution probable félins-toxoplasmes, rarement prise en

compte dans les différents modèles phylogénétiques proposés, doit être étudiée de façon plus approfondie. Cependant la distribution des génotypes ne peut être expliquée seulement par cette coévolution du fait de l'extrême multiplicité des hôtes intermédiaires du toxoplasme chez qui la dérive génétique doit jouer un rôle important dans l'évolution des génotypes du toxoplasme (Lehmann *et al.*, 2004) comme cela a été évoqué en Australie (Parameswaran *et al.*, 2010). Cependant, la reproduction sexuée se déroulant exclusivement chez les félinés, on peut donc raisonnablement penser que ces derniers jouent un rôle prépondérant dans la diversification des lignées de toxoplasme et pourraient être à l'origine même de celle-ci. La diversification des populations sud américaines en relation avec les migrations des félins (Amérique du Nord vers l'Amérique du Sud par le canal de Panama) au cours de leur histoire évolutive l'illustre bien (Sibley and Ajioka, 2008). En comparaison, la dérive génétique du toxoplasme chez les hôtes intermédiaires n'ajouterait de la diversité qu'au sein de ces lignées.

Ainsi, l'origine ancestrale du toxoplasme proposée par Lehmann et collaborateurs en Amérique du Sud basé sur le simple fait de la forte diversité qui y règne (Lehmann *et al.*, 2006) doit être revue et le génotype #3 décrit dans une bonne partie de l'Asie, mais aussi en Amérique du Sud (Zhou *et al.*, 2009), n'est probablement pas originaire directement du continent sud américain comme semblent le dire Dubey et collaborateurs (Dubey *et al.*, 2007c), mais pourrait raconter une histoire évolutive plus complexe qui a pu relier ces 2 continents. **Pour résoudre une partie de ces questions, nous proposons une étude basée sur le séquençage de gènes de ménage d'un grand nombre de souches originaires de multiples zones géographiques en utilisant les méthodes d'analyses décrites par Tanabe et collaborateurs dans une étude récente cherchant à retrouver l'origine ancestrale du *Plasmodium falciparum* (Tanabe *et al.*, 2010).**

### ***Étude des formes cliniques humaines en ZTH, une perspective de travail***

Nos études ne nous ont pas permis d'aborder toutes les particularités du toxoplasme dans la zone tropicale humide et notamment celle de l'expression clinique chez l'homme en lien avec le génotype. Lors de nos travaux au Gabon, il était au départ prévu d'isoler des souches de toxoplasme chez l'homme. L'isolement de toxoplasmes se fait classiquement dans les formes cérébrales chez les immunodéprimés à partir de biopsies cérébrales. L'isolement dans le sang est classiquement décrit comme rare en France et aux Etats-Unis (Pelloux *et al.*, 1997; Franzen *et al.*, 1997). Mais une étude réalisée au Brésil a montré que les PCR pouvaient être positives dans le sang chez 80 % des cas au cours des atteintes cérébrales, notamment

chez les patients qui avaient des taux d'anticorps élevés (Colombo *et al.*, 2005). Il est possible que les génotypes africains qui semblent assez proches des génotypes brésiliens donnent les mêmes résultats et les observations de Genot et collaborateurs en sont peut être un exemple (Genot *et al.*, 2007). D'autres études ont aussi réalisé des PCR directs de *T. gondii* sur des prélèvements cliniques avec succès (Gallego *et al.*, 2006). L'une d'entre elles menée par Linström et collaborateurs en Ouganda a permis la caractérisation monolocus de 30 ADN extraits du sang de patient VIH+ présentant des symptômes neurologiques pouvant laisser présager d'une toxoplasmose cérébrale avec ou non une sérologie positive (Lindström *et al.*, 2006). Ces travaux sont cependant à prendre avec précaution en raison des PCR nichées qui ont été employées. Des travaux plus récents ne retrouvent la présence de toxoplasmes circulants que dans un nombre limité de cas (Correia *et al.*, 2010; Ajzenberga, 2010).

Il était donc question dans notre étude au Gabon d'essayer d'isoler des toxoplasmes circulants chez des patients sidéens avec un taux faible de CD4+ ( $CD4 < 200/mm^3$ ), des taux élevés d'anticorps antitoxoplasmiques et présentant une suspicion clinique de réactivation toxoplasmique, qu'elle soit cérébrale, pulmonaire ou disséminée. La recherche chez ce même type de patients ( $CD4 < 200/mm^3$ , taux d'anticorps  $> 1000$  UI/ml), mais asymptomatiques était aussi envisagée. Cette dernière était confortée par l'observation de PCR toxoplasmiques positives dans le sang chez un certain nombre de femmes africaines VIH+ asymptomatiques suivies au CHU de Limoges. Malheureusement, les difficultés du terrain n'ont pas permis de mettre en place cette étude. Par comparaison, dans les formes sévères disséminées telles que celles décrites en Guyane Française (Carme *et al.*, 2009a), l'isolement à partir du sang était aisé (parfois plusieurs semaines après le début des symptômes : fièvre élevée et prolongée, détresse respiratoire, atteinte hépatique, myosite ...). L'isolement a pu aussi se faire à partir de liquide broncho alvéolaire (LBA), muscles ou autres organes. De rares formes de ce type ont été décrites en France (Smati *et al.*, 2010; Simanaityte *et al.*, 2010). Leur existence en Afrique est inconnue, peut-être en raison du caractère atypique de ces manifestations de toxoplasmose qui n'incite pas à évoquer le diagnostic. Ce qui se dégage de ces observations, c'est que l'expression clinique de la toxoplasmose semble encore mal connue dans ces zones tropicales humides et, avant même d'essayer d'isoler des souches de ce parasite, comme nous venons de l'exposer, c'est la diversité des formes cliniques et la façon de les diagnostiquer qu'il faut étudier. L'analyse en parallèle de la diversité des souches permettra de comprendre les mécanismes génétiques qui pourraient les expliquer. Comme pour l'Afrique, très peu de données sur le sujet existent en Asie tropicale. Des formes neurologiques inhabituelles ont tout de même été relevées chez des sujets immunocompétents (Alapatt *et al.*, 2009) dans une

des régions tropicales humides d'Inde où a également été décrite une des plus vastes épidémies de toxoplasmose oculaire (état du Tamil Nadu) (Balasundaram *et al.*, 2010). **Ces observations ont poussé notre équipe à développer un projet d'isolement de souches et d'études des formes cliniques correspondantes dans cette région de l'Inde.**

## **Conclusion**

Une meilleure connaissance de la diversité génétique de *T. gondii* est une condition préalable afin d'élucider les caractéristiques biologiques, la structure des populations et une meilleure compréhension de la dynamique des populations de *T. gondii* fondamentale pour la conception de nouvelles stratégies de contrôle et de surveillance de ce parasite.

La diversité génétique du toxoplasme semble au cœur de sa pathogénicité. En tant que tel, une meilleure compréhension de la distribution mondiale de la diversité génétique du toxoplasme est cruciale afin d'évaluer les risques en terme de santé publique pour les zones où ce parasite semble plus pathogène.

**PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS  
PERSONNELLES**



## En rapport avec la thèse :

### Publications

1. **Mercier A.**, Devillard S., Ngoubangoye B., Bonnabau H., Bañuls A-L., Durand P., Sallé B., Ajzenberg D., Dardé M-L.. Additional Haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: Population structure and mouse-virulence of strains from Gabon. *Plos Neglected Tropical*. **2010**, 4: e876. DOI:10.1371/journal.pntd.0000876.
2. **Mercier A.**, Devillard S., Ajzenberg D., Pierre Demar M., de Thoisy B., Bonnabau H., Collinet F., Boukhari R., Blanchet D., Simon S., Carme B., Dardé M-L.. *Toxoplasma gondii* Genetic Diversity in French Guiana: Domestic versus Wild Cycle. **en soumission**.

### Communications orales

1. Dardé M-L., **Mercier A.** et Ajzenberg D.. Le toxoplasme en Afrique : Un génotype différent ? Une maladie différente ? Forum Pharmaceutique International, Brazzaville, Congo 1-3 Juin **2006**.
2. **Mercier A.**, Ngoubangoye B., Salle B., Jaffré N., Bisvigou U., Ajzenberg D., Dardé M-L.. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from different areas in Gabon. Young Researchers & Life Science Meeting, Paris, 23-25 Avril **2008**.
3. **Mercier A.**, Ngoubangoye B., Salle B., Jaffré N., Ajzenberg D., Dardé M-L.. Population structure of *Toxoplasma gondii* in Gabon. 10<sup>th</sup> European Multicoloquium of parasitology, Paris, 24-28 Août **2008**.
4. **Mercier A.**, Ngoubangoye B., Pourrut X., Salle B., Bisvigou U., Akué J-P., Dardé M-L.. Human and animal seroprevalence of *Toxoplasma gondii* comparison between a rural and urban area in Gabon. 10<sup>th</sup> European Multicoloquium of parasitology, Paris, 24-28 Août **2008**.

### Communications affichées

1. **Mercier A.**, Ajzenberg D., Durand P., Bañuls A-L., Ngoubangoye B., Aubert D., Villena I., Dardé M-L.. Population structure of *Toxoplasma gondii* in Gabon. *Toxoplasma* Centennial Congress, Armação dos Búzios, Brésil, 21-24 Septembre **2008**.
2. **Mercier A.**, Ajzenberg D., Durand P., Bañuls A-L., Ngoubangoye B., Aubert D., Villena I., Dardé M-L.. Population structure of *Toxoplasma gondii* in Gabon. Deuxième journée scientifique de l'IFR GEIST, France, Limoges, 29 Janvier **2009**.

## Autres travaux personnels :

### Publications

1. Dumètre A., Ajzenberg D., Rozette L., **Mercier A.**, Dardé M-L.. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Veterinary Parasitology*. **2006**, 20: 376-379.
2. Harry M., Roy V., **Mercier A.**, Livet A., Garnier E., Bousserhine N., Demanche C.. Isolation and characterization of microsatellite markers in *Labiotermes labralis* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). *Molecular Ecology Notes*. **2007**, 7: 121-123.
3. Harry M., Dupont L\*., Romana C\* ., Demanche C\*., **Mercier A\*.**, Livet A., Diotaiuti L., Noireau F., Empereire L.. Microsatellite markers in *Triatoma pseudomaculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Chagas disease vector in Brazil. *Infection Genetics Evolution*. **2008**, 8: 672-675.\*Contribution égale de ces auteurs à ce travail.
4. Richomme C., Aubert D., Gilot-Fromont E., Ajzenberg D., **Mercier A.**, Ducrot C., Ferté H., Delorme D., Villena I.. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Veterinary Parasitology*. **2009**, 164: 296-300.
5. Ajzenberg D., Collinet F., **Mercier A.**, Vignole P., Dardé M-L.. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates with 15 microsatellite markers in a single multiplex PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*. **2010**, 48: 4641-4645.

### Communications orales

1. Garrouste R., **Mercier A.**, Nel A. et Ensaf A.. Le peuplement des termites (Isoptera) forestiers de La Réserve Naturelle de l'Amama, Guyane Française. Écosystèmes Forestiers des Caraïbes, Carib Congrès, Martinique, 5-10 Décembre **2005**.
2. Roy V., **Mercier A.**, Demanche C., Harry M.. Structure génétique du termite humivore *Labiotermes labralis* (Termitidae, Nasutitermitinae) en forêt fragmentée guyanaise. Petit pois déridé, Lille, 27 au 31 Août **2006**.

### Communications affichées

1. Hennequin S., Dajoz I., **Mercier A.**, Dubuisson J-Y.. Biodiversité en Forêt Tropicale Humide : utilisation des fougères Hymenophyllaceae comme Bio-indicateur à la Réunion. Journée Scientifique des IFRs & 12<sup>ème</sup> journée de la biologie de Paris 6, Paris, 31 Janvier et 1<sup>er</sup> Février **2005**.
2. Dumètre A., Ajzenberg D., Rozette L., **Mercier A.**, Alarion N., Dardé M.L.. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and free-range chickens from France: seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. Congress: *Toxoplasma* and Food Safety 2006, Palermo, Sicily, Italy, 8-10 Mai **2006**.

3. **Mercier A.**, Aubert D., Roy V., Dumètre A., Ajzenberg D., Alarion N., de Sousa S., Costa J., Villena I., Dardé M-L.. Étude populationnelle d'isolats de toxoplasmes de Type II provenant d'animaux sauvages et domestiques en France et au Portugal. Première Journée Algéro-Française de Parasitologie, Alger, Algérie, 15-16 Novembre **2006**.

# **BIBLIOGRAPHIE**



- Adesiyun, A. A., Gooding, R., Ganta, K., Seepersadsingh, N. and Ramsewak, S. (2007) Congenital toxoplasmosis in two health institutions in Trinidad. *West Indian Med J*, 56, 166-170.
- Afonso, E. Étude de la dynamique de la transmission de *Toxoplasma gondii* dans des milieux contrastés. Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne Ardenne, Reims, (2007). 272 p.
- Afonso, E., Lemoine, M., Poulle, M. L., Ravat, M. C., Romand, S., Thulliez, P., Villena, I., Aubert, D., Rabilloud, M., Riche, B. and Gilot-Fromont, E. (2008) Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. *Int J Parasitol*, 38, 1017-1023.
- Afonso, E., Thulliez, P., Pontier, D. and Gilot-Fromont, E. (2007) Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: not all prey species are equal. *Parasitology*, 134, 1963-1971.
- AFSSA (2005) Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. AFSSA Maisons-Alfort, pp. 316
- Agmon-Levin, N., Bat-sheva, P. K., Barzilai, O., Ram, M., Lindeberg, S., Frostegard, J. and Shoenfeld, Y. (2009) Antitreponemal antibodies leading to autoantibody production and protection from atherosclerosis in Kitavans from Papua New Guinea. *Ann N Y Acad Sci*, 1173, 675-682.
- Ajzenberg, D. Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma* à l'épidémiologie moléculaire de *Toxoplasma gondii*. Thèse de doctorat. Biologie-Sciences-Santé, Faculté de Médecine de Limoges, Limoges, (2006). 161 p.
- Ajzenberg, D. (2010) Type I strains in human toxoplasmosis: myth or reality? *Future Microbiol*, 5, 841-843.
- Ajzenberg, D., Bañuls, A. L., Su, C., Dumètre, A., Demar, M., Carne, B. and Dardé, M. L. (2004) Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*, 34, 1185-1196.
- Ajzenberg, D., Bañuls, A. L., Tibayrenc, M. and Dardé, M. L. (2002a) Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. *Int J Parasitol*, 32, 27-38.
- Ajzenberg, D., Cogne, N., Paris, L., Bessieres, M. H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P. and Dardé, M. L. (2002b) Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J Infect Dis*, 186, 684-689.

- Ajzenberg, D., Collinet, F., Mercier, A., Vignoles, P. and Dardé, M. L. (2010) Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates with 15 microsatellite markers in a single multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol*.
- Ajzenberg, D., Dumètre, A. and Dardé, M. L. (2005) Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol*, 43, 1940-1943.
- Ajzenberg, D., Yera, H., Marty, P., Paris, L., Dalle, F., Menotti, J., Aubert, D., Franck, J., Bessieres, M. H., Quinio, D., Pelloux, H., Delhaes, L., Desbois, N., Thulliez, P., Robert-Gangneux, F., Kauffmann-Lacroix, C., Pujol, S., Rabodonirina, M., Bounoux, M. E., Cuisenier, B., Duhamel, C., Duong, T. H., Filisetti, D., Flori, P., Gay-Andrieu, F., Pratlong, F., Nevez, G., Totet, A., Carme, B., Bonnabau, H., Dardé, M. L. and Villena, I. (2009) Genotype of 88 *Toxoplasma gondii* isolates associated with toxoplasmosis in immunocompromised patients and correlation with clinical findings. *J Infect Dis*, 199, 1155-1167.
- Ajzenberg, D. (2010) Is PCR testing on blood samples useful or not in the diagnosis of *Toxoplasma* encephalitis? *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104, 569-570.
- Al-Qassab, S., Reichel, M. P., Su, C., Jenkins, D., Hall, C., Windsor, P. A., Dubey, J. P. and Ellis, J. (2009) Isolation of *Toxoplasma gondii* from the brain of a dog in Australia and its biological and molecular characterization. *Vet Parasitol*, 164, 335-339.
- Alapatt, J. P., Kutty, R. K., Jose, B. and Gopi, P. (2009) A case of cerebral toxoplasmosis in a pregnant non-immunocompromised patient. *Neurol Neurochir Pol*, 43, 391-395.
- Amendoeira, M. R., Sobral, C. A., Teva, A., de Lima, J. N. and Klein, C. H. (2003) [Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in isolated Amerindians, Mato Grosso]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 36, 671-676.
- Anderson, D. C. and McClure, H. M. (1982) Acute disseminated fatal toxoplasmosis in a squirrel monkey. *J Am Vet Med Assoc*, 181, 1363-1366.
- Anderson, T. J., Haubold, B., Williams, J. T., Estrada-Franco, J. G., Richardson, L., Mollinedo, R., Bockarie, M., Mokili, J., Mharakurwa, S., French, N., Whitworth, J., Velez, I. D., Brockman, A. H., Nosten, F., Ferreira, M. U. and Day, K. P. (2000) Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Mol Biol Evol*, 17, 1467-1482.
- Antoniou, M., Tzouvali, H., Sifakis, S., Galanakis, E., Georgopoulou, E. and Tselentis, Y. (2007) Toxoplasmosis in pregnant women in Crete. *Parassitologia*, 49, 231-233.

- Aramini, J. J., Stephen, C. and Dubey, J. P. (1998) *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. *J Parasitol*, 84, 438-440.
- Aramini, J. J., Stephen, C., Dubey, J. P., Engelstoft, C., Schwantje, H. and Ribble, C. S. (1999) Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect*, 122, 305-315.
- Arene, F. O. (1984) The prevalence and public health significance of *Toxoplasma gondii* in indigenous meat animals in the Niger Delta. *Tropenmed Parasitol*, 35, 133-135.
- Arene, F. O. (1986) Prevalence of *Toxoplasma gondii* among West African rodent, *Thryonomys swinderianus* from the Niger Delta. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 30, 215-217.
- Aubert, D., Ajzenberg, D., Richomme, C., Gilot-Fromont, E., Terrier, M. E., de Gevigney, C., Game, Y., Maillard, D., Gibert, P., Dardé, M. L. and Villena, I. (2010) Molecular and biological characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France. *Vet Parasitol*, 171, 346-349.
- Bahia-Oliveira, L. M., Jones, J. L., Azevedo-Silva, J., Alves, C. C., Orefice, F. and Addiss, D. G. (2003) Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis*, 9, 55-62.
- Balasundaram, M. B., Andavar, R., Palaniswamy, M. and Venkatapathy, N. (2010) Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Arch Ophthalmol*, 128, 28-32.
- Barbier, D., Ancelle, T. and Martin-Bouyer, G. (1983) Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in La Guadeloupe, French West Indies. *Am J Trop Med Hyg*, 32, 935-942.
- Barrett, L. G., Thrall, P. H., Burdon, J. J. and Linde, C. C. (2008) Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interactions. *Trends Ecol Evol*, 23, 678-685.
- Baruzzi, R. G. (1970) Contribution to the study of the toxoplasmosis epidemiology. Serologic survey among the indians of the upper Xingu River, Central Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 12, 93-104.

- Basso, W., More, G., Quiroga, M. A., Pardini, L., Bacigalupe, D., Venturini, L., Valenzuela, M. C., Balducchi, D., Maksimov, P., Schares, G. and Venturini, M. C. (2009) Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from captive slender-tailed meerkats (*Suricata suricatta*) with fatal toxoplasmosis in Argentina. *Vet Parasitol*, 161, 201-206.
- Bastiaensen, P. and Dorny, P. (1999) Ovine toxoplasmosis in Suriname and its possible impact on human infection. *Tropicicultura*, 16-17, 18-20.
- Beauvais, B., Garin, Y., Languillat, G. and Lariviere, M. (1978) [Toxoplasmosis in Eastern Gabon. Results of a serologic survey]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 71, 172-181.
- Beck, H. P., Blake, D., Dardé, M. L., Felger, I., Pedraza-Diaz, S., Regidor-Cerrillo, J., Gomez-Bautista, M., Ortega-Mora, L. M., Putignani, L., Shiels, B., Tait, A. and Weir, W. (2009) Molecular approaches to diversity of populations of apicomplexan parasites. *Int J Parasitol*, 39, 175-189.
- Benenson, M. W., Takafuji, E. T., Lemon, S. M., Greenup, R. L. and Sulzer, A. J. (1982) Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med*, 307, 666-669.
- Berdoy, M., Webster, J. P. and Macdonald, D. W. (1995) Parasite-altered behaviour: is the effect of *Toxoplasma gondii* on *Rattus norvegicus* specific? *Parasitology*, 111 ( Pt 4), 403-409.
- Berdoy, M., Webster, J. P. and Macdonald, D. W. (2000) Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc Biol Sci*, 267, 1591-1594.
- Berengo, A., Pampigliones, S. and De Lalla, F. (1974) Serological studies on toxoplasmosis in some groups of Babigia Pygmies in Central Africa, , 1974, 35, . *Riv Parassitol*, 35, 81-86.
- Bettioli, S. S., Obendorf, D. L., Nowarkowski, M., Milstein, T. and Goldsmid, J. M. (2000) Earthworms as paratenic hosts of toxoplasmosis in eastern barred bandicoots in Tasmania. *J Wildl Dis*, 36, 145-148.
- Beverley, J. K. A. (1959) Congenital Transmission of Toxoplasmosis through Successive Generations of Mice. *Nature*, 183, 1348-1349.
- Billiault, X., Collet, M., Dupont, A. and Lefevre, S. (1987) [Toxoplasmosis in pregnant women in Haut Ogooue Province (Gabon)]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 80, 74-83.
- Binas, M. and Johnson, A. M. (1998) A polymorphism in a DNA polymerase alpha gene intron differentiates between murine virulent and avirulent strains of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*, 28, 1033-1040.

- Bisvigou, U., Mickoto, B., Ngoubangoye, B., Mayi Tsonga, S., Akue, J. P. and Nkoghe, D. (2009) [Seroprevalence of toxoplasmosis in a rural population in south-west Gabon]. *Parasite*, 16, 240-242.
- Blackston, C. R., Dubey, J. P., Dotson, E., Su, C., Thulliez, P., Sibley, D. and Lehmann, T. (2001) High-resolution typing of *Toxoplasma gondii* using microsatellite loci. *J Parasitol*, 87, 1472-1475.
- Bobic, B., Jevremovic, I., Marinkovic, J., Sibalic, D. and Djurkovic-Djakovic, O. (1998) Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. *Eur J Epidemiol*, 14, 605-610.
- Boia, M. N., Carvalho-Costa, F. A., Sodre, F. C., Pinto, G. M. and Amendoeira, M. R. (2008) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among indian people living in Iauarete, Sao Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 50, 17-20.
- Boothroyd, J. C. and Grigg, M. E. (2002) Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? *Curr Opin Microbiol*, 5, 438-442.
- Bossi, P., Caumes, E., Paris, L., Dardé, M. L. and Bricaire, F. (1998) *Toxoplasma gondii* associated Guillain-Barre syndrome in an immunocompetent patient. *J Clin Microbiol*, 36, 3724-3725.
- Bouratbine, A., Siala, E., Chahed, M. K., Aoun, K. and Ben Ismail, R. (2001) [Sero-epidemiologic profile of toxoplasmosis in northern Tunisia]. *Parasite*, 8, 61-66.
- Boyle, J. P., Rajasekar, B., Saeij, J. P., Ajioka, J. W., Berriman, M., Paulsen, I., Roos, D. S., Sibley, L. D., White, M. W. and Boothroyd, J. C. (2006) Just one cross appears capable of dramatically altering the population biology of a eukaryotic pathogen like *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 10514-10519.
- Buffolano, W., Gilbert, R. E., Holland, F. J., Fratta, D., Palumbo, F. and Ades, A. E. (1996) Risk factors for recent *Toxoplasma* infection in pregnant women in Naples. *Epidemiol Infect*, 116, 347-351.
- Burridge, M. J., Bigler, W. J., Forrester, D. J. and Hennemann, J. M. (1979) Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. *J Am Vet Med Assoc*, 175, 964-967.
- Canon-Franco, W. A., Yai, L. E., Joppert, A. M., Souza, C. E., D'Auria, S. R., Dubey, J. P. and Gennari, S. M. (2003) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in the rodent capybara (*Hydrochoeris hydrochoeris*) from Brazil. *J Parasitol*, 89, 850.

- Cantella, R., Colichon, A., Lopez, L., Wu, C., Goldfarb, A., Cuadra, E., Latorre, C., Kanashiro, R., Delgado, M. and Piscocoya, Z. (1974) Toxoplasmosis in Peru. Geographic prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in Peru studied by indirect fluorescent antibody technique. Trop Geogr Med, 26, 204-209.
- Carne, B., Ajzenberg, D., Demar, M., Simon, S., Dardé, M. L., Maubert, B. and de Thoisy, B. (2009a) Outbreaks of toxoplasmosis in a captive breeding colony of squirrel monkeys. Veterinary Parasitology, 163, 132-135.
- Carne, B., Aznar, C., Motard, A., Demar, M. and de Thoisy, B. (2002a) Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in noncarnivorous free-ranging neotropical mammals in French Guiana. Vector Borne Zoonotic Dis, 2, 11-17.
- Carne, B., Bissuel, F., Ajzenberg, D., Bouyne, R., Aznar, C., Demar, M., Bichat, S., Louvel, D., Bourbigot, A. M., Peneau, C., Neron, P. and Dardé, M. L. (2002b) Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J Clin Microbiol, 40, 4037-4044.
- Carne, B. and Demar-Pierre, M. (2006) [Toxoplasmosis in French Guiana. Atypical (neo-)tropical features of a cosmopolitan parasitosis]. Med Trop (Mars), 66, 495-503.
- Carne, B., Demar, M., Ajzenberg, D. and Dardé, M. L. (2009b) Severe acquired toxoplasmosis caused by wild cycle of *Toxoplasma gondii*, French Guiana. Emerg Infect Dis, 15, 656-658.
- Carne, B., Drogoul, A. S. and Boyer, S. (2007) Comptes-rendus de Séance, Troisième réunion du comité local de la SPE, Antilles-Guyane, 14 février 2007. Épidémie de toxoplasmose chez les Amérindiens de Camopi, Guyane. Bull Soc Pathol Exot, 100, 371-378.
- Carruthers, V. B. and Sibley, L. D. (1997) Sequential protein secretion from three distinct organelles of *Toxoplasma gondii* accompanies invasion of human fibroblasts. Eur J Cell Biol, 73, 114-123.
- Cavalcante, G. T., Aguiar, D. M., Chiebao, D., Dubey, J. P., Ruiz, V. L., Dias, R. A., Camargo, L. M., Labruna, M. B. and Gennari, S. M. (2006) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural Western Amazon, Brazil. J Parasitol, 92, 863-864.
- Chacin-Bonilla, L., Sanchez-Chavez, Y., Monsalve, F. and Estevez, J. (2001) Seroepidemiology of toxoplasmosis in amerindians from western Venezuela. Am J Trop Med Hyg, 65, 131-135.

- Chambouris, R., Stunzner, D., Sebek, Z., Sixl, W. and Kock, M. (1989) [Toxoplasmosis in dogs in Greece]. *Geogr Med Suppl*, 3, 19-22.
- Cheadle, M. A., Spencer, J. A. and Blagburn, B. L. (1999) Seroprevalences of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in nondomestic felids from southern Africa. *J Zoo Wildl Med*, 30, 248-251.
- Chinchilla, M. (1978) [Epidemiology of toxoplasmosis in Costa Rica: the importance of domestic rodents]. *Rev Biol Trop*, 26 Suppl 1, 113-124.
- Choi, W. Y., Nam, H. W., Kwak, N. H., Huh, W., Kim, Y. R., Kang, M. W., Cho, S. Y. and Dubey, J. P. (1997) Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *J Infect Dis*, 175, 1280-1282.
- Cliff, A. and Ord, J. (1981) *Spatial Processes. Model & Applications*, Pion.
- Colombo, F. A., Vidal, J. E., Penalva de Oliveira, A. C., Hernandez, A. V., Bonasser-Filho, F., Nogueira, R. S., Focaccia, R. and Pereira-Chiocola, V. L. (2005) Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples. *J Clin Microbiol*, 43, 5044-5047.
- Cook, A. J., Gilbert, R. E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P. A., Foulon, W., Semprini, A. E. and Dunn, D. T. (2000) Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Bmj*, 321, 142-147.
- Correia, C. C., Melo, H. R. and Costa, V. M. (2010) Influence of neurotoxoplasmosis characteristics on real-time PCR sensitivity among AIDS patients in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104, 24-28.
- Costa, J. M., Dardé, M. L., Assouline, B., Vidaud, M. and Bretagne, S. (1997) Microsatellite in the beta-tubulin gene of *Toxoplasma gondii* as a new genetic marker for use in direct screening of amniotic fluids. *J Clin Microbiol*, 35, 2542-2545.
- Coutinho, S. G., Lobo, R. and Dutra, G. (1982) Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. *J Parasitol*, 68, 866-868.
- Cunningham, A. A., Buxton, D. and Thomson, K. M. (1992) An epidemic of toxoplasmosis in a captive colony of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Comp Pathol*, 107, 207-219.
- da Silva, A. V., de Moraes Gimenes Bosco, S., Langoni, H. and Bagagli, E. (2006) Study of *Toxoplasma* infection in Brazilian wild mammals: serological evidence in *Dasypus novemcinctus* Linnaeus, 1758 and *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830. *Vet Parasitol*, 135, 81-83.

- da Silva, D. S., Bahia-Oliveira, L. M., Shen, S. K., Kwok, O. C., Lehman, T. and Dubey, J. P. (2003) Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J Parasitol*, 89, 394-396.
- da Silva, R. C., Zetun, C. B., Bosco, S. d. M. G., Bagagli, E., Rosa, P. S. and Langoni, H. (2008) *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp.* infection in free-ranging armadillos. *Veterinary Parasitology*, 157, 291-293.
- Dangolla, A., Ekanayake, D. K., Rajapakse, R. P., Dubey, J. P. and Silva, I. D. (2006) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive elephants (*Elephas maximus maximus*) in Sri Lanka. *Vet Parasitol*, 137, 172-174.
- Dardé, M. L. (2004) Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Ann Ist Super Sanita*, 40, 57-63.
- Dardé, M. L., Bouteille, B. and Pestre-Alexandre, M. (1988) Isoenzymic characterization of seven strains of *Toxoplasma gondii* by isoelectrofocusing in polyacrylamide gels. *Am J Trop Med Hyg*, 39, 551-558.
- Dardé, M. L., Bouteille, B. and Pestre-Alexandre, M. (1992) Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol*, 78, 786-794.
- Dardé, M. L., Villena, I., Pinon, J. M. and Beguinot, I. (1998) Severe toxoplasmosis caused by a *Toxoplasma gondii* strain with a new isoenzyme type acquired in French Guyana. *J Clin Microbiol*, 36, 324.
- de la Rosa, M., Bolivar, J. and Perez, H. A. (1999) [*Toxoplasma gondii* infection in Amerindians of Venezuelan Amazon]. *Medicina (B Aires)*, 59, 759-762.
- de Moura, L., Bahia-Oliveira, L. M., Wada, M. Y., Jones, J. L., Tuboi, S. H., Carmo, E. H., Ramalho, W. M., Camargo, N. J., Trevisan, R., Graca, R. M., da Silva, A. J., Moura, I., Dubey, J. P. and Garrett, D. O. (2006) Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis*, 12, 326-329.
- De Salvador-Guillouët, F., Ajzenberg, D., Chaillou-Opitz, S., Saint-Paul, M.-C., Dunais, B., Dellamonica, P. and Marty, P. (2006) Severe pneumonia during primary infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. *Journal of Infection*, 53, e47-e50.
- de Sousa, S., Ajzenberg, D., Canada, N., Freire, L., da Costa, J. M., Dardé, M. L., Thulliez, P. and Dubey, J. P. (2006) Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. *Vet Parasitol*, 135, 133-136.

- de Thoisy, B., Demar, M., Aznar, C. and Carme, B. (2003) Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging neotropical mammals. *J Wildl Dis*, 39, 456-459.
- de Thoisy, B., Vogel, I., Reynes, J. M., Pouliquen, J. F., Carme, B., Kazanji, M. and Vie, J. C. (2001) Health evaluation of translocated free-ranging primates in French Guiana. *Am J Primatol*, 54, 1-16.
- Deconinck, P., Pangui, L. J., Akakpo, J., Garrouste, A., Ouattara, L., Roger, F., Tibayrenc, R., Dorchies and P (1996) Prévalence de la toxoplasmose chez les petits ruminants en Afrique tropicale : résultats d'une enquête séro-épidémiologique sur 1042 animaux, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, Toulouse, FRANCE.
- Decroix, Y. and Laporte, P. (1989) [Prevalence of toxoplasmosis in a Sahelian zone]. *Med Trop (Mars)*, 49, 161-162.
- Demar, M., Ajzenberg, D., Maubon, D., Djossou, F., Panchoe, D., Punwasi, W., Valery, N., Peneau, C., Daigre, J. L., Aznar, C., Cottrelle, B., Terzan, L., Dardé, M. L. and Carme, B. (2007) Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical, and parasitological aspects. *Clin Infect Dis*, 45, e88-95.
- Demar, M., Ajzenberg, D., Serrurier, B., Dardé, M. L. and Carme, B. (2008) Atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. *Am J Trop Med Hyg*, 78, 195-197.
- Desmonts, G. and Remington, J. S. (1980) Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol*, 11, 562-568.
- Develoux, M., Candolfi, E., Hanga-Doumbo, S. and Kien, T. (1988) [Toxoplasmosis in Niger. A serological analysis of 400 subjects]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 81, 253-259.
- DFID (2000) Report of the Preliminary Workshop on the Contribution of the Forestry Sector to Poverty Alleviation in Cameroon. (Eds, Hakizumwami, E. and Milol, C.) Kribi.
- Diaz-Suarez, O., Estevez, J., Garcia, M., Cheng-Ng, R., Araujo, J. and Garcia, M. (2003) [Seroepidemiology of toxoplasmosis in a Yucpa Amerindian community of Sierra de Perija, Zulia State, Venezuela]. *Rev Med Chil*, 131, 1003-1010.
- Dickson, J., Fry, J., Fairfax, R. and Spence, T. (1983) Epidemic toxoplasmosis in captive squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Vet Rec*, 112, 302.
- Driscoll, C. A., Clutton-Brock, J., Kitchener, A. C. and O'Brien, S. J. (2009) The Taming of the cat. Genetic and archaeological findings hint that wildcats became housecats earlier and in a different place than previously thought. *Sci Am*, 300, 68-75.
- Dubey, J. P. (1985) Toxoplasmosis in dogs. *Canine Pract*, 12 7-28.

- Dubey, J. P. (1988) Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res*, 49, 910-913.
- Dubey, J. P. (1998a) Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Vet Parasitol*, 74, 75-77.
- Dubey, J. P. (1998b) *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *J Parasitol*, 84, 862-865.
- Dubey, J. P. (2000) The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures. In *Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control* (Eds, Ambroise-Thomas, P. and Petersen, E.) Paris, pp. 271-275.
- Dubey, J. P. (2001) Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. *J Parasitol*, 87, 215-219.
- Dubey, J. P. (2006) Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. *Vet Parasitol*, 140, 69-75.
- Dubey, J. P. (2007) The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In *Toxoplasma gondii. The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods*. (Eds, Weiss, L. and Kami, K.) San Diego, CA, pp. 1-17.
- Dubey, J. P. (2010) *Toxoplasmosis of Animals and Humans* (second edition), Boca Raton, FL.
- Dubey, J. P., Applewhaite, L., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Bandini, L. A., Kwok, O. C., Hill, R. and Su, C. (2007a) Molecular and biological characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from Guyana, South America, identified several unique and common parasite genotypes. *Parasitology*, 134, 1559-1565.
- Dubey, J. P. and Beattie, C. P. (1988) *Toxoplasmosis of animals and man*, . Boca Raton, FL.
- Dubey, J. P., Bhaiyat, M. I., Macpherson, C. N., de Allie, C., Chikweto, A., Kwok, O. C. and Sharma, R. N. (2006a) Prevalence of *Toxoplasma gondii* in rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies. *J Parasitol*, 92, 1107-1108.
- Dubey, J. P., Chellaiah, R., Costa, D. G., Ferreira, L., Kwok, O., Qu, D., Su, C., Marvulo, M., Alves, L. and Mota, R. (2010a) New *Toxoplasma Gondii* Genotypes Isolated from Free-Range Chickens from the Fernando De Noronha, Brazil: Unexpected Findings. *J Parasitol*, 1.

- Dubey, J. P., Chellaiah, R., Ferreira, L., Kwok, O., Sinnett, D. and Majumdar, D. (2010b) A New Atypical Highly Mouse Virulent *Toxoplasma Gondii* Genotype Isolated from a Wild Black Bear in Alaska. *J Parasitol*, 1.
- Dubey, J. P., Cortes-Vecino, J. A., Vargas-Duarte, J. J., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Bandini, L. M., Polo, L. J., Zambrano, L., Mora, L. E., Kwok, O. C., Smith, T. and Su, C. (2007b) Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Vet Parasitol*, 145, 45-50.
- Dubey, J. P. and Frenkel, J. K. (1998) Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. *Vet Parasitol*, 77, 1-32.
- Dubey, J. P., Huong, L. T., Lawson, B. W., Subekti, D. T., Tassi, P., Cabaj, W., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Kwok, O. C. and Su, C. (2008a) Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens in Ghana, Indonesia, Italy, Poland, and Vietnam. *J Parasitol*, 94, 68-71.
- Dubey, J. P., Huong, L. T., Sundar, N. and Su, C. (2007c) Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in dogs from Vietnam suggests their South American origin. *Vet Parasitol*, 146, 347-351.
- Dubey, J. P., Karhemere, S., Dahl, E., Sreekumar, C., Diabate, A., Dabire, K. R., Vianna, M. C., Kwok, O. C. and Lehmann, T. (2005) First biologic and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Africa (Democratic Republic of Congo, Mali, Burkina Faso, and Kenya). *J Parasitol*, 91, 69-72.
- Dubey, J. P. and Kirkbride, C. A. (1989) Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. *J Am Vet Med Assoc*, 195, 1715-1716.
- Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharar, A., Andrews, C. D. and Lindsay, D. S. (1990) Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol*, 76, 201-204.
- Dubey, J. P., Lopez-Torres, H. Y., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Ajzenberg, D., Kwok, O. C., Hill, R., Dardé, M. L. and Su, C. (2007d) Mouse-virulent *Toxoplasma gondii* isolated from feral cats on Mona Island, Puerto Rico. *J Parasitol*, 93, 1365-1369.
- Dubey, J. P., Miller, N. L. and Frenkel, J. K. (1970) Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*, 56, 447-456.

- Dubey, J. P., Moura, L., Majumdar, D., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Kwok, O. C., Kelly, P., Krecek, R. C. and Su, C. (2009) Isolation and characterization of viable *Toxoplasma gondii* isolates revealed possible high frequency of mixed infection in feral cats (*Felis domesticus*) from St Kitts, West Indies. *Parasitology*, 136, 589-594.
- Dubey, J. P., Navarro, I. T., Sreekumar, C., Dahl, E., Freire, R. L., Kawabata, H. H., Vianna, M. C., Kwok, O. C., Shen, S. K., Thulliez, P. and Lehmann, T. (2004) *Toxoplasma gondii* infections in cats from Parana, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *J Parasitol*, 90, 721-726.
- Dubey, J. P., Patitucci, A. N., Su, C., Sundar, N., Kwok, O. C. and Shen, S. K. (2006b) Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America. *Vet Parasitol*, 140, 76-82.
- Dubey, J. P., Quirk, T., Pittt, J. A., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Kwok, O. C., Leclair, D., Hill, R. and Su, C. (2008b) Isolation and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from raccoons (*Procyon lotor*), cats (*Felis domesticus*), striped skunk (*Mephitis mephitis*), black bear (*Ursus americanus*), and cougar (*Puma concolor*) from Canada. *J Parasitol*, 94, 42-45.
- Dubey, J. P., Rajapakse, R. P., Wijesundera, R. R., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Kwok, O. C. and Su, C. (2007e) Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Sri Lanka and genetic characterization of the parasite isolates. *Vet Parasitol*, 146, 341-346.
- Dubey, J. P., Speer, C. A., Shen, S. K., Kwok, O. C. and Blixt, J. A. (1997) Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol*, 83, 870-882.
- Dubey, J. P., Sundar, N., Gennari, S. M., Minervino, A. H., Farias, N. A., Ruas, J. L., dos Santos, T. R., Cavalcante, G. T., Kwok, O. C. and Su, C. (2007f) Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Para state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet Parasitol*, 143, 182-188.
- Dubey, J. P., Sundar, N., Hill, D., Velmurugan, G. V., Bandini, L. A., Kwok, O. C., Majumdar, D. and Su, C. (2008c) High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. *Int J Parasitol*, 38, 999-1006.
- Dubey, J. P., Velmurugan, G. V., Chockalingam, A., Pena, H. F., de Oliveira, L. N., Leifer, C. A., Gennari, S. M., Bahia Oliveira, L. M. and Su, C. (2008d) Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. *Vet Parasitol*, 157, 299-305.

- Dubey, J. P., Vianna, M. C., Sousa, S., Canada, N., Meireles, S., Correia da Costa, J. M., Marcet, P. L., Lehmann, T., Dardé, M. L. and Thulliez, P. (2006c) Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. *J Parasitol*, 92, 184-186.
- Dubey, J. P., Vianna, M. C., Sousa, S., Canada, N., Meireles, S., Correia da Costa, J. M., Marcet, P. L., Lehmann, T., Dardé, M. L. and Thulliez, P. (2006d) Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. *J Parasitol*, 92, 184-186.
- Dubey, J. P., Weigel, R. M., Siegel, A. M., Thulliez, P., Kitron, U. D., Mitchell, M. A., Mannelli, A., Mateus-Pinilla, N. E., Shen, S. K., Kwok, O. C. and et al. (1995) Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol*, 81, 723-729.
- Dubey, J. P., Zhu, X. Q., Sundar, N., Zhang, H., Kwok, O. C. and Su, C. (2007g) Genetic and biologic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates of cats from China. *Vet Parasitol*, 145, 352-356.
- Dumas, N., Cazaux, M., Carme, B., Seguela, J. P. and Charlet, J. P. (1990) [Toxoplasmosis in the Congo Republic. Seroepidemiological study]. *Bull Soc Pathol Exot*, 83, 349-359.
- Dumas, N., Cazaux, M., Ferly-Therizol, M., Seguela, J. P., Gueunier, M. and Charlet, J. P. (1989) [Epidemiology of toxoplasmosis in Ivory Coast]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 82, 513-519.
- Dumètre, A. (2005) Contribution à la détection de *Toxoplasma gondii* dans l'environnement et dans des réservoirs animaux. Thèse de doctorat. Biologie-Sciences-Santé, Faculté de Médecine de Limoges, Limoges, (2005). 223 p.
- Dumètre, A. and Dardé, M. L. (2003) How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiol Rev*, 27, 651-661.
- Dumètre, A. and Dardé, M. L. (2007) Detection of *Toxoplasma gondii* in water by an immunomagnetic separation method targeting the sporocysts. *Parasitol Res*, 101, 989-996.
- Dunbar, M. R., Cunningham, M. W. and Roof, J. C. (1998) Seroprevalence of selected disease agents from free-ranging black bears in Florida. *J Wildl Dis*, 34, 612-619.
- Duong, T. H., Dufillot, D., Martz, M., Richard-Lenoble, D. and Kombila, M. (1992a) [Seroepidemiological study of toxoplasmosis in Libreville, Gabon]. *Ann Soc Belg Med Trop*, 72, 289-293.

- Duong, T. H., Martz, M., Rondi, M. L., Richard-Lenoble, D. and Kombila, M. (1992b) [Toxoplasmosis in Gabon. Results of a seroepidemiological investigation]. *Bull Soc Pathol Exot*, 85, 368-373.
- Dupouy-Camet, J, Gavinet, M, F., Paugam, A, Tourte, S. and C (1993) Mode de contamination, incidence et prévalence de la toxoplasmose, Elsevier, Paris, FRANCE.
- Duszynski, D. W., Lee Couch, L. and Upton, S. J. (2000) Coccidia (Eimeriidae) of Canidae and Felidae.
- Ekanayake, D. K., Rajapakse, R. P., Dubey, J. P. and Dittus, W. P. (2004) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild toque macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. *J Parasitol*, 90, 870-871.
- El-Massry, A., Mahdy, O. A., El-Ghaysh, A. and Dubey, J. P. (2000) Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens, and ducks from Egypt. *J Parasitol*, 86, 627-628.
- Elbez-Rubinstein, A., Ajzenberg, D., Dardé, M. L., Cohen, R., Dumètre, A., Yera, H., Gondon, E., Janaud, J. C. and Thulliez, P. (2009) Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *J Infect Dis*, 199, 280-285.
- Etheredge, G. D. and Frenkel, J. K. (1995) Human *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in the Bayano and San Blas, eastern Panama. *Am J Trop Med Hyg*, 53, 448-457.
- Etheredge, G. D., Michael, G., Muehlenbein, M. P. and Frenkel, J. K. (2004) The roles of cats and dogs in the transmission of *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in eastern Panama. *Rev Panam Salud Publica*, 16, 176-186.
- Excler, J. L., Pretat, E., Pozzetto, B., Charpin, B. and Garin, J. P. (1988) Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in Burundi. *Trop Med Parasitol*, 39, 139-141.
- Falush, D., Wirth, T., Linz, B., Pritchard, J. K., Stephens, M., Kidd, M., Blaser, M. J., Graham, D. Y., Vacher, S., Perez-Perez, G. I., Yamaoka, Y., Megraud, F., Otto, K., Reichard, U., Katzowitsch, E., Wang, X., Achtman, M. and Suerbaum, S. (2003) Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science*, 299, 1582-1585.

- Fan, C. K., Hung, C. C., Su, K. E., Sung, F. C., Chiou, H. Y., Gil, V., da Conceicao dos Reis Ferreira, M., de Carvalho, J. M., Cruz, C., Lin, Y. K., Tseng, L. F., Sao, K. Y., Chang, W. C., Lan, H. S. and Chou, S. H. (2006) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among pre-schoolchildren aged 1-5 years in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe, Western Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 100, 446-449.
- Fan, C. K., Liao, C. W., Wu, M. S., Su, K. E. and Han, B. C. (2003) Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection among Chinese aboriginal and Han people residing in mountainous areas of northern Thailand. *J Parasitol*, 89, 1239-1242.
- Fan, C. K., Su, K. E., Chung, W. C., Tsai, Y. J., Chiou, H. Y., Lin, C. F., Su, C. T. and Chao, P. H. (1998a) [Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection among Atayal aborigines and local animals in Nan-ao district, Ilan county and Jen-ai district, Nantou county, Taiwan]. *Kaohsiung J Med Sci*, 14, 762-769.
- Fan, C. K., Su, K. E., Chung, W. C., Tsai, Y. J., Chiou, H. Y., Lin, C. F., Su, C. T., Tsai, M. C. and Chao, P. H. (1998b) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among Atayal aboriginal people and their hunting dogs in northeastern Taiwan. *Jpn J Med Sci Biol*, 51, 35-42.
- Fan, C. K., Su, K. E., Wu, G. H. and Chiou, H. Y. (2002) Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection among two mountain aboriginal populations and Southeast Asian laborers in Taiwan. *J Parasitol*, 88, 411-414.
- Ferguson, D. J., Hutchison, W. M. and Pettersen, E. (1989) Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Parasitol Res*, 75, 599-603.
- Ferraroni, J. J. and Marzochi, M. C. (1980) [Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic and wild animals, and human groups of the Amazonas region]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 75, 99-109.
- Ferreira, R. A., Mineo, J. R., Duarte, J. M., Silva, D. A. and Patarroyo, J. H. (1997) Toxoplasmosis in naturally infected deer from Brazil. *J Wildl Dis*, 33, 896-899.
- Fiorello, C. V., Robbins, R. G., Maffei, L. and Wade, S. E. (2006) Parasites of free-ranging small canids and felids in the Bolivian Chaco. *J Zoo Wildl Med*, 37, 130-134.
- Fleck, D. G., Chessum, B. S. and Perkins, M. (1972) Coccidian-like nature of *Toxoplasma gondii*. *Br Med J*, 3, 111-112.

- Franzen, C., Altfeld, M., Hegener, P., Hartmann, P., Arendt, G., Jablonowski, H., Rockstroh, J., Diehl, V., Salzberger, B. and Fatkenheuer, G. (1997) Limited value of PCR for detection of *Toxoplasma gondii* in blood from human immunodeficiency virus-infected patients. *J Clin Microbiol*, 35, 2639-2641.
- Frenkel, J. K. (1990) Transmission of toxoplasmosis and the role of immunity in limiting transmission and illness. *J Am Vet Med Assoc*, 196, 233-240.
- Frenkel, J. K. and Dubey, J. P. (1972) Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. *J Infect Dis*, 126, 664-673.
- Frenkel, J. K. and Dubey, J. P. (1973) Effects of freezing on the viability of *Toxoplasma* oocysts. *J Parasitol*, 59, 587-588.
- Frenkel, J. K., Hassanein, K. M., Hassanein, R. S., Brown, E., Thulliez, P. and Quintero-Nunez, R. (1995) Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg*, 53, 458-468.
- Frenkel, J. K., Ruiz, A. and Chinchilla, M. (1975) Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg*, 24, 439-443.
- Fribourg-Blanc, A., Bois, E. and Feingold, J. (1975) Bilan épidémiologique des Amérindiens de Haute-Guyane Française : Sérologie de la Toxoplasmose. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 5, 502-507.
- Furtado, M. M., Jacomo, A. T., Kashivakura, C. K., Torres, N. M., Marvulo, M. F., Ragozo, A. M., de Souza, S. L., Neto, J. S., Vasconcellos, S. A., Morais, Z. M., Cortez, A., Richtzenhain, L. J., Silva, J. C. and Silveira, L. (2010) Serologic survey for selected infectious diseases in free-ranging Brazilian tapirs (*Tapirus terrestris*) in the cerrado of central Brazil. *J Zoo Wildl Med*, 41, 133-136.
- Gallego, C., Saavedra-Matiz, C. and Gomez-Marin, J. E. (2006) Direct genotyping of animal and human isolates of *Toxoplasma gondii* from Colombia (South America). *Acta Trop*, 97, 161-167.
- Garcia, J. L., Svoboda, W. K., Chryssafidis, A. L., de Souza Malanski, L., Shiozawa, M. M., de Moraes Aguiar, L., Teixeira, G. M., Ludwig, G., da Silva, L. R., Hilst, C. and Navarro, I. T. (2005) Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus spp.*; *Alouatta caraya*) at the Parana river basin, Parana State, Brazil. *Vet Parasitol*, 133, 307-311.

- Genot, S., Franck, J., Forel, J. M., Rebaudet, S., Ajzenberg, D., de Paula, A. M., Dardé, M. L., Stein, A. and Ranque, S. (2007) Severe *Toxoplasma gondii* I/III recombinant-genotype encephalitis in a human immunodeficiency virus patient. *J Clin Microbiol*, 45, 3138-3140.
- Germano, P. M. L., Erbolato, E. B. and Ishizuka, M. M. (1981) Estudo sorológico da toxoplasmose canina pela prova de imunofluorescência indireta na cidade de Campinas. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo*, 22, 53-58.
- Gilbert, R. E., Dunn, D. T., Lightman, S., Murray, P. I., Pavesio, C. E., Gormley, P. D., Masters, J., Parker, S. P. and Stanford, M. R. (1999) Incidence of symptomatic *Toxoplasma* eye disease: aetiology and public health implications. *Epidemiol Infect*, 123, 283-289.
- Gilbert, R. E., Freeman, K., Lago, E. G., Bahia-Oliveira, L. M., Tan, H. K., Wallon, M., Buffolano, W., Stanford, M. R. and Petersen, E. (2008) Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PLoS Negl Trop Dis*, 2, e277.
- Gonzalez, L. E., Rojnik, B., Urrea, F., Urdaneta, H., Petrosino, P., Colasante, C., Pino, S. and Hernandez, L. (2007) *Toxoplasma gondii* infection lower anxiety as measured in the plus-maze and social interaction tests in rats A behavioral analysis. *Behav Brain Res*, 177, 70-79.
- Grenyer, R., Orme, C. D., Jackson, S. F., Thomas, G. H., Davies, R. G., Davies, T. J., Jones, K. E., Olson, V. A., Ridgely, R. S., Rasmussen, P. C., Ding, T. S., Bennett, P. M., Blackburn, T. M., Gaston, K. J., Gittleman, J. L. and Owens, I. P. (2006) Global distribution and conservation of rare and threatened vertebrates. *Nature*, 444, 93-96.
- Grigg, M. E., Ganatra, J., Boothroyd, J. C. and Margolis, T. P. (2001) Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis*, 184, 633-639.
- Grigg, M. E. and Suzuki, Y. (2003) Sexual recombination and clonal evolution of virulence in *Toxoplasma*. *Microbes Infect*, 5, 685-690.
- Hakim, S. L., Radzan, T. and Nazma, M. (1994) Distribution of anti *Toxoplasma gondii* antibodies among Orang Asli (aborigines) in Peninsular Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 25, 485-489.
- Halos, L., De Broucker, C. A., Perret, C., Thomas, M., Marié, J. L., Bretagne, S., Boireau, P. and Davoust, B. (2007) Prevalence of *Toxoplasma gondii* in wild game meat from French Guyana. In 21st International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology Gent, Belgium, pp. 474.

- Hartl, D. L. (2004) The origin of malaria: mixed messages from genetic diversity. *Nat Rev Microbiol*, 2, 15-22.
- Hennequin, C., Dureau, P., N'Guyen, L., Thulliez, P., Gagelin, B. and Dufier, J. L. (1997) Congenital toxoplasmosis acquired from an immune woman. *Pediatr Infect Dis J*, 16, 75-77.
- Herrmann, D. C., Pantchev, N., Vrhovec, M. G., Barutzki, D., Wilking, H., Frohlich, A., Luder, C. G., Conraths, F. J. and Schares, G. (2010) Atypical *Toxoplasma gondii* genotypes identified in oocysts shed by cats in Germany. *Int J Parasitol*, 40, 285-292.
- Hoberg, E. P. (2006) Phylogeny of *Taenia*: Species definitions and origins of human parasites. *Parasitol Int*, 55 Suppl, S23-30.
- Homan, W. L., Vercammen, M., De Braekeleer, J. and Verschueren, H. (2000) Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol*, 30, 69-75.
- Hove, T. and Mukaratirwa, S. (2005) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in farm-reared ostriches and wild game species from Zimbabwe. *Acta Trop*, 94, 49-53.
- Howe, D. K., Honore, S., Derouin, F. and Sibley, L. D. (1997) Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*, 35, 1411-1414.
- Howe, D. K. and Sibley, L. D. (1995) *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis*, 172, 1561-1566.
- Huart, A., Leroy, P., Thewis, A., Bindelle, J., Muland, M. and Kibango, D. (2003) Troupeaux et cultures des tropiques. Dossier spécial volaille. In CAVTK Vol. 1 Kinshasa, pp. 95
- Hume, J. C., Lyons, E. J. and Day, K. P. (2003) Human migration, mosquitoes and the evolution of *Plasmodium falciparum*. *Trends Parasitol*, 19, 144-149.
- Hutchison, W. M. (1967) The nematode transmission of *Toxoplasma gondii*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 61, 80-89.
- INSEE (2010) Insee Guyane - Présentation de la région.
- IUCN, SSC and Group, C. S. (1996) Cat Website.
- Jackson, M. H. and Hutchison, W. M. (1989) The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. *Adv Parasitol*, 28, 55-105.
- Jewell, M. L., Frenkel, J. K., Johnson, K. M., Reed, V. and Ruiz, A. (1972) Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical felidae. *Am J Trop Med Hyg*, 21, 512-517.

- Jewell, M. L., Thompson, D. P. and Frenkel, J. K. (1973) Toxoplasmosis : antibodies titers in humans being and domestic cats in Medellin (Columbia). *Aitiquia Med*, 23, 145-151.
- Jittapalapong, S., Sarataphan, N., Maruyama, S., Hugot, J. P., Morand, S. and Herbreteau, V. (2010) Toxoplasmosis in Rodents: Ecological Survey and First Evidences in Thailand. *Vector Borne Zoonotic Dis*.
- Johnson, W. E., Eizirik, E., Pecon-Slattery, J., Murphy, W. J., Antunes, A., Teeling, E. and O'Brien, S. J. (2006) The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. *Science*, 311, 73-77.
- Jombart, T. (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24, 1403-1405.
- Jombart, T., Devillard, S., Dufour, A. B. and Pontier, D. (2008) Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity*, 101, 92-103.
- Jombart, T., Pontier, D. and Dufour, A. B. (2009) Genetic markers in the playground of multivariate analysis. *Heredity*, 102, 330-341.
- Junge, R. E. and Louis, E. E. (2007) Biomedical evaluation of black lemurs (*Eulemur macaco macaco*) in Lokobe Reserve, Madagascar. *J Zoo Wildl Med*, 38, 67-76.
- Kamani, J., Mani, A. U. and Egwu, G. O. (2010) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic sheep and goats in Borno state, Nigeria. *Trop Anim Health Prod*, 42, 793-797.
- Kamani, J., Mani, A. U., Egwu, G. O. and Kumshe, H. A. (2009) Seroprevalence of human infection with *Toxoplasma gondii* and the associated risk factors, in Maiduguri, Borno state, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol*, 103, 317-321.
- Kannan, G., Moldovan, K., Xiao, J. C., Yolken, R. H., Jones-Brando, L. and Pletnikov, M. V. (2010) *Toxoplasma gondii* strain-dependent effects on mouse behaviour. *Folia Parasitol (Praha)*, 57, 151-155.
- Kaplan, J. E., Larrick, J. W., Yost, J., Farrell, L., Greenberg, H. B., Herrmann, K. L., Sulzer, A. J., Walls, K. W. and Pederson, L. (1980) Infectious disease patterns in the Waorani, an isolated Amerindian population. *Am J Trop Med Hyg*, 29, 298-312.
- Khan, A., Fux, B., Su, C., Dubey, J. P., Dardé, M. L., Ajioka, J. W., Rosenthal, B. M. and Sibley, L. D. (2007) Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 14872-14877.
- Khan, A., Jordan, C., Muccioli, C., Vallochi, A. L., Rizzo, L. V., Belfort, R., Jr., Vitor, R. W., Silveira, C. and Sibley, L. D. (2006) Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*, 12, 942-949.

- Khan, A., Taylor, S., Ajioka, J. W., Rosenthal, B. M. and Sibley, L. D. (2009) Selection at a single locus leads to widespread expansion of *Toxoplasma gondii* lineages that are virulent in mice. PLoS Genet, 5, e1000404.
- Khan, A., Taylor, S., Su, C., Mackey, A. J., Boyle, J., Cole, R., Glover, D., Tang, K., Paulsen, I. T., Berriman, M., Boothroyd, J. C., Pfeifferkorn, E. R., Dubey, J. P., Ajioka, J. W., Roos, D. S., Wootton, J. C. and Sibley, L. D. (2005) Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. Nucleic Acids Res, 33, 2980-2992.
- Kikuchi, Y., Chomel, B. B., Kasten, R. W., Martenson, J. S., Swift, P. K. and O'Brien, S. J. (2004) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in American free-ranging or captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*). Vet Parasitol, 120, 1-9.
- Kniel, K. E., Lindsay, D. S., Sumner, S. S., Hackney, C. R., Pierson, M. D. and Dubey, J. P. (2002) Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. J Parasitol, 88, 790-793.
- Kodjikian, L., Hoigne, I., Adam, O., Jacquier, P., Aebi-Ochsner, C., Aebi, C. and Garweg, J. G. (2004) Vertical transmission of toxoplasmosis from a chronically infected immunocompetent woman. Pediatr Infect Dis J, 23, 272-274.
- Kotula, A. W., Dubey, J. P., Sharar, A. K., Andrews, C. D., Shen, S. K., Lindsay and D. S. (1991) Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork, International Association for Food Protection, Des Moines, IA, ETATS-UNIS.
- Kuticic, V. and Wikerhauser, T. (1996) Studies of the effect of various treatments on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts and oocysts. Curr Top Microbiol Immunol, 219, 261-265.
- Lamberton, P. H., Donnelly, C. A. and Webster, J. P. (2008) Specificity of the *Toxoplasma gondii* altered behaviour to definitive versus non-definitive host predation risk. Parasitology, 135, 1143-1150.
- Leal, F. E., Cavazzana, C. L., de Andrade, H. F., Jr., Galisteo, A. J., Jr., de Mendonca, J. S. and Kallas, E. G. (2007) *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. Clin Infect Dis, 44, e62-66.
- Lebas, F., Ducrocq, S., Mucignat, V., Paris, L., Megier, P., Baudon, J. J. and Gold, F. (2004) [Congenital toxoplasmosis: a new case of infection during pregnancy in an previously immunized and immunocompetent woman]. Arch Pediatr, 11, 926-928.

- Lehmann, T., Graham, D. H., Dahl, E., Sreekumar, C., Launer, F., Corn, J. L., Gamble, H. R. and Dubey, J. P. (2003) Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect Genet Evol*, 3, 135-141.
- Lehmann, T., Graham, D. H., Dahl, E. R., Bahia-Oliveira, L. M., Gennari, S. M. and Dubey, J. P. (2004) Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. *Infect Genet Evol*, 4, 107-114.
- Lehmann, T., Marcet, P. L., Graham, D. H., Dahl, E. R. and Dubey, J. P. (2006) Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 11423-11428.
- Lelong, B., Rahelimino, B., Candolfi, E., Ravelojaona, B. J., Villard, O., Rasamindrakotroka, A. J. and Kien, T. (1995) [Prevalence of toxoplasmosis in a population of pregnant women in Antananarivo (Madagascar)]. *Bull Soc Pathol Exot*, 88, 46-49.
- Leser, P. G., Camargo, M. E. and Baruzzi, R. (1977) Toxoplasmosis serologic tests in Brazilian indians (Kren-akorore) of recent contact with civilized man. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 19, 232-236.
- Lin, S., Ling, Z. C., Zeng, B. C. and Yang, H. Y. (1990) Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in man and animals in Guangdong, Peoples Republic of China. *Vet Parasitol*, 34, 357-360.
- Lin, Y. L., Liao, Y. S., Liao, L. R., Chen, F. N., Kuo, H. M. and He, S. (2008) Seroprevalence and sources of *Toxoplasma* infection among indigenous and immigrant pregnant women in Taiwan. *Parasitol Res*, 103, 67-74.
- Lindsay, D. S., Collins, M. V., Mitchell, S. M., Cole, R. A., Flick, G. J., Wetch, C. N., Lindquist, A. and Dubey, J. P. (2003) Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. *J Eukaryot Microbiol*, 50 Suppl, 687-688.
- Lindsay, D. S. and Dubey, J. P. (2007) Toxoplasmosis in wild and domestic animals. In *Toxoplasma gondii. The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods*. (Eds, Weiss, L. and Kami, K.) London, pp. 133-152.
- Lindsay, D. S., Dubey, J. P., Butler, J. M. and Blagburn, B. L. (1997) Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet Parasitol*, 73, 27-33.
- Lindström Bontell, I., Hall, N., Ashelford, K. E., Dubey, J. P., Boyle, J. P., Lindh, J. and Smith, J. E. (2009) Whole genome sequencing of a natural recombinant *Toxoplasma gondii* strain reveals chromosome sorting and local allelic variants. *Genome Biol*, 10, R53.

- Lindström, I., Kaddu-Mulindwa, D. H., Kironde, F. and Lindh, J. (2006) Prevalence of latent and reactivated *Toxoplasma gondii* parasites in HIV-patients from Uganda. *Acta Trop*, 100, 218-222.
- Lindström, I., Sundar, N., Lindh, J., Kironde, F., Kabasa, J. D., Kwok, O. C., Dubey, J. P. and Smith, J. E. (2008) Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from Ugandan chickens reveals frequent multiple infections. *Parasitology*, 135, 39-45.
- Locatelli, B. Pression démographique et construction du paysage rural des tropiques humides : l'exemple de Mananara (Madagascar). Thèse de doctorat. Sciences de l'Environnement, Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Centre de Montpellier, Montpellier, (2000) 441 p.
- Losch, B. (1996) Les agricultures des zones tropicales humides : éléments de réflexion pour l'action. Ministère de la Coopération, Paris, pp. 317
- Lovelace, J. K., Moraes, M. A. and Hagerby, E. (1978) Toxoplasmosis among the Ticuna Indians in the state of Amazonas, Brazil. *Trop Geogr Med*, 30, 295-300.
- Luft, B. J. and Remington, J. S. (1992) Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin Infect Dis*, 15, 211-222.
- Lukesova, D. and Literak, I. (1998) Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic. *Vet Parasitol*, 74, 1-7.
- Magnaval, J. F., Blanc, C. and Larrouy, G. (1981) [Toxoplasmosis in Martinique: epidemiological considerations]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 74, 292-297.
- Makouloutou, P. (2007) Sociétés correspondantes. Journées scientifiques régionales du réseau de chercheurs. « Maladies parasitaires et vectorielles ». Franceville (Gabon). Les 3 et 4 avril 2007 : Prévalence de *Toxoplasma gondii* dans la province de la Ngounié, Gabon. *Bull Soc Pathol Exot*, 100, 303-308.
- Marshall, L. G., Webb, S. D., Sepkoski, J. J., Jr. and Raup, D. M. (1982) Mammalian evolution and the great american interchange. *Science*, 215, 1351-1357.
- Martinez-Hernandez, F., Jimenez-Gonzalez, D. E., Chenillo, P., Alonso-Fernandez, C., Maravilla, P. and Flisser, A. (2009) Geographical widespread of two lineages of *Taenia solium* due to human migrations: can population genetic analysis strengthen this hypothesis? *Infect Genet Evol*, 9, 1108-1114.
- Mauricio, I. L., Gaunt, M. W., Stothard, J. R. and Miles, M. A. (2007) Glycoprotein 63 (gp63) genes show gene conversion and reveal the evolution of Old World *Leishmania*. *Int J Parasitol*, 37, 565-576.

- McKissick, G. E., Ratcliffe, H. L. and Koestner, A. (1968) Enzootic toxoplasmosis in caged squirrel monkeys *Saimiri sciureus*. *Pathol Vet*, 5, 538-560.
- Mercier, A., Devillard, S., Ngoubangoye, B., Bonnabau, H., Bañuls, A. L., Durand, P., Salle, B., Ajzenberg, D. and Dardé, M. L. (sous presse) Additional Haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: Population structure and mouse-virulence of strains from Gabon. *PLoS Negl Trop Dis*.
- Messaritakis, I., Detsika, M., Koliou, M., Sifakis, S. and Antoniou, M. (2008) Prevalent genotypes of *Toxoplasma gondii* in pregnant women and patients from Crete and Cyprus. *Am J Trop Med Hyg*, 79, 205-209.
- Miller, D. S., Sauter, M. L., Hunter-Ishikawa, M., Fish, K., Culbertson, H., Cuzzo, P. F., Campbell, T. W., Andrews, G. A., Chavey, P. S., Nachreiner, R., Rumbergh, W., Stacewicz-Sapuntzakis, M. and Lappin, M. R. (2007) Biomedical evaluation of free-ranging ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) in three habitats at the Beza Mahafaly Special Reserve, Madagascar. *J Zoo Wildl Med*, 38, 201-216.
- Miller, N. L., Frenkel, J. K. and Dubey, J. P. (1972) Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J Parasitol*, 58, 928-937.
- Montoya-Londoño, M. T., Chamorro, N. L., Infante, M. S., Carlos, J. and Osorio, C. (1998) Infección por *Toxoplasma gondii* en gatos de dos barrios del sur de Armenia y su importancia en la toxoplasmosis humana *Colbaquin Actualidades Clínicas y Biotecnológicas*, 12 18-23.
- Moran, P. (1948) The interpretation of statistical maps. *Journal of the Royal Statistical Society*, B, 10, 243-251.
- Moré, G., Pardini, L., Basso, W., Machuca, M., Bacigalupe, D., Villanueva, M. C., Schares, G., Venturini, M. C. and Venturini, L. (2010) Toxoplasmosis and genotyping of *Toxoplasma gondii* in *Macropus rufus* and *Macropus giganteus* in Argentina. *Vet Parasitol*, 169, 57-61.
- Morgan, J. A. T., Dejong, R. J., Adeoye, G. O., Ansa, E. D. O., Barbosa, C. S., BrÉmond, P., Cesari, I. M., Charbonnel, N., CorrÉA, L. R., Coulibaly, G., D'Andrea, P. S., De Souza, C. P., Doenhoff, M. J., File, S., Idris, M. A., Incani, R. N., Jarne, P., Karanja, D. M. S., Kazibwe, F., Kpikpi, J., Lwambo, N. J. S., Mabaye, A., MagalhÃEs, L. A., Makundi, A., MonÉ, H., Mouahid, G., Muchemi, G. M., Mungai, B. N., SÉNe, M., Southgate, V., TchuentÉ, L. A. T., ThÉron, A., Yousif, F., Zanotti-MagalhÃEs, E. M., Mkoji, G. M. and Loker, E. S. (2005) Origin and diversification of the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Molecular Ecology*, 14, 3889-3902.

- Morisset, S., Peyron, F., Lobry, J. R., Garweg, J., Ferrandiz, J., Musset, K., Gomez-Marin, J. E., de la Torre, A., Demar, M., Carne, B., Mercier, C., Garin, J. F. and Cesbron-Delauw, M. F. (2008) Serotyping of *Toxoplasma gondii*: striking homogeneous pattern between symptomatic and asymptomatic infections within Europe and South America. *Microbes Infect*, 10, 742-747.
- Morley, E. K., Williams, R. H., Hughes, J. M., Terry, R. S., Duncanson, P., Smith, J. E. and Hide, G. (2005) Significant familial differences in the frequency of abortion and *Toxoplasma gondii* infection within a flock of Charollais sheep. *Parasitology*, 131, 181-185.
- Mott, K. E., Nuttall, I., Desjeux, P. and Cattand, P. (1995) New geographical approaches to control of some parasitic zoonoses. *Bull World Health Organ*, 73, 247-257.
- Moura, L., Kelly, P., Krecek, R. C. and Dubey, J. P. (2007) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from St. Kitts, West Indies. *J Parasitol*, 93, 952-953.
- Mpiga Mickoto, B., Akue, J. P., Bisvigou, U., Mayi Tsonga, S. and Nkoghe, D. (2010) [Serological study on toxoplasmosis among pregnant women from Franceville, Gabon.]. *Bull Soc Pathol Exot*.
- Nabias, R., Ngouamizokou, A., Migot-Nabias, F., Mbou-Moutsimbi, R. A. and Lansoud-Soukate, J. (1998) [Serological investigation of toxoplasmosis in patients of the M.I.P. center of Franceville (Gabon)]. *Bull Soc Pathol Exot*, 91, 318-320.
- Neel, J. V., Andrade, A. H., Brown, G. E., Eveland, W. E., Goobar, J., Sodeman, W. A., Jr., Stollerman, G. H., Weinstein, E. D. and Wheeler, A. H. (1968) Further studies of the Xavante Indians. IX. Immunologic status with respect to various diseases and organisms. *Am J Trop Med Hyg*, 17, 486-498.
- Nicolle, C. and Manceaux, L. (1908) Sur une infection A corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 147, 763-766.
- Nieberding, C. M. and Olivieri, I. (2007) Parasites: proxies for host genealogy and ecology? *Trends Ecol Evol*, 22, 156-165.
- Nowakowska, D., Colon, I., Remington, J. S., Grigg, M., Golab, E., Wilczynski, J. and Sibley, L. D. (2006) Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multiplex PCR and peptide-based serological testing of samples from infants in Poland diagnosed with congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*, 44, 1382-1389.
- Nozais, J. P., Doucet, J., Tiacoh, L. and Gueunier, M. (1975) Etude de la prévalence de la toxoplasmose en Côte d'Ivoire. (Résultats portant sur 4769 sérums étudiés par immunofluorescence). *Med Trop*, 35, 413-417.

- Nunura, J., Vasquez, T., Endo, S., Salazar, D., Rodriguez, A., Pereyra, S. and Solis, H. (2010) Disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent patient from Peruvian Amazon. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 52, 107-110.
- O'Brien, S. J., Johnson, W., Driscoll, C., Pontius, J., Pecon-Slattery, J. and Menotti-Raymond, M. (2008) State of cat genomics. *Trends Genet*, 24, 268-279.
- Ocholi, R. A., Kalejaiye, J. O. and Okewole, P. A. (1989) Acute disseminated toxoplasmosis in two captive lions (*Panthera leo*) in Nigeria. *Vet Rec*, 124, 515-516.
- Oliver, J. E. (2005) *Encyclopedia of World Climatology*, New York.
- Olusi, T. A., Ajaya, J. A. and Makinde, A. A. (1994) Antibodies to *Toxoplasma gondii* in a rat-eating population on Benue State, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol*, 88, 217-218.
- Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Nakabayashi, T. and Suzuki, N. (1990) Experimental feline toxoplasmosis: humoral immune responses of cats inoculated orally with *Toxoplasma gondii* cysts and oocysts. *Nippon Juigaku Zasshi*, 52, 865-867.
- OMS (1999) Systèmes d'information géographique. Cartographie et surveillance épidémiologique. *Weekly Epidemiological Record*, 74 281-286.
- ONUSIDA (2008) Carte interactive: Sur la voie de l'accès universel.
- Owen, M. R. and Trees, A. J. (1998) Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (*Mus musculus*) and field (*Apodemus sylvaticus*) mice determined by polymerase chain reaction. *Parasitology*, 116 ( Pt 4), 299-304.
- Pandey, V. S. and Van Knapen, F. (1992) The seroprevalence of toxoplasmosis in sheep, goats and pigs in Zimbabwe. *Ann Trop Med Parasitol*, 86, 313-315.
- Pappas, G., Roussos, N. and Falagas, M. E. (2009) Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol*, 39, 1385-1394.
- Parameswaran, N., Thompson, R. C., Sundar, N., Pan, S., Johnson, M., Smith, N. C. and Grigg, M. E. (2010) Non-archetypal Type II-like and atypical strains of *Toxoplasma gondii* infecting marsupials of Australia. *Int J Parasitol*, 40, 635-640.
- Patton, S. and Rabinowitz, A. R. (1994) Parasites of wild felidae in Thailand: a coprological survey. *J Wildl Dis*, 30, 472-475.
- Pelloux, H., Dupouy-Camet, J., Derouin, F., Aboulker, J. P. and Raffi, F. (1997) A multicentre prospective study for the polymerase chain reaction detection of *Toxoplasma gondii* DNA in blood samples from 186 AIDS patients with suspected toxoplasmic encephalitis. *Bio-Toxo Study Group. Aids*, 11, 1888-1890.

- Pena, H. F., Gennari, S. M., Dubey, J. P. and Su, C. (2008) Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Int J Parasitol*, 38, 561-569.
- Penzhorn, B. L., Stylianides, E., van Vuuren, M., Alexander, K., Meltzer, D. G. A. and Mukarati, N. (2002) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-ranging lion and leopard populations in southern Africa. *S. Afr. J. Wildl. Res* 32 163-165.
- Petersen, E. and Dubey, J. P. (2001) Biology of *Toxoplasma gondii*. In *Toxoplasmosis: A Comprehensive Clinical Guide* (Eds, Joynson, D. H. M. and Wreghitt, T.) Cambridge pp. 1-42.
- Prange, A., Perret, C., Marie, J. L., Calvet, F., Halos, L., Boireau, P. and Davoust, B. (2009) [Toxoplasmosis: a survey on meat products in Cote d'Ivoire]. *Med Trop (Mars)*, 69, 629-630.
- Prestrud, K. W., Asbakk, K., Mork, T., Fuglei, E., Tryland, M. and Su, C. (2008a) Direct high-resolution genotyping of *Toxoplasma gondii* in arctic foxes (*Vulpes lagopus*) in the remote arctic Svalbard archipelago reveals widespread clonal Type II lineage. *Vet Parasitol*, 158, 121-128.
- Prestrud, K. W., Dubey, J. P., Asbakk, K., Fuglei, E. and Su, C. (2008b) First isolate of *Toxoplasma gondii* from arctic fox (*Vulpes lagopus*) from Svalbard. *Vet Parasitol*, 151, 110-114.
- Puig, H. (2001) *La Forêt tropicale humide* (Eds Belin) Paris, 448 p.
- Quan, J. H., Kim, T. Y., Choi, I. U. and Lee, Y. H. (2008) Genotyping of a Korean isolate of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP and microsatellite analysis. *Korean J Parasitol*, 46, 105-108.
- Quilici, M., Ranque, P., Tounkara, A. and Rougemont, A. (1976) [Toxoplasmosis in the Republic of Mali. An epidemiologic approach]. *Acta Trop*, 33, 229-239.
- R, Development, Core and Team (2009) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ragozo, A. M., Pena, H. F., Yai, L. E., Su, C. and Gennari, S. M. (2010) Genetic diversity among *Toxoplasma gondii* isolates of small ruminants from Brazil: novel genotypes revealed. *Vet Parasitol*, 170, 307-312.
- Remington, J. S., McLeod, R., Thulliez, P. and Desmonts, G. (2001) Toxoplasmosis. In *Infectious diseases of the fetus and newborn infant* (Eds, Remington, J. S. and Klein, J. O.) Philadelphia pp. 205-346.
- Richard, A. and Léonard, G. (1993) *Le Gabon, géographie active*, Libreville -Paris.

- Rifaat, M. A., Salem, S. A., Khalil, H. M., Khaled, M. L., Sadek, M. S., Azab, M. E. and Hanna, S. M. (1975) Toxoplasmosis serological surveys among the inhabitants of some governorates of Egypt. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 69, 118-120.
- Roelke, M. E., Forrester, D. J., Jacobson, E. R., Kollias, G. V., Scott, F. W., Barr, M. C., Evermann, J. F. and Pirtle, E. C. (1993) Seroprevalence of infectious disease agents in free-ranging Florida panthers (*Felis concolor coryi*). *J Wildl Dis*, 29, 36-49.
- Ruiz, A. and Frenkel, J. K. (1980) Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg*, 29, 1161-1166.
- Ruiz, A., Frenkel, J. K. and Cerdas, L. (1973) Isolation of *Toxoplasma* from soil. *J Parasitol*, 59, 204-206.
- Salant, H., Weingram, T., Spira, D. T. and Eizenberg, T. (2009) An outbreak of Toxoplasmosis amongst squirrel monkeys in an Israeli monkey colony. *Vet Parasitol*, 159, 24-29.
- Salibay, C. C. and Claveria, F. G. (2005) Serologic detection of *Toxoplasma gondii* infection in *Rattus* spp collected from three different sites in Dasmarinas, Cavite, Philippines. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 36 Suppl 4, 46-49.
- Samad, M. A., Rahman, K. M. B. and Basher, S. A. (1993) Serological status to natural *Toxoplasma gondii* infection in mixed flocks of sheep and goats in Bangladesh. *J. Protozool. Res.* , 3, 25-28.
- Sancho, B. E. Modèle de propagation d'un parasite du genre *Toxoplasma* en Amazonie ; contribution à l'échantillonnage des hôtes cibles en Guyane française. Thèse vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort, Alfort, (2007) 123 p.
- Sanderson, E. W., Jaiteh, M., Levy, M. A., Redford, K. H., Wannebo, A. V. and Wolmer, G. (2002) The Human Footprint and the Last of the Wild. *BioScience*, 52, 891-904.
- Schares, G., Vrhovec, M. G., Pantchev, N., Herrmann, D. C. and Conraths, F. J. (2008) Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. *Vet Parasitol*, 152, 34-45.
- Seguela, J. P., Larrouy, G., Serie, C. and Plenet, J. (1975) Toxoplasmosis en Guyane Française. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 5, 546-548.
- Sibley, L. D. and Ajioka, J. W. (2008) Population structure of *Toxoplasma gondii*: clonal expansion driven by infrequent recombination and selective sweeps. *Annu Rev Microbiol*, 62, 329-351.
- Sibley, L. D. and Boothroyd, J. C. (1992) Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature*, 359, 82-85.

- Simanaityte, D., Le Gouellec, N., Ajana, F., Baclet, N., Poissy, J., Laiskonis, A., Mickiene, A., Senneville, E., Yazdanpanah, Y. and Legout, L. (2010) [Primary pulmonary toxoplasmosis in an immunocompetent patient.]. *Med Mal Infect.*
- Sinniah, B., Vijayamma, T. and Yap, P. L. (1984) Toxoplasmosis in West Malaysian population. *Trop Biomed*, 1, 81-83.
- Smati, M., Taille, C., Menotti, J., Le Bras, J. and Houze, S. (2010) [Contribution of *Toxoplasma gondii*-specific PCR for the diagnosis of disseminated toxoplasmosis in a non-HIV and non-grafted adult patient.]. *Med Mal Infect.*
- Smith, D. D. and Frenkel, J. K. (1978) Cockroaches as vectors of *Sarcocystis muris* and of other coccidia in the laboratory. *J Parasitol*, 64, 315-319.
- Smith, J. E. and Rebuck, N. R. (2000) *Toxoplasma gondii* strain variation and pathogenicity. In *Microbial Foodborne Diseases: Mechanisms of Pathogenesis & Toxin Synthesis*(Eds, Cary, J. W., Linz, J. E. and Bhatnagar, D.) Lancaster, PA, pp. 405–431.
- Smith, Y. and Kok, O. B. (2006) Faecal helminth egg and oocyst counts of a small population of African lions (*Panthera leo*) in the southwestern Kalahari, Namibia. *Onderstepoort J Vet Res*, 73, 71-75.
- Sobral, C. A., Amendoeira, M. R., Teva, A., Patel, B. N. and Klein, C. H. (2005) Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous Brazilian populations. *Am J Trop Med Hyg*, 72, 37-41.
- Soete, M., Fortier, B., Camus, D. and Dubremetz, J. F. (1993) *Toxoplasma gondii*: kinetics of bradyzoite-tachyzoite interconversion in vitro. *Exp Parasitol*, 76, 259-264.
- Sousa, S., Ajzenberg, D., Marle, M., Aubert, D., Villena, I., da Costa, J. C. and Dardé, M. L. (2009) Selection of polymorphic peptides from GRA6 and GRA7 sequences of *Toxoplasma gondii* strains to be used in serotyping. *Clin Vaccine Immunol*, 16, 1158-1169.
- Sousa, S., Ajzenberg, D., Vilanova, M., Costa, J. and Dardé, M. L. (2008) Use of GRA6-derived synthetic polymorphic peptides in an immunoenzymatic assay to serotype *Toxoplasma gondii* in human serum samples collected from three continents. *Clin Vaccine Immunol*, 15, 1380-1386.
- Speer, C. A. and Dubey, J. P. (2005) Ultrastructural differentiation of *Toxoplasma gondii* schizonts (types B to E) and gamonts in the intestines of cats fed bradyzoites. *Int J Parasitol*, 35, 193-206.

- Speer, C. A., Dubey, J. P., Blixt, J. A. and Prokop, K. (1997) Time lapse video microscopy and ultrastructure of penetrating sporozoites, types 1 and 2 parasitophorous vacuoles, and the transformation of sporozoites to tachyzoites of the VEG strain of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*, 83, 565-574.
- Spencer, J. A. and Morkel, P. (1993) Serological survey of sera from lions in Etosha National Park. *S. Afr. J. Wildl. Res*, 23, 60-61.
- Splendore, A. (1908) Un nuovo protozoo parassita de' conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell' uomo. Nota preliminare pel. *Rev. Soc. Sci. Sao. Paulo.* , 3, 109-112.
- Sreekumar, C., Graham, D. H., Dahl, E., Lehmann, T., Raman, M., Bhalerao, D. P., Vianna, M. C. and Dubey, J. P. (2003) Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. *Vet Parasitol*, 118, 187-194.
- Sroka, S., Bartelheimer, N., Winter, A., Heukelbach, J., Ariza, L., Ribeiro, H., Oliveira, F. A., Queiroz, A. J., Alencar, C., Jr. and Liesenfeld, O. (2010) Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among pregnant women in Fortaleza, Northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 83, 528-533.
- Stagno, S. and Thiermann, E. (1973) Acquisition of *Toxoplasma* infection by children in a developing country. *Bull World Health Organ*, 49, 627-631.
- Su, C., Evans, D., Cole, R. H., Kissinger, J. C., Ajioka, J. W. and Sibley, L. D. (2003) Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. *Science*, 299, 414-416.
- Su, C., Zhang, X. and Dubey, J. P. (2006) Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *Int J Parasitol*, 36, 841-848.
- Tanabe, K., Mita, T., Jombart, T., Eriksson, A., Horibe, S., Palacpac, N., Ranford-Cartwright, L., Sawai, H., Sakihama, N., Ohmae, H., Nakamura, M., Ferreira, M. U., Escalante, A. A., Prugnolle, F., Bjorkman, A., Farnert, A., Kaneko, A., Horii, T., Manica, A., Kishino, H. and Balloux, F. (2010) *Plasmodium falciparum* accompanied the human expansion out of Africa. *Curr Biol*, 20, 1283-1289.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R. and Weiss, L. M. (2000) *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol*, 30, 1217-1258.
- Thimossat, P. (1985) Épidémiologie de la toxoplasmose en zone tropicale et subtropicale. *Médecine d'Afrique Noire*, 32, 209-225.

- Thomas, V., Sinniah, B. and Yap, P. L. (1980) Prevalence of antibodies including IgM to *Toxoplasma gondii* in Malaysians. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 11, 119-125.
- Tibayrenc, M. (1998) Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. *Int J Parasitol*, 28, 85-104.
- Tibayrenc, M. (2005) Bridging the gap between molecular epidemiologists and evolutionists. *Trends Microbiol*, 13, 575-580.
- Tilley, M., Fichera, M. E., Jerome, M. E., Roos, D. S. and White, M. W. (1997) *Toxoplasma gondii* sporozoites form a transient parasitophorous vacuole that is impermeable and contains only a subset of dense-granule proteins. *Infect Immun*, 65, 4598-4605.
- Truppel, J. H., Reifur, L., Montiani-Ferreira, F., Lange, R. R., de Castro Vilani, R. G., Gennari, S. M. and Thomaz-Socol, V. (2010) *Toxoplasma gondii* in Capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) antibodies and DNA detected by IFAT and PCR. *Parasitol Res*, 107, 141-146.
- Tuntasuvan, D., Mohkaew, K. and Dubey, J. P. (2001) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in elephants (*Elephas maximus indicus*) in Thailand. *J Parasitol*, 87, 229-230.
- Usherbrooke, U. d. (2010) Perspective Monde. , Usherbrooke.ca.
- Vallochi, A. L., Muccioli, C., Martins, M. C., Silveira, C., Belfort, R., Jr. and Rizzo, L. V. (2005) The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. *Am J Ophthalmol*, 139, 350-351.
- Vaudaux, J. D., Muccioli, C., James, E. R., Silveira, C., Magargal, S. L., Jung, C., Dubey, J. P., Jones, J. L., Doymaz, M. Z., Bruckner, D. A., Belfort Jr, R., Holland, G. N. and Grigg, M. E. (2010) Identification of an Atypical Strain of *Toxoplasma gondii* as the Cause of a Waterborne Outbreak of Toxoplasmosis in Santa Isabel do Ivaí, Brazil. *J Infect Dis*.
- Velmurugan, G. V., Dubey, J. P. and Su, C. (2008) Genotyping studies of *Toxoplasma gondii* isolates from Africa revealed that the archetypal clonal lineages predominate as in North America and Europe. *Vet Parasitol*, 155, 314-318.
- Velmurugan, G. V., Su, C. and Dubey, J. P. (2009) Isolate designation and characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs in the United States. *J Parasitol*, 95, 95-99.
- Vigne, J. D., Guilaine, J., Debue, K., Haye, L. and Gerard, P. (2004) Early taming of the cat in Cyprus. *Science*, 304, 259.

- Vyas, A., Kim, S. K., Giacomini, N., Boothroyd, J. C. and Sapolsky, R. M. (2007a) Behavioral changes induced by *Toxoplasma* infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 6442-6447.
- Vyas, A., Kim, S. K. and Sapolsky, R. M. (2007b) The effects of *Toxoplasma* infection on rodent behavior are dependent on dose of the stimulus. *Neuroscience*, 148, 342-348.
- Wallace, G. D. (1973a) Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am J Trop Med Hyg*, 22, 456-464.
- Wallace, G. D. (1973b) The role of the cat in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am J Trop Med Hyg*, 22, 313-322.
- Wallace, G. D. (1976) The prevalence of toxoplasmosis on Pacific Islands, and the influence of ethnic group. *Am J Trop Med Hyg*, 25, 48-53.
- Walsh, R. P. D. (1996) Climate. In *The Tropical Rain Forest* (Ed, Richards, P. W.) Cambridge, pp. 159-205.
- Watts, S. (1997) *Epidemics and History: Disease, Power and Imperialism*, New Haven, CT.
- Webster, J. P. (1994) The effect of *Toxoplasma gondii* and other parasites on activity levels in wild and hybrid *Rattus norvegicus*. *Parasitology*, 109 (Pt 5), 583-589.
- Webster, J. P. (2001) Rats, cats, people and parasites: the impact of latent toxoplasmosis on behaviour. *Microbes Infect*, 3, 1037-1045.
- Webster, J. P., Brunton, C. F. and MacDonald, D. W. (1994) Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *Parasitology*, 109 (Pt 1), 37-43.
- Witte, J. (1992) Deforestation in Zaire: Logging and landlessness. *Ecologist*, 22, 58-64.
- Work, K. (1971) Toxoplasmosis. With special reference to transmission and life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol Microbiol Scand B Microbiol Immunol*, 221, 1-51.
- Yai, L. E., Ragozo, A. M., Aguiar, D. M., Damaceno, J. T., Oliveira, L. N., Dubey, J. P. and Gennari, S. M. (2008) Isolation of *Toxoplasma gondii* from capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from Sao Paulo State, Brazil. *J Parasitol*, 94, 1060-1063.
- Yamaura, H. (1976) Studies on *Toxoplasma* oocysts. I. Effects of low temperature and drtness on viability of the oocysts. *Jpn J Parasitology*, 25, 80-86.
- Yilmaz, S. M. and Hopkins, S. H. (1972) Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol*, 58, 938-939.
- Zhou, P., Zhang, H., Lin, R. Q., Zhang, D. L., Song, H. Q., Su, C. and Zhu, X. Q. (2009) Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from China. *Parasitol Int*, 58, 193-195.

- Zia-Ali, N., Fazaeli, A., Khoramizadeh, M., Ajzenberg, D., Dardé, M. L. and Keshavarz-Valian, H. (2007) Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from different hosts in Iran. *Parasitol Res*, 101, 111-115.
- Zigas, V. (1976) Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in New Britain, Papua New Guinea. *P N G Med J*, 19, 225-230.
- Zuber, P. and Jacquier, P. (1995) [Epidemiology of toxoplasmosis: worldwide status]. *Schweiz Med Wochenschr Suppl*, 65, 19S-22S.
- Zumla, A., Savva, D., Wheeler, R. B., Hira, S. K., Luo, N. P., Kaleebu, P., Sempala, S. K., Johnson, J. D. and Holliman, R. (1991) *Toxoplasma* serology in Zambian and Ugandan patients infected with the human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 85, 227-229.

### **Pages internet consultées et citées dans la bibliographie :**

Duszynski DW, Lee Couch L, Upton SJ (2000) Coccidia (Eimeriidae) of Canidae and Felidae. Available: <http://biology.unm.edu/biology/coccidia/carniv1.html>. 21.07.2010.

INSEE (2010) Insee Guyane - Présentation de la région. Available: <http://www.insee.fr/fr/regions/guyane/default.asp?page=faitsetchiffres/presentation/presentation.htm>. 05.09.2010.

IUCN, SSC, Group CS (1996) Cat Website. Available: [http://lynx.uio.no/lynx/catsgportal/cat-website/20\\_cat-website/home/index\\_en.htm](http://lynx.uio.no/lynx/catsgportal/cat-website/20_cat-website/home/index_en.htm). 29.07.2010.

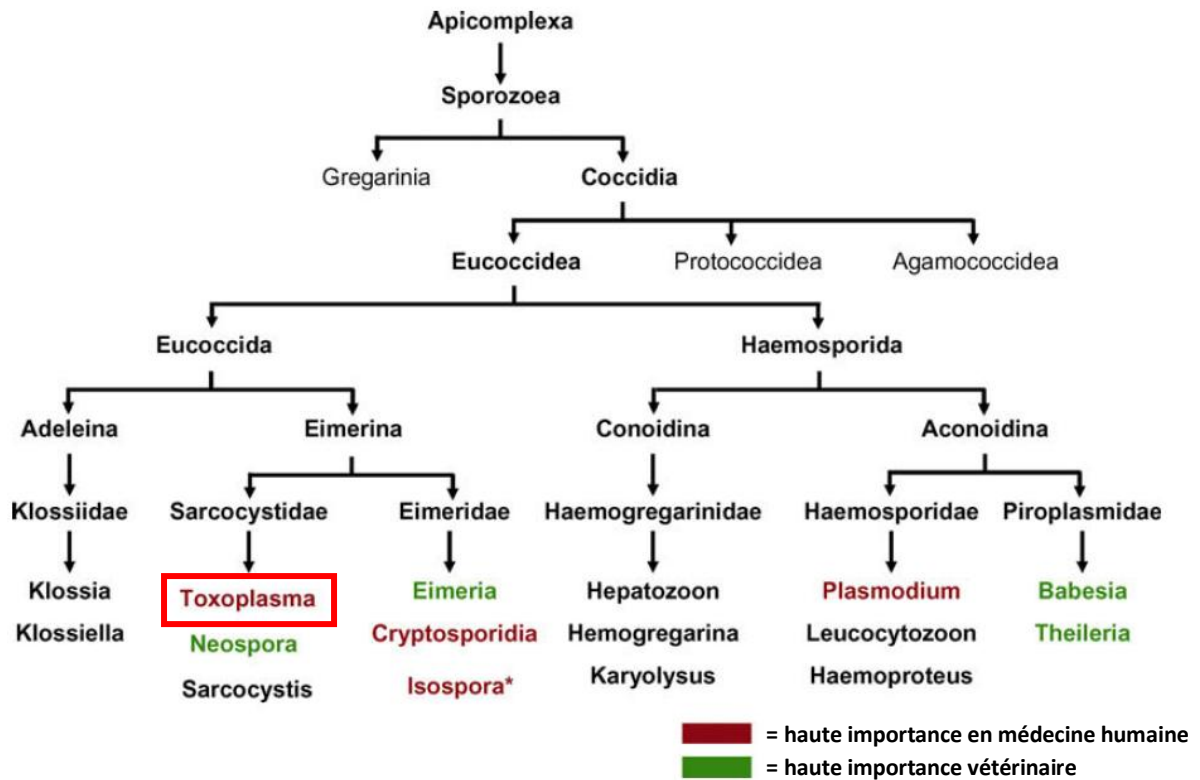
Usherbrooke Ud (2010) Perspective Monde. Available: <http://perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BilanEssai?codetheme=1&codeStat=EN.POP.DNST&anneeStat1=2006&grandesRegions=0&codetheme2=2&codeStat2=x&mode=carte&afficheNom=aucun&langue=fr&noStat=7>. 10.08.2010.



# **ANNEXES**



Annexe 1 : Position taxonomique de *Toxoplasma gondii* (Beck *et al.*, 2009).



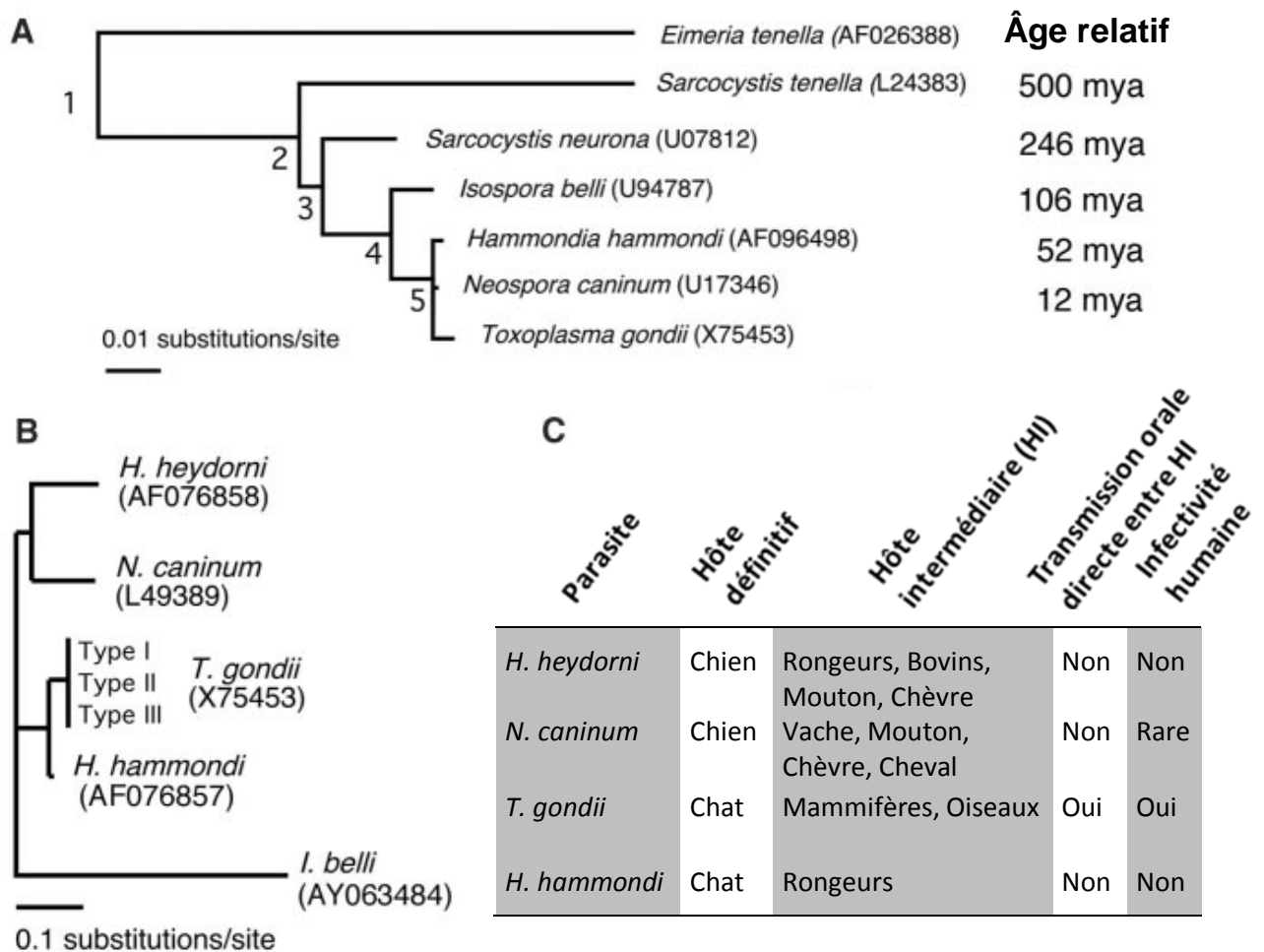


**Annexe 2 : Comparaison phylogénétique de certaines coccidies basée sur deux régions de l'ADN ribosomal (Su *et al.*, 2003).**

(A) Arbre de Neighbor-joining basé sur des séquences SSU d'apicomplexes (*E. tenella* : out-group ; bootstrap 1 à 5  $\geq 85$ ), et estimations de l'âge relatif de chaque taxon.

(B) Arbre de Neighbor-joining obtenu à partir des séquences ITS1.

(C) Cycles de vie et caractéristiques de transmission de *T. gondii* et des taxons proches traduit de Su *et al.* (2003).





### **Annexe 3 : Pays en partie ou majoritairement intégrés à la zone tropicale humide (d'après Losch, 1996).**



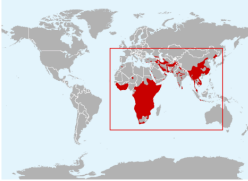

<b>Amériques et zone caribéenne</b>	<b>Afrique et Océan Indien</b>	<b>Asie et Océanie</b>
Floride (USA)	Guinée Bissau	Maldives
Bahamas	Guinée	Sri Lanka
Mexique (sud)	Sierra Leone	Inde (côte et nord-est)
Cuba	Libéria	Népal (zone* sud)
Jamaïque	Côte d'Ivoire	Bhoutan (sud)
République Dominicaine	Ghana (sud)	Bangladesh
Îles des Caraïbes	Togo (sud)	Birmanie
Guatemala	Bénin (sud)	Thaïlande
Belize	Nigéria (sud)	Laos
Honduras	Cameroun (ouest)	Viêtnam
Nicaragua	République Centrafricaine (sud-ouest)	Chine (zone* extrême sud)
Costa-Rica	Guinée Équatoriale	Taiwan
Panama	Gabon	Cambodge
Colombie	Sao Tomé-et-Principe	Philippines
Venezuela	Congo	Malaisie
Équateur	République Démocratique du Congo	Indonésie
Guyana	Éthiopie (zone* du sud)	Papouasie-Nouvelle-Guinée
Suriname	Ouganda (ouest)	Timor Oriental
Guyane Française (France)	Rwanda	Îles Salomon
Brésil (ouest et côte atlantique)	Burundi	Vanuatu
Pérou (est)	Kenya (zones* du sud)	Îles Fidji
Bolivie (est)	Angola (extrême nord)	Nouvelle Calédonie (France)
Paraguay (zone* de l'extrême nord)	Tanzanie (sud-ouest et côte est)	Australie (pointe est)
	Malawi (nord)	
	Mozambique (côte est)	
	Swaziland	
	Lesotho (sud est)	
	Afrique du sud (zone* du sud-est)	
	Madagascar (côte est)	
	Comores	
	Mayotte (France)	
	Réunion (France)	
	Maurice	

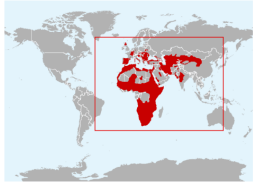
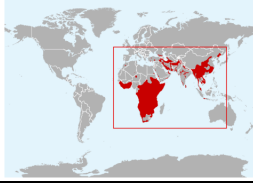



\* Pays pour lequel la zone tropicale humide représente une très faible part du territoire

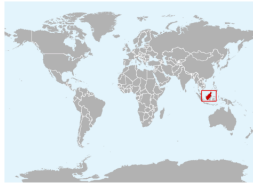


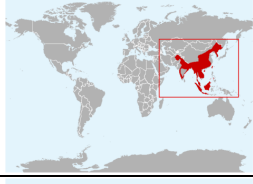









**Annexe 4 : Liste des espèces de félins recensés en milieu tropical humide (classées par continent). Sources :**




<http://www.iucnredlist.org/> ; [http://www.catsg.org/catsgportal/20\\_catsg-website/home/index\\_en.htm](http://www.catsg.org/catsgportal/20_catsg-website/home/index_en.htm) ; <http://www.felineconservation.org/>

AFRIQUE					
Nomenclature	Nom vernaculaire	Distribution	Habitat	Démonstration de l'excrétion d'oocystes de <i>T. gondii</i> et séroprévalence en milieu naturel	Carte de répartition
<i>Felis silvestris lybica</i> Forster, 1770	Chat sauvage africain, chat ganté	Algérie, Angola, Bénin, Botswana, Bulgarie, Burkina Faso, Burundi, Cameroun, République Centrafricaine, Tchad, Congo, République Démocratique du Congo, Djibouti, l'Égypte, l'Érythrée, Éthiopie, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Kenya, Liby, Malawi, Mali, Mauritanie, Maroc; Mozambique, Namibie, Niger, Nigéria, Rwanda; Sénégal, Sierra Leone, Somalie, Afrique du Sud, Soudan, Swaziland, Tanzanie, Togo, Tunisie, Ouganda, Sahara occidental, Yémen, Zambie, Zimbabwe	Grande tolérance à tous types d'habitat excepté les forêts tropicales humides. Suspicion d'hybridation avec chat domestique.		
<i>Panthera leo</i> Linnaeus, 1758	Lion	Angola, Bénin, Botswana, Burkina Faso, Cameroun, République Centrafricaine, Tchad, République Démocratique du Congo, Éthiopie, Côte d'Ivoire, Gabon, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Kenya, Malawi, Mali, Mozambique; Namibie, Niger, Nigéria, Rwanda, Sénégal, Somalie, Afrique du Sud, Soudan, Swaziland, Tanzanie, Ouganda, Zambie, Zimbabwe	Savane, plaine et bush.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité et milieu naturel (Namibie) (Ocholi <i>et al.</i> , 1989; Smith and Kok, 2006).  Prévalence : - Zimbabwe 92,3 % (24/26) (Hove and Mukaratirwa, 2005) ; 100 % (21/21) (Penzhorn <i>et al.</i> , 2002). - Afrique du Sud 100 % (42/42) (Penzhorn <i>et al.</i> , 2002) ; 90,2 % (37/41)(Cheadle <i>et al.</i> , 1999) ; 98 % (65/66) (Spencer and Morkel, 1993).	
<i>Panthera pardus</i> Linnaeus, 1758	Léopard	Algérie, Angola, Bénin, Botswana, Burkina Faso, Burundi, Cameroun, République Centrafricaine, Tchad, Congo, République Démocratique du Congo, Côte d'Ivoire; Djibouti, Guinée Équatoriale, Égypte Érythrée, Éthiopie, Gabon, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Kenya, Libéria, Malawi, Mali, Maroc, Mozambique, Namibie, Niger, Nigéria, Rwanda, Sierra Leone, Sénégal, Somalie, Afrique du Sud, Soudan, Swaziland, Tanzanie, Togo, Ouganda, Yémen, Zambie, Zimbabwe	Zones très humides avec plus de 50 mm de pluie. Zones plus sèches uniquement le long des fleuves.	Prévalence : - Botswana 1/1 (Penzhorn <i>et al.</i> , 2002). - Afrique du Sud 6/7 (Penzhorn <i>et al.</i> , 2002).	
<i>Profelis aurata</i> Temmik, 1827 (Aussi appelé <i>Caracal aurata</i> )	Chat doré	Angola, Burundi, Cameroun, République Centrafricaine, Congo, République Démocratique du Congo, Côte d'Ivoire, Guinée Équatoriale, Gabon, Ghana, Guinée, Kenya, Libéria, Nigéria, Rwanda, Sierra Leone, Sénégal, Ouganda	Forêt équatoriale dont les mangroves ou les forêts de bambous. Peut pénétrer en savane le long des ceintures forestières suivant un fleuve.		

ASIE					
Nomenclature	Nom vernaculaire	Distribution	Habitat	Démonstration de l'excrétion d'oocystes de <i>T. gondii</i> et séroprévalence en milieu naturel	Carte de répartition
<i>Felis silvestris lybica</i> Forster, 1770	Chat ganté	Afghanistan, Arménie Chine, Inde, Kazakhstan, Kirghizistan, Mongolie, Pakistan, Ouzbékistan, Russie, Syrie, Tadjikistan, Turkménistan	Grande tolérance à tous types d'habitat excepté les forêts tropicales humides. Suspicion d'hybridation avec chat domestique.		
<i>Panthera pardus</i> Linnaeus, 1758	Léopard	Arménie, Azerbaïdjan, Bangladesh, Bhoutan, Cambodge, Chine, Inde, Indonésie, Corées, Laos, Malaisie, Myanmar, Népal, Russie, Pakistan, Sri Lanka, Tadjikistan, Thaïlande, Turkménistan, Ouzbékistan, Viêtnam	Zones très humides avec plus de 50 mm de pluie. Zones plus sèches uniquement le long des fleuves.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité et milieu naturel (Thaïlande) (Patton and Rabinowitz, 1994).	
<i>Felis chaus</i> Schreber, 1777	Chat des marais, chat de jungle	Iran, Pakistan, Afghanistan, Asie centrale, Viêtnam, Laos, Cambodge, Himalaya, Thaïlande, Birmanie, Syrie, Iraq, Sri Lanka, Inde, Bangladesh, Égypte, Russie	Peu associée à la forêt tropicale classique, plutôt dans les zones humides. Se trouve dans une variété d'habitats, allant du désert (à proximité d'oasis ou le long des rivières) aux prairies, forêts arbustives et forêt sèche à feuilles caduques, ainsi que les zones déboisées dans la forêt humide.		
<i>Neofelis nebulosa</i> Griffith, 1821	Panthère nébuleuse	Bhoutan, Chine, Inde, Indonésie, Laos, Malaisie, Myanmar, Népal, Taïwan, Thaïlande, Viêtnam	Fortement associées à l'habitat forestier, en particulier la forêt tropicale primaire, mais aussi les forêts sèche à feuilles caduques, secondaire et forêts exploitées.		
<i>Panthera tigris</i> Linnaeus, 1758	Tigre	Inde, Népal, Bhoutan, Bangladesh, Birmanie, Laos, Thaïlande, Cambodge, Malaisie, Indonésie, Chine, Russie et peut-être Corée du Nord	Des forêts humides tropicales aux bois de conifères et de bouleaux de Russie d'Extrême-Orient en passant par les mangroves des Sundarbans.		

Nomenclature	Nom vernaculaire	Distribution	Habitat	Démonstration de l'excrétion d'ocystes de <i>T. gondii</i> et séroprévalence en milieu naturel	Carte de répartition
<i>Pardofelis badia</i> Gray, 1874	Chat bai	Endémique de l'île de Bornéo	<b>Forêts humides tropicales primaire et secondaires et plus rarement mangrove.</b>		
<i>Pardofelis marmorata</i> Martin, 1837	Chat marbré	Bhoutan, Cambodge, Chine, île de Bornéo, île de Sumatra, Inde, Malaisie, Myanmar, Népal, Laos, Thaïlande, Viêt Nam, Bangladesh	Forêts humides tropicales primaire et secondaires.		
<i>Pardofelis temminckii</i> Vigors et Horsfield, 1827	Chat de Temminck, chat doré d'Asie	Bangladesh, Bhoutan, Cambodge, Chine, Inde, Indonésie, Laos, Malaisie, Myanmar, Népal, Thaïlande, Viêt Nam	Forêt tropicale humide et forêt trophile, plus occasionnellement se rencontre dans les plaines <b>rocailleuses</b> .		
<i>Prionailurus bengalensis</i> Kerr, 1792	Chat de Chine, chat-léopard du Bengale	Afghanistan, Bangladesh, Bhoutan, Brunei Darussalam, Cambodge, Chine, Hong Kong, Inde, Indonésie, Japon, Corée, Laos, Malaisie, Myanmar, Népal, Pakistan, Philippines, Russie, Singapour, Taiwan, Thaïlande, Viêt Nam	Forêts tropicales et tempérées de feuillus et marginalement forêts de conifères et prairies.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité (Lukesova and Literak, 1998; Miller <i>et al.</i> , 1972).	
<i>Prionailurus planiceps</i> Vigors et Horsfield, 1827	Chat à tête plate	Brunei Darussalam, Indonésie, Malaisie, Thaïlande	Zones humides.		
<i>Prionailurus rubiginosus</i> I. Geoffroy Saint-Hilaire, 1831	Chat-léopard de l'Inde, chat rougeâtre	Inde, Sri Lanka	Forêts trophiles et dans les prairies sèches, mais également forêts tropicales.		

AMERIQUES					
Nomenclature	Nom vernaculaire	Distribution	Habitat	Démonstration de l'excrétion d'ocystes de <i>T. gondii</i> et séroprévalence en milieu naturel	Carte de répartition
<i>Leopardus colocolo</i> Molina, 1782	Chat des Pampas	Argentine, Bolivie, Brésil, Chili, Équateur, Paraguay, Pérou, Uruguay	Broussailles sèches et prairies, mais aussi les forêts sèches ainsi que les zones humides marécageuses.		
<i>Leopardus geoffroyi</i> d'Orbigny et Gervais, 1844	Chat de Geoffroy	Argentine, Bolivie, Brésil, Chili, Paraguay, Uruguay	Grande variété de types d'habitat de la région néotropicale subtropicale et tempérée, y compris les marais, les forêts de broussailles, les forêts sèches, les savanes et même les desert. En zones vierges et perturbé.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité (Lukesova and Literak, 1998).  Prévalence : - Bolivie 2/8 (Fiorello <i>et al.</i> , 2006).	
<i>Leopardus pardalis</i> Linnaeus, 1758	Ocelot	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, Équateur, El Salvador; Guyane Française, du Guatemala, Guyana, Honduras, Mexique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname; Trinité et Tobago, États-Unis, Venezuela	Forêts de mangrove, marais côtiers, prairies de savane et de pâturages, broussailles épineuses et la forêt tropicale de tous types (primaire, secondaire, à feuilles persistantes...).	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité (Jewell <i>et al.</i> , 1972).  Prévalence : - Brésil 2/4 (Ferraroni and Marzochi, 1980). - Bolivie 100 % (10/10) (Fiorello <i>et al.</i> , 2006).	
<i>Leopardus tigrinus</i> Schreber, 1775	Oncilla	Argentine, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, Équateur, Guyane Française, Guyana, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname, Venezuela	Associé des milieux de couverture dense, tout type de forêt dense (montagne tropicale...).		
<i>Leopardus wiedii</i> Schinz, 1821	Margay, chat tigre	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, Équateur, El Salvador; Guyane française, du Guatemala, Guyana, Honduras, Mexique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname, Uruguay, Venezuela	Habitat forestier couvert à la fois persistantes et à feuilles caduques.		

Nomenclature	Nom vernaculaire	Distribution	Habitat	Démonstration de l'excrétion d'oocystes de <i>T. gondii</i> et séroprévalence en milieu naturel	Carte de répartition
<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758	Jaguar	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, Équateur, Guyane française, du Guatemala, Guyana, Honduras, Mexique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname; Etats-Unis, Venezuela	Associée à la présence d'eau. Forêt tropicale dans les zones inondées de façon saisonnière, marais, prairies pampas, buissons épineux, et forêt sèche.	Prévalence : - Guyane Française 1/1 (Demar <i>et al.</i> , 2007).	
<i>Puma concolor</i> Linnaeus, 1771	Puma	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Canada, Chili, Colombie, Équateur, El Salvador; Guyane française, du Guatemala, Guyana, Honduras, Mexique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname; Etats-Unis, Venezuela	Large éventail d'habitats, dans tous les types de forêts ainsi que de plaine et de montagne du désert.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité et milieu naturel (Canada) (Miller <i>et al.</i> , 1972; Aramini <i>et al.</i> , 1998). Prévalence : - Amérique centrale et du Sud 32,5 % (27/83) (Kikuchi <i>et al.</i> , 2004). - Floride 9 % (3/38) (Roelke <i>et al.</i> , 1993).	
<i>Puma yagouaroundi</i> É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803	Jaguarundi	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, Equateur, El Salvador; Guyane française, du Guatemala, Guyana, Honduras, Mexique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Pérou, Suriname, Venezuela	Large gamme d'habitats ouverts et fermés. Désert, steppe semi-arides, marécages, savane boisée et forêt tropicale primaire.	Oocystes trouvés dans les fèces en captivité (Jewell <i>et al.</i> , 1972). Prévalence : - Bolivie 0/1 (Fiorello <i>et al.</i> , 2006).	



## Annexe 5 : Références bibliographiques de la séroprévalence de la toxoplasmose sur le continent africain de 1955 à 2006 ayant permis la réalisation de la figure 5.

- ABDEL-HAMEED, A.A. (1991). Sero-epidemiology of toxoplasmosis in Gezira, Sudan. *The Journal of tropical medicine and hygiene*. **94**:329-332.
- ADOU-BRYN, K.D., OUHON, J., NEMER, J., TAPO, C.G., ASSOUMOU, A. (2004). Dépistage de la toxoplasmose acquise chez la femme en âge de procréer dans la commune de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **97**:345-348.
- AGBO, K., DAVID, M., AMAVI-TÊTE, T., DENIAU, M. (1991). Contribution au diagnostic de la toxoplasmose au CHU de Lomé. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **84**:659-664.
- AHMED, H.J., MOHAMMED, H.H., YUSUF, M.W., AHMED, S.F., HULDT, G. (1988). Human toxoplasmosis in Somalia. Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in a village in the lower Scebelli region and in Mogadishu. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **82**:330-332.
- BALOZET, L. (1955). Enquête sérologique sur la toxoplasmose de l'homme et du chien dans la région d'Alger. *Archives de l'institut Pasteur d'Alger*. **33**:78-83.
- BEAUVAIS, B., GARIN, Y., LANGUILLAT, G., LARIVIERE, M. (1978). La toxoplasmose au Gabon oriental, résultat d'une enquête sérologique. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **71**:172-181.
- BEN AYED NOUIRA, N., HAFSIA, S., KHALED, S., ZHIOUA, F., FERCHIOU, M., JEDOUI A., MERIAH, S., BEN RACHID, MS. (1994). Incidence de la toxoplasmose pendant la grossesse et risqué de l'infection fœtale. *La Tunisie Médicale*. **72**:487-491.
- BEN RACHID, M. & BLAHA, R. (1979). La toxoplasmose humaine et animale en Tunisie. *La Tunisie Médicale*. **48**(3):101-110.
- BERENGO, A., PAMPIGLIONE, S., DE LALA, F. (1974). Serological studies on Toxoplasmosis prevalence in some groups of Babingo Pygmies in Central Africa. *Rivista di Parasitologia*. **35**:81-86.
- BIAVA, M.F., JANA, M., EL MANSOURI, A., PERCEBOIS, G. (1983). Étude séroépidémiologique de la toxoplasmose à Marrakech (Maroc). *Médecine et Maladies Infectieuses*. **13**:503-506.
- BILLIAULT, X., COLLET, M., DUPONT, A., LEFEVRE, S. (1987). Toxoplasmose chez la femme enceinte dans la province du Haut Ogooué (Gabon). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **80**:74-83.
- BOURATBINE, A., SIALA, E., CHAHED, M.K., AOUN, K., BEN ISMAIL, R. (2001). Profil séro-épidémiologique de la toxoplasmose au nord de la Tunisie. *Parasite*. **8**:61-66.
- BOWRY, T.R., CAMARGO, M.E., KINYANJUI, M. (1986). Sero-epidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in young children in Nairobi, Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **80**:439-441.
- BRINDLE, R., HOLLIMAN, R., GILKS, C., WAIYAKI, P. (1991). *Toxoplasma* antibodies in HIV-positive patients from Nairobi. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **85**:750-751.
- BRINK, J.D., DE WET, J.S., VAN RENSBURG, A.J. (1975). A serological survey of toxoplasmosis in the Bloemfontein area. *South African medical journal*. **49**:1441-1443.
- CANDOLFI, E., BERG, M., KIEN, T. (1993). Approche de la séroprévalence à Pointe Noire au Congo. Étude sur un échantillonnage de 310 sujets. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **86**:358-362.
- CARTER, F.S. & FLECK, D.G. (1966). The incidence of *Toxoplasma* antibodies in the Sudanese. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **60**(4):539-543.
- CLERCQ, D.D., HENRY, M.C., LOKOMBE, B. (1986). Serological observations on toxoplasmosis in Zairian AIDS patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **80**:613-614.
- DELACROIX, Y. & LAPORTE, P.H. (1989). Approche de la prévalence toxoplasmique dans une zone Sahélienne. *Médecine Tropicale*. **49**:161-162.
- DENIAU, M., LEKE, R., MARTY, P., TEMOLE, R., VILLEVIEILLE, J. (1987). Toxoplasmose et femmes enceintes au Cameroun. *Médecine d'Afrique noire*. **34**:643-648.

- DENIAU, M., TOURTE-SCHAEFFER, C., AGBO, K., DUPOUY-CAMET, J., HEYER, C., LAPIERRE, J. (1991). Evaluation des risques de toxoplasmose congénitale au Togo. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **84**:664-672.
- DEVELOUX, M., CANDOLFI, E., HANGA-DOUMBO, S., KIEN, T. (1988). La toxoplasmose au Niger. Sondage sérologique à partir de 400 sujets. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **81**:253-259.
- DEVELOUX, M., CHANDENIER, J., TINNI, A., PAUCHET, B. (1989). La toxoplasmose chez les femmes enceintes de Niamey (Niger). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **82**:406-409.
- DIALLO, S., NDIR, O., DIENG, Y., LEYE, A., DIENG, T., ISRA BELLA, B.A.H., DIOP, B.M., GAYE, O., FAYE, O. (1996). Séroprévalence de la toxoplasmose à Dakar (Sénégal) en 1993 : étude chez les femmes en période de procréation. *Cahiers Santé*. **6**:102-106.
- DOBY, J.R., BRUSELLE-CHAPUIS, C., DEUNFF, J., BRUSELLE, D. (1986). Enquête sérologique sur la Toxoplasmose humaine dans le nord de la Côte-d'Ivoire. *Bulletin de la Société française de Parasitologie*. **4**:211-216.
- DOERING, E., REITER-OWONA, I., BAUER, O., KAISI, M., HLOBIL, H., QUADE, G., HAMUDU, N.A., SEITZ, H.M. (1995). *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women and their newborns in Dar es Salaam, Tanzania. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **52**:546-548.
- DOUCET, J., POTHIER, M.A., CASTANIER, C. (1971). Premiers résultats sur l'application de la technique d'immunofluorescence indirecte à l'étude de la toxoplasmose à Abidjan. *Lyon médical*. **225**:199-200.
- DOUCET, J., POTHIER, M-A., RITTER, J., LOUBAO, E., N'DRI ASSALE, G. (1972). Dépistage de la toxoplasmose en consultation prénatale au CHU d'Abidjan par immunofluorescence indirecte (à propos de l'examen de 578 sérums). *Annales de l'Université d'Abidjan*. **6**:217-218.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., CARME, B., SEGUELA, J.P., CHARLET, J.P. (1990a). La toxoplasmose en République du Congo. Étude séro-épidémiologique. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **83**:349-359.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., FERLY-THERIZOL, M., SEGUELA, J.P. (1989). Epidémiologie de la toxoplasmose en Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **82**:513-519.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., TSHIKOM, K., MWINBA, K., NSINBA, SALAUN, J.J., BROCHIER, B., SEGUELA, J.P. (1990b). Étude épidémiologique de la toxoplasmose à Kinshasa et dans le Bas Zaïre. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*. **70**:289-296.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., MEUNIER, M., SEGUELA, J.P. (1990c). La toxoplasmose en République Centrafricaine (RCA). Étude complémentaire en zone rurale. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **83**:342-348.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., RIVALIER, P.M., SEGUELA, J.P. (1985a). La toxoplasmose en zone tropicale africaine. Étude préliminaire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **78**:795-800.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., SEGUELA, J.P. (1988). L'I.S.A.G.A. et l'E.L.I.S.A. IgM : leur utilisation pour une étude épidémiologique de la toxoplasmose en Afrique. *Bulletin de la Société française de Parasitologie*. **6**:47-50.
- DUMAS, N., CAZAUX, M., SEGUELA, J.P., CHARLET, J.P. (1991). Epidémiologie de la toxoplasmose chez la mère et l'enfant en Afrique tropicale. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **84**:645-658.
- DUMAS, N., LE GUENNO, B., DIGOUTTE, J.P., SEGUELA, J.P. (1990d). Toxoplasmose en République du Sénégal. Sondage séro-épidémiologique. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **83**:283-285.
- DUMAS, N., MEUNIER, M., SEGUELA, J.P. (1985b). La toxoplasmose en République Centrafricaine (RCA). Premier sondage. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **78**:221-225.
- DUONG, T.H., MARTZ, M., RONDI, M.L., RICHARD-LENOBLE, D., KOMBILA, M. (1992). Toxoplasmose au Gabon. Résultats d'une enquête séro-épidémiologique. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **5**:368-373.
- EL-NAWAWY, A., SOLIMAN, A.T., EL-AZZOUNI, O., AMER, E.S., KARIM, M.A., DEMIAN, S., EL-SAYED, M. (1996). Maternal and neonatal prevalence of *Toxoplasma* and cytomegalovirus (CMV) antibodies and hepatitis-B antigens in an Egyptian rural area. *Tropical Diseases Bulletin*. **93**:886.
- EXCLER, J.L., PRETAT, E., POZZETTO, B., CHARPIN, B., GARIN, J.P. (1988). Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in Burundi. *Annals of tropical medicine and parasitology*. **39**:139-141.
- FAN, C.K., HUNG, C.C., SU, K.E., SUNG, F.C., CHIOU, H.Y., GIL, V., FERREIRA, M.D., CARVALHO, J.M., CRUZ, C., LIN, Y.K., TSENG, L.F., SAO, K.Y., CHANG, W.C., LAN, H.S., CHOU, S.H. (2006). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among pre-schoolchildren aged 1-5 years in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe, Western Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **100**:446-449.

- FAYE, P., LEYE, A., DIENG, Y., RICHARD-LENOBLE, D., DIALLO, S. (1998). La toxoplasmose à Dakar. Sondage séroépidémiologique chez 353 femmes en âge de procréer. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **91**:249-250.
- FLATAU, E., NISHRI, Z., MATES, A., QUPTY, G., REICHMAN, N., RAZ, R. (1993). Seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* among recently immigrating Ethiopian Jews. *Israel journal of medical sciences*. **29**:395-397.
- GARIN, J.P., BAYLET, R., DESPEIGNES, J., KIEN-TUONG, T., RIOCHE, M., CORREA, P. (1971). Recherches épidémiologiques sur la toxoplasmose humaine et animale au Sénégal. *Médecine d'Afrique Noire*. **18**:751-753.
- GASCON, J., TORRES-RODRIGUEZ, J.M., SOLDEVILA, M., MERLOS, A.M. (1989). Sero-epidemiologia de la toxoplasmosis en dos comunidades de Rwanda (Africa Central). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. **31**:399-402.
- GILLE, E., BJORKMAN, A., ROTH, I., LJUNGSTROM, I., LINDER, E. (1992). Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in a Tanzanian village. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **86**:263-265.
- GRIFFIN, L. & WILLIAM, K.A. (1983). Serological and parasitological survey of blood donors in Kenya for toxoplasmosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **77**:763-766.
- HOVE, T. & DUBEY, J.P. (1999). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic pigs and some wild game species from Zimbabwe. *The Journal of parasitology*. **85**:372-373.
- JEMINI, L., BCHIR, A., FAURANT, C., HEYER, F., BRAHAMS, M.S., AYACHI, S., DJAIDANE, A., BOUZAKOURA, C., LAPIERRE, I. (1986). La toxoplasmose et la rubéole à Sousse : une étude séroépidémiologique en milieu scolaire. *La Tunisie Médicale*. **64**:8-9.
- JOUBERT, J., EVANS, A. FERNANDES, L. STEELE, A. (1998). *Toxoplasma Gondii* : its sero-prevalence in africa. *Parasitology International*. **47**:311.
- JULVEZ, J., MAGNAVAL, J.F., MEYNARD, D., PERIE, C., BAIXENCH, M.T. (1996). Séro-épidémiologie de la toxoplasmose à Niamey, Niger. *Médecine Tropicale*. **56**:48-50.
- KAGAN, I.G. & CAHILL, K.M. (1968). Parasitic serologic studies in Somaliland. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **17**:392-396.
- KENNOU, M.F. (1982). Epidémiologie de la toxoplasmose chez les femmes enceintes tunisiennes. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*. **59**:205-211.
- KHADRÉ, M.A. & EL NAGEH, M.M. (1987). Serological survey for toxoplasmosis in Tripoli, Lybia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **81**:761-763.
- KOENIG-ROMBOURG, H. (1973). Contribution à l'étude de la toxoplasmose au Sénégal. Enquête sérologique portant sur 270 sérums testés par immunofluorescence. *Médecine Tropicale*. **33**:611-616.
- KOUAKOU, K.D., KASSI, E.A., OUHON, J., ENOH, G.S.S., ASSOUMOU, A., KONE, M. (1993). Aspects évolutifs du sérodiagnostic de la toxoplasmose en Côte d'Ivoire. *Publication Médical Africaine*. **126**:15-20.
- LAPIERRE, J., VOVOR, V.M., AMEDONE, A., HOLLER, C., TOURTE-SCHAEFFER, C., AGBO, N. (1976). Première enquête séro-immunologique sur la toxoplasmose au Togo. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **69**:466-478.
- LEDRU, E., DIAGBOUGA, S., LEDRU, S., CAUCHOIX, B., YAMEOGO, M., CHAMI, D., SANOU, O., CHIRON, J.P. (1995). A study of *Toxoplasma* and *Cytomegalovirus* serology in tuberculosis and in HIV-infected patients in Burkina Faso. *Acta Tropica*. **59**:149-154.
- LELONG, B., RAHELIMINO, B., CANDOLFI, E., RAVELOJOANA, B.J., VILLARD, O., RASAMINDRAKOTROKA, A.J., KIEN, T. (1995). Prévalence de la toxoplasmose dans une population de femmes enceintes à Tananarive (Madagascar). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **88**:46-49.
- LOPEZ, R., CONTRERAS, R., FONT, L., VEGA, O. (1992). Presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en jóvenes procedentes del Continente Africano. *Revista latinoamericana de microbiología*. **34**:49-52.
- LUDLAM, G.B. (1965). *Toxoplasma* antibodies in inhabitants of Niger Delta. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **59**:83-86.
- LUDLAM, G.B. & SOMERS, K. (1966). Incidence of *Toxoplasma* antibodies in Ugandans with special reference to cardiomyopathy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **60**:621-625.
- MAIGA, I., KIEMTORE, P., TOUNKARA, A. (2001). Prévalence des anticorps antitoxoplasmiques chez les malades atteints du syndrome d'immuno-déficience acquise et les donneurs de sang de Bamako. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **94**:268-270.

- MAIGA, Y., SAMAKE, M., MARJOLET, M. (1984). Toxoplasmose à Bamako (République du Mali). Prévalence de l'affection chez les femmes en âge de procréation. *Médecine Tropicale*. **44**:319-322.
- MAKUWA, M., LOEMBA, H., NGOUONIMBA, J., BEUZIT, Y., LOUIS, J.P., LIVROZET, J.M. (1994). Sérologie de la toxoplasmose et du *cytomégalo*virus des malades infectés par le VIH au Congo. *Cahiers Santé*. **4**:15-19.
- MARTY, P., REYNES, J., LE FICHOUX, Y. (1985). Contribution à l'étude de la toxoplasmose chez les femmes enceintes au Cameroun. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **78**:623-628.
- MASON, P.R., JACOBS, M.R., FRIPP, P.J. (1974). Serological survey of toxoplasmosis in the Transvaal. *South African medical journal*. **17**,48:1707-1709.
- MESSEDI-TRIKI, S., MEMMI, A., BEN RACHID, M.S. (1982). Aspects épidémiologiques de la toxoplasmose en Tunisie. *Le Pharmacien du Maghreb*. **2**:105-108.
- MILLOGO, A., KI-ZERBO, G.A., TRAORE, W., SAWADAGO, A.B., OUEDROGO, I., PEGHINI, M. (2000). Sérologie toxoplasmique chez les patients infectés par le VIH et suspects de toxoplasmose cérébrale au Centre hospitalier de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **93**:17-19.
- MONJOUR, L., NIEL, G., PALMINTERI, R., SIDATT, M., RIBEIRO, C., ALFRED, C., GENTILINI, M. (1983). An epidemiological survey of toxoplasmosis in Mauritania. *Tropical and geographical medicine*. **35**: 21-24.
- MORVAN, J.M., MAMBELY, R., SELEKON, B., COUMANZI-MALO, M.F. (1999). La toxoplasmose à l'Institut Pasteur de Bangui, République Centrafricaine (1996-1998) : données sérologiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **30**:248-251.
- NABIAS, R., NGOUAMIZOKOU, A., MIGOT-NIABAS, F., MBOUMITSIMBI, R.A., LANSOUD-SOUKATE, J. (1998). Enquête sérologique sur la toxoplasmose chez les consultants du centre de PMI de Franceville (Gabon). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. **91**:318-320.
- NDUMBE, P.M., ANDELA, A., NKEMNKENG-ASONG, J., WATONSI, E., NYAMBI, P. (1992). Prevalence of infections affecting the child among pregnant women in Yaounde, Cameroon. *Medical Microbiology and Immunology (Berl)*. **181**:127-130.
- NOZAIS, J-P., DOUCET, J., TIACOH, L., GUEUNIER, M. (1975). Étude de la prévalence de la toxoplasmose en Côte d'Ivoire. (Résultats portant sur 4769 sérums étudiés par immunofluorescence). *Médecine Tropicale*. **35**:413-417.
- OLUSI, T.A., AJAYA, J.A., MAKINDE, A.A. (1994). Antibodies to *Toxoplasma gondii*. In: a tar-eating population on Benue state, Nigeria. *Annals of tropical medicine and parasitology*. **88**:217-218.
- OLUSI, T., GROß, U., AJAYI, J. (1996). High incidence of toxoplasmosis during pregnancy in Nigeria. *Scandinavian journal of infectious diseases*. **28**:645-646.
- OMLAND, T., TONJUM, A., FRENTZEL-BEYME, R.R. (1977). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in different populations of native Liberians. *Tropenmedizin und Parasitologie*. **28**:377-376.
- ONADEKO, M.O., JOYNSON, D.H.M., PAYNE, R.A. (1992). The prevalence of *Toxoplasma* infection among pregnant women in Ibadan, Nigeria. *The Journal of tropical medicine and hygiene*. **95**:143-145.
- ORIO, J., DEPOUX, R., HEULS, J., CECCALDI, J. (1958). Contribution à l'étude de la toxoplasmose en Afrique Equatoriale. Enquête sérologique sur la toxoplasmose humaine au Moyen Congo. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*. **51**:66-75.
- OSIYEMI, T.I., SYNGE, E.M., AGBONLAHOR, D.E., AGBAYWE, R. (1985). The prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in man in Plateau State and meat animals in Nigeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **79**:21-23.
- PANDEY, V.S. & VAN KNAPEN, F. (1992). The seroprevalence of toxoplasmosis in sheep, goats and pigs in Zimbabwe. *Annals of tropical medicine and parasitology*. **86**:313-315.
- PENA, H.F., SOARES, R.M., AMAKU, M., DUBEY, J.P., GENNARI, S.M. (2006). *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: Seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Research in veterinary science*. **81**:58-67.
- QUILICI, M., RANQUE, P.H., TOUNKARA, A., ROUGEMONT, A. (1976). La toxoplasmose en République du Mali. Approche épidémiologique. *Acta Tropica*. **33**:229-239.
- RODIER, M.H., BERTHONNEAU, J., BOURGOIN, A., GIRAUDEAU, G., AGIUS, G., BURUCOA, C., HEKPAZO, A., JACQUEMIN, J.L. (1995). Seroprevalence of *Toxoplasma*, malaria, rubella, *cytomégalo*virus, HIV and treponemal infections among pregnant women in Cotonou, Republic of Benin. *Acta Tropica*. **59**:271-277.

- SCHNEIDER, R., TABELT-DERRAZ, O., DEDET, J.P., BELKAID, M., LAMRI, I. (1977). Étude de 2438 sérodiagnostics de toxoplasmose par immunofluorescence à l'Institut Pasteur d'Alger : corollaries épidémiologiques et cliniques. *Archives de l'institut Pasteur d'Alger*. **52**:95-104.
- TENTER, A.M., HECKEROTH, A.R., WEISS, L.M. (2000). *Toxoplasma gondii* : from animals to humans. *International journal for parasitology*. **30**:1217-1258.
- THIMOSSAT, P. (1985). Épidémiologie de la toxoplasmose en zone tropicale et subtropicale. *Médecine d'Afrique Noire*. **32**:209-225.
- THOMAS, V., FABIYI, A., ADENIYI, A. (1981). Prevalence of antibodies to parasitic infections in Nigerian children. *The Journal of tropical medicine and hygiene*. **84**:113-116.
- TOURTE-SCHAEFFER, C., DUPOUY-CAMET, J., LAPIERRE, J. (1987). Contribution à l'étude de la toxoplasmose chez les femmes enceintes au CHU de Lomé (Togo). *Médecine d'Afrique Noire*. **34**:639-641.
- VALLOCHI, A.L., MUCCIOLI, C., MARTINS, M.C., SILVEIRA, C., BELFORT, R., RIZZO, L.V. (2005). The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. *American journal of ophthalmology*. **139**:350-351
- VERCRUYSSSE, J., DE SHAMPHELEIRE, I., VAN DE VELDEN, L. (1984). Contribution à l'étude de la toxoplasmose humaine à Pikine (Sénégal). *Médecine d'Afrique noire*. **31**:619-620.
- WERY-PASKOFF, S., MAERTENS, K., HELSEN, H., GATTI, F. (1970). Contribution à l'étude de la toxoplasmose à Kinshasa. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*, **50**:703-710.
- WOLDEMICHAEL, T., FONTANET, A., SAHLU, T., GILIS, H., MESSELE, T., RINKE DE WIT, T.F., YENENEH, H., COUTINHO, R.A., VAN GOOL, T. (1998). Evaluation of the Einken latex agglutination test for anti-*Toxoplasma* antibodies and seroprevalence of *Toxoplasma* infection among factory workers in Addis Ababa, Ethiopia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **92**:401-403
- YALA, F., OKERAMO, V., CHOISY, C. (1983). Contribution aux enquêtes sur la sérologie toxoplasmique en Afrique centrale. Première approche chez la femme enceinte à Brazzaville. *Afrique Médicale*, **22**:207-212.
- ZANNOU, D.M., KINDE-GAZARD, D., VIGAN, J., ADE, G., SEHONOU, J.J., ATADOKPEDE, F., AZONDEKON, A., GBEDO, C., ANAGONOU, S.Y., HOUNGBE, F. (2004). Profil clinique et immunologique des patients infectés par le VIH dépistés à Cotonou, Bénin. *Médecine et maladies infectieuses*. **34**:225-228.
- ZRIBI, M., REKIK, S., CHAABOUNI, S., GOULLIER, A., MONTSERRAT, C., AMBROISE, P. (1982). Toxoplasmose : une femme sur deux en danger. *Maghreb Médical*, **44**:43-47.
- ZUBER, P. & JACQUIER, P. (1995). Epidemiology of toxoplasmosis : worldwide status. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. **65**(Suppl):19-22.
- ZUMLA, A., SAVVA, D., WHEELER, R.B., HIRA, S.K., LUO, N.P., KALEEBU, P., SEMPALA, S.K., JOHNSON, J.D., HOLLIMAN, R. (1991). *Toxoplasma* serology in Zambian and Ugandan patients infected with the human immunodeficiency virus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **85**:227-229.



## Annexe 6 : Tableaux des données extraites des études incluses pour la revue bibliographique de la séroprévalence de la toxoplasmose sur le continent africain de 1950 à 2006 (tableaux A à G)

**Tableau A :** Méthodes épidémiologiques utilisées dans les études sélectionnées sur la séroprévalence de la toxoplasmose dans la population générale (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte suite à la première lecture).

References	Country	Calendar period	Geographic level	Population characteristics	Study design	Selection process	Diagnostic tests used*/threshold (for IgG)
Balozet <i>et al.</i> , 1953	Algeria	ND	Subnational jurisdiction (Alger)	Patients	Prospective study	Non randomised sampling	DT color reaction
Schneider <i>et al.</i> , 1977	Algeria	1969-1973	Town (Alger)	General population	retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	IFA: 1/20
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Burkina Faso	ND	ND	young girls	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32
Excler <i>et al.</i> , 1988	Burundi	1985	Subnational jurisdiction	General population	Prospective study	Random sampling	ELISA (Behring): 4 UI/ml, IFA (Biomerieux): 8 UI/ml
Berengo <i>et al.</i> , 1974	Central African Republic	1966-1968	Subnational jurisdiction/Town (Tobale, Mbaiki, Bagandu, Loko, Mongumba, Nola, Dimako (Cameroon))	Babinga Pygmies	retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	DT: 1/10
Dumas <i>et al.</i> , 1985b	Central African Republic	ND	Town (Bangui, Boheng, Boguila, Paoua)	General population + Patients	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32 + IFA and HT for the patients
Dumas <i>et al.</i> , 1990c	Central African Republic	1985-1986	Subnational jurisdiction/Town (Sahel area, Mélé area, Bria, Bambari, Bangassou, Paoua)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32
Morvan <i>et al.</i> , 1999	Central African Republic	1996-1998	Town (Bangui)	General population	Retrospective study	Non randomised sampling	ELISA indirect (Sanofi Diagnostics Pasteur): 6 UI/ml
Dumas <i>et al.</i> , 1988	Democratic Republic of the Congo/Congo	ND	Subnational/town (Kwilu-Ngombo/Kibangou, Ossélé, Abala, Oyo, Linzolo)	Children	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): ND
Dumas <i>et al.</i> , 1990a	Democratic Republic of the Congo	1985-1987	Town (Kwilu-Ngombo/Kinshasa)	General population	Prospective study	Random sampling	LAT (Biomerieux): 1/32 ISAGA (children)
Orio <i>et al.</i> , 1958	Congo	ND	Town (Brazzaville)	Patients all coming and clinicals cases	Retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	CFT: 1/8
Dumas <i>et al.</i> , 1990b	Congo	1986-1989	Subnational jurisdiction/town (Linzolo, Divinié, Kibangou, Ossélé, Abala, Oyo, Brazzaville, Bacongo, Poto-poto )	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): TFM
Candolfi <i>et al.</i> , 1993	Congo	ND	Town (Pointe-Noire)	Hospital patients	Retrospective study	Non randomised sampling	IFA: 10 UI
Botros <i>et al.</i> , 1972	Egypt	1969	Town (Tanta)	Hospital patients		Non randomised sampling	IFA: 1/16, HT: 1/16
Flatau <i>et al.</i> , 1993	Ethiopia	ND	immigrated to israel (national)	General population	Prospective study	Exhaustive without information	IFA: 1/16, DT (for IFA +): ND
Woldemichael <i>et al.</i> , 1998	Ethiopia	1995-1996	Town (Addis Ababa)	Factory worker (18-45 years)	Prospective study	Random sampling	DT: 1 UI/ml, LAT (Einken): 1/32
Beauvais <i>et al.</i> , 1978	Gabon	ND	Subnational jurisdiction/town (Haut Ogooué area and Ogooué-Lolo area)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFI: 10 UI, DA: 1/4
Duong <i>et al.</i> , 1992	Gabon	ND	Subnational jurisdiction/town (Libreville, Lébamba, Makokou, Lastourville, Woleu-Ntem area)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Sanofi Diagnostics Pasteur): 8 UI/ml
Nozais <i>et al.</i> , 1975	Ivory Coast	ND	Town (Abidjan)	Adult and children	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Merieux): 1/20
Doby <i>et al.</i> , 1986	Ivory Coast	1982-1983	Subnational jurisdiction (Korhogo area)	General population		Non randomised sampling	HT: 15 UI
Dumas <i>et al.</i> , 1989	Ivory Coast	1986-1988	National (Abidjan, Bonoua, Bin-Houyé, Odiénné)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): TFM
Kouakou <i>et al.</i> , 1993	Ivory Coast	1983-1990	National (Abidjan)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Biomerieux): 10 UI/ml
Adou-Bryn <i>et al.</i> , 2004	Ivory Coast	2000-2001	Town (Yopougon, Abidjan)	Women of reproductive age	Transversal study	Random sampling	IFA (Biomerieux): 10 UI
Griffin <i>et al.</i> , 1983	Kenya	ND	Town (Nairobi, Kiambu, Nakuru and Eldoret)	Blood donors	Retrospective study	Non randomised sampling	HT: ND ; DT: 15 UI
Bowry <i>et al.</i> , 1986	Kenya	ND	Town (Nairobi)	Children	Prospective study	Non randomised sampling	HT: 1/64
Omland <i>et al.</i> , 1977	Liberia	1968-1970	Subnational jurisdiction/town (Monrovia, Kakata, Bong Town, New Yekepa, ... )	General population	Retrospective study	Random sampling, a partly also by opportunist screening	DT: 1/4 or 1/10
Khadre <i>et al.</i> , 1987	Libya	1981-1985	Town (Tripoli)	General population	Retrospective study	Non randomised sampling	LAT (Eiken): 1/32

References	Country	Calendar period	Geographic level	Population characteristics	Study design	Selection process	Diagnostic tests used*/threshold (for IgG)
Quilici <i>et al.</i> , 1976	Mali	ND	Subnational jurisdiction (Bamako, Daressalam, Gao area)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFA: 10 UI, DA: 1/8
Toukara <i>et al.</i> , 1978	Mali	ND	-	-	Retrospective study	-	-
Maïga <i>et al.</i> , 1984	Mali	1983	Town (Bamako, Bagueda)	Women of reproductive age	Prospective study	Non randomised sampling	DT: 2 UI
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Mali	ND	ND	Children/craftsmen/patients	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32
Maïga <i>et al.</i> , 2001	Mali	1996-1997	Town (Bamako)	Blood donor HIV negative	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA (Sanofi Diagnostics Pasteur): ND, LAT 1/16, DT
Biava <i>et al.</i> , 1983	Morocco	ND	Town (Marrakech)	Women of reproductive age	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Behring) : 10 UI/ml, HT (Fumouze) : 1/80
Monjour <i>et al.</i> , 1983	Mauritania	1973	National	Children, adolescents and preadults	Prospective study	Random/exhaustive without information	IFA: 10 UI/ml
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Niger	ND	ND	Infants and their mother	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32
Develoux <i>et al.</i> , 1988	Niger	ND	Town (Niamey)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFA: 10 UI
Delacroix <i>et al.</i> , 1989	Niger	1986-1987	Town (Akokan)	Women of reproductive age	Prospective study	Non randomised sampling	HT (Fumouze): ND, DA: ND, IFA (Biomerieux): 10 UI/ml
Julvez <i>et al.</i> , 1996	Niger	1992	Town (Niamey)	General population	Prospective study	Random sampling	IFA (Biomerieux) : 12 UI
Ludlam <i>et al.</i> , 1965	Niger	1960	Subnational jurisdiction (Degema division, Ahoada division, Ogoni division and town of Tabangh)	adult population	Prospective study	Non randomised sampling	DT: ND
Thomas <i>et al.</i> , 1981	Nigeria	ND	Town (Ibadan)	Children in pediatric practice	Retrospective study	Non randomised sampling	IFA: 1/16 (1/64)
Osiyemi <i>et al.</i> , 1985	Nigeria	ND	Subnational jurisdiction/town (Jos/Vom)	see article Hospital patients	Prospective study	Non randomised sampling	HT (IHAT): 1/256
Olusi <i>et al.</i> , 1994	Nigeria	ND	Town (Makurdi, Gboko, Otukpo and Oju)	Rat eating population	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA: ND
Olusi <i>et al.</i> , 1996	Nigeria	ND	Subnational jurisdiction/town (Makurdi/Gboko)	Women of reproductive age (which pregnant Women)	Prospective study	Random sampling	DA (Biomerieux): ND, CFT: ND, DT: ND, ELISA: ND
Gascon <i>et al.</i> , 1989	Rwanda	ND	Town (Nyarutovu, Ngenda)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	DA (Biomerieux): 1/40
Fan <i>et al.</i> , 2006	Sau Tome and Principe	2003-2004	National	Children	Retrospective study	Non randomised sampling	LAT (Eiken): 1/32
Garin <i>et al.</i> , 1971	Senegal	1964 and 1967	Town (Dakar)	Adult	Retrospective study	Non randomised sampling	DT 1/20 with sometimes IFA: ND, CDT (italdiagnostic): 1/8
Koenig-Rombourg <i>et al.</i> , 1973	Senegal	1973	Town (Dakar Fann and Diagoniaw)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFI : 1/25
Dumas <i>et al.</i> , 1990d	Senegal	1987	National (North area, Sine Saloum aera, South Oriental area and Dakar)	General population (which pregnant Women)	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): ND
Diallo <i>et al.</i> , 1996	Senegal	1993	Town (Dakar)	Women of reproductive age (which pregnant Women)	Prospective study	Random sampling	IFA (Biomerieux): 10 UI/ml
Kagan <i>et al.</i> , 1968	Somalia	ND	Town (Giohar, Mahaddei-Uen, El Ad and El Gambole)	Clinically heathy men	Prospective study	Non randomised sampling	HT: 1/256
Ahmed <i>et al.</i> , 1988	Somalia	ND	Town (Golweyn/Mogadishu)	General population (which pregnant Women)	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA: (OD) + 2SD
Carter <i>et al.</i> , 1966	Soudan	ND	National/Town (Kartoum, Gezira, Kassala, Abu Hamed, Western and Southern area)	General population	Retrospective study	Non randomised sampling	DT: 1/16
Abdel-Hameed, 1991	Soudan	ND	Subnational jurisdiction (Gezira aera)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Eiken): 1/64, + ELISA (PROMED Diagnostics)
Mason <i>et al.</i> , 1974	South Africa	ND	Subnational jurisdiction (Transvaal : Johannesburg)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFA
Gille <i>et al.</i> , 1992	Tanzania	1988	Village (Nyamisati)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	DA (Biomerieux): 1/40, DT , confirmation with immunoblotting
Lapierre <i>et al.</i> , 1976	Togo	ND	Town (Lome, Saude)	Midwife and schoolboy	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Merieux): 5 UI, DA (Mérieux)
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Togo	ND	ND	General population	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32

References	Country	Calendar period	Geographic level	Population characteristics	Study design	Selection process	Diagnostic tests used*/threshold (for IgG)
Agbo <i>et al.</i> , 1991	Togo	1988-1989	Town (Lomé)	Hospital patients (with pregnant women)	Retrospective study	Non randomised sampling	IFA (Biomerieux)
Deniau <i>et al.</i> , 1991	Togo	1985-1987	National/Town (Lomé, Atakpamé,afagnan, Kpalimé, Kara and Mango)	Women	Prospective study	(Non) randomised	ELISA
Ben Rachid <i>et al.</i> , 1979	Tunisia	1968-1969	Subnational jurisdiction/Town (Tunis area)	varied	Retrospective study	Non randomised sampling	DT: 1/10
Messedi <i>et al.</i> , 1982	Tunisia	1979-1982	Town (Tunis and Nabeul)	Cordon blood, General population	Retrospective study	Non randomised sampling	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): 10 UI ; LAT (Biomerieux): ND
Zribi <i>et al.</i> , 1982	Tunisia	ND	Town (Sfax)	General population	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur, Biomerieux): ND
Jemni <i>et al.</i> , 1986	Tunisia	ND	Town (Sousse)	Young girls (in school)	Sondage en grappe	Random sampling	ELISA (Organon Teknika): 1/100
Boutrabine <i>et al.</i> , 2001	Tunisia	ND	Subnational jurisdiction/town (Béja : Medjez el Bab/Goubellat)	General population	Prospective study	Exhaustive without information	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): 10 UI/ml, ELISA (Pasteur): 6 UI
Ludlam <i>et al.</i> , 1966	Uganda	ND	Town (Kampala)	Hospital patients (with cardiomyopathy) and blood donors	Retrospective study	Non randomised sampling	DT: 1/8
Zumla <i>et al.</i> , 1991	Uganda/Zambia	ND	Town (Lusaka/Entebbe)	HIV negative	Retrospective study	Non randomised sampling	DT: 4 UI, LAT: 1/16
Lopez <i>et al.</i> , 1992	Saharawi Arabic Democratic Republic/Angola/Ethiopia/Ghana	ND	African student arrived in Cuba	ND	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA: ND
Joubert <i>et al.</i> , 1998	Angola/South Africa/Namibia	ND	ND	ND	Retrospective study	ND Non randomised sampling	ELISA (Clark Laboratories): ND
Dumas <i>et al.</i> , 1991	Congo/Ivory Coast/Democratic Republic of the	1989	National/Town	Women, children, mother and sometimes their child	Prospective study	ND Non randomised sampling	LAT (Einken): TFM

\* ND = Not Detailed ; DA = Direct Agglutination ; HT = Haemagglutination Test ; LAT = Latex Agglutination Test ; ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ; IFA = ImmunoFluorescence Assay ; ISAGA = ImmunoSorbent Agglutination Assay ; DA= direct agglutination test ; DT=Dye Test ; CFT = Complement Fixation Test ; CDT : Complement Deviation Test ; RT : Remington Test ; TFM : Thresholds Fixed by Manufacturing; RS: Random sampling ; No RS: No random sampling

**Tableau B :** Méthodes épidémiologiques utilisées dans les études sélectionnées sur la séroprévalence de la toxoplasmose chez les VIH+ (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte suite à la première lecture).

References	Country	Calendar period	Geographic level	Study design	Selection process	Diagnostic tests used*/Threshold
Zannou <i>et al.</i> , 2004	Benin	2001-2002	Town (Cotonou)	Prospective study	Exhaustive	ND: IgG 300 UI/l
Ledru <i>et al.</i> , 1995	Burkina Faso	1991	Town (Bobo-Dioulasso)	Prospective study	Exhaustive and Random	IFA (Biomerieux): 7,5 UI/ml
Millogo <i>et al.</i> , 2000	Burkina Faso	1995-1998	Town (Bobo-Dioulasso)	Prospective study	Exhaustive	IFA (Biomerieux): ND
Makuwa <i>et al.</i> , 1994	Congo	ND	Town (Brazzaville)	Prospective study	Non randomised sampling	HA ("Toxo-Ha-Kit") Biomerieux: ND
Clercq <i>et al.</i> , 1986	DRC	ND	Town (Kinshasa)	Retrospective serological study	Exhaustive	IFA (Remington test for IgM): ND ; DAT (IgG) : ND
Woldemichael <i>et al.</i> , 1998	Ethiopia	1995-1996	Town (Addis Ababa)	Prospective study	Exhaustive	DT: 1 UI/ml, LAT (Einken): 1/32
Brindle <i>et al.</i> , 1991	Kenya	ND	Town (Nairobi)	Prospective study	Random 94 HIV+ and 86 HIV-	ELISA (Wellcome Diagnostics): 60 UI/ml, LAT: 1/16, DT
Maïga <i>et al.</i> , 2001	Mali	1996-1997	Town (Bamako)	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA (Sanofi Diagnostics Pasteur): ND, LAT (Sanofi Diagnostics Pasteur) 1/16, DT
Zumla <i>et al.</i> , 1991	Uganda/Zambia	ND	Town (Lusaka/Entebbe)	Retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	DT: 4 UI, LAT: 1/16

\* ND = Not Detailed ; DA = Direct Agglutination ; Haemagglutination Test ; LAT = Latex Agglutination Test ; ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ; IFA = ImmunoFluorescence Assay ; ISAGA = ImmunoSorbent Agglutination Assay ; DA= direct agglutination test ; DT=Dye Test ; CFT = Complement Fixation Test ; CDT : Complement Deviation Test ; TFM : Thresholds Fixed by Manufacturing; RS: Random sampling; No RS: No random sampling

**Tableau C : Méthodes épidémiologiques utilisées dans les études sélectionnées sur la séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte suite à la première lecture).**

References	Country	Calendar period	Geographic level	Study design	Selection process	Diagnostic tests used*/Threshold
						IgG
Schneider <i>et al.</i> , 1977	Algeria	1969-1973	Town (Alger)	Retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	IFA: 1/20
Rodier <i>et al.</i> , 1995	Benin	1993	Town (Cotonou)	Prospective study	Random	ELISA (Sanofi Diagnostics Pasteur): TFM, FA (Biomerieux): TFM, DA (Biomerieux): TFM
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Burkina Faso	ND	ND	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux)
Marty <i>et al.</i> , 1985	Cameroon	1982-1983	Subational jurisdiction/Town (N'kongsamba, Bafang, Bandjoun, Mbouda)	Prospective study	Non randomised sampling	IFA: 12 UI/ml
Deniau <i>et al.</i> , 1987	Cameroon	1981-1984	Subational jurisdiction/Town (N'Kongsamba, Bafang, Bandjoun, Mbouda, Yaoundé, Maga, Buea)	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): 12,5 UI/ml
Ndumbe <i>et al.</i> , 1992	Cameroon	1989-1990	Town (Yaoundé)	Prospective study	Random	ELISA: ND
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Central Afr. Rep.	ND	Town (Bangui)	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux): 1/32 + IFI and HT
Yala <i>et al.</i> , 1983	Congo	1976-1980	Town (Brazzaville)	retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	DA (Biomerieux): 1/4, HT (Biomerieux) : 1/20, IFA (Biomerieux): 1/40
Wery-Paskoff <i>et al.</i> , 1970	DRC	ND	Town (Kinshasa)	Prospective study	Non randomised sampling and Random	IFA: 1/10
El-Nawawy <i>et al.</i> , 1996	Egypte			Prospective study	Random	
Billiault <i>et al.</i> , 1987	Gabon	1984	Subational jurisdiction ("Haut Ogooué" area)	Prospective study	Non randomised sampling	DA (Biomerieux): 4, IFA (Biomerieux): 10 UI/ml
Nabias <i>et al.</i> , 1998	Gabon	1995-1997	Town (Franceville, Haut-Ogooué district)	Prospective study	Exhaustive without information	LAT (Sanofi Diagnostics Pasteur): 4 UI/ml
Doucet <i>et al.</i> , 1971	Ivory Coast	ND	Town (Abidjan)	Prospective study	Non randomised sampling	IFA: 1/20
Lelong <i>et al.</i> , 1995	Madagascar	1992	Town (Antananarivo)	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA (Biomerieux): 10 UI/ml
Develoux <i>et al.</i> , 1989	Niger	ND	Town (Niamey)	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA (Behring): 6 UI
Onadeko <i>et al.</i> , 1992	Nigeria	ND	Town (Ibadan)	Prospective study	Non randomised sampling	D: 1/16
Garin <i>et al.</i> , 1971	Sénégal	1964 and 1967	Town (Dakar)	Retrospective seroprevalence	Exhaustive without information	DT: 1/20 (with sometimes CFT, IFI)
Vercruyse <i>et al.</i> , 1984	Sénégal	1982	Town (Pikine, Dakar)	Prospective study	Non randomised sampling	IFA (Hoechst-Tgy): ND
Dumas <i>et al.</i> , 1990d	Sénégal	1987	Town (Dakar)	Prospective study	Non randomised sampling	LAT (Biomerieux)
Fay <i>et al.</i> , 1998	Sénégal	1993	Town (Dakar)	Prospective study	Non randomised sampling	ELISA: 10 UI/ml
Brink <i>et al.</i> , 1975	South Africa	ND	Subational jurisdiction (Bloemfontein area)	Prospective study	Non randomised sampling	IFA modified by use of Evans blue as a counterstain*
Doehring <i>et al.</i> , 1995	Tanzania	1989-1991	Town (Dar es Salaam)	Prospective study	Non randomised sampling	DT: 1/4
Tourte-Schaefer <i>et al.</i> , 1987	Togo	1984-1985	Town (Lome)	Prospective study	Non randomised sampling	HT (Fumouze): 1/80
Kennou 1982	Tunisie	1979-1981	Town (Tunis)	Retrospective seroprevalence	Exhaustive without information	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): 10 UI, AD (Sanofi Diagnostics Pasteur): 1/16
Messedi <i>et al.</i> , 1982	Tunisia	1979-1982	Town (Tunis and Nabeul)	Retrospective seroprevalence	Non randomised sampling	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): 10 UI ; LAT (Biomerieux): ND
Ben Ayed <i>et al.</i> , 1994	Tunisie	1988-1991	Town (Tunis)	Prospective study	Exhaustive without information	IFA (Sanofi Diagnostics Pasteur): ND, AD (Sanofi Diagnostics Pasteur): ND

\* ND = Not Detailed ; DA = Direct Agglutination ; HT = Haemagglutination Test ; LAT = Latex Agglutination Test ; ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ; IFA = ImmunoFluorescence Assay ; ISAGA = ImmunoSorbent Agglutination Assay ; DA= direct agglutination test ; DT=Dye Test ; CFT = Complement Fixation Test ; CDT : Complement Deviation Test; TFM : Thresholds Fixed by Manufacturing; RS: randomised sampling; No RS: No randomised sampling

**Tableau D : Séroprévalence dans la population générale rapportée dans les 61 articles sélectionnés (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte suite à la première lecture).**

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			Global %
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	
<b>Balozet <i>et al.</i> , 1953</b>	Algeria	112	> 9,8				
<b>Schneider <i>et al.</i> , 1977</b>	Algeria	2438	53,2				
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1985a</b>	Burkina Faso	79	7,6	12-14 years			
<b>Excler <i>et al.</i> , 1987</b>	Burundi	622	44,1				
				Urban Low socio-economic group	< 15 years	53	34
					15-40 years	31	58
					> 40 years	5	80
				Urban Hight socio-economic group	< 15 years	33	9
					15-40 years	36	28
					> 40 years	7	55
				Plain (altitude : 1200-1800 m, equatorial, rainfall, 24°C)	< 15 years	65	32
					15-40 years	66	68
					> 40 years	19	74
				Crest (altitude : 1700-2200 m, very humid, 1600-2000 mm, 14°C)	< 15 years	56	29
					15-40 years	85	69
					> 40 years	23	87
				Central Platform (temperate, 900-1400°C, 18°C)	< 15 years	64	8
					15-40 years	55	44
					> 40 years	24	54
<b>Berengo <i>et al.</i> , 1974</b>	Central African Republic	480	39,8	Children	18	22,2	
				Youngs	108	31,5	
				Adults	283	42,8	
				Elderly	40	50,0	
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1985b</b>	Central African Republic	212 (North RCA)	40,5	Indeterminate	31	38,7	
				1-14 years	70	37	
				15--63 years	142	42	
		50 (Bangui's patients)		affected ocular, adenopathy, pregnancies			
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1990c</b>	Central African Republic	815	35,1	1-4 years	21	23,8	
							134/33,6
				5-9 years	56	42,9	
				10-14 years	57	28,1	
				15-19 years	73	23,3	
				20-24 years	97	30,9	313/30,7
				25-30 years	143	34,3	
				> 30 years	367	39,5	367/39,5
<b>Morvan <i>et al.</i> , 1999</b>	Central African Republic	1953	50,6	0-9 years	41	43,9	
				10-19 years	181	51,9	
				20-29 years	873	48,1	
				30-39 years	658	51,9	
				40-49 years	161	55,9	
				> 50 years	39	61,5	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			Global %
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	
<b>Dumas et al., 1988</b>	Congo	468		7 month-4 years	163	6,1	
				5-9 years	128	14,1	
				10-14 years	177	21,0	
<b>Dumas et al., 1990a</b>	Democratic Republic of the Congo	198		5-9 years	62	33,9	624
				Democratic Republic of the Congo	1748	Kwilu-Ngombo	
	15-30 years	209	41,6				
	> 30 years	267	50,2				
	Kinshasa	< 15 years	478				
		15-30 years	281	46,6			
<b>Orio et al., 1958</b>	Congo	1271	patients all coming 1139	0-2 years	14	0	10,27
				2-5 years	14	0	
				5-15 years	242	7,43	
				15-30 years	662	12,08	
				> 30 years	197	9,13	
				clinical cases 132	-	-	
<b>Dumas et al., 1990b</b>	Congo	2539	33,1	< 7 month	18	10,4	
				7 month-4 years	21	11,0	
				5-9 years	149	32,8	
				10-14 years	174	34,2	
				15-20 years	150	38,5	
				21-24 years	98	44,1	
				25-30 years	106	41,9	
				> 30 years	125	36,0	
<b>Candolfi et al., 1993</b>	Congo	310	41,9	1-5 years	47	21,3	
				6-10 years	32	34,3	
				11-15 years	34	44,1	
				16-20 years	42	47,6	
				21-30 years	79	41,7	
				31-40 years	57	59,6	
				41-50 years	19	47,3	
				<b>Botros et al., 1972</b>	Egypte	246	
<b>Flatau et al., 1993</b>	Ethiopia	144	34	0-9 years	11	0	
				10-19 years	18	16,7	
				20-39 years	52	32,7	
				> 40 years	63	46,0	
<b>Woldemichael et al., 1998</b>	Ethiopia	170	80,0 DT/77,6 LAT	Persons with HIV-1	62	74,2	
				Persons without HIV-1	108	83,3	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %
<b>Beauvais <i>et al.</i> , 1978</b>	Gabon	1448	52,6	0-5 years	26	15,4	
				5-10 years	37	32,4	
				10-15 years	22	59	
				15-20 years	122	49,2	
				20-30 years	287	52,2	
				> 30 years	719	54,2	
<b>Duong <i>et al.</i> , 1992</b>	Gabon	2324	62,7	6 month-4 years	181	35,0	
				5-9 years	389	51,0	
				10-14 years	412	63,0	
				15-19 years	357	64,0	
				20-24 years	248	69,0	
				25-30 years	256	70,0	
<b>Nozais <i>et al.</i> , 1975</b>	Ivory Coast	4769		> 30 years	481	75,0	
				2-5 years	59	39	
				6-10 years	115	67	
				11-16 years	195	79	
<b>Doby <i>et al.</i> , 1986</b>	Ivory Coast	1720	33,3	Adult	4400	78	
				0-3 years	-	6,2	
				3,5-6 years	-	-	
				6,5-10 years	-	-	
				10,5-15 years	-	-	
				15,5-20 years	-	-	
				20,5-30 years	-	-	
				30,5-40 years	-	-	
				40,5-50 years	-	-	
				≥ 50 years	-	72	
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1989</b>	Ivory Coast	2033	65,9	Abidjan (urban environment )	1202	70,0	
				Bonoua (lagoon zone)	200	55,6	
				Bin-Houyé (savanna)	355	66,1	
				Odienné (more dry)	276	37,2	
				7 month-4 years		15,9	
				5-9 years		40,2	
				10-14 years		52,3	
				15-19 years		58,3	
				20-24 years		61,3	
				25-30 years		61,3	
<b>Kouakou <i>et al.</i> , 1993</b>	Ivory Coast	25678	63,04	10 years		≈ 46	
				15 years		62,63	
				20 years		≈ 80	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %
<b>Griffin <i>et al.</i> , 1983</b>	Kenya	322 (HT)/299 (DT)	54 / 42	Nairobi	38	HT : 44,7	
				Kiambu	83	HT : 57,8	
				Nakuru	99	HT : 43	
				Eldoret	102	HT : 64,7	
<b>Bowry <i>et al.</i> , 1986</b>	Kenya	127	42,5	1-3 years	52	40,0	
				3,1-5 years	40	30,0	
				5,1-10 years	35	60,0	
<b>Omland <i>et al.</i> , 1977</b>	Liberia	390	58 (1/4) or 45 (1/10)	≤ 14 years	45	44,4 (1/4) or 35,5 (1/10)	
				15-24 years	97	71,1 (1/4) or 62,9 (1/10)	
				≥ 25 years	248	55,2 (1/4) or 39,1 (1/10)	
<b>Khadre <i>et al.</i> , 1987</b>	Libya	6501	-	Adult males	2000	51,6 (1/16) or 24 (1/128)	43,7 (1/16) or 30 (1/128)
				Adult females	300	43,4 (1/16) or 15 (1/128)	
				Neonates (children of the previous group)	300	11 (1/128)	
				Women recently aborted	1921	69,4 (1/16) or 35 (1/128)	
				7-12 years	750	33 (1/128)	
				13-15 years	579	24 (1/128)	
				16-18 years	651	31 (1/128)	
<b>Quilici <i>et al.</i> , 1976</b>	Mali	1664	56,0 - 65,0	0-5 years	-	22 (urban) - (rural)	11,5 (urban)  24,8 (rural)
				6-11 years	-	27,5 (urban) 40,5 (rural)	
				12-15 years	-	36,5 (urban) 53,5 (rural)	
				16-24 years	-	59,5 (urban) 56,5 (rural)	
				24-34 years	-	59,5 (urban) 55,5 (rural)	
				≥ 35 years	-	66,0 (urban) 57,0 (rural)	
				<b>Toukara <i>et al.</i> , 1978</b>	Mali	-	
<b>Maïga <i>et al.</i> , 1984</b>	Mali	141		Bamako/Baguineda	100/41	34/29	
				16 years	1/4	0,0/0,0	
				16-20 years	21/8	14,3/0,0	
				21-25 years	23/1	39,1/0,0	
				26-30 years	27/3	33,3/0,0	
				31-35 years	9/4	44,4/25,0	
				36-40 years	10/6	50,0/50,0	
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1985a</b>	Mali	217	65,1	41-45/40 years	9/15	44,4/46,7	
				craftsmen on snakeskins	95	69,7	
				Children (7-18 years)	46	50	
<b>Maïga <i>et al.</i> , 2001</b>	Mali	100	21,0	Patients (4-43 years)	76	68,4	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %
<b>Biava <i>et al.</i>, 1983</b>	Morocco	318	33,3	18-19 years	23	47,8	
				20-25 years	226	36,7	
				26-30 years	53	17	
				31-40 years	16	18,7	
<b>Monjour <i>et al.</i>, 1983</b>	Mauritania	5544	27,4		6-13 years	14-18 years	19-25 years n=100
				Atar	252/23	49/24	25
				Chinguetti	167/22	32/25	27
				Nouadhibou	240/5	53/26	32
				Akjoujt	165/5	42/17	18
				Boutilimit	129/5	31/13	14
				Tidjikda	165/17	32/22	23
				Kiffa	127/4	44/14	20
				Néma	195/18	43/21	23
				Rosso	260/8	139/14	19
				Thékan	222/8	51/18	19
				Gani	159/8	46/20	21
				Boghe	320/9	73/15	20
				Rindiao-Sylla	168/8	33/15	15
				Bénilabé			
				Sélibaby	258/9	69/22	27
				Bouly	98/7	30/17	20
Diaguilil	187/14	56/27	30				
Total	3112/11	832/18,7	1600/22,1				
<b>Dumas <i>et al.</i>, 1985a</b>	Niger	28	50,5	Infants	14	42,9	
				Mother (17-36 years)	14	58,1	
<b>Develoux <i>et al.</i> 1988</b>	Niger	400	18,2	2-10 years	42 (urban)	38	11,9
					(rural)	7,8	
				11-20 years	51 (urban)	29	1,9
					(rural)	13,7	11,5 (urban)
				21-30 years	31 (urban)	49	12,9
	(rural)	28,5					
31-50 years	47 (urban)	33	10,6				
	(rural)	45,4	24,8 (rural)				
> 50 years	28 (urban)	52	28,5				
	(rural)	26,9					
<b>Delacroix <i>et al.</i>, 1989</b>	Niger	229	3,9				
<b>Julvez <i>et al.</i>, 1996</b>	Niger	371	18,0	0-4 years	29	6,9	
				5-9 years	62	11,3	
				10-14 years	65	13,8	
				15-29 years	101	17,8	
				30-49 years	71	22,5	
				≥ 50 years	43	34,9	
<b>Ludlam <i>et al.</i>, 1965</b>	Nigeria	84		Male Africans aged 20-30 years in the Niger Delta	62	64,5	60,7
				Group Africans in Tabangh	22	50,0	
<b>Thomas <i>et al.</i>, 1981</b>	Nigeria	66	16,7	children			

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %
<b>Osiyemi <i>et al.</i>, 1985</b>	Nigeria	210	22,86				
<b>Olusi <i>et al.</i>, 1994</b>	Nigeria	978	57,00	≤ 10 years	98	32,7	
				11-20 years	160	52,5	
				21-30 years	157	54,1	
				31-40 years	238	55,5	
				41-50 years	140	66,4	
				51-60 years	101	69,3	
				> 61 years	84	72,6	
<b>Olusi <i>et al.</i>, 1996</b>	Nigeria	606	43,7	15-18 years	72	25,0	
				19-22 years	83	33,7	
				23-26 years	117	38,5	
				27-30 years	120	41,7	
				31-34 years	92	46,7	
				35-38 years	80	56,3	
				39-42 years	42	71,4	
<b>Gascon <i>et al.</i>, 1989</b>	Rwanda	411	63,2	1-6 years	139	50,3	
				7-14 years	136	20,6	
				≥ 15 years	136	2,9	
<b>Fan <i>et al.</i>, 2006</b>	Sau Tome and Principe	121	21,49	< 2 years	29	10,34	
				2-3 years	26	15,38	
				3-4 years	36	22,22	
				4-5 years	30	36,67	
<b>Garin <i>et al.</i>, 1971</b>	Senegal	200	3,5				
<b>Koenig-Rombourg <i>et al.</i> 1973</b>	Senegal	270	23	1-4 years	16	0	
				5-9 years	48	8,3	
				10-14 years	69	23,2	
				15-29 years	64	21,9	
				≥ 30 years	72	36,1	
<b>Dumas <i>et al.</i>, 1990d</b>	Senegal	415		North Senegal (arid ans hot)			
				< 15 years	9	33,3	
				15-30 years	10	40,0	
				> 30 years	24	25,0	
				Sine Saloum (wetter, 5months of rain)			
				< 15 years	34	5,9	
				15-30 years	45	15,6	
				> 30 years	63	30,2	
				Oriental Senegal (6-7 months of rain)			
				< 15 years	46	39,1	
				15-30 years	55	23,6	
				> 30 years	54	53,7	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups					
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %		
<b>Diallo <i>et al.</i> , 1996</b>	Senegal	720	40,3	15-19 years	98	34,7			
				20-29 years	391	38,6			
				30-39 years	196	45,7			
				40-45 years	35	40,3			
<b>Kagan <i>et al.</i> , 1968</b>	Somalia	191	9,9	Giohar	125	13,6			
				river	Mahaddei-Uen	46		4,3	
					El Ad and El Gambole	20		0,0	
<b>Ahmed <i>et al.</i> , 1988</b>	Somalia	669		Golweyn	0-5 years	3	0,0		
					6-10 years	79	44,0		
					11-20 years	155	60,0		
					21-40 years	48	52,0		
					≥ 41 years	50	56,0		
	coastal area				Mogadishu	0-5 years	54	9,0	63,3
						6-10 years	49	31,0	
						11-20 years	62	31,0	
						21-40 years	116	38,0	
						≥ 41 years	53	40,0	
<b>Carter <i>et al.</i> , 1966</b>	Soudan	461	61		11-20 years	135	54,1		
					21-30 years	95	56,8		
					31-40 years	88	64,8		
					41-50 years	51	70,6		
					51-60 years	55	60,0		
					> 60 years	37	75,7		
					< 10 years	53	3,8		
					10-19 years	143	28,7		
					20-29 years	112	55,4		
					30-39 years	31	61,3		
40-49 years	20	70,0							
<b>Mason <i>et al.</i> , 1974</b>	South Africa	806	37		≥ 50 years	27	85,2		
					Black	255	29,0		
					White	236	33,0		
					Coloured	272	43,0		
					Indian	43	58,0		
					0-20 years	10	32,1		
					21-30 years	225	34,7		
					31-40 years	128	38,4		
					41-50 years	79	43,6		
					> 50 years	54	35,2		

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups						
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %			
<b>Gille <i>et al.</i> , 1992</b>	Tanzania	482	7,1	2-5 years	37	0,0				
				6-15 years	83	9,6				
				16-30 years	94	10,6				
				> 30 years	168	9,5				
<b>Lapierre <i>et al.</i> , 1976</b>	Togo			Midwife	84	53,6				
				Schoolboy	96	65,6				
<b>Dumas <i>et al.</i> , 1985a</b>	Togo	404	56,9	forest/savanna	277/127	68,6/31,4				
				0-5 years	-	9,2/0,9				
				6-11 years	-	28,4/7,8				
				12-15 years	-	51,1/14,4				
				16-44 years	-	63,1/43,1				
				≥ 45 years	-	63,3/44,2				
<b>Agbo <i>et al.</i> , 1991</b>	Togo	534	59,26	< 10 years	22	63,64				
				10-14 years	7	71,43				
				15-19 years	36	55,55				
				20-24 years	130	53,85				
				25-29 years	176	53,98				
				30-34 years	90	65,56				
				35 years	73	49,32				
				14-20 years	144	75,0				
				21-30 years	315	74,3				
<b>Deniau <i>et al.</i> , 1991</b>	Togo	618	75,32	31-40 years	148	78,4				
				41-50 years	13	69,2				
				0-3 month	46	60,86				
				4-12 month	97	3,09				
				13 month-5 years	118	9,52				
				6-15 years	183	27,47				
<b>Ben Rachid <i>et al.</i> , 1979</b>	Tunisia	929	45,96	16-30 years	231	63,63				
				> 30 years	244	72,90				
				Cordon blood	894	46,0				
				General population	810	49,6				
				0-3 month	56	39,3				
				3-12 month	32	6,3				
<b>Messedi <i>et al.</i>, 1982</b>	Tunisia	3463	-	1-4 years	48	14,5				
				4-15 years	52	50,0				
				15-30 years	510	54,9				
				> 30 years	112	58,0				
				0-16 years	16	31,3				
				17-30 years	234	47,0				
				31-45 years	153	49,0				
				> 45 years	79	50,6				
				<b>Zribi <i>et al.</i>, 1982</b>	Tunisia	482	47,71			

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups			
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%	Global %
Jemni <i>et al.</i> , 1986	Tunisia	292	58,66	8 years	69	36,23	
				9 years	72	58,33	
				10 years	32	71,87	
				11 years	19	73,63	
				16 years	20	65,00	
				17 years	25	68,00	
				18 years	15	60,00	
				19 years	28	75,00	
Boutrabine <i>et al.</i> , 2001	Tunisia	1421	58,4	1-10 years	220	24,5	
				10-20 years	332	52,1	
				20-30 years	276	64,5	
				> 30 years	593	71,8	
				Urban environment			
				1-10 years	75	29,3	
				Mediterranean, 18-20°C, 400-600 mm			
				10-20 years	109	67,0	
				20-30 years	104	67,3	
				> 30 years	276	77,2	
				Rural environment			
				1-10 years	145	22,1	
10-20 years	223	44,8					
20-30 years	172	62,8					
> 30 years	317	67,2					
Ludlam <i>et al.</i> , 1966	Uganda	Blood donors : 94	11,7				
				Cardiomyopathy : 120	22,5		
				0-9 years	14	0	
				10-19 years	24	4,2	
				20-29 years	28	25	
				30-39 years	16	43,75	
				40-49 years	17	17,6	
				50-59 years	10	40	
≥ 60 years	11	45,5					
Zumla <i>et al.</i> , 1991	Uganda	93	27 (DT), 39 (LAT)	0-19 years	10	20,0	
				20-39 years	76	28,9	
				40-59 years	7	28,6	
				> 60 years	0	0,0	
	Zambia	189	11 (DT), 17 (LAT)	0-19 years	28	3,6	
				20-39 years	136	11,5	
				40-59 years	22	29,4	
				> 60 years	3	0,0	
Lopez <i>et al.</i> , 1992	Arabe Saharaui Republic/Angola/Ethiopia/Ghana	707	71,43	Angola	443	71,55	
				Ethiopia	20	95	
				Ghana	138	88,4	
				R. A. Saharaui	106	44,34	

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups				
		NIT*	%	Subgroup denomination		NIT*	%	
Joubert <i>et al.</i> , 1998	Angola/South Africa/Namibia			adult volunteers from Angola			26	
				urban population group in South Africa and refugee population from Mocambique			5	
				rural community in Namibia			44	
Dumas <i>et al.</i> , 1991	Congo/Ivory Coast/Democratic	3210	Congo (Oyo, Kibangou, Divénié, Niari, Linzolo, Abala and Ossélé)	Children	0-6 month	174	10,3	
					7 month-4 years	191	11,5	
					5-9 years	455	33	
					10-14 years	509	34,2	
				Women	15-19 years	239	40,2	
					20-24 years	166	42,8	
					25-30 years	189	42,3	
				Ivory Coast (Abidjan area)	Children	0-6 month	164	53,7
						7 month-4 years	117	16,2
						5-9 years	255	41,2
						10-14 years	218	55
				Women	15-19 years	106	53,8	
					20-24 years	199	61,3	
					25-30 years	228	68	
				Democratic Republic of the Congo (Kinshasa and Kwilungongo)	Children	0-6 month	17	11,8
						7 month-4 years	215	7,4
						5-9 years	179	21,8
						10-14 years	215	24,7
				Women	15-19 years	58	32,8	
					20-24 years	90	38,9	
					25-30 years	123	39,8	
				Niger (Arlit)	Children	7 month-4 years	50	2
						5-9 years	19	5,3
						10-14 years	8	0
15-19 years	46	2,2						
Women	20-24 years	107	4,7					
	25-30 years	89	7,9					
	7 month-4 years	23	21,7					
Central African Republic (Mélé, Paoua, Bria, Bambari and Bangassou)	Children	5-9 years	59	44,1				
		10-14 years	58	29,3				
		15-19 years	41	24,4				
Women	20-24 years	68	44,1					
	25-30 years	98	43,9					

\* NIT = Number of individuals Tested for toxoplasmosis

**Tableau E : Séroprévalence chez les VIH + rapportée dans les 6 articles sélectionnés (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte suite à la première lecture).**

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups		
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	%
Zannou <i>et al.</i> , 2004	Benin	136	2,9			
Ledru <i>et al.</i> , 1995	Burkina Faso			healthy patients	36	55,5
				pulmonary tuberculosis patients without HIV-infection	50	52,0
				pulmonary tuberculosis patients with HIV-infection	45	55,5
				HIV-infected patients with AIDS according to Bangui criteria	40	62,5
Millogo <i>et al.</i> , 2000	Burkina Faso	80	68,0			
Makuwa <i>et al.</i> , 1994	Congo	156 (121+/35-)	65,3+/68,6-			
Clercq <i>et al.</i> , 1986	Democratic Republic of the Congo	108	33 (IFA) / 24 (DAT)			
Woldemichael <i>et al.</i> , 1998	Ethiopia	62	74,2			
Brindle <i>et al.</i> , 1991	Kenya	180	55,5 (ELISA) 49,4 (DT)			
Maïga <i>et al.</i> , 2001	Mali	329	34	Blood donor HIV positive	124	22,6
				patient atteind of the AIDS	105	60
				Blood donor HIV negative	100	21
Zumla <i>et al.</i> , 1991	Uganda	186	34 (DT), 47 (LAT)	0-19 years	9	22,2
				20-39 years	156	34,6
				40-59 years	20	35,0
				> 60 years	1	100,0
	Zambia	187	4 (DT), 11 (LAT)	0-19 years	12	16,6
				20-39 years	144	2,8
				40-59 years	27	7,4
				> 60 years	4	0,0

\* NIT = Number of individuals Tested for toxoplasmosis

**Tableau F : Séroprévalence chez les femmes enceintes rapportée dans les 24 articles sélectionnés (les résultats sur fond gris n'ont pas été pris en compte pour la figure 5).**

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalence displayed by subgroups		
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	% IgG
Schneider <i>et al.</i> , 1977	Algeria	726	49,4			
Rodier <i>et al.</i> , 1998	Benin	211	53,6	15-19 years	5	20,0
				20-29 years	108	48,1
				30-39 years	92	60,8
				> 39 years	6	66,6
Dumas <i>et al.</i> , 1985	Burkina Faso	48	41,7	14-49 years		
Marty <i>et al.</i> , 1985	Cameroon	421	48,5	< 20 years	89	27
				20-24 years	117	45
				25-29 years	97	58
				≥ 30 years	118	59
				N'kongsamba < 20 year	23	34,8
				20-24 years	35	57,1
				25-29 years	32	71,9
				≥ 30 years	34	64,7
				Bafang < 20 years	40	30
				20-24 years	47	59,6
				25-29 years	37	75,7
				≥ 30 years	39	79,5
				Bandjoun < 20 years	12	16,7
				20-24 years	20	5
				25-29 years	14	14,3
				≥ 30 years	31	35,5
				Mbouda < 20 years	14	14,3
				20-24 years	15	33,3
				25-29 years	14	21,4
				≥ 30 years	14	42,9
Deniau <i>et al.</i> , 1987	Cameroon	928	56,9	N'kongsamba (littoral, permanent moisture, 2000mm of precipitation)	124	58,9
				Bafang (west, equatorial, 2000mm of precipitation)	163	60,7
				Bandjoun (west, intermediary, 4 seasons)	77	20,8
				Mbouda (west, equatorial, 2000mm of precipitation)	57	28,1
				Yaounde (center, equatorial, 4 seasons)	286	65,7
				Buea (sud-west, 1000m, equatorial, 4000mm of precipitation)	180	68,8
				Maga (extreme north, dryness, 400mm of precipitation)	41	29,0
Ndumbe <i>et al.</i> , 1992	Cameroon	192	77,1			
Dumas <i>et al.</i> , 1985a	Central African Republic	27	81,5			
Yala <i>et al.</i> , 1983	Congo	1211	-	Congolese	1190	81,5 (DA)
				frenchese	19	100 (DA)

References	Country	Raw seroprevalence		Seroprevalences displayed by subgroups		
		NIT*	%	Subgroup denomination	NIT*	% IgG
Wery-Paskoff <i>et al.</i> , 1970	Democratic Republic of the Congo	876	46			
El-Nawawy <i>et al.</i> , 1996	Egypte	150	43			2,0
Billiault <i>et al.</i> , 1987	Gabon	268	60,5 (IFA)			
Nabias <i>et al.</i> , 1998	Gabon	767	71,2	14-19 years	180	76,6
				20-24 years	220	67,3
				25-29 years	168	74,4
				≥ 30 years	199	67,8
Doucet <i>et al.</i> , 1971	Ivory Coast	578	37,81			
Lelong <i>et al.</i> 1995	Madagascar	599	83,5	15-19 years	100	75
				20-24 years	100	81
				25-29 years	103	100
				30-34 years	98	84
				35-39 years	100	80
				≥ 40 years	98	81
Develoux <i>et al.</i> , 1989	Niger	218	15,1	< 20 years	60	8,3
				20-29 years	109	17,4
				> 30 years	43	20,5
Onadeko <i>et al.</i> , 1992	Nigeria	352	78			
Garin <i>et al.</i> , 1971	Sénégal	144	18			
Vercruyse <i>et al.</i> , 1984	Sénégal	353	4,2			
Dumas <i>et al.</i> 1990d	Sénégal	60	33,3			
Fay <i>et al.</i> , 1998	Sénégal	353	40,2 (IgG)/ 5,9 (IgM)	pregnant/non-pregnant	205/148	33,7/49,3
				15-19 years	49	32,6
				20-29 years	193	40,4
				30-39 years	96	40,6
				40-45 years	15	60
Brink <i>et al.</i> , 1975	South Africa	600	10,3	White	200/10,5	Coloured
						200/12,5
				11-20 years	8,2	10,5
				21-30 years	13,7	9,3
				31-40 years	4,6	25
Doehring <i>et al.</i> , 1995	Tanzania	849	35	12-25 years	408	34
				26-35 years	290	36
				> 36 years	139	37
Tourte-Schaefer <i>et al.</i> , 1987	Togo	224	53,6	< 20 years	16	43,6
				20-24 years	69	52,2
				25-29 years	76	54,0
				≥ 30 years	63	57,2
Kennou 1982	Tunisie	3831	46,5			
Messedi <i>et al.</i> , 1982	Tunisia	894	46,0			
Ben Ayed <i>et al.</i> , 1994	Tunisie	3288	63,49			

**Tableau G** : Données ayant permis l'élaboration de la figure 5.

Pays	Nombre d'articles	Nombre total de sujets testés	Séroprévalence (%)
Afrique du sud	2	1406	25,6
Algérie	1	3164	52,3
Benin	1	211	53,6
Burkina Faso	2	298	40,9
Burundi	1	622	44,1
Cameroun	3	1541	57,1
Congo	5	6160	42,1
Côte d'Ivoire	5	34792	64,7
Égypte	1	150	43
Éthiopia	3	452	67,9
Gabon	4	4913	60,5
Ghana	1	106	44,3
Kenya	3	606	44,6
Libéria	1	390	44,6
Liby	1	6501	28,8
Madagascar	1	599	83,5
Mali	4	2351	51,1
Mauritanie	1	5335	16,0
Maroc	1	318	33,3
Niger	5	1537	12,8
Nigeria	5	2212	52,3
Ouganda	1	493	17,9
République Centrafricaine	6	3833	44,4
République d'Arabe Saharai	1	443	71,5
République Démocratique du Congo	5	4097	34,6
Rwanda	1	142	49,3
Sau Tomé-et-Principe	1	<i>Population non homogène en âge : enfants</i>	
Sénégal	6	2440	27,2
Somalia	2	860	35,3
Soudan	2	847	52,2
Tanzanie	2	1331	24,9
Togo	5	1864	62,2
Tunisie	7	11947	53,1
Zambie	1	376	7,5

Les cases grisées correspondent aux pays présentant une seule étude de prévalence.

**Annexe 7 : Questionnaire de recensement des espèces domestiques et de certains facteurs épidémiologiques réalisé pour le travail de prospection au village de Dienga (tous les termes avaient été traduits en dialecte local : Bandzabis, présenté ici entre parenthèses pour certaines espèces animales).**

n° de foyer	Nombre de moutons (Tabelendombo)	Nombre de chèvres (Tabenzebi)	Nombre de poules et coqs (Batsoutsou)	Nombre de chiens (Mvouendi)	Nombre de chats (Moukohe)	Cuisson de la viande	Présence de chasseur au foyer

Espèces consommées									
Porc épic (Gomba)	Rat de Gambie (Moucoka)	Sanglier (Sodépal)	Céphalophe bleu (Céty)	Céphalophe baie (Ichimbe)	Céphalophe rayé (Moupressé)	Céphalophe à dos rouge (Chabe)	Sitatounga	Chevrotain	Petit pangolin (Lekaha)

Espèces consommées							Remarque	Date de recensement et personnes qui l'ont réalisé
Singe indéterminé (Nkéma)	Macak	Mandrille (Tséhaïs)	Chimpanzé (Koulou)	Gorille (Djiya)	Chat huant (Nombo)	Chacal (Mougani)		



## **Annexe 8 : Détection des toxoplasmes dans les tissus (trypsine) et isolement chez la souris. Protocole prenant en compte l'expérience acquise sur l'ensemble des travaux d'isolement de la thèse.**

### Réactifs :

- Trypsine 250 (DIFCO)
- Eau physiologique stérile
- Gentamycine 10 mg/ml (SIGMA)
- Pénicilline-Streptomycine 10,000 U pénicilline et 10mg streptomycine/ml (SIGMA)
- Souris Swiss 20 g minimum

### Matériel :

- Boîtes de Pétri
- Ciseaux stériles
- Pinces stériles
- Scalpels stériles
- Flacons en verre de grande section (250 – 500 ml) avec bouchon
- Pipettes plastiques 10 ml, 25 ml
- Dispositifs d'aspiration
- Broyeur type Blender (petit et/ou grand modèles)
- Bain-marie (37°C) à agitation (peut être remplacé par une étuve à 37°C avec un Agitateur magnétique à l'intérieur sur lequel sera posé un le flacon contenant le mélange broyat + solution trypsique + barreau aimanté)
- Centrifugeuse
- Tubes Falcon 50 ou 200 ml
- Compresses de gaze stérile (10x10 cm voir 7.5x7.5 cm)
- Aiguilles 21 gauges
- Seringue 2-5 ml
- Matériel d'animalerie
- Tubes Eppendorf 2 ml vissés

## **Méthode**

### Préliminaires :

- Sur un gros organe, prélever jusqu'à 60 g maximum : suffisant, car tout ne sera pas utilisable

### Solution de digestion :

- Préparer la solution de digestion : trypsine à 0.4 %
    - 1g de trypsine
    - 250 ml d'eau physiologique stérile
    - 1 ml de gentamycine
- pour 50 g de tissus : muscle et/ou cœur et/ou cerveau

Si l'échantillon prélevé fait moins de 25 g → diviser par deux ces quantités

*Exemple : cas d'un mélange cœur+cerveau de poule traités ensemble, poids total de 8 g → volume de solution trypsique utilisée = 125 ml.*

- La solution de digestion peut être mise à 37°C (étuve ou bain-marie) avant utilisation.

#### Préparation de l'échantillon :

- Dans une boîte de Pétri, enlever les tissus gênants : tissu adipeux, gros vaisseaux, tissu conjonctif.
- Couper en morceaux de quelques mm. Déposer dans un blender.  
*Si besoin, pour PCR direct, garder quelques grammes (Tubes Eppendorf 2 ml vissés) à mettre à -80°C.*
- Adapter le flacon au broyeur.

#### Broyage :

Un pré-broyage à sec est possible mais doit être très court (quelques secondes) afin d'éviter une élévation trop importante de la température des tissus broyés.

- Ajouter 125 ml de trypsine à 0.4 % en eau physiologique stérile (ou moins selon la quantité d'organe traitée).

*Dans notre exemple de cœur+cerveau de poule : nous ajouterons 75 ml.*

Le mélange ainsi formé doit être liquide pour un broyage sans trop d'échauffement.

- Broyer **2 minutes à vitesse maximum** (bien tenir le couvercle) : il ne doit plus rester de fragments identifiables.
- Transvaser le broyat dans un flacon stérile.
- Rincer le flacon du broyeur avec la trypsine restante, transvaser dans le flacon.

#### Incubation :

- Incuber jusqu'à 3 heures en fonction du ou des tissus mis à digérer dans un bain-marie à agitation à 37°C, 120 rpm.

*Attention ne pas laisser plus de 3 heures car risque de perte d'infectiosité des toxoplasmes.*

Quelques exemples de durée de digestion pour un type de tissus donné (ou de mélange de tissus) :

- Cœur (quelle que soit l'espèce animale) : 2h - 2h30

*On peut aller jusqu'à 3 h dans le cas de 60 g de tissu de grands animaux du type chèvre, mouton, sanglier...*

- Tissus musculaires : 2h - 2h30
- Cerveau (quelle que soit l'espèce animale) : 1h – 1h30
- Langue de chat : 2h
- Cœur+cerveau de poule : 1h30
- Cœur+langue de chat : 2h

### Filtrage :

- Filtrer à travers 2 couches de gaze\* en répartissant le volume dans des tubes de 50 ml ou de 200 ml.

*Si la gaze se colmate, la presser pour récupérer le maximum de filtrat et recommencer avec une nouvelle.*

\* compresse de gaze dépliée entièrement puis repliée en deux

### Lavage par centrifugation :

- Laver 3 fois 10 min à 1200 g (2600 rpm)
  - Dans ces 3 fois, nous prenons en compte la première centrifugation avec seulement la digestion trypsique ;
  - Après chaque centrifugation, le surnageant est enlevé (pipeteur automatique et pipette de 10 ou 25 ml) et le culot est remis en suspension dans de l'eau physiologique.

Volume du culot attendu pour 50 g de cœur : 0.5-2 ml minimum.

Souvent 6-12 ml pouvant aller jusqu'à 40 ml suivant l'organe, l'espèce, l'âge de l'animal.

*Exemples : - La viande de Félidé donne de petits culots généralement (<1 ml pour 20 g de tissus).*

*- Les cerveaux en général donnent de gros culots (très peu de réduction de volume lors de la digestion en raison de la nature des tissus).*

- Si culot < 1 mL ou culot trop dense pour l'aspirer à la seringue → Diluer le culot avec 1-2 ml de NaCl 0,9 %.
- Conserver 1-2 ml à -80°C pour extraction ADN (2 tubes si le culot le permet).
- Ajouter de la gentamycine au culot (0.004 g/ml).

### Inoculation :

- Inoculer par voie intra-péritonéale à 3 souris (maximum 0.7 ml/souris).

## **CAS PARTICULIERS :**

Pour des **viandes souillées, avariées** (contaminées par des bactéries) tels gibiers, viandes de brousse **ou prélèvements précieux mais contaminés** :

Le protocole est le même jusqu'à l'obtention d'un culot propre (après les différents lavages). Les différences de protocole vont se situer au niveau de l'ajout d'antibiotique au culot et à l'inoculation chez la souris.

- Ajout d'antibiotiques :

Utiliser un cocktail d'antibiotiques (gentamycine, pénicilline et streptomycine).

Les quantités utilisées sont à la limite des doses létales chez la souris.

- pour la gentamycine : 0,15 mg/ml de culot
- pour le mélange pénicilline-streptomycine, en se basant sur la streptomycine : 3 mg/ml de culot

- Une fois ces antibiotiques ajoutés :  
Laisser agir au minimum 24 heures à 4°C.  
Passée cette durée, nous conseillons d'inoculer une seule souris afin de voir comment celle-ci réagit sur les 24 heures suivantes (septicémie ou non).  
Au bout de ces 24 heures (48 heures après traitement aux antibiotiques du culot) :

→ La souris ne présente aucun symptôme :  
On inocule le reste du culot à 2 autres souris en les différenciant tout de même de la première (traitement antibiotique de 48 h vs 24h).

→ La souris présente les symptômes d'une septicémie\*\* :  
Dans ce cas nous conseillons d'attendre à nouveau 24 heures avant inoculation, afin que les antibiotiques aient le maximum d'effet. Les deux dernières souris seront donc inoculées après 72 heures (obtention du culot + traitement antibiotiques).

\*\* Ce cas particulier du protocole a été mis au point lors de notre dernière mission en Guyane Française. Il a été testé sur plusieurs types de tissus traités pour isolement de souche de toxoplasme (originaire de la faune domestique et sauvage), avec 100 % d'efficacité (11 tentatives d'isolement, sans mort des souris).

Il fait suite au traitement d'une viande sauvage (« biche ») prélevé 48 h avant digestion et présentant un aspect verdâtre au moment du traitement indiquant la présence de bactéries. Après digestion trypsique et inoculation normale à la souris, ce prélèvement a tué toutes les souris (septicémie aiguë) en 24 heures. Le protocole présenté ci-dessus a alors été testé avec succès (réalisé donc 24h après la digestion trypsique).

De plus, le cocktail d'antibiotique de ce protocole a été utilisé pour la conservation de deux prélèvements lors d'envois depuis la Guyane (morceau de viande dans eau physiologique + antibiotiques à 4°C).

La conservation des tissus traités de cette manière a duré environ 10 jours (temps entre le prélèvement en Guyane, l'envoi et le protocole de digestion et inoculation à Limoges). Ensuite, l'isolement chez la souris a été réalisé sans entraîner de mort des souris par infection bactérienne (les digestions et inoculations dans ces cas-ci ont suivi un protocole classique). Sur les deux prélèvements conservés de cette manière, l'un d'eux a même permis l'isolement d'une souche (langue de chat).





## RÉSUMÉ

La toxoplasmose est une zoonose due au protozoaire *Toxoplasma gondii* largement réparti dans le monde. La zone tropicale humide présente des caractéristiques propices à sa circulation, pourtant elle reste peu étudiée vis-à-vis de ce parasite.

Nous avons réalisé deux études de terrain afin de préciser la circulation et la diversité du toxoplasme dans cet environnement tropical humide : (i) au Gabon en milieu urbain et rural, avec différentes approches telles que la séroprévalence de la toxoplasmose humaine et animale analysée à l'aide des SIG et d'analyse multivariée, mais aussi l'étude de la diversité génétique et de la structure des populations du toxoplasme et (ii) en Guyane Française avec la caractérisation et la comparaison génétique des souches circulant dans le cycle « sauvage » et le cycle « domestique » du toxoplasme. Dans ces deux études l'analyse de la structure des populations a été réalisée à l'aide d'arbres de distance (Neighbor-joining), de l'étude des  $F_{ST}$  et du déséquilibre de liaison, de modèle statistique Bayésien (*STRUCTURE*) et de méthodes multivariées (*DAPC*) intégrant pour certaines des informations spatiales (*sPCA*).

Au Gabon, la séroprévalence animale et humaine retrouvée est élevée en milieu urbain et rural, avec un risque tellurique prépondérant en relation avec le niveau d'hygiène et les conditions climatiques. Les 69 isolats obtenus ont été caractérisés génétiquement et phénotypiquement au travers de la virulence chez la souris à l'isolement. Outre le Type III que l'on retrouve partout dans le monde, deux principaux haplogroupes ont été caractérisés et proposés comme nouveaux haplogroupes d'importance pour *T. gondii* en Afrique. Un lien avec les souches circulant en Amérique Centrale et du Sud a été mis en évidence. L'analyse de la structure de la population montre une circulation accrue du parasite entre les principales villes du pays en relation avec les activités humaines.

En Guyane Française, les 33 nouveaux isolats obtenus principalement de la faune péri domestique ont été comparés à 18 souches déjà publiées provenant essentiellement de l'environnement sauvage. La population sauvage était la plus diversifiée. En plus d'une structuration spatiale et génétique en deux populations reflétant les deux populations environnementales, « anthropisée » et « sauvage », une sous structuration génétique a été trouvée, confirmée pour certains groupes par des traits phénotypiques distincts (virulence chez la souris). Ces résultats suggèrent aussi l'existence d'interpénétration entre les cycles sauvage et domestique avec des risques potentiels pour la santé humaine.

**Mots-clés :** *Toxoplasma gondii*, toxoplasmose, zone tropicale humide, Afrique, Amérique du Sud, Gabon, Guyane Française, prévalence, génétique des populations, microsatellites

## ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis due to the protozoan *Toxoplasma gondii*, widely distributed around the world. Some characteristics of the tropical humid zone may favor its circulation, yet very few studies on this parasite in the tropical area are available.

We conducted two field studies to clarify the circulation and diversity of *Toxoplasma* in this humid tropical environment: (i) in Gabon, in urban and rural environments, with different approaches such as the seroprevalence of toxoplasmosis in human and animal analyzed with GIS and multivariate analysis, but also the study of genetic diversity and population structure of *Toxoplasma* and (ii) in French Guiana with the characterization and genetic comparison of strains circulating in both the "wild" and the "domestic" cycle of *Toxoplasma*. The population structure analysis was performed using tree distance (Neighbor -joining), the study of  $F_{st}$  and linkage disequilibrium, Bayesian statistical model (*STRUCTURE*), and multivariate methods (*DAPC*) incorporating spatial information (*sPCA*).

In Gabon, animal and human seroprevalence was high in an urban as well as in a rural environment, with a predominant telluric risk in relation to the level of hygiene and climatic conditions. The 69 isolates have been characterized genetically and phenotypically through virulence in mice at isolation. Besides the Type III found all over the world, two major haplogroups were defined and proposed as new major haplogroups for *T. gondii* in Africa. A link with the strains circulating in Central and South America has been highlighted. The analysis of population structure showed increased circulation of the parasite between the main Gabonese cities in relation to human activities.

In French Guiana, the 33 isolates obtained mainly from peridomestic animals were compared to 18 previously published strains, mainly from the wild environment. The wild population was far more diverse. In addition to a spatial and genetic structuring in two populations reflecting the two environmental populations, "anthropized" and "wild", a genetic substructure was found, associated to distinct phenotypic traits (virulence in mice) for some groups. These results also suggested the existence of interpenetration between wild and domestic cycles with potential risks for human health.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, tropical humid zone, Africa, South America, Gabon, French Guiana, prevalence, population genetics, microsatellites