HAL
open science

# Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma à l'épidémiologie moléculaire de Toxoplasma gondii

Daniel Ajzenberg

## To cite this version:

Daniel Ajzenberg. Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma à l'épidémiologie moléculaire de Toxoplasma gondii. Parasitologie. Université de Limoges, 2006. Français. NNT : . tel-02077334

**HAL Id: tel-02077334**

**https://unilim.hal.science/tel-02077334v1**

Submitted on 22 Mar 2019

**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.

# UNIVERSITÉ DE LIMOGES

## ECOLE DOCTORALE SCIENCE-TECHNOLOGIE-SANTE

**FACULTE DE MEDECINE**

Département ou Laboratoire EA3174



Année : 2006 N°……


THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Biologie-Sciences-Santé

**Spécialité : Parasitologie**

Présentée et soutenue publiquement par


**Daniel AJZENBERG**


Le 17 JANVIER 2006

À la Faculté de Médecine de Limoges

# Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma* à l'épidémiologie moléculaire de *Toxoplasma gondii*

**Directeur de Thèse** : Pr Marie-Laure Dardé

**Jury**

| | |
|---|---|
| **Pr François PEYRON** | **Rapporteur** |
| **Pr Isabelle VILLENA** | **Rapporteur** |
| **Dr Bernard BOUTEILLE** | **Examinateur** |
| **Pr Francis DEROUIN** | **Examinateur** |
| **Pr Marie-Laure DARDÉ** | **Directeur de thèse** |

# Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu dans cette épreuve.

Mon directeur de thèse, Professeur Marie-Laure Dardé. Vos qualités humaines et professionnelles forcent l'admiration. Je suis très fier d'être votre élève.

Mes rapporteurs, Professeurs Villena et Peyron. Je suis honoré et touché que vous ayez accepté de juger ce travail, dans ces conditions. Merci infiniment.

Mes autres membres du jury, Professeur Derouin et Docteur Bouteille. Je vous remercie de l'empressement avec lequel vous avez accepté de faire partie de mon jury. J'en suis également très touché.

D$^{r}$ Anne-Laure Bañuls pour sa collaboration phylogénétique essentielle.

Monsieur Fontanille, Président de l'Université de Limoges, Monsieur Movahhedi Directeur de l'École doctorale de Limoges. Votre appui m'a été très précieux, je vous en remercie.

Le service de la scolarité de la Faculté de Médecine de Limoges, en particulier Monsieur Passounaud et Madame Lacouchie. Je vous remercie du soutien que vous m'avez apporté.

Tout le personnel du Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie du CHU de Limoges, pour sa gentillesse permanente à mon égard ; Aurélien Dumètre, dont la gentillesse est désormais proverbiale ; Aurélien Mercier et Martine pour leur collaboration active.

Je tiens également à remercier tous les participants du réseau CRB *Toxoplasma* qui nous ont fourni les isolats avec leurs renseignements clinico-épidémiologiques. Sans ce matériel, notre travail n'aurait pas pu aboutir.

Ma famille, Cathy, Eloa, Thaïs, Gustave, mes parents, ma sœur, beaux-parents, beau-frère et soeur, que j'aime. Les amis pour leur soutien moral : Franck, Jean-Christophe, Grég..

# Table des matières

**Abréviations** ..... **11**

**Introduction** ..... **13**

**PREMIÈRE PARTIE** ..... **15**

**Apport des microsatellites et d'un échantillonnage diversifié dans la compréhension de la structure de la population de *Toxoplasma gondii*** ..... **15**

**1. Introduction** ..... **16**

**2. Structure de la population de *Toxoplasma gondii*** ..... **17**

2.1. Marqueurs génétiques utilisés ..... 17

2.1.1. Marqueurs enzymatiques ..... 20

2.1.2. R.A.P.D. (Random Amplification of Polymorphic DNA) ..... 20

2.1.3. S.N.Ps (Single Nucleotide Polymorphisms) ..... 21

2.1.4. Microsatellites ..... 22

2.2. Diversité génétique et structure de la population de *T. gondii* ..... 24

**3. 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** ..... **32**

**4. Ajzenberg, D., Bañuls, A.L., Su, C., Dumètre, A., Demar, M., Carme B. and Dardé, M.L. (2004). Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 34, 1185-1196** ..... **33**

**5. Conclusion** ..... **44**

**DEUXIÈME PARTIE** ..... **45**

**Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques (CRB) *Toxoplasma* dans l'étude de la corrélation entre génotypes et formes cliniques de toxoplasmose** ..... **45**

**1. Introduction** ..... **46**

1.1. Manifestations cliniques de la toxoplasmose ..... 46

1.1.1. Toxoplasmose acquise de l'immunocompétent ..... 46

1.1.1.1. Lymphadénopathie toxoplasmique bénigne ..... 47

1.1.1.2. Toxoplasmose oculaire ..... 47

1.1.1.3. Toxoplasmose sévère ..... 48

1.1.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé ..... 49

1.1.2.1. Toxoplasmose cérébrale ..... 50
1.1.2.2. Toxoplasmose extra-cérébrale ..... 52
1.1.3. Toxoplasmose congénitale ..... 53
1.2. Facteurs influençant la sévérité de la toxoplasmose ..... 57
**2. Toxoplasmose congénitale ..... 61**
2.1. Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, 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 ..... 61
2.2. Données du CRB sur la toxoplasmose congénitale ..... 65
2.2.1. Ajzenberg, D., Dumètre, A. and Dardé, M.L. (2005b). Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. J. Clin. Microbiol. 43, 1940-1943 ..... 66
2.2.2. CRB et toxoplasmose congénitale : résultats ..... 72
2.2.2.1. Répartition géographique des génotypes ..... 83
2.2.2.2. Distribution des génotypes en fonction des formes cliniques ..... 84
2.2.2.2.1. Représentativité globale des différentes formes cliniques ..... 84
2.2.2.2.2. Type II et formes cliniques de toxoplasmose congénitale ..... 86
2.2.2.2.3. Autres génotypes et formes cliniques de toxoplasmose congénitale ..... 92
2.3. Conclusion ..... 95
**3. Toxoplasmose de l'immunodéprimé ..... 97**
3.1. Ghosn, J., Paris, L., Ajzenberg, D., Carcelain, G., Dardé, M.L., Tubiana, R., Bossi, P., Bricaire, F. and Katlama, C. (2003). Atypical toxoplasmic manifestation after discontinuation of maintenance therapy in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient with immune recovery. Clin. Infect. Dis. 37, e112-e114 ..... 97
3.2. Données du CRB et cas historiques ..... 98
3.3. Conclusion ..... 108
**4. Toxoplasmose acquise chez l'immunocompétent ..... 110**
4.1. Carme, 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. (2002). Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J. Clin. Microbiol. 40, 4037-4044 ..... 110
4.2. de Salvador-Guillouët, F., Ajzenberg, D., Chaillou-Opitz, S., Saint-Paul, M.C., Dunais, B., Dellamonica, P. and Marty, P. (sous presse). Severe pneumonia during primary

infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. J. Infection. ..... 111
4.3. Données du CRB et cas historiques ..... 112
4.3.1. Toxoplasmose ganglionnaire. ..... 114
4.3.2. Toxoplasmose oculaire. ..... 115
4.3.3. Toxoplasmose sévère. ..... 117
4.4. Conclusion ..... 124
**Conclusion et perspectives ..... 125**
**Bibliographie ..... 126**
**Publications en rapport avec le sujet de thèse ..... 142**
**Annexes ..... 147**

# Liste des figures

Figure 1. Répartition des génotypes dans 242 cas de toxoplasmose congénitale en France (sans séjour hors de la métropole pendant la grossesse). ..... 83
Figure 2. Répartition des génotypes dans 19 cas de toxoplasmose congénitale au Portugal (origine géographique de la contamination inconnue). ..... 84
Figure 3. Répartition des différentes formes cliniques dans 214 cas de toxoplasmose congénitale. ..... 85
Figure 4. Répartition des différentes formes cliniques dans 194 cas de toxoplasmose congénitale dues au Type II. ..... 87
Figure 5. Répartition des génotypes dans 143 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes infra-cliniques. ..... 88
Figure 6. Répartition des génotypes dans 27 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des séquelles neuro-oculaires. ..... 88
Figure 7. Répartition des génotypes dans 29 cas de toxoplasmose congénitale ayant entraîné une interruption médicale de grossesse (IMG). ..... 89
Figure 8. Répartition des génotypes dans 11 cas de toxoplasmose congénitale avec mort fœtale *in utero* et avortements spontanés. ..... 89
Figure 9. Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 143 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes infra-cliniques. ..... 90
Figure 10. Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 27 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des séquelles neuro-oculaires. ..... 91
Figure 11. Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 4 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes disséminées, dans 29 cas d'IMG et dans 11 cas de toxoplasmose congénitale avec mort fœtale *in utero* et avortements spontanés. ..... 92
Figure 12. Répartition des génotypes dans 40 toxoplasmoses de l'immunodéprimé. ..... 101
Figure 13. Répartition des génotypes dans 17 toxoplasmoses de l'immunodéprimé VIH -. . 102
Figure 14. Répartition des génotypes dans 23 toxoplasmoses de l'immunodéprimé VIH +. 102

Figure 15. Répartition des génotypes dans 12 toxoplasmoses de l'immunodéprimé chez des patients originaires d'Afrique sub-saharienne, Amérique latine et Caraïbes. ..... 103
Figure 16. Répartition des génotypes dans 28 toxoplasmoses de l'immunodéprimé chez des patients originaires d'Europe ou du Maghreb. ..... 104
Figure 17. Liens de parenté et formes cliniques des sept premiers cas de l'épidémie de toxoplasmose à Patam au Surinam. ..... 119
Figure 18. Épidémie du Surinam. Polymorphismes nucléotidiques de 5 marqueurs microsatellites (*TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18*, *B17*). ..... 122

# Liste des tableaux

Tableau 1. Marqueurs génétiques utilisés dans l'étude du polymorphisme génétique de *T. gondii*..... 19
Tableau 2. Typages monolocus des isolats de *Toxoplasma gondii.*..... 26
Tableau 3. Typages multilocus des isolats de *Toxoplasma gondii.* ..... 27
Tableau 4. Typage de 53 isolats de poulets du Brésil avec cinq marqueurs microsatellites.... 39
Tableau 5. Typage de 58 isolats d'animaux de France avec cinq marqueurs microsatellites.. 40
Tableau 6. Typage de 20 isolats d'animaux du Portugal, de 3 isolats d'animaux de Grande-Bretagne, d'un isolat de lapin d'Italie et de 13 isolats d'animaux d'Iran avec cinq marqueurs microsatellites..... 41
Tableau 7. Typage de 14 isolats d'animaux des USA, et de 10 isolats d'animaux d'Amérique du Sud (hors Brésil) avec cinq marqueurs microsatellites. ..... 42
Tableau 8. Distribution des génotypes dans la toxoplasmose humaine congénitale : données de la littérature..... 63
Tableau 9. Nature des prélèvements, origine géographique des patients, données cliniques, date en semaine d'aménorrhée (SA) de l'infection maternelle et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 304 isolats provenant de 277 cas de toxoplasmose congénitale. ..... 82
Tableau 10. Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 23 isolats provenant de 23 toxoplasmoses d'immunodéprimés VIH+. ..... 99
Tableau 11. Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 18 isolats provenant de 17 toxoplasmoses d'immunodéprimés VIH-. ..... 100
Tableau 12. Distribution des génotypes dans la toxoplasmose humaine de l'immunodéprimé : données de la littérature..... 106
Tableau 13. Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 25 isolats provenant de 25 toxoplasmoses aquises chez les immunocompétents..... 113
Tableau 14. Distribution des génotypes dans la toxoplasmose oculaire chez des patients immunocompétents (toxoplasmose oculaire présumée acquise) : données de la littérature.. 115

Tableau 15. Épidémie du Surinam. Résultats de l'inoculation aux souris et de la PCR *B1* réalisées sur prélèvements sanguins périphériques ou tissus foetaux. ..... 120
Tableau 16. Épidémie du Surinam. Résultats du typage multilocus par analyse GeneScan du polymorphisme de longueur de huit marqueurs microsatellites..... 121

# Abréviations

AnteC. : Anteconceptionnel

CIC : Calcifications intracrâniennes

CMV : Cytomégalovirus

CRB : Centre de Ressources Biologiques

e.g. : exempli gratia « par exemple »

Fin gross. : Fin de la grossesse

FO : Fond d'œil

Guyane fr. : Guyane française

HA : Humeur aqueuse

HPSM : Hépatosplénomégalie

HPM : Hépatomégalie

i.e. : id est « c'est-à-dire »

IRM : Imagerie par résonance magnétique

IVG : Interruption volontaire de grossesse

IMG : Interruption médicale de grossesse

LA : Liquide amniotique

LBA : Lavage bronchiolo-alvéolaire

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MO : Moelle osseuse

MS : Microsatellite

NA : Non amplifié par PCR

N. Calédonie : Nouvelle Calédonie

ND : Non disponible

n-PCR : nested-polymerase chain reaction

PCR : Polymerase chain reaction

p.i. : post inoculation

Ppathie : Pneumopathie

RAPD : Random amplification of polymorphic DNA

RFLP : Restriction fragment length polymorphism

SA : Semaine d'aménorrhée

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise

SNP : Single nucleotide polymorphism

TA : Toxoplasmose acquise

TC : Toxoplasmose congénitale

TDM : Tomodensitométrie

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

# Introduction

*Toxoplasma gondii* a été découvert au début du XXème siècle en Tunisie par deux médecins français Charles Nicolle et Louis Herbert Manceaux chez un rongeur d'Afrique du Nord, *Ctenodactylus gondi* (Nicolle et Manceaux, 1908). De façon quasi simultanée, l'italien Alfonso Splendore le décrit chez le lapin au Brésil (Splendore, 1908). Par la suite, ce parasite a été isolé chez de nombreuses autres espèces animales.

Ceci illustre assez bien une des caractéristiques de *T. gondii:* son ubiquité. Il s'agit en effet d'un des protozoaires parasites les plus répandus dans le monde : on le trouve sous toutes les latitudes et chez tous les animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux).

Chez l'homme, depuis la première description par l'ophtalmologiste tchèque Josef Jankù en 1921 d'un cas de toxoplasmose congénitale (Jankù, 1923) et la première mise en évidence de *T. gondii* dans les infections humaines par Wolf et al. (1939) chez un enfant atteint d'encéphalite, on a pu mesurer la grande diversité des formes cliniques engendrées par le toxoplasme. Si le système immunitaire de l'hôte joue un rôle fondamental (les formes sévères sont habituellement observées en cas d'immunodépression acquise comme le SIDA, ou en cas d'immaturité du système immunitaire fœtal dans les toxoplasmoses congénitales), il n'explique pas toujours la diversité des formes cliniques rencontrées. Par exemple, des formes sévères de toxoplasmose chez l'immunocompétent ont été décrites régulièrement en Guyane française, alors que ces formes sont exceptionnelles en France. Toujours chez l'immunocompétent, les formes oculaires acquises sont particulièrement fréquentes au Brésil. Des facteurs parasitaires liés à la présence de génotypes particuliers dans ces régions pourraient expliquer, du moins en partie, la fréquence plus élevée de ces formes cliniques.

On sait qu'au niveau biologique, des différences existent entre les souches notamment en ce qui concerne la virulence chez la souris, permettant de les classer en virulentes, avirulentes ou de virulence intermédiaire.

Cette diversité tant épidémiologique que biologique de *T. gondii* laisse supposer une grande diversité génétique, d'autant plus que ce parasite possède un cycle sexué chez les félidés permettant les recombinaisons génétiques.

Grâce à la collecte importante et diversifiée d'isolats de *T. gondii* par le Centre de Ressources Biologiques (CRB) *Toxoplasma*, nous nous proposons dans ce travail d'utiliser des marqueurs génétiques de type microsatellite afin de mieux comprendre la structure de la population de ce parasite dans une première partie et d'essayer d'établir une corrélation entre génotypes et formes cliniques de toxoplasmose humaine dans la seconde partie.

# PREMIÈRE PARTIE

# Apport des microsatellites et d'un échantillonnage diversifié dans la compréhension de la structure de la population de *Toxoplasma gondii*

# 1. Introduction

Les protozoaires parasites tels que *Plasmodium* ou *Toxoplasma* sont des cellules eucaryotes pouvant se multiplier par reproduction sexuée. Cette possibilité de sexe chez ces parasites a été montrée expérimentalement par l'obtention de progénies recombinantes. De plus, ces protozoaires possèdent un cycle sexué parfaitement décrit chez leur hôte définitif dans la nature. Ceci signifie seulement que la potentialité de reproduction sexuée n'a pas été perdue par ces parasites. Il n'est pas du tout évident que le sexe soit le mode de reproduction prédominant de ces parasites dans la nature. La structure de la population d'une espèce ne peut pas être déduite d'après la présence ou l'absence d'un cycle sexué. Il faut pour cela réaliser un typage génétique à l'aide de plusieurs marqueurs discriminants sur un échantillonnage le plus représentatif possible de la population circulant dans la nature.

Après avoir décrit les différents types de marqueurs utilisés dans le typage génétique des isolats de *T. gondii*, nous analyserons les données de la littérature ayant permis de définir une structure clonale de population pour ce parasite. Enfin, à partir de nos travaux publiés, nous verrons que ce parasite présente en fait une structure de population plus complexe.

# 2. Structure de la population de *Toxoplasma gondii*

## 2.1. Marqueurs génétiques utilisés

Un marqueur génétique est une séquence d'ADN, polymorphique, dépendant d'un locus spécifique localisé à un endroit précis du génome. Quatre types majeurs de polymorphisme génétique ont été utilisés comme marqueurs génétiques de *T. gondii :* le polymorphisme alloenzymatique, l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe ou RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), les mutations simple polymorphisme ou SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) et le polymorphisme de longueur des microsatellites (tableau 1).

| Marqueurs génétiques | Références |
|---|---|
| • Allozymes : aspartate aminotransférase (ASAT), amylase (AMY), propionyl estérase (PE), glucose-phosphate isomérase (GPI), glutathion réductase (GSR), phospatase acide (ACP) | Dardé et al., 1992 ; Dardé, 1996 |
| • RAPD : amorces A10, A14, A17, A19, B04, B05, B08, B12, B13, C01, C07, C08, C11, C15, C16, C20, F06, F15, M13-40F, P53, primer 2 | Guo et Johnson, 1995 ; Guo et al., 1997 ; Ferreira et al., 2004 ; Conrad et al., 2005 |
| • Gènes codant pour des antigènes majeurs | |
| Antigènes de surface: *SAG1, SAG2, SAG3, SAG4, SAG5, MAG1, BSR4, SRS1, SRS2, SRS3, SRS4* | Sibley et Boothroyd, 1992 ; Rinder et al., 1995 ; Lehmann et al., 2000 ; Grigg et al., 2001a ; Tinti et al., 2003 |
| Antigènes d'organites : granules denses (*GRA1*, *GRA2*, *GRA3*, *GRA4*, *GRA6*) et rhoptrie (*ROP1*) | Sibley et Boothroyd, 1992 ; Parmley et al., 1994 ; Meisel et al., 1996 ; Fazaeli et al., 2000a ; Grigg et al., 2001a |
| • Gènes de ménage | |
| Actine (*ACT1)*, α-tubuline (*TUB1*), β-tubuline (*TUB2*), dihydrofolate reductase (*FOL1*), | Lehmann et al., 2000 |
| Dihydroptéroate synthétase (*DPHS)* | Aspinall et al., 2002 |
| ADN Polymérase α (*POL1*) | Biñas et Johnson, 1998 |
| Nucléoside triphosphatase *: NTPase* | Asai et al., 1995 |
| Intergenic spacer (*IGS*) *et 5S rRNA* | Fazaeli et al., 2000b |

| Marqueurs génétiques | Références |
|---|---|
| • Marqueurs de fonction inconnue *:* | |
| *850, 950, L328, 62B, 226, C19* | Sibley et Boothroyd, 1992 |
| *B1* | Grigg et Boothroyd, 2001b |
| *B10* | Lehmann et al., 2000 |
| • Microsatellites *:* | |
| Polymorphisme modéré: β-tubulin (*TUB2*), myosine-A (*TgM-A*), *W35, B17, B18* | Costa et al., 1997 ; Ajzenberg et al., 2004 |
| Polymorphisme élevé: *N60608, N82375, N83021, N61191, AA519150* | Ajzenberg et al., 2002a |
| *M6, M33, M48, M95, M102, M163* | Blackston et al., 2001 |
| *cB21-4* | Ferreira et al., 2006 |
| • Séquences répétées dans le génome : | |
| *BS* | Sibley et Boothroyd, 1992 |
| TGR | Cristina et al., 1991 ; Høgdall et al., 2000 |
| *MGE* (mobile genetic elements) | Terry et al., 2001 |

**Tableau 1**. Marqueurs génétiques utilisés dans l'étude du polymorphisme génétique de *T. gondii*. De nombreux autres polymorphismes (SNPs) ont récemment été décrits (Khan et al., 2005b)

### 2.1.1. Marqueurs enzymatiques

Chez un individu donné, si la substitution d'un acide aminé dans une enzyme entraîne une différence dans la charge ionique totale de la molécule, l'enzyme aura alors une mobilité électrophorétique modifiée, c'est à dire que sa vitesse de migration sera différente. Il se produit un changement de mobilité car pour une même taille et une même configuration, les vitesses de migration des enzymes sont principalement fonction du rapport entre le nombre d'acides aminés chargés positivement (essentiellement la lysine, l'arginine et l'histidine) et le nombre de ceux chargés négativement (principalement les acides aspartique et glutamique). On appelle allozymes les enzymes présentant des activités enzymatiques qualitativement identiques, mais que l'on différencie par leur mobilité électrophorétique et qui correspondent à des allèles différents d'un même locus. Ainsi, l'analyse alloenzymatique relève *stricto sensu* du phénotypage et non du génotypage, mais on peut la considérer comme étant une approche indirecte du génome.

Largement utilisés pour typer de nombreux protozoaires (Gardener et Howells, 1972; Sargeaunt et Williams, 1979; Miles et al., 1980), les allozymes furent les premiers marqueurs utilisés pour typer des souches de *T. gondii* (Dardé et al. 1988, 1992). Parmi les 39 enzymes étudiées, seulement six montrèrent des profils électrophorétiques différents en fonction des souches (différences caractérisées par le nombre de bandes et/ou la valeur du point isoélectrique correspondant à ces bandes). Il s'agit de l'aspartate amino transférase (ASAT), la glutathion réductase (GSR), la glucose phosphate isomérase (GPI), l'amylase (AMY), la phosphatase acide (ACP) et la propionyl estérase (PE) (tableau 1).

Bien que le polymorphisme de chaque enzyme soit limité à deux ou trois allozymes par marqueur, l'utilisation de plusieurs enzymes permet d'obtenir un bon niveau de résolution (Dardé, 1996).

### 2.1.2. R.A.P.D. (Random Amplification of Polymorphic DNA)

Cette technique consiste à amplifier par PCR des fragments d'ADN en utilisant une seule amorce courte de 10 bases et une température d'hybridation très basse. La séquence de ces amorces est aléatoire mais du fait de leur faible longueur, ces amorces ont une probabilité importante de trouver plusieurs séquences homologues dans un génome de grande taille

comme celui des eucaryotes. Les bandes obtenues, qui dépassent rarement la dizaine, sont séparées sur gel d'agarose.

Ces marqueurs ont été relativement peu utilisés chez *T. gondii*. Parmi les 21 amorces décrites dans la littérature (tableau 1), quatre (B5, B12, C08 et C020) sont relativement discriminantes (Guo et al., 1997 ; Ferreira et al., 2004 ; Conrad et al., 2005).

2.1.3. S.N.Ps (Single Nucleotide Polymorphisms)

Les SNPs pour « Single Nucleotide Polymorphism » sont définis par la coexistence d'au moins deux bases différentes à la même position, chacun avec une fréquence > 1% (Krawczak, 1999). Ils affectent une seule paire de base soit par substitution (remplacement d'un nucléotide par un autre) soit par délétion ou insertion d'une base. Ces mutations ponctuelles sont fréquentes dans le génome (1/1000 pb). On estime leur nombre à environ $3.10^6$ pour le génome humain (Sauer et al., 2000). Les SNPs sont répartis uniformément tout le long du génome et sont, au même titre que les microsatellites, utilisés pour construire des cartes de linkage. Un des avantages majeurs des SNPs est leur capacité à être typés de façon rapide et semi-automatique. Un cas particulier de ce polymorphisme « simple nucléotide » apparaît quant la mutation entraîne l'apparition ou la disparition d'un site de restriction. On appelle site de restriction, une séquence de nucléotide reconnue et clivée par une endonucléase de restriction. Il en résulte, après restriction, des différences dans la taille des fragments générés. Ce polymorphisme particulier est appelé RFLP pour « Restriction Fragment Length Polymorphism ».

Dans l'étude du polymorphisme génétique de *T. gondii*, les SNPs ont été détectés par séquençage de loci à copie unique et constituent désormais le groupe le plus abondant de marqueurs génétiques de ce parasite (tableau 1). Ces SNPs ont été détectés dans des gènes codant pour des antigènes majeurs situés à la surface du parasite, dans des granules denses, des rhoptries ou dans la matrice du kyste (Sibley et Boothroyd, 1992 ; Parmley et al., 1994 ; Rinder et al., 1995 ; Windeck et Gross, 1996 ; Meisel et al., 1996 ; Fazaeli et al., 2000a ; Grigg et al., 2001a ; Tinti et al., 2003 ; Khan et al., 2005b). Les SNPs sont également présents dans des gènes de ménage ou gènes codant pour des protéines indispensables à la vie de tous les types de cellules. Parmi les gènes de ménage utilisés comme marqueurs génétiques de *T. gondii*, on trouve des gènes codant des protéines structurales comme l'α ou β-tubuline ou

l'actine (Lehmann et al., 2000), des enzymes comme la dihydrofolate réductase, la dihydroptéroate synthase, la thymidilate synthase, la nucléoside triphosphatase ou l'ADN polymérase alpha (Asai et al., 1995 ; Biñas et Johnson, 1998 ; Aspinall et al., 2002). Les SNPs de gènes dont la fonction est inconnue comme *850*, *950*, *L328*, *62B*, *226*, *C19* et *B1* (Sibley et Boothroyd, 1992 ; Grigg et Boothroyd, 2001b) ont également été utilisés.

Plus récemment, Khan et al. (2005b) ont identifié 200 nouveaux marqueurs SNPs, qui ajoutés aux 50 déjà connus, ont permis d'établir une carte génétique de *T. gondii*. Situés environ tous les 300 kb sur les 14 chromosomes de *T. gondii*, ces 250 marqueurs SNPs représentent une information considérable pour pouvoir repérer les gènes associés à des caractères phénotypiques de *T. gondii* comme la virulence dans des études expérimentales.

Les SNPs sont détectés par séquençage de l'ADN. Quand plusieurs loci sont utilisés, le séquençage multilocus représente la meilleure approche pour détecter tous les polymorphismes des loci étudiés afin d'analyser la structure de la population. Mais du fait de la lourdeur technique et du coût du séquençage multilocus, des méthodes de PCR-RFLP sont généralement développées après détection de SNPs correspondant à des sites de restriction pour des endonucléases de restriction. La PCR-RFLP est beaucoup moins informative que le séquençage, car elle ne détecte que quelques SNPs sur un locus alors que le séquençage les détecte toutes. Par exemple, un polymorphisme important a été détecté par séquençage du gène *GRA6* (9 allèles parmi 30 isolats), mais la méthode PCR-RLP développée sur un seul SNP n'a pu différencier que 3 allèles (Fazaeli et al., 2000a). Malgré cette perte d'information génétique, la PCR-RFLP de gènes à copie unique est la méthode la plus largement utilisée pour typer les isolats de *T. gondii* (Sibley et Boothroyd, 1992 ; Howe et Sibley, 1995 ; Howe et al., 1997 ; Biñas et Johnson, 1998).

### 2.1.4. Microsatellites

Dans l'étude du polymorphisme de l'ADN, l'outil le plus récent est celui qui fait appel aux microsatellites (MS) permettant de détecter un polymorphisme de répétition. Il s'agit, au sein du génome, de répétitions en tandem dont le motif de base est très court : de 1 à 6 nucléotides. On les appelle aussi STR (Short Tandem Repeats). Chez l'Homme, les motifs dinucléotidiques $(CA)_n$ sont les plus abondants : on en trouve un tous les 25 à 100 Kb d'ADN génomique et sont uniformément distribués dans le génome (Kaplan et Delpech, 1993).

Les MS ont un polymorphisme allélique élevé (ils sont dits très informatifs). Ce polymorphisme est d'autant plus grand que le microsatellite est long. Chez l'Homme, ce polymorphisme des MS est élevé quand le nombre de répétitions est supérieur à 12 (Weber, 1990). Le mécanisme proposé pour expliquer le grand polymorphisme des microsatellites est qu'au moment de la réplication peuvent se produire des erreurs par dérapage intra-chromatidien de l'ADN polymérase sur ces structures répétées conduisant à un nombre variable de répétitions en tandem des microsatellites. Plus le nombre de répétitions est grand, plus le risque d'erreur est élevé. Le mécanisme conduisant au polymorphisme des MS est donc différent du mécanisme qui est la base du polymorphisme des SNPs, des isoenzymes ou de la RAPD (mutation).

Pour mettre en évidence le polymorphisme des microsatellites, il faut au préalable amplifier par PCR la séquence d'ADN comprenant ce microsatellite :

```
Amorce F (Forward)                                          Amorce R (Reverse)
-------->                                                     <--------
_allèle 1________TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG___________  X + 4 pb
_allèle 2________TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG_____________   X + 2 pb
_allèle 3________TGTGTGTGTGTGTGTGTGTG______________     X pb
```

Le polymorphisme étant dû à un nombre variable du motif de base répété en tandem (ici un dinucléotide), il faudra pour analyser les produits de PCR un système électrophorétique suffisamment résolutif capable de distinguer des variations de 2 bases parmi les différents amplicons. Ceci est possible avec les séquenceurs automatiques. Cela suppose d'utiliser des amorces oligonucléotidiques couplées à un fluorochrome et de faire migrer conjointement un marqueur de poids moléculaire lui aussi fluorescent.

Les microsatellites sont devenus des marqueurs incontournables dans l'étude du polymorphisme génétique des eucaryotes, en particulier des protozoaires comme *Plasmodium falciparum* (Anderson et al., 2000), *Trypanosoma cruzi* (Oliveira et al., 1998), *Cryptosporidium parvum* (Mallon et al., 2003) ou *Leishmania sp* (Schwenkenbecher et al., sous presse).

Chez *Toxoplasma gondii*, 17 marqueurs microsatellites ont été utilisés pour le typage des isolats (tableau 1).

La plupart de ces marqueurs microsatellites sont utilisés pour leur fort pouvoir discriminant permettant de distinguer deux isolats très proches génétiquement (Blackston et al., 2001 ; Ajzenberg et al., 2002a ; Sreekumar et al., 2003 ; Lehmann et al., 2003, 2004). Ces microsatellites utilisés dans le « fingerprinting » des isolats sont une alternative à l'utilisation de marqueurs très répétés dans le génome (séquences multicopies) comme la sonde *BS*, les séquences *TGR* et les éléments génétiques mobiles *MGE* (Cristina et al., 1991, 1995 ; Sibley et Boothroyd, 1992 ; Howe et Sibley, 1994 ; Messina et al., 1996 ; C; Literák et al., 1998 ; Høgdall et al., 2000 ; Terry et al., 2001).

Le polymorphisme modéré de certains marqueurs microsatellites (Costa et al., 1997 ; Ajzenberg et al., 2004, 2005) rend ces marqueurs suffisamment stables pour pouvoir établir une corrélation avec les résultats du typage par SNPs ou allozymes, tout en possédant un meilleur pouvoir de résolution, ce qui en fait des marqueurs idéals dans l'étude de la structure de la population de *T. gondii*.

## 2.2. Diversité génétique et structure de la population de *T. gondii*

Nous avons séparé les études de typage monolocus (tableau 2) des études de typage multilocus (tableau 3).

| Origine géographique | Nombre d'isolats | Origine d'hôte | Marqueur | Méthode de typage | Références |
|---|---|---|---|---|---|
| Europe | | | | | |
| Autriche | 67 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2005b |
| France | 90 | Humains | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Honoré et al., 2000 |
| France | 37 | Humains | *TUB2* | Microsatellite | Costa et al., 1997 |
| France | 68 | Humains | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Howe et al., 1997 |
| Grande Bretagne | 32 | Humains | *Sag2* | n-PCR-RFLP+séquençage | Aspinall et al., 2002 |
| Grande Bretagne | 13 | Moutons | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Owen et Trees, 1999 |
| Portugal | 12 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., sous presse |
| Espagne | 25 | Humains | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Fuentes et al., 2001 |
| Espagne | 55 | Humains | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Fuentes et al., 2004 |
| Espagne | 26 | Chats | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Montoya et al., 2004 |
| Israel | 19 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004f |
| USA | | | | | |
| USA (Ohio, Massachusetts) | 19 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2003b |
| USA | 47 | Animaux sauvages | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004a |
| USA (Mississippi, South Carolina) | 11 | Animaux sauvages | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004e |
| Amérique latine | | | | | |
| Argentine | 9 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2003e |
| Brésil (Paranà) | 14 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2003d |
| Brésil (Paranà) | 37 | Chats | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004d |
| Brésil (Rio de Janeiro) | 48 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2003c |
| Brésil (São Paulo) | 25 | Poulets | Sag2 | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2002 |
| Brésil (São Paulo) | 7 | Porcs | Sag2 | n-PCR-RFLP | de A Dos Santos et al., 2005 |
| Brésil (São Paulo) | 50 | Chats | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Pena et al., sous presse |
| Brésil | 9 | Chiens | *Sag2* | n-PCR-RFLP | da Silva et al., 2005 |
| Colombie | 24 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2005c |
| Grenada | 36 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2005a |

| Origine géographique | Nombre d'isolats | Origine d'hôte | Marqueur | Méthode de typage | Références |
|---|---|---|---|---|---|
| Guatemala | 8 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2005e |
| Mexique | 6 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004c |
| Pérou | 10 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2004b |
| Afrique | | | | | |
| Mali, Burkina Faso, RDCongo, Kenya | 17 | Poulets | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2005d |
| Égypte | 21 | Poulets, Canards | *Sag2* | n-PCR-RFLP | Dubey et al., 2003a |
| Divers | | | | | |
| Europe, USA, Australie | 10 | Humains, moutons, bovin, chèvre | *POL1* | Séquençage et PCR-RFLP | Biñas et Johnson, 1998 |
| Europe, USA, Nouvelle-Zélande, Guyane française, Uruguay | 30 | Humains, moutons, cobaye, chat, poulet, lapin, singe | *GRA6* | Séquençage et PCR-RFLP | Fazaeli et al., 2000a |
| *idem* | 32 | *idem* | *IGS et 5S rRNA gene* | Séquençage et PCR-RFLP | Fazaeli et al., 2000b |
| Europe, USA | 7 | Humains, poulet, cobaye | *GRA4* | Séquençage | Meisel et al., 1996 |
| Europe, USA, Brésil | 9 | Humains, poulet, bovin, moutons, cobaye | *SAG5* | Séquençage et PCR-RFLP | Tinti et al., 2003 |
| Europe, USA | 21 | Humains, poulet, chat, lapin | *NTPase* | PCR-RFLP | Asai et al., 1995 |
| Europe, USA, Chine | 10 | Humains, poulet, mouton | *SAG1* | Séquençage | Rinder et al., 1995 |

**Tableau 2.** Typages monolocus des isolats de *Toxoplasma gondii*.

| Références | Loci (localisation chromosomique) | | | | | | | | Méthode de typage | Nombre d'isolats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Howe et Sibley, 1995 | *SAG2* (VIII) | *SAG1* (VIII) | *850* (V) | *ROP1* (XI) | *L328* (VII) | *62* (IX) | | | PCR-RFLP | 106[b] |
| Dardé, 1996 | ASAT (ND[a]) | GSR (ND) | AMY (ND) | GPI (ND) | PE (ND) | ACP (ND) | | | Alloenzymes | 61[c] |
| Mondragon et al., 1998 | *SAG2* (VIII) | *SAG1* (VIII) | | | | | | | PCR-RFLP | 43 |
| Lehmann *et al.*, 2000 | *SAG2* (VIII) | *TUB1* (IX) | *TUB2* (IX) | *FOL1* (ND) | *MAG1* (VIII) | *B10* (XII) | *ACT1* (Ib) | | Séquençage | 16[d] |
| Grigg *et al.*, 2001a | *SAG2* (VIII) | *SAG1* (VIII) | *SAG3* (XII) | *SAG4* (VIIa) | *BSR4* (IV) | | | | Séquençage | 28[e] |
| Lehmann *et al.*, 2003 | *SAG2* (VIII) | *M163* (XII) | *M33* (IV) | *M48* (Ia) | *M102* (VIIa) | *M6* (XII) | *M95* (VIIa) | | PCR-RFLP + microsatellites | 25[f] |
| Sreekumar *et al.*, 2003 | *SAG2* (VIII) | *M163* (XII) | *M33* (IV) | *M48* (Ia) | *M102* (VII) | *M6* (XII) | *M95* (VIIa) | | PCR-RFLP + microsatellites | 7[g] |
| Miller *et al.*, 2004 ; Conrad *et al.*, 2005 | *SAG2* (VIII) | *SAG1* (VIII) | *SAG3* (XII) | *B1* (IX) | *GRA6* (X) | | | | PCR-RFLP + séquençage | 52[h] |
| Lehmann *et al.*, 2004 | *SAG2* (VIII) | *M163* (XII) | *M33* (IV) | *M48* (Ia) | *M102* (VII) | *M6* (XII) | *M95* (VIIa) | | PCR-RFLP + microsatellites | 53[i] |
| Khan et al., 2005a | *SAG2* (VIII) | *TUB2* (IX) | *GRA6* (X) | *SAG3* (XII) | | | | | | 8 |
| Ferreira *et al.*, 2006 | *SAG2* (VIII) | *SAG1* (VIII) | *SAG3* (XII) | *L363* (VIIb) | *GRA6* (X) | *B1* (IX) | cB21-4 (III) | cS10-A6 (VIIa) | PCR-RFLP + microsatellites | 20[J] |
| de Sousa et al., 2006 | *SAG2* (VIII) | *TUB2* (IX) | *W35* (II) | *B18* (VII) | *B17* (XII) | *TgM-A* (X) | | | PCR-RFLP + microsatellites | 15 |

**Tableau 3.** Typages multilocus des isolats de *Toxoplasma gondii*.

[a] ND : non disponible.

[b] dont 23 isolats inhabituels : Brésil (OH3, S11), Australie (Tg96), Japon (Tg132, FUK, Tg17), Panama (2 chats: K117c, K125; 1 colombe : G622-M), ours (B41, B51, B62, B70, B73, B74, B75), cerfs (WTD-1, WTD-3), dinde (T61), Rongeurs (R18, R943, R961, R977)

[c] dont 8 isolats inhabituels : Uruguay (OPA, CASTELLS), Guyane française (RUB), Japon (Tg132), Argentine (PIG3), Australie (Tg96), Singe (SQM), Cobaye (76K)

[d] dont 3 isolats inhabituels : cougar (COUGAR2), loutre de mer (OTTER3), wallaby (WALLABY1)

[e] dont 4 isolats inhabituels : Guyane française (RUB, VAND), Uruguay (CASTELLS), cougar (COUGAR)

[f] dont 3 isolats inhabituels : étourneau (1), rongeurs (2)

[g] dont 7 isolats inhabituels : Inde (TgCInd-1-TgCInd-7)

[h] dont 52 isolats inhabituels : loutres de mers (50), phoque (1), lion de mer (1)

[I] dont 53 isolats inhabituels : Brésil (CK194-218, CK300, CK304-305, CK 307, CK309, CK312-316, CK319, CK323, CK328, CK332, CK335, CK337, CK340-345, CK347, CK351, CK353, CK357-358, CK364)

[J] dont 20 isolats inhabituels : Brésil (20: D1-D8, CH1-CH3, AS28, BV, N, EGS, RAR, SAF, EFP, C4, P)

Le nombre de marqueurs sélectionnés doit être le plus important possible pour pouvoir donner des informations représentatives de la variabilité génétique totale de l'espèce à étudier. Seul un typage multilocus, avec des marqueurs génétiques localisés sur plusieurs chromosomes peut mettre en évidence les recombinaisons génétiques et apprécier la diversité génétique de l'espèce à étudier. Il faut se rappeler que l'héritage des allèles de deux souches parentales peut être disproportionné dans les progénies recombinantes : chez *Toxoplasma*, CL19 et CL11, deux progénies issues d'un croisement entre un type II et un type III (Sibley et al., 1992), ont respectivement 127 et 113 loci de type III sur les 139 marqueurs analysés (Sibley et al., 1992 ; Saeij et al., 2005a). Un typage unilocus, voire avec seulement deux ou trois marqueurs, pourrait facilement classer ces authentiques recombinants II/III en type III.

La plupart des études sur le polymorphisme génétique de *T. gondii* n'ont utilisé qu'un seul marqueur (tableau 2). Bien que l'échantillonnage d'isolats soit très important et surtout très diversifié car ces isolats ont été collectés dans différentes régions du globe, le typage monolocus réalisé ne permet pas d'apprécier la diversité génétique et les recombinaisons génétiques parmi ces isolats. L'étude du polymorphisme par séquençage d'un seul gène pourrait donner des informations sur la diversité allélique de ce gène, comme pour *GRA6* par exemple (Fazaeli et al., 2000a). Malheureusement, la grande majorité des études monolocus n'ont étudié que le polymorphisme génétique d'un seul gène, *SAG2*. De plus, le choix de la PCR-RFLP dans la plupart de ces études et non du séquençage n'apporte qu'une information rudimentaire (2 SNPs) sur ce gène.

Parmi les études multilocus (tableau 3), le principal biais est lié à l'échantillonnage qui doit être le plus important et le plus divers possible. Le toxoplasme étant présent chez tous les mammifères et tous les oiseaux sous toutes les latitudes, il faudrait en théorie étudier des souches provenant d'un maximum d'hôtes et d'un maximum de pays. Or la plupart de ces études ont étudié des isolats provenant majoritairement d'Amérique du nord ou d'Europe. Toutes les autres parties du monde, notamment l'Amérique du Sud, l'Asie ou l'Afrique sont largement sous-représentées. De plus, parmi les isolats étudiés en Amérique du Nord ou en Europe, la plupart proviennent de cas de toxoplasmose humaine symptomatique (surtout des cas de toxoplasmose congénitale, moins souvent des réactivations chez des sidéens) ou d'animaux domestiques ou péri-domestiques (moutons, porcs, poulets, chats). La diversité d'hôtes de T*oxoplasma gondii*, notamment dans le milieu sauvage, est sous-estimée dans la plupart de ces études. Nous avons indiqué dans le tableau 3, pour chaque étude

multilocus, la proportion d'isolats « inhabituels » soit par leur origine géographique (*i.e.* non originaires d'Amérique du Nord ou d'Europe) soit par leur origine d'hôtes (*i.e.* non isolés chez l'Homme ou chez les animaux domestiques).

Les premières études multilocus avec un nombre important d'isolats ont été réalisées avec 6 marqueurs enzymatiques sur 86 stocks (Dardé et al., 1992 ; Dardé, 1996) et avec 6 loci indépendants par PCR-RFLP sur 106 stocks (Howe et Sibley, 1995). L'échantillonnage de ces études comportait des isolats « historiques » entretenus dans plusieurs laboratoires comme RH, M7741, C56, ME49, Prugniaud et des isolats plus récents collectés principalement de cas de toxoplasmose humaine aux USA ou en France. Tibayrenc et al. (1991) par méta-analyse de données publiés sur une collection limitée d'isolats typés par marqueurs enzymatiques, proposèrent une structure de population clonale pour *T. gondii*. Plus tard, cette hypothèse fut admise par Sibley et Boothroyd (1992) qui proposèrent que la population de *T. gondii* était subdivisée en deux lignées clonales principales, dont une virulente pour la souris. Trois ans plus tard, Howe et Sibley (1995) postulèrent l'existence de trois lignées clonales dénommées type I, II et III. Les critères de reproduction clonale (Tibayrenc et al., 1990, 1991) étaient en effet présents dans cette population provenant majoritairement du cycle domestique d'Amérique du Nord ou d'Europe de *T. gondii* : sur-représentation de génotypes multilocus identiques et stables dans le temps et l'espace, absence de nombreux recombinants possibles, déséquilibre de liaison et corrélation avec des marqueurs génétiques indépendants (allozymes).

Ce mode de multiplication majoritairement clonal ne veut pas dire que la sexualité est absente chez *T. gondii*. Sur 106 isolats étudiés, Howe et Sibley (1995) ont décrit 4 isolats présentant un mélange d'allèles de type I, II ou III dans leur génotypes. Ces génotypes recombinants attestent l'existence d'une sexualité, mais les recombinaisons issues de cette sexualité sont 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. En marge de ces isolats recombinants qui sont issus du même pool de gènes que les 3 types majeurs, il existe des isolats que l'on qualifie d'exotique ou atypique (Grigg et al., 2001a, c ; Su et al., 2003). Ces isolats ont un génotype complexe avec des allèles classiques I, II ou III (souvent mélangés) pour certains marqueurs et de nombreux polymorphismes uniques non rencontrés parmi les isolats des 3 lignées clonales pour d'autres marqueurs. La diversité allélique et génotypique de ces isolats atypiques ou exotiques est beaucoup plus importante que celle observée parmi

les trois lignées clonales (Grigg et al., 2001a). Ceci suggère que ces isolats atypiques ou exotiques sont issus d'un pool de gènes différent, même si la présence d'allèles de type I, II ou III dans leurs génotypes montre qu'il y a eu introgression avec les trois lignées clonales par recombinaisons successives (Su et al., 2003). Ces isolats atypiques sont très rares dans la population d'isolats du cycle domestique de *T. gondii* aux USA ou en Europe, mais pourraient être beaucoup plus abondants chez les hôtes sauvages de ce parasite ou dans d'autres régions du globe notamment tropicales.

En conclusion, les données de la littérature s'accordent sur la faible diversité génétique et la structure majoritairement clonale de la population de *Toxoplasma gondii*, malgré le cycle sexué et la diversité d'hôtes très importante de ce parasite ubiquitaire. Cette contradiction doit faire poser deux questions essentielles : est ce que la diversité génétique et la fréquence des recombinaisons n'ont pas été sous-estimées par un échantillonnage biaisé :

(i) du génome ? En d'autres termes, est-ce que ces résultats ne sont pas la conséquence d'une sur-représentation de marqueurs peu polymorphes comme les SNPs détectés par PCR-RFLP ? Pour répondre à cette question, nous avons choisi des marqueurs très polymorphes, les microsatellites, pour typer 84 isolats collectés principalement dans le cycle domestique de *T. gondii* en Europe (Ajzenberg et al., 2002a).

(ii) du pool de gènes ? En effet, les isolats des USA et d'Europe provenant d'humains ou d'animaux domestiques sont sur-représentés dans les différentes études, aux dépens d'isolats du cycle sauvage et/ou provenant d'autres régions géographiques. Pour répondre à cette deuxième question, nous avons réalisé une étude moléculaire et phylogénétique avec marqueurs microsatellites sur 43 isolats dont la moitié avaient une origine d'hôte ou géographique inhabituelle (Ajzenberg et al., 2004).

3. 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

4. Ajzenberg, D., Bañuls, A.L., Su, C., Dumètre, A., Demar, M., Carme B. and Dardé, M.L. (2004). Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 34, 1185-1196

L'étude génétique d'une population doit obligatoirement utiliser plusieurs marqueurs (typage multilocus). La question qui se pose ensuite est le choix du polymorphisme génétique à détecter entre marqueurs enzymatiques, RAPD, SNPs et microsatellites. Il faut que les analyses soient rapides et peu coûteuses et que les marqueurs génétiques choisis soient discriminants Les résultats doivent être facilement interprétables et transformables en un génotype.

Les marqueurs enzymatiques ont un inconvénient technique qui limite leur utilisation sur un grand nombre d'isolats. Cette technique requiert un grand nombre de parasites purifiés (environ $7.10^6$ tachyzoïtes par enzyme), ce qui est long à obtenir pour des souches avirulentes de *Toxoplasma* (jusqu'à deux mois de passage répétés). Au niveau génétique, ces marqueurs sont sensibles à l'homoplasie (identité de caractères qui ne sont pas dus à un ancêtre commun) : les mutations silencieuses ne peuvent pas être détectées par cette technique car elles n'entraînent aucun changement dans la séquence d'acides aminés. Ainsi des bandes identiques sur un gel d'électrophorèse peuvent correspondre à des allèles différents.

Les marqueurs de type RAPD présentent quelques avantages (rapidité, simplicité, aucune connaissance préalable du génome), mais sont surtout caractérisés par de nombreux inconvénients : (i) la reproductibilité est mauvaise, ce qui est la conséquence des conditions peu stringentes de PCR (basses températures d'hybridation des amorces) ; (ii) comme pour les allozymes, ces marqueurs sont sensibles à l'homoplasie ; (iii) le manque de spécificité des amorces utilisées rend difficile, voire impossible, le typage direct sur produit pathologique (profil RAPD complexe associant les ADN de l'hôte et du parasite).

Il résulte de cette première analyse que les marqueurs génétiques les plus efficaces semblent être les microsatellites et les SNPs. Le séquençage multilocus de plusieurs loci, en mettant en évidence tous les SNPs sur les séquences étudiées apporte une information génétique optimale. Mais le coût et la lourdeur technique du séquençage sont prohibitifs sur une large collection d'isolats. L'alternative est d'utiliser la PCR-RFLP pour détecter un ou deux SNPs par locus étudié. Mais l'information génétique devient rudimentaire, car généralement biallélique pour chaque enzyme de restriction utilisée (coupure ou non du site de restriction). En multipliant le nombre d'enzymes des restriction pour chaque marqueur, on multiplie le nombre de SNPs détectés, mais cela rend la PCR-RFLP fastidieuse. Il vaut mieux, dans ce cas, opter pour le séquençage du marqueur. Cela signifie que l'information contenue dans un SNP par PCR-RFLP est relativement faible si on la compare à l'information contenue

dans les marqueurs de type microsatellite qui peuvent avoir 10 allèles ou plus (selon le nombre de fois que l'unité de base est répétée). On estime qu'il faut en moyenne 5 marqueurs SNPs pour égaler l'information contenue dans un microsatellite (Chakraborty et al., 1999). De plus, bien que la PCR-RFLP soit rapide et facile à utiliser, cette technique peut présenter des problèmes de reproductibilité, notamment avec le marqueur *SAG2* : amplification incomplète (Fuentes et al., 2001) ou digestion incomplète par l'enzyme de restriction (Lehmann et al., 2000).

Nous avons donc choisi les microsatellites qui nécessitent une PCR et une électrophorèse sur séquenceur automatique. L'analyse par le logiciel GeneScan du polymorphisme de longueur donne des résultats rapides, reproductibles et adaptés aux larges séries.

Le principal atout des microsatellites est leur fort pouvoir discriminant. Dans notre première étude (Ajzenberg et al., 2002a), l'association de 5 microsatellites très polymorphes avec motif de base $(TA)_n$ pour *N60608*, *N82375*, *N83021*, *N61191* et *AA519150* et de 3 microsatellites modérément polymorphes avec motif de base $(TC)_n$ pour W35487 et $(TG)_n$ pour *TUB2* et *TgM-A*, donnait un pouvoir de discrimination quasi maximal (0,997). Ce pouvoir discriminant nous a permis de montrer que les isolats appartenant à une même lignée clonale n'étaient pas identiques génétiquement. Cette différentiation génétique au-delà du lignage est quasiment impossible avec des marqueurs de type SNP par PCR-RFLP (Howe et Sibley, 1995) ou des marqueurs enzymatiques (Dardé, 1996). Nous avons pu différencier deux isolats de type II chez un mouton démontrant pour la première fois l'existence d'infections mixtes dans la nature.

L'analyse de la structure de la population avec ces 8 microsatellites a confirmé la structure clonale de la population étudiée (Ajzenberg et al., 2002a), la corrélation avec des marqueurs indépendants (marqueurs enzymatiques). L'analyse phylogénétique n'a cependant différencié que deux groupes, le type III étant indissociable du type II. En revanche, un marqueur microsatellite modérément polymorphe (*TgM-A*) a permis de définir deux sous-groupes dans la lignée de type I jusqu'à présent très homogène avec les principaux marqueurs utilisés (Howe et Sibley, 1995 ; Dardé, 1996). La présence d'un allèle de type III de *TgM-A* dans un des deux sous-groupes pourrait être la conséquence de recombinaisons entre le type I et le type III.

Ainsi, dans la population étudiée, constituée majoritairement d'isolats du cycle domestique en Europe, la structure de la population reste clonale malgré l'utilisation de marqueurs microsatellites ayant peut-être permis une meilleure détection des évènements de recombinaison.

Dans notre deuxième article (Ajzenberg et al., 2004), pour limiter l'homoplasie des marqueurs les plus polymorphes, nous n'avons gardé que les trois marqueurs modérément polymorphes de notre étude précédente (Ajzenberg et al., 2002a). De plus, nous avons utilisé deux nouveaux marqueurs microsatellites au polymorphisme également modéré : *B18* $(TG)_n$ et *B17* $(TC)_n$. Afin d'augmenter l'information génétique apportée par ces marqueurs, nous avons séquencé la partie microsatellite proprement dite ainsi que les régions flanquantes de ces cinq marqueurs pour 43 isolats. Le but de cet article était de reconsidérer la structure de la population en étudiant 21 isolats du cycle domestique d'Europe ou des USA et 22 isolats inhabituels (d'hôtes sauvages ou de zones tropicales). Nous avons montré que la structure de cette population n'était pas typique d'un organisme clonal. Les 3 lignées clonales sont individualisées mais avec des valeurs de bootstrap faible : la présence fréquente de recombinaisons (*e.g.* isolats africains ou isolats du milieu sauvage nord-américain) diminue la robustesse de l'individualisation des 3 lignées clonales et brouille la phylogénie. Les souches aux génotypes atypiques (en particulier les souches guyanaises) sont distribuées tout le long du phylogramme sans aucune structuration. L'intégration de ces souches inhabituelles dans l'analyse suggère que les échanges sexués par recombinaison seraient plus fréquents parmi les isolats du cycle sauvage de *Toxoplasma* (*e.g.* dans la forêt amazonienne de Guyane française) et dans des régions où l'élevage récent ou non intensif d'animaux domestiques est associé à une domestication récente des chats (*e.g.* Brésil, Afrique Centrale et de l'Ouest, Caraïbes). Ainsi, la sous-représentation d'isolats du cycle sauvage ou de régions tropicales pourrait expliquer la prédominance des 3 lignées clonales dans toutes les études précédentes.

Une autre étude (Lehman et al., 2004) a montré que le déséquilibre de liaison était beaucoup moins important dans une population de 53 isolats provenant de poulets du Brésil que dans une population de 54 animaux domestiques (porcs, poulets, chats, mouton, chèvre) nord-américains. Cette étude suggère également que les échanges sexués sont plus fréquents dans la population de toxoplasmes du Brésil par rapport à la population d'Amérique du Nord. Dans cette étude, les données concernant la diversité génotypique des isolats brésiliens n'étaient pas disponibles. Tovi Lehman nous a gentiment adressé ces 53 isolats que nous

avons typés par analyse du polymorphisme de longueur des 5 microsatellites utilisés dans Ajzenberg et al. (2004). Les résultats du typage sont présentés dans le tableau 4. A titre de comparaison, nous présentons le résultat du typage de 58 isolats provenant d'animaux domestiques et sauvages collectés en France (région Champagne-Ardennes – D. Aubert, I. Villena – et en Limousin – A. Dumètre) dans le tableau 5, de 37 isolats provenant d'animaux collectés en Iran (N. Ziaali) et dans d'autres pays d'Europe (principalement du Portugal – S de Sousa) dans le tableau 6 et de 24 isolats provenant du continent américain (hors Brésil) dans le tableau 7. Les génotypes complets de ces 172 isolats provenant d'animaux sont dans l'annexe 1.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | **Poulets du Brésil** | | |
| CK358 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK196 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK215 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK194 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK211 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK207 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK212 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK214 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK305 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK309 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK313 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK314 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK315 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK332 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK335 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK337 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK351 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK364 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK342 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK323 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK328 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK341 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | Atypique |
| CK199 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK200 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK201 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK204 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK218 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK216 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK197 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | Atypique |
| CK307 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK312 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK316 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK340 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK343 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK347 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III |
| CK198 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | I / III |
| CK202 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | I / III |
| CK353 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / III* |
| CK319 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | I / II* |
| CK203 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | I / II* |

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | **Poulets du Brésil (suite)** | | |
| CK300 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | II / I* |
| CK195 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | II / I* |
| CK213 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | II / I* |
| CK206 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | II / I |
| CK345 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | III / I |
| CK357 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | III / I |
| CK208 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | III / I* |
| CK304 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | III |
| CK344 | Cœur et cerveau | Brésil (Rio) | Poulet | III |
| CK205 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | III* |
| CK209 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | III* |
| CK210 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | III* |
| CK217 | Cœur et cerveau | Brésil (São Paulo) | Poulet | III* |

**Tableau 4.** Typage de 53 isolats de poulets du Brésil avec cinq marqueurs microsatellites.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | **Animaux de France** | | |
| CH1 | Selles (oocystes) | France (Limoges) | Chat | II / III |
| CH2 | Selles (oocystes) | France (Limoges) | Chat | II |
| FR1-2003-Cap cap-01 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR1-2004-Cap cap-01 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR1-2004-Cap cap-02 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR1-2004-Cap cap-05 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR1-2005-Cap cap-01 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR1-2005-Cap cap-02 | Cœur | France (Reims) | Chevreuil | II |
| FR2-2003-Str alu-01 | Cerveau | France (Limoges) | Chouette | II |
| 76K | Cerveau | France | Cobaye/ TA / encéphalite | II |
| FR2-2004-OVI-ARI-01 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2004-OVI-ARI-02 | Cœur (direct ) | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2005-OVI-ARI-01 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2005-OVI-ARI-02 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2005-OVI-ARI-03 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2005-OVI-ARI-04 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| FR2-2005-OVI-ARI-05 | Cœur | France (Limoges) | Mouton | II |
| S1 | Cerveau d'avorton | France (Limoges) | Mouton/ TC/ avortement | II |
| S1K | Cerveau d'avorton | France (Limoges) | Mouton/ TC/ avortement | II |
| S2 | Foie et cerveau d'avorton | France (Limoges) | Mouton/ TC/ avortement | II |
| S3 | Organes d'avorton | France (Limoges) | Mouton/ TC/ avortement | II |
| S3K | Organes d'avorton | France (Limoges) | Mouton/ TC/ avortement | II |
| FR2-2005-GAL DOM 01 | Cerveau | France (Limoges) | Poulet | II |

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | **Animaux de France (suite)** | | |
| FR2-2005-GAL DOM 02 | Cerveau | France (Limoges) | Poulet | II |
| FR2-2005-GAL DOM 03 | Cerveau | France (Limoges) | Poulet | II |
| FR2-2005-GAL DOM 04 | Cerveau | France (Limoges) | Poulet | II |
| FR2-2005-GAL DOM 05 | Cerveau | France (Limoges) | Poulet | II |
| FR1-2004-Myo coy-01 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-02 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-03 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-05 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-07 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-15 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-16 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-17 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-18 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2004-Myo coy-20 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2005-Myo coy-01 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR1-2005-Myo coy-02 | Cœur | France (Reims) | Ragondin | II |
| FR2-2004-Myo coy-01 | Cerveau ou cœur | France (Limoges) | Ragondin | II |
| FR2-2005-Myo coy-01 | Cerveau | France (Limoges) | Ragondin | II |
| FR1-2005-Ond zib-01 | Cœur | France (Reims) | Rat musqué | II |
| FR1-2005-Ond zib-03 | Cœur | France (Reims) | Rat musqué | II |
| FR1-2005-Ond zib-04 | Cœur | France (Reims) | Rat musqué | II |
| FR1-2005-Vul vul-0? | Cœur | France (Reims) | Renard | II |
| FR1-2005-Vul vul-01 | Cœur | France (Reims) | Renard | II |
| FR1-2005-Vul vul-02 | Cœur | France (Reims) | Renard | II |
| FR1-2001-Sus scr-01 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2001-Sus scr-02 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2001-Sus scr-04 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2001-Sus scr-12 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2001-Sus scr-14 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2002-Sus scr-01 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2003-Sus scr-05 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2003-Sus scr-05 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2004-Sus scr-10 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2004-Sus scr-11 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |
| FR1-2004-Sus scr-13 | Cœur | France (Reims) | Sanglier | II |

**Tableau 5.** Typage de 58 isolats d'animaux de France avec cinq marqueurs microsatellites.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| **Animaux du Portugal, Grande-Bretagne et Italie** | | | | |
| PT-2005-GAL DOM 01 (GA 147) | Muscle | Portugal (Albergaria) | Poulet | II |
| PT-2005-GAL DOM 02 GA163) | Muscle | Portugal (Albergaria) | Poulet | II |
| PT-2005-GAL DOM 03 (GA 164) | Muscle | Portugal (Albergaria) | Poulet | II |
| PT-2005-GAL DOM 04 (GA 167) | Muscle | Portugal (Albergaria) | Poulet | II |
| PT-2005-SUS SCR 01 (PV 44) | Cœur | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 04 (PV 214) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 06 (PV 227) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 07 (PV 231) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 08 (PV 272) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 09 (PV266) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 10 (PV 232) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 12 (PV282) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 13 (PV274) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 15 (PV 302) | Cœur | Portugal (Vinhais) | Porc | II |
| PT-2005-SUS SCR 11 (PV 238) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | II* |
| PT-2005-SUS SCR 02 (PV116) | Cœur | Portugal (Vinhais) | Porc | III |
| PT-2005-SUS SCR 05 (PV 220) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | III |
| PT-2005-SUS SCR 14 (PV 311) | Cerveau et cœur | Portugal (Vinhais) | Porc | III |
| PT-2005-SUS SCR 16 (PV 316) | Cerveau | Portugal (Vinhais) | Porc | III |
| B1 | | Portugal | Bovin | I |
| BEV | | Grande-Bretagne | Lapin | II |
| M3 | | Grande-Bretagne | Mouton/ TC/ avortement | II |
| SQM | Liquide pleural ou sang | Grande-Bretagne | Singe/ TA/ disséminée | II |
| ISSR-2005-ORY CUN | | Italie | Lapin | III |
| **Animaux d'Iran** | | | | |
| Cat 152 | | Iran | Chat | II |
| Cat 155 | | Iran | Chat | II |
| Sheep 120 | | Iran | Mouton | II |
| Chicken 103 | | Iran | Poulet | III |
| Chicken 140 | | Iran | Poulet | III |
| Chicken 141 | | Iran | Poulet | III |
| Chicken 157 | | Iran | Poulet | III |
| Chicken 162 | | Iran | Poulet | III |
| Chicken 164 | | Iran | Poulet | III |
| Duck 38 | | Iran | Canard | III |
| Sheep 114 | | Iran | Mouton | II |
| Sheep 68 | | Iran | Mouton | III |
| Sheep 81 | | Iran | Mouton | III |

**Tableau 6.** Typage de 20 isolats d'animaux du Portugal, de 3 isolats d'animaux de Grande-Bretagne, d'un isolat de lapin d'Italie et de 13 isolats d'animaux d'Iran avec cinq marqueurs microsatellites.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Hôte | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | **Animaux des USA** | | |
| CT1 | Intestin | USA | Bovin | I |
| WTD1 | | USA | Cerf | II / I |
| CEP | Oocystes | USA | Chat | III |
| T61 | | USA | Dinde | II / I* ou II / III* |
| ME49 | | USA | Mouton | II |
| M7741 | Diaphragme | USA | Mouton | III |
| B73 | | USA | Ours | II / I ou II / III |
| B41 | | USA | Ours | II* |
| P89 | Cœur | USA | Porc | III / I* |
| P80 | Cœur | USA | Porc | III / I / II* |
| P1-2000-PT12 | | USA | Porc | II |
| P1-2001-PT12 | | USA | Porc | II |
| P93-PT12 | | USA | Porc | II |
| C56 | Ovaires | USA | Poulet | III |
| | | **Animaux d'Amérique du Sud (hors Brésil)** | | |
| CO-2005-GAL-DOM-177 | Selles (oocystes) | Colombie | Chat + pool de poulets | I / III |
| Tg-CK-AR23 | Selles (oocystes) | Argentine | Chat + pool de poulets | Atypique |
| OPA | Muscle | Uruguay | Porc | III |
| PIG 3 | Muscle | Argentine | Porc | II |
| ENVL-2002-MAC | Rein | Barbade | Singe | III / I |
| IH-2004-PGE89 | Cerveau (direct) | Uruguay | Pigeon | II |
| IH-2005-PGE 101 | Cerveau | Uruguay | Pigeon | II |
| IH-2005-PGE 102 | Cerveau | Uruguay | Pigeon | II |
| GUY-2004-JAG1 | Cœur | Guyane fr. | Jaguar | Atypique |
| CASTELLS | Placenta ou fœtus | Uruguay | Mouton/ TC | Atypique |

**Tableau 7.** Typage de 14 isolats d'animaux des USA, et de 10 isolats d'animaux d'Amérique du Sud (hors Brésil) avec cinq marqueurs microsatellites.

Si on compare la distribution des génotypes dans la population d'isolats de poulets du Brésil (tableau 4) avec la distribution des génotypes dans la population d'isolats provenant d'animaux sauvages et domestiques en France (tableau 5), on voit qu'il n'y a aucun type II dans la population du Brésil, alors que, dans la population d'animaux de France, le type II est largement majoritaire (98%). Dans la population de poulets brésiliens, ce sont les génotypes recombinants et atypiques qui sont majoritaires (89 %). Le seul type clonal retrouvé dans cette population est le type III (11%) dont la moitié sont des variants du type III (III*). Ainsi, la diversité génotypique (nombre de génotypes différents parmi le nombre total de génotypes) est bien plus importante parmi les isolats de poulets du Brésil (G = 0,4717) que parmi les isolats provenant d'animaux en France qu'ils soient domestiques ou sauvages (G = 0,035).

Au Portugal (tableau 6), la situation est comparable à celle de la France avec une majorité de type II parmi 20 isolats de *T. gondii* provenant d'animaux domestiques (75% de type II, 20% de type III et 5 % de type I) et une diversité génotypique également moins importante qu'au Brésil (G = 0,15). Les résultats du typage de ces 20 isolats ont été publiés (de Sousa et al., sous presse).

En Iran (tableau 6), parmi 13 isolats de *T. gondii* d'animaux domestiques, la diversité génotypique est similaire à celle du Portugal (G = 0,1538), mais dans ce pays, c'est le type III qui semble majoritaire (69 % de type III, 31 % de type II). Il convient toutefois de rester prudent sur l'interprétation de ces données car le nombre d'isolats d'Iran (ou du Portugal) est faible par rapport au nombre d'isolats de France ou du Brésil.

La répartition des génotypes et la diversité génotypique des isolats de *T. gondii* provenant d'animaux des USA et de divers pays d'Amérique du Sud (Brésil excepté) (tableau 7) ne peut pas être estimée car la plupart de ces isolats ont été adressés dans notre laboratoire du fait de caractéristiques génétiques ou phénotypiques (virulence chez la souris) particulières, ce qui constitue un biais.

# 5. Conclusion

Ainsi en France, la population de *T. gondii* est largement clonale avec une suprématie absolue d'un seul génotype, le type II sur tous les autres génotypes, et ce dans toutes les niches écologiques étudiées. On peut vraisemblablement étendre ce modèle dans tous les pays avec élevage ancien et intensif d'animaux domestiques, associé à une domestication ancienne du chat domestique.

Dans la forêt de Guyane française (absence de domestication) et au Brésil (élevage intensif et introduction du chat domestique récents), la situation est très différente avec une diversité génotypique et une proportion d'échanges sexués beaucoup plus importante. Cette diversité n'exclut pourtant pas la possibilité que certains génotypes appartiennent à une nouvelle lignée clonale. Il se peut par exemple qu'un génotype guyanais soit en fait le seul représentant connu d'un génotype particulièrement bien adapté à un hôte spécifique de la forêt amazonienne et qui s'est propagé de manière clonale dans cette niche écologique. Une nouvelle lignée clonale, le type X a été décrite chez des loutres de mer principalement en Californie (Cole et al., 2000 ; Miller et al., 2004 ; Conrad et al., 2005). Il se peut aussi que le génotype recombinant I / III que nous avons décrit principalement chez des patients immunodéprimés africains soit une lignée clonale. Le fait de retrouver ce même génotype I / III dans 8 isolats de poulets brésiliens (tableau 4) plaide en faveur de cette hypothèse. Dans l'avenir, la collecte d'isolats avec typage multilocus devra être privilégiée en Amérique du Sud et surtout en Afrique pour mieux comprendre la structure de la population de *T. gondii*.

# DEUXIÈME PARTIE

# Apport des microsatellites et du Centre de Ressources Biologiques (CRB) *Toxoplasma* dans l'étude de la corrélation entre génotypes et formes cliniques de toxoplasmose

# 1. Introduction

Dans cette introduction, nous décrirons les différentes formes cliniques de la toxoplasmose, puis nous soulignerons, parmi les facteurs influençant la sévérité de la toxoplasmose, le rôle du génotype de la souche infectante.

## 1.1. Manifestations cliniques de la toxoplasmose

Nous distinguerons la toxoplasmose acquise de l'immunocompétent, la toxoplasmose de l'immunodéprimé et la toxoplasmose congénitale.

### 1.1.1. Toxoplasmose acquise de l'immunocompétent

La grande majorité des cas (plus de 80%) correspond à des formes purement asymptomatiques. Le diagnostic n'est possible que sérologiquement. Les anticorps anti-toxoplasmiques détectés traduisent la présence de kystes tissulaires (dans les muscles et le cerveau en particulier). Ces kystes n'entraînent aucune réaction inflammatoire et sont totalement latents sur le plan clinique. Ils persistent ainsi toute la vie de l'individu, mais peuvent en cas d'immunodépression sévère se réactiver et entraîner alors une toxoplasmose cliniquement apparente.

Cette absence de signes cliniques chez le sujet immunocompétent ne permet pas un isolement classique des souches à partir de prélèvements pathologiques. Seul le sérotypage effectué directement avec le sérum de patients infectés (Kong et al., 2003) permet, à partir de l'analyse de la réponse anticorps de l'hôte vis à vis de plusieurs peptides parasitaires, de savoir quels sont les génotypes responsables de ces formes asymptomatiques.

Les formes symptomatiques correspondent à trois formes : les formes ganglionnaires, oculaires et les formes sévères.

1.1.1.1. Lymphadénopathie toxoplasmique bénigne

C'est la plus fréquente des formes symptomatiques (15 à 20 % des cas). Elle se manifeste volontiers chez l'enfant ou l'adulte jeune par des adénopathies de 1 à 3 cm de diamètre, peu nombreuses en général, fermes, mobiles à la palpation, de localisation typiquement cervico-occipitale, sans périadénite et n'évoluant jamais vers la suppuration (Desmonts et Couvreur, 1985). Sont associés fièvre modérée, asthénie prolongée et au point de vue biologique un syndrome mononucléosique. L'évolution, bien que favorable sans traitement, est souvent prolongée avec persistance des adénopathies et de l'asthénie pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois. Dans ces formes prolongées, le diagnostic différentiel peut se poser avec un lymphome hodgkinien ou non hodgkinien, justifiant une biopsie ganglionnaire.

Les rares isolats collectés lors de lymphadénopathie toxoplasmique bénigne l'ont été à partir de biopsies ganglionnaires.

1.1.1.2. Toxoplasmose oculaire

La toxoplasmose oculaire est la cause la plus fréquente d'inflammation du segment postérieur d'origine infectieuse (Brézin et Delair-Briffod, 2003a). Considérées comme rares par rapport aux toxoplasmoses oculaires résultant d'une infection congénitale, les toxoplasmoses oculaires d'origine acquise chez l'immunocompétent sont certainement sous-estimées. Elles pourraient être plus fréquentes dans certaines régions du monde, telles que le Sud du Brésil (Vallochi et al., 2005) ou l'Afrique de l'Ouest (Gilbert et al., 1999) ou dans certaines circonstances épidémiologiques. Ainsi, parmi les 100 cas de toxoplasmose aiguë diagnostiqués lors de l'épidémie de toxoplasmose de Greater Victoria au Canada entre octobre 1994 et mars 1995 (nombre total de sujets infectés estimé entre 2894 et 7718), 20 avaient une forme oculaire (Bowie et al., 1997 ; Burnett et al., 1998). En comparant les risques de toxoplasmose oculaire acquise (à partir des données de cette épidémie) et le risque de toxoplasmose oculaire d'origine congénitale, deux tiers des cas de toxoplasmose oculaire seraient d'origine acquise (Gilbert et Stanford, 2000).

Les signes fonctionnels de toxoplasmose oculaire dépendent de la localisation du foyer. La baisse d'acuité visuelle peut être majeure en cas de lésion maculaire ou absente au cours de certaines lésions périphériques. Le diagnostic de toxoplasmose oculaire est présumé devant la présence d'une lésion évocatrice au fond d'œil : dans le cas le plus typique, un foyer

de choriorétinite active se présente sous forme d'une lésion blanchâtre, profonde, à bords flous, fréquemment satellite d'une lésion ancienne pigmentée et / ou atrophique (Brézin et Delair-Briffod, 2003a). Les lésions actives entraînent par contiguïté une hyalite et parfois une uvéite antérieure, d'intensité variable. L'évolution spontanée ou sous traitement se fait vers la cicatrisation progressant vers le centre de la lésion. Le pronostic de la lésion est fonction de la localisation des lésions : sévère en cas d'atteinte maculaire, généralement favorable en cas d'atteinte périphérique.

Le diagnostic de toxoplasmose oculaire est essentiellement clinique. En cas de doute diagnostique, la ponction de chambre antérieure permet un prélèvement d'humeur aqueuse pour mettre en évidence une synthèse locale d'anticorps anti-toxoplasmique et /ou la présence d'ADN toxoplasmique par PCR. La présence d'ADN toxoplasmique dans l'humeur aqueuse peut permettre un typage direct de la souche à l'origine de la toxoplasmose oculaire.

#### 1.1.1.3. Toxoplasmose sévère

Des atteintes pulmonaires (Pomeroy et Filice, 1992), myocardiques (Chandenier et al., 2000), hépatiques (Lesur et al., 1994), neurologiques (Vastava et al., 2002), rénales (Couvreur et al., 1984), ou musculaire (Magid et Kagen, 1983) ont été décrites de façon exceptionnelle chez l'immunocompétent. Si on prend l'exemple des formes pulmonaires, une revue de la littérature sur une période de 50 ans (de 1941 à 1991) ne retrouve que 15 patients avec une toxoplasmose pulmonaire sans facteur d'immunodépression identifiable (Pomeroy et Filice, 1992). Depuis 1991, les descriptions sporadiques de ces formes confirment la rareté des toxoplasmoses pulmonaires chez l'immunocompétent (Candolfi et al., 1993 ; de Salvador-Guillouët et al., sous presse), du moins en Europe et aux Etats-Unis. Il n'est pas impossible que ces formes sévères chez l'immunocompétent soient plus fréquentes dans d'autres zones géographiques. Ainsi, entre 1998 et 2002, en Guyane française, 19 cas bien documentés de toxoplasmose aiguë disséminée ont été décrits chez des sujets immunocompétents (Bossi et al., 1998 ; Dardé et al., 1998 ; Bossi et al., 2002 ; Carme et al., 2002 ; Bossi et Bricaire, 2004). Une revue récente (Demar et al., soumis) reporte un total de 46 cas dans la dernière décade dont 33 cas bien documentés chez l'adulte en Guyane française. La clinique chez ces 33 patients retrouve dans tous les cas un syndrome infectieux non spécifique mais marqué avec fièvre élevée (39-40°C) et prolongée (plus de 10 jours). Dans plus de deux tiers des cas, sont associés perte de poids (>5%), cytolyse hépatique, adénopathie et pneumopathie (avec

détresse respiratoire dans 1/3 des cas). Des céphalées sévères sont retrouvées dans la moitié des cas, alors qu'hépatosplénomégalie, diarrhée et choriorétinite sont notées dans moins d'un tiers des cas. D'autres manifestations de type neurologique (confusion, syndrome de Guillain-Barré), cardiaque (péricardite), cutané (rash maculo-papuleux) ou musculaire (myosite) ont été plus rarement observées.

On retrouve dans l'interrogatoire de ces patients, 6 à 20 jours avant les symptômes, la consommation de gibier sauvage chassé en forêt amazonienne ou l'ingestion d'eau de rivière non traitée dans cette même forêt. Si le traitement spécifique anti-toxoplasmique (pyriméthamine et sulfadiazine) est institué rapidement, l'évolution est habituellement favorable. Un cas mortel est à déplorer chez une patiente surinamienne de 56 ans dans un tableau de défaillance multi-viscérale 3 jours après son admission au centre hospitalier de Saint Laurent du Maroni (Ajzenberg et al., 2005a).

L'isolement des souches guyanaises a été réalisé à partir du liquide de lavage broncho-alvéolaire ou plus fréquemment à partir du sang périphérique. L'isolement du parasite dans le sang a été possible jusqu'à deux mois après le début des symptômes (Bossi et al., 1998), ce qui témoigne d'une parasitémie particulièrement prolongée dans ces formes disséminées.

### 1.1.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé

Contrairement aux formes acquises de l'immunocompétent dont l'évolution est favorable dans l'immense majorité des cas, la toxoplasmose de l'immunodéprimé engage le pronostic vital du patient. Les manifestations cliniques sont liées à une réactivation de kystes préexistants à l'immunodépression, beaucoup plus rarement à une primo-infection.

Le SIDA est une cause majeure de toxoplasmose grave chez l'immunodéprimé, notamment dans sa forme cérébrale. Dans plus de 95 % des cas, elle est due à une réactivation de kystes préexistants à l'immunodépression (Luft et Remington, 1992). En dehors des patients ne se sachant pas séropositifs pour le VIH et pour lesquels la toxoplasmose cérébrale est inaugurale du SIDA, la non-observance de la prophylaxie spécifique quand les T CD4 sont inférieurs à 200 par $mm^3$ représente la principale circonstance de survenue de toxoplasmose cérébrale (Bourdillon et al., 1996). En France, pour la période 1999-2000, la toxoplasmose cérébrale est, en fréquence, la troisième pathologie (12%) d'entrée dans le SIDA chez les adultes après la pneumocystose pulmonaire (26% ) et la candidose oesophagienne (15%), ce

qui en fait la première cause d'atteinte neurologique au cours du SIDA (Institut de Veille Sanitaire, 2001). Durant la même période en France, 27% des cas de SIDA diagnostiqués chez des femmes concernent des femmes de nationalité africaine et 11% des cas diagnostiqués chez des hommes concernent des hommes de nationalité africaine (Institut de Veille Sanitaire, 2001).

Les formes graves de toxoplasmose de l'immunodéprimé VIH- se rencontrent : lors d'hémopathies malignes notamment dans les lymphomes hodgkiniens (Israelski et Remington, 1993) ; lors de transplantations notamment cardiaques (Couvreur et al., 1992), le plus souvent suite à une contamination du receveur non immunisé contre *T. gondii* par des kystes présents dans les cellules myocardiques du donneur ; lors de greffes de moelle osseuse allogénique (Derouin et al., 1992), le plus souvent par réactivation d'une infection ancienne du receveur. D'autres causes d'immunodépression à l'origine de toxoplasmose grave ont été décrites (tumeurs solides, corticothérapie au long cours, traitement immunosupresseur pour maladie systémique), mais elles sont rares (Leport et al., 1996).

Les formes cliniques graves de toxoplasmose chez l'immunodéprimé sont comparables quel que soit le type d'immunodépression sous-jacente. On différencie classiquement la forme cérébrale de la forme extra-cérébrale.

1.1.2.1. Toxoplasmose cérébrale

C'est la forme la plus fréquente chez les immunodéprimés, notamment au cours du SIDA (Leport et al., 1996). Malgré le polymorphisme des aspects cliniques et l'absence de spécificité de ceux ci, on distingue deux tableaux principaux (Katlama, 1987) :

- La forme encéphalitique diffuse, d'allure subaiguë, débutant volontiers de façon insidieuse avec troubles de la vigilance, céphalées associées à une fièvre d'intensité variable. L'absence de signes de focalisation et la quasi-normalité du scanner sont habituelles. La discrétion des signes neurologiques peut rendre le diagnostic difficile chez un patient atteint d'une hémopathie maligne par exemple. Le tableau est parfois plus évocateur avec atteinte d'un nerf crânien, l'apparition d'un trouble de l'équilibre.... L'atteinte d'autres organes tels que l'œil, la moelle osseuse et le poumon peut orienter le diagnostic. Cette forme

s'observe plus fréquemment chez les patients immunodéprimés non atteints de SIDA.

- La forme « pseudo-tumorale », de début plus brutal qui se manifeste par des signes déficitaires variables en fonction des localisations : hémiplégie ou hémiparésie, hémianopsie, aphasie, syndrome cérébelleux, atteinte d'un ou plusieurs nerfs crâniens. Des crises comitiales localisées ou généralisées l'accompagnent fréquemment. Les troubles de la conscience (simple somnolence ou coma à un stade plus avancé) y sont fréquents. Le tableau clinique peut s'accompagner de signes d'hypertension intracrânienne. Dans la plupart des cas, une fièvre (38,5-39°C) est présente.

Le diagnostic de la toxoplasmose cérébrale repose sur des arguments cliniques et radiologiques (TDM ou mieux IRM). Dans la forme la plus typique, le scanner montre une image en cocarde formée d'une hypodensité (nécrose) entourée d'un anneau hyperdense (réaction inflammatoire) lui-même dans une zone hypodense (œdème cérébral). Les lésions se situent électivement dans les hémisphères cérébraux, notamment dans les noyaux gris centraux et à la jonction cortico-sous-corticale (Diagana et al., 2005). Le diagnostic reste difficile. Seule la biopsie cérébrale, aux indications très limitées, montrant les tachyzoïtes en bordure des zones de nécrose, pourrait établir avec certitude le diagnostic de toxoplasmose cérébrale. Lorsqu'il y a suspicion de toxoplasmose cérébrale dans le cadre du SIDA, il est admis de ne pas pratiquer une biopsie cérébrale d'emblée (Katlama, 1987). Un traitement d'épreuve antitoxoplasmique est alors institué. Ce n'est qu'en l'absence de réponse clinique (7 à 14 jours après le début du traitement) et radiologique (dans les trois semaines suivant l'initiation du traitement) que la réalisation d'une biopsie stéréotaxique doit se discuter (Luft et Remington, 1992). Dans le cadre d'une immunodépression autre que le SIDA, particulièrement dans les lymphomes, la biopsie cérébrale a des indications plus larges (diagnostic différentiel avec des métastases cérébrales du lymphome).

La présence de tachyzoïtes de *T. gondii* dans les biopsies cérébrales permet un typage génétique, le plus souvent direct, de la souche responsable. L'isolement, ou tout au moins la détection d'ADN, à partir du sang a été décrit. La fréquence des PCR positives dans le sang lors des toxoplasmoses cérébrales est importante dans certaines études, notamment dans une étude récente réalisée au Brésil (Colombo et al., 2005).

1.1.2.2. Toxoplasmose extra-cérébrale

La pneumonie toxoplasmique peut dominer le tableau clinique chez les immunodéprimés. Les symptômes de cette forme peu fréquente ne sont pas spécifiques associant dyspnée, fièvre, toux non productive. La radiographie pulmonaire montre habituellement des infiltrats interstitiels bilatéraux (Luft et Remington, 1992). Le diagnostic est établi par l'observation de tachyzoïtes dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire ou plus rarement sur une biopsie pulmonaire. L'évolution vers la détresse respiratoire peut être rapide et associée à un tableau similaire à un choc septique (Lucet et al., 1993). Dans une revue des cas publiés entre 1963 et 1991 (Pomeroy et Felice, 1992), les auteurs relèvent une mortalité de 40 % chez les immunodéprimés dont la pneumonie toxoplasmique a été diagnostiquée de leur vivant. Ces mêmes auteurs reportent cependant qu'une prise en charge thérapeutique spécifique est associée à une issue favorable de la maladie, sans pour autant diminuer le risque de rechutes.

La choriorétinite toxoplasmique peut être isolée, associée à la toxoplasmose cérébrale ou quelque fois être un signe avant-coureur de cette dernière chez les immunodéprimés (Luft et Remington, 1992). Les foyers sont fréquemment nécrotiques, multifocaux ou extensifs, parfois bilatéraux avec fréquemment une co-infection rétinienne avec le CMV. Avant l'avènement des thérapeutiques antirétrovirales hautement actives (HAART), la toxoplasmose oculaire était une complication fréquente de l'infection par le VIH, quasi exclusivement observée chez des patients ayant moins de 50 lymphocytes CD4+ / $mm^3$ (Brézin et Delair-Briffod, 2003a).

D'autres localisations ont été décrites chez les immunodéprimés : médullaires, cardiaques, musculaires, cutanées, hépato-spléniques, pancréatiques, gastro-intestinales, surrénaliennes, vésicales, prostatiques ou testiculaires (Hofman et al., 1993 ; Rabaud et al., 1994). Ces localisations, la plupart du temps, ne sont pas isolées mais associées à une localisation neuro-oculaire et/ou pulmonaire traduisant une atteinte disséminée par voie hématogène (fièvre avec au moins deux localisations viscérales extra-cérébrales) (Hofman et al., 1993 ; Albrecht et al., 1995). Le parasite peut alors être isolé du sang périphérique ou à partir des différentes localisations viscérales. Le pronostic de ces formes disséminées est très sombre, les atteintes multiviscérales étant souvent objectivées à l'autopsie.

### 1.1.3. Toxoplasmose congénitale

Depuis 1960, la séroprévalence diminue constamment en France : 84% en 1960, 54% en 1995 (Ancelle et al., 1996) et 40 % en 2003 (AFSSA, sous presse).

En 1995, en France, le nombre de séroconversions pendant la grossesse a été estimé entre 2,4 (séroconversions certaines) et 5,8 (séroconversions certaines ou probables) pour 1000 grossesses. (Ancelle et al., 1996).

En France, un rapport du groupe de travail *Toxoplasma gondii*, à la demande de l'AFSSA, montre que le nombre d'enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale est estimé à 600 cas par an (dont 174 avec des séquelles, essentiellement des choriorétinites) tandis que ce même rapport estime à 47 (14 avortements spontanés, 11 interruptions volontaires de grossesse (IVG), 17 interruptions médicales de grossesse (IMG) et 5 morts nés) le nombre de grossesses annuelles non menées à terme consécutives à une contamination toxoplasmique (AFSSA, sous presse).

La transmission à l'enfant se fait par l'intermédiaire des tachyzoïtes qui franchissent la barrière placentaire, après l'avoir colonisée, lors d'une primo-infection maternelle survenue classiquement pendant la grossesse, exceptionnellement avant. Une immunodépression peut réactiver des kystes et entraîner une infection active chez une femme enceinte séropositive pour *T. gondii*, avec risque de transmission fœtale.

Le placenta joue son rôle de barrière et limite le passage du toxoplasme surtout en début de grossesse. Le risque d'infection congénitale est faible lorsque l'infection maternelle a lieu tôt pendant la grossesse. D'après une étude menée sur 603 cas confirmés de séroconversions maternelles à Lyon entre 1987 et 1995 et traitées par spiramycine (Dunn et al., 1999), le risque d'infection congénitale est de 2 % à 8 semaines d'aménorrhée (SA) et 6% (3-9%) à 13 SA. En revanche, plus la contamination fœtale a lieu à un stade précoce de la grossesse, plus on aura un risque de formes graves, car le système immunitaire du fœtus est plus immature. L'œil et le cerveau sont plus particulièrement touchés du fait de la faible réponse immune de ces tissus et de leur faible capacité de régénération.

Au fur et à mesure de la progression de la grossesse, le placenta devient de plus en plus perméable. Plus la contamination maternelle a lieu à un stade avancé de la grossesse, plus le risque de transmission au fœtus est élevé. Ce risque augmente brutalement et grossièrement

de manière linéaire jusqu'à la fin de la grossesse : 40 % (33-47 %) lorsque l'infection maternelle a lieu à 26 SA, 72 % (60-81%) lorsque l'infection maternelle a lieu à 36 SA atteignant 81 % (60-90%) pour les femmes infectées juste avant l'accouchement (Dunn et al., 1999). A l'inverse, plus la contamination a lieu tardivement pendant la grossesse, plus le risque d'observer des formes patentes diminue. On considère qu'après les infections de la 26ème semaine d'aménorrhée, le risque de foetopathie patente devient très rare (Couvreur, 1999)

La classification des formes cliniques de la toxoplasmose congénitale n'est pas évidente du fait du polymorphisme clinique de l'affection et de l'apparition souvent retardée de certaines manifestations. Historiquement, plusieurs formes ont été décrites (Ambroise-Thomas et Garin, 1984 ; Desmonts et Couvreur, 1985) :

- Avortement toxoplasmique. Une toxoplasmose aiguë maternelle survenant au début d'une grossesse peut entraîner la mort *in utero* de l'embryon et un avortement spontané.

- La forme grave neuro-oculaire s'observe dès la naissance. Elle associe une microcéphalie ou plus fréquemment une macrocéphalie avec hydrocéphalie et augmentation du périmètre crânien, des signes neurologiques variés (convulsions, hypertonie ou hypotonie, modifications des réflexes, troubles végétatifs), des calcifications intracrâniennes et des signes oculaires (microphtalmie, strabisme, nystagmus et surtout une choriorétinite). Cette forme majeure, qui correspond à une contamination maternelle survenue en tout début de grossesse, évolue habituellement vers la mort de l'enfant en quelques jours ou semaines ou devient chronique avec l'apparition de retards psychomoteurs considérables. Les auteurs décrivent également une forme neuro-oculaire dégradée ou retardée, correspondant à une contamination *in utero* plus tardive, qui est reconnue dès la naissance ou bien n'est dépistée qu'après plusieurs mois ou années. Cette forme comprend l'un ou l'autre des signes suivants : retard psychomoteur, crises convulsives, calcifications intracrâniennes, hydrocéphalie découverte après une période de quelques mois, apparition tardive d'un foyer de choriorétinite.

- La forme grave disséminée avec rash maculo-papuleux, purpura pétéchial diffus thrombopénique, atteinte pulmonaire avec détresse respiratoire, hépatite, ictère et hépatosplénomégalie. Une uvéite ou une dilatation ventriculaire peuvent être associées. Leur évolution est habituellement mortelle suite à un choc septique. La mort peut survenir *in utero* ou dans les jours qui suivent la naissance. Des formes disséminées d'évolution plus favorable ont été décrites : une hépatosplénomégalie, un ictère et / ou un purpura thrombopénique sont notés pendant les premières semaines de vie de l'enfant. La relation de ces signes avec une toxoplasmose congénitale est souvent établie plus tard lorsqu'un fond d'œil montre des foyers cicatriciels de choriorétinite toxoplasmique.

- La forme infra-clinique dont le potentiel évolutif est imprévisible. Des atteintes oculaires peuvent survenir ou récidiver de façon inopinée (Peyron et al., 1996), le pronostic étant lié à l'atteinte de la macula. C'est pourquoi tout enfant atteint de toxoplasmose congénitale, même asymptomatique à la naissance, doit être traité pendant au moins un an et doit recevoir une surveillance ophtalmologique (fond d'œil) à la naissance et à 3, 6, 12, 18 et 24 mois, puis tous les ans (Brézin et Delair-Briffod, 2003b).

La toxoplasmose congénitale en France n'est plus ce qu'elle était. Dans les années 50, les formes graves neuro-oculaires représentaient plus de la moitié des cas des consultations spécialisées (Couvreur, 1999). Aujourd'hui, en France, ces formes sont exceptionnelles à la naissance de l'enfant grâce aux dépistages sérologiques obligatoires, à la possibilité de faire un diagnostic anténatal par amniocentèse et échographies de morphologie fœtale au minimum mensuelles en cas d'infection maternelle prouvée ou fortement suspectée pendant la grossesse, au traitement *in utero* par l'association pyriméthamine /sulfadiazine lorsque le fœtus est atteint et à la possibilité d'une IMG, quel que soit le terme de la grossesse, lorsqu'il existe des lésions cérébrales majeures à l'échographie.

L'échographie permet de rechercher des signes évocateurs d'infection toxoplasmique congénitale. Les lésions les plus fréquentes sont des lésions de nécrose cérébrale (Jacquemard, 2003) visualisées à l'échographie sous forme de :

- dilatations ventriculaires cérébrales habituellement bilatérales et symétriques qui correspondent à des lésions de nécrose localisées dans la région de l'aqueduc de Sylvius et qui entraînent son obstruction. Mais il peut exister des lésions de nécrose cérébrale majeure qui, si elles ne sont pas localisées en région péri-ventriculaire, n'entraînent pas l'apparition d'une hydrocéphalie. Ainsi l'absence d'hydrocéphalie n'est pas un bon critère pronostique.

- calcifications intracrâniennes qui correspondent à des foyers de nécrose secondairement calcifiés et qui apparaissent à l'échographie sous forme d'images hyperdenses intracérébrales. Au moment de la réalisation de l'examen, ces foyers sont peu calcifiés et donc difficiles à visualiser. Ils sont mieux visualisés après la naissance en échographie trans-fontanellaire à l'aide de sondes à haute fréquence ou en TDM.

Ces lésions peuvent apparaître dans les semaines (ou plus rarement dans les mois) qui suivent la réalisation du diagnostic prénatal par PCR sur liquide amniotique d'où la nécessité de répéter les échographies en cas de séroconversion maternelle.

Une augmentation de l'épaisseur du placenta est fréquemment observée lors de toxoplasmose congénitale. D'autres anomalies échographiques telles qu'une ascite, un épanchement pleural, péricardique, une hépatosplénomégalie (avec hyperdensités intra-hépatiques), sont les témoins d'une atteinte disséminée (Jacquemard, 2003). En cas de doute sur l'interprétation des images échographiques, l'IRM peut être une aide au diagnostic. L'absence d'anomalies échographiques ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de toxoplasmose congénitale. Ces signes échographiques sont d'autant plus fréquents et importants que l'infection a eu lieu précocement au cours de la grossesse. Il n'existe pas de technique d'imagerie fœtale permettant d'évaluer l'atteinte rétinienne.

Les résultats d'une étude récente (Wallon et al., 2004) permettent de connaître la situation actuelle de la toxoplasmose congénitale en France. Dans cette étude, entre 1988 et 2001, 1506 femmes enceintes ayant présenté une séroconversion pendant la grossesse ont été suivies à l'hôpital de la Croix Rousse à Lyon selon un protocole identique. Cinquante trois grossesses n'ont pas été menées à terme (22 avortements spontanés, 27 IMG pour anomalie à l'échographie et quatre enfants morts-nés). Parmi les 1384 enfants vivants qui ont pu être suivis suffisamment longtemps pour exclure ou confirmer une toxoplasmose congénitale,

1026 (74 %) n'étaient pas infectés et 358 (26%) avaient une toxoplasmose congénitale. Parmi les 358 enfants atteints de toxoplasmose congénitale, 327 ont pu être suivis sur une période allant de 6 mois à 14 ans (médiane de 6 ans) afin d'estimer de façon précise les séquelles de l'affection chez des enfants ayant bénéficié d'un traitement ante et post-natal : 232 (71%) avaient une infection infra-clinique et 95 (29%) avaient une infection patente dont 60 avec choriorétinites isolées (18 %) et 35 (11%) avec séquelles cérébrales associées dans 19 cas à une choriorétinite (31 calcifications cérébrales, 6 hydrocéphalies et 1 microcéphalie). Parmi les 79 enfants ayant des lésions oculaires, il faut souligner que seulement 58 % ont été diagnostiquées avant l'âge de 2 ans et que 23 (29%) ont eu au moins un nouvel évènement oculaire (nouvelle lésion ou récidive). Parmi les 66 enfants avec acuité visuelle disponible, 24 (36%) ont eu une baisse de l'acuité visuelle toujours unilatérale (malgré l'existence de lésions bilatérales dans 21 cas). Parmi les 6 enfants avec hydrocéphalie, 3 ont eu un retard psychomoteur modéré, tandis que les 3 autres ont eu un développement normal, notamment scolaire. Deux enfants avec calcifications intracrâniennes ont eu un épisode comitial isolé sans récidives.

Ainsi, en France, à l'heure actuelle, les formes graves de toxoplasmose congénitale ne se voient qu'exceptionnellement à la naissance (Cneude et al., 2003), la majorité étant interrompue médicalement pendant la grossesse grâce au dépistage systématique de l'infection. Parmi les enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale, on peut considérer que dans 8 cas sur 10, l'infection est infra-clinique, alors que dans 2 cas sur 10 l'infection est patente avec des séquelles visuelles et neurologiques modérées.

## 1.2. Facteurs influençant la sévérité de la toxoplasmose

Comme nous l'avons vu, 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. La sévérité d'une toxoplasmose est étroitement corrélée au statut immunitaire de l'hôte : une toxoplasmose acquise chez un immunocompétent a une évolution favorable dans l'immense majorité des cas, alors que la toxoplasmose de l'immunodéprimé engage le pronostic vital du patient. Dans les toxoplasmoses congénitales, plus la contamination fœtale

a lieu à un stade précoce de la grossesse, plus on aura un risque de formes graves, car le système immunitaire du fœtus est plus immature.

On peut aussi penser que des facteurs parasitaires participent à la pathogénicité. On en retient habituellement quatre : la taille de l'inoculum, le stade infectant (oocystes versus kystes), la voie de contamination et le génotype de la souche infectante (Sibley et Howe, 1996). Le rôle de ces facteurs parasitaires a surtout été démontré chez l'animal, notamment la souris.

Parmi ces quatre facteurs, le génotype de la souche infectante est l'élément majeur influençant la pathogénicité chez la souris et nous nous focaliserons sur celui-ci. La définition de la virulence pour la souris est basée sur la dose létale 100% ($DL_{100}$) de la souche après inoculation intrapéritonéale de tachyzoïtes (Sibley et Boothroyd, 1992). Il est fondamental de définir la virulence d'une souche à l'isolement ou après un nombre limité de passages chez la souris, car des passages répétés peuvent augmenter considérablement la virulence de la souche (Dardé et al., 1992). Les différences de virulence entre les isolats sont surtout nettes quand on compare les isolats de type I avec les isolats de type II. Les isolats de type I sont virulents entraînant une toxoplasmose aiguë avec mort de 100% des souris en moins de 10 jours avec moins de 10 tachyzoïtes inoculés par voie intrapéritonéale ($DL_{100} < 10$). Les isolats de type II sont avirulents entraînant une toxoplasmose chronique totalement inapparente avec présence de kystes dans les tissus des souris ($DL_{100} > 10^3$ tachyzoïtes inoculés par voie intrapéritonéale). Les isolats de type III présentent une virulence variable, soit ils sont avirulents comme les isolats de type II, soit ils présentent une virulence intermédiaire (critères de $DL_{100}$ non définis) 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

Les gènes impliqués dans la virulence pour la souris ne sont pas encore identifiés. Initialement, la virulence a été associée à une région liée au marqueur *SAG1* sur le chromosome VIII (Howe et al., 1996). Une étude plus récente (Su et al., 2002) ne confirme pas ces données et montre qu'un large locus (~1,5 MB) situé sur le chromosome VIIa entre les marqueurs *M95* et *cS10-A6* contrôlerait 50 % de la virulence alors qu'un locus mineur lié au marqueur *ROP1* en contrôlerait 10 %. Ce locus mineur lié à *ROP1* se trouve sur le chromosome XI (http://toxodb.org/restricted/allchrom.html), et non sur le chromosome IV comme cela a été initialement décrit (Su et al., 2002).

Ces différences de virulence chez la souris ne sont pas transposables à d'autres animaux. Ainsi, chez le rat, les isolats de type I n'entraînent aucune pathologie quelque soit l'*inoculum*, et sont même parfois éliminés (Dubey et al., 1999 ; Zenner et al., 1999). Ceci souligne le rôle majeur de l'hôte dans la réponse à l'infection. Cependant des propriétés biologiques intrinsèques des différents types existent puisque des différences ont été retrouvées *in vitro* : le type I a des capacités de migration et de transmigration à travers des membranes cellulaires plus grandes que le type II. *Ex vivo*, le type I montre également un taux accru de pénétration à travers la *lamina propria* et la sous-muqueuse (Barragan et Sibley, 2002). Cette capacité à traverser les barrières épithéliales rapidement et à atteindre le courant sanguin dès les premières heures après l'infection peut expliquer une dissémination plus rapide et plus importante des parasites de type I chez la souris.

En ce qui concerne les souches atypiques ou recombinantes, dans notre expérience, à l'isolement, tous les phénotypes de virulence chez la souris (virulent, avirulent et intermédiaire) ont été observés pour les souches recombinantes, alors que les souches atypiques présentaient en règle un phénotype de virulence intermédiaire, dépendant de la dose inoculée. Ces différences dans la virulence pour la souris et dans d'autres propriétés biologiques reflètent des différences dans la combinaison des gènes dont chaque génotype a hérité (Grigg et Suzuki, 2003). Ainsi, un croisement expérimental entre deux souches avirulentes (ME49, type II, et CEP, type III) donne naissance soit à une progénie avirulente, comme les souches parentales, soit à une progénie de virulence accrue avec une capacité de dissémination importante et une $DL_{50}$ beaucoup plus faible que celle des parents ou du reste de la progénie (Saeij et al., 2005b).

Chez l'Homme, comme il a déjà été souligné, un déficit immunitaire ou une immaturité fœtale explique la sévérité des formes cliniques observées dans la grande majorité des cas. Il existe cependant des cas où des facteurs parasitaires, notamment le génotype de la souche, doivent être pris en compte (Boothroyd et Grigg, 2002). Le rôle du génotype dans la survenue de formes disséminées en Guyane française chez l'immunocompétent a été évoqué dans deux cas grâce à l'isolement et au typage alloenzymatique de la souche responsable : il s'agissait de génotypes atypiques définissant deux nouveaux zymodèmes, le zymodème 6 (Dardé et al., 1998) et le zymodème 12 (Bossi et al., 1998). Toujours chez l'immunocompétent, en Amérique du Nord et au Brésil, des formes sévères ou cliniquement atypiques de toxoplasmose oculaire acquise pourraient être associées à certains génotypes,

notamment types I et recombinants (Grigg et al., 2001c ; Vallochi et al., 2005). La proportion importante de formes oculaires diagnostiquées lors de l'épidémie de toxoplasmose de Greater Victoria au Canada laisse également suspecter une souche au génotype inhabituel. En ce qui concerne la toxoplasmose congénitale, il existe une contradiction entre une forme symptomatique gravissime et une contamination materno-fœtale tardive (Cneude et al., 2003) qui pourrait être expliquée, du moins en partie, par un génotype particulier de la souche infectante. L'hypothèse d'une réinfection pendant la grossesse a été avancée dans quelques cas de toxoplasmoses congénitales alors que la mère avait une immunité anti-toxoplasmique ancienne, préalable à la grossesse (Fortier et al., 1991 ; Gavinet et al., 1997 ; Hennequin et al., 1997 ; Dollfus et al., 1998 ; Lebas et al., 2004). Dans presque tous les cas, les auteurs ont évoqué le rôle du génotype parmi d'autres facteurs parasitaires dans ces cas très particuliers. Chez l'immunodéprimé, seulement 30-50 % des patients VIH + ayant une immunité toxoplasmique ancienne développent une toxoplasmose cérébrale en cas d'immunodépression profonde (Luft et Remington, 1992). Là encore, l'hôte doit jouer un rôle majeur. Dans le système HLA, HLA-DQ3 serait un marqueur génétique qui prédisposerait au développement de la toxoplasmose cérébrale chez les patients atteints de SIDA (Suzuki et al., 1996). Mais on peut aussi penser que des différences génétiques entre les souches peuvent jouer un rôle dans la survenue de ces formes cérébrales (Suzuki et al., 1989).

Le but de notre travail dans cette deuxième partie est de savoir quels sont les génotypes les plus fréquemment rencontrés dans les différentes formes cliniques de toxoplasmose humaine, et en particulier d'établir une corrélation entre certains génotypes et des formes sévères ou atypiques de toxoplasmose. Dans chaque forme clinique de toxoplasmose (congénitale, de l'immunodéprimé et acquise chez l'immunocompétent), nous présenterons dans un premier temps nos travaux publiés, puis dans un deuxième temps nous analyserons les résultats du typage génétique que nous avons réalisé sur les isolats collectés grâce au CRB *Toxoplasma.*

# 2. Toxoplasmose congénitale

Dans un premier temps, nous allons présenter une publication analysant la corrélation entre génotypes et formes cliniques de toxoplasmose à partir de 86 cas (Ajzenberg et al., 2002b). Dans un deuxième temps, nous analyserons les résultats obtenus à partir de nouveaux isolats provenant de 277 cas de toxoplasmose congénitale grâce au CRB *Toxoplasma*, après avoir présenté la publication décrivant la technique multiplex de typage que nous avons utilisée pour typer les isolats du CRB.

## 2.1. Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, 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

L'originalité de ce travail a été de réaliser un typage multilocus avec 8 marqueurs microsatellites sur une large collection d'isolats (86 au total) à l'origine de toxoplasmoses congénitales isolées en France (sauf BK, souche historique isolée au Pays-Bas en 1948) et d'essayer d'établir une corrélation entre génotypes et formes cliniques de toxoplasmose congénitale.

La répartition des génotypes montre une prédominance très nette du type II en France (85%) alors que les types I ne représentent que 8%, les types III 2% et les génotypes atypiques ou recombinants 5%. Il faut préciser que cette répartition ne reflète pas la situation réelle en France, car dans cette collection nous avons inclus des isolats historiques adressés par d'autres laboratoires du fait de leur virulence particulière pour la souris, ce qui majore la proportion de type I ou de génotypes atypiques. Nous appellerons ce biais « l'effet collection ». Une approche plus réaliste consiste à analyser des isolats collectés de façon successive dans un même centre. Sur les 57 isolats collectés successivement dans les laboratoires de Parasitologie de Limoges (n=28) entre 1987 et 2001 et de la Pitié-Salpêtrière à Paris (n=29) entre 1994 et 2000, nous retrouvons une prépondérance encore plus nette du type II (55/57 soit 96,5%). Les deux autres isolats collectés étaient de type III (2/57 soit 3,5%). Ainsi dans ces deux centres, aucun type I ou génotype atypique ou recombinant n'a été isolé pendant la période précitée.

Si on compare aux données de la littérature (tableau 8), ces résultats confirment la nette prédominance du type II déjà observée en France dans les toxoplasmoses congénitales (Howe et al., 1997 ; Honoré et al., 2000), même si le typage monolocus utilisé dans ces études ne permet pas de détecter d'éventuels génotypes atypiques ou recombinants. Par exemple, les deux isolats historiques (MAS et TONT) classées en type I dans l'étude d'Honoré et al. (2000) correspondent en fait à des génotypes atypiques avec plusieurs marqueurs dans notre étude. Aux USA, malgré un échantillonnage largement biaisé par « l'effet collection », le type II prédomine largement, comme en France, dans les toxoplasmoses congénitales (Howe et Sibley, 1995). En revanche, la situation apparaît très différente dans d'autres pays d'Europe avec une fréquence plus élevée de type I en Espagne et en Grande-Bretagne (Fuentes et al., 2001 ; Aspinall et al., 2003) ou de génotypes recombinants au Brésil (Ferreira et al., 2006). La proportion importante d'infections mixtes en Grande-Bretagne (Aspinall et al., 2003) sera discutée plus loin dans le paragraphe 2.2.1.

| Origine | Nombre d'isolats | Typage | Type I | Type II | Type III | A/R | Mixtes | Références |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| France | 16 | *SAG2* n-PCR-RFLP | 12,5% | 87,5% | 0 | ND[a] | 0 | Howe et al., 1997 ; Honoré et al., 2000 |
| USA | 17 | Six loci PCR-RFLP | 6% | 70% | 18% | 6% A[b] | 0 | Howe et Sibley, 1995 |
| Espagne | 8 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | 6/8 | 1/8 | 1/8 | ND | 0 | Fuentes et al., 2001 |
| Grande Bretagne | 19 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | 31,5% | 37 % | 0 | ND | 31,5% (I + II) | Aspinall et al., 2003 |
| Brésil | 4 | Huit loci PCR-RFLP | 0 | 0 | 0 | 4/4 R[c] | 0 | Ferreira et al., 2006 |
| Colombie | 6 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | 5/6 | 0 | 1/6 | ND | 0 | Gallego et al., sous presse |

**Tableau 8.** Distribution des génotypes dans la toxoplasmose humaine congénitale : données de la littérature. L'étude de Costa et al. (1997), réalisée par typage direct sur 37 liquides amniotiques, n'a pas été incluse car le marqueur microsatellite utilisé (*TUB2*) ne peut distinguer les types II des types III.

[a] ND : non disponible (typage monolocus *SAG2*) ; [b] A : génotypes atypiques ; [c] R : génotypes recombinants.

La plus grande fréquence de type I en Grande-Bretagne et en Espagne ou de recombinants au Brésil peut être expliquée en premier lieu par un échantillonnage faible, donc non significatif, pour ces études. Ainsi en Espagne, les mêmes auteurs, dans une communication affichée (Fuentes et al., 2004) ne confirment pas leurs données publiées : sur un plus grand nombre d'isolats (n=24), ils retrouvent un type II majoritaire (67%), avec 25% de type I et 8% de type III. D'autres hypothèses ont été avancées, comme des variations géographiques dans la distribution des génotypes (Fuentes et al., 2001 ; Aspinall et al., 2003). Cette hypothèse est certainement juste dans le cas du Brésil où la répartition des génotypes est très différente par rapport à la France, comme nous l'avons vu dans la première partie, avec notamment une diversité génotypique 10 fois plus importante. En revanche, il est difficile d'imaginer des variations géographiques aussi marquées dans la distribution des génotypes entre des pays aussi proches que la France, l'Espagne ou la Grande-Bretagne. En Grande-Bretagne, le type II est le génotype le plus fréquemment rencontré chez le mouton ou le porc (Mondragon et al., 1998 ; Owen et Trees, 1999). Si la consommation de viande insuffisamment cuite, en particulier de mouton, est bien la source de contamination

prédominante chez l'Homme, du moins en Europe (Cook et al., 2000), il n' y a pas de raison d'observer des différences entre ces deux pays européens sauf s'il existe un biais d'échantillonnage supplémentaire. Par rapport à la Grande-Bretagne (mais aussi l'Espagne), seule la France a un programme de dépistage de la toxoplasmose congénitale. On peut donc penser que dans les études réalisées en Espagne ou en Grande Bretagne, les toxoplasmoses congénitales sévères, ou du moins patentes, sont surreprésentées par rapport à notre étude. Ceci traduit un autre biais d'échantillonnage que nous appellerons « effet iceberg » qui consiste à étudier les rares isolats provenant de toxoplasmose cliniquement bruyantes et à ignorer les plus abondants à l'origine de formes asymptomatiques. Malgré la quasi absence de données cliniques, on peut supposer que ce biais « effet iceberg » est patent dans l'étude d'Aspinall et al. (2003) car le typage des isolats a été réalisé directement sur des prélèvements de LCR ou d'organes fœtaux dans neuf cas sur 19. Ce biais est également présent dans Fuentes et al. (2001) (données cliniques disponibles dans quatre cas : deux cas sévères dus à deux types I et deux cas asymptomatiques dus à un type II et un type III). Ce biais a tout de même le mérite de poser la question d'une plus grande pathogénicité du type I dans les toxoplasmoses congénitales.

Notre étude est la seule qui dispose d'informations cliniques suffisantes pour pouvoir essayer de corréler génotypes et formes cliniques de toxoplasmose congénitale. Nous avons montré que le type II était retrouvé dans toutes les formes cliniques de toxoplasmose congénitale, de la forme infra-clinique aux formes graves neuro-oculaires ou disséminées. Dans le cas du type II, le pronostic des toxoplasmoses congénitales reste étroitement lié au stade de la grossesse au moment de l'infection maternelle. Les autres génotypes (*i.e.* type I, III, atypiques et recombinants) étant très rares dans les toxoplasmoses congénitales, du moins en France, nous discuterons de leur rôle dans les différentes formes cliniques de toxoplasmose congénitale dans le paragraphe 2.2.2.2.3. en cumulant les données que nous avons publiées (Ajzenberg et al., 2002b) et les données du CRB.

## 2.2. Données du CRB sur la toxoplasmose congénitale

Le Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma* a été créé sous l'égide du ministère de la Recherche visant à collecter, caractériser et conserver des isolats de *Toxoplasma gondii* documentés sur le plan biologique et clinique. Il est sous la responsabilité du P$^{r}$ Pinon (laboratoire de Parasitologie-Mycologie de Reims) et co-géré par les laboratoires de Parasitologie et de Mycologie de Reims (responsable : Pr I. Villena) et de Limoges (responsable, P$^{r}$ Dardé). Ce CRB s'appuie sur un réseau national de laboratoires de Parasitologie et de Mycologie permettant de collecter des isolats dans tout l'hexagone : M. Pinon, I. Villena, (Reims, RMS), M.L. Dardé, D. Ajzenberg (Limoges, LGE) P. Thulliez (Paris Institut de Puériculture, IPP), P.Marty (Nice, LPN), M.H. Bessieres (Toulouse, TOU), J.P. Gangneux (Rennes, REN), L. Paris (Paris Pitié-Salpétrière, PSP), J. Berthonneau (Poitiers, PTR), A. Bonnin (Dijon, DIJ), E. Candolfi (Strasbourg), D. Chabasse (Angers), B. Couprie (Bordeaux, BDX), L. Delhaes (Lille, LIL), C. Duhamel (Caen, CAE), T.H. Duong (Tours, TRS), L. Favennec (Rouen), P. Flori (Saint Etienne), B. Fortier (Nancy, NCY), J. Franck (Marseille, MAR), J.F. Garin (Paris Saint Louis), O. Morin (Nantes, NAN), G. Nevez (Amiens), H. Pelloux (Grenoble, GRE), F. Peyron (Lyon, CRL), R. Piarroux (Besançon), F. Pratlong, P. Bastien (Montpellier, MTP), D. Quinio (Brest), H. Yera (Paris Cochin, CCH). À ce réseau initial, s'est joint le centre hospitalier de Cayenne (M. Demar, B. Carme) et celui de Saint Laurent du Maroni (Dr Penaud). Les isolats humains sont dénommés par le code du laboratoire, l'année d'isolement et les trois premières lettres du patient. Les isolats animaux ont un code commençant par le pays d'isolement, puis l'année d'isolement et les 3 premières lettres du genre et de l'espèce animale. La collecte des isolats a été effectuée entre 2002 et 2005.

Dans le CRB, ont été également intégrés quelques isolats « historiques », des isolats provenant de l'étranger suite à des collaborations avec diverses équipes (A. Puime, Instituto de Higiene de Montevideo, Uruguay ; A. Freire, Facultad de Veterinaria de Montevideo, Uruguay ; J. Gomez, Université de Quindio, Colombie ; N. Ziaali, Université des Sciences Médicales de Téhéran, Iran ; A. Vilares, Institut Ricardo Jorge, Lisbonne, Portugal ; S. de Sousa, Institut Abel Salazar, Porto, Portugal ; S. De Craeye, Institut Pasteur de Bruxelles,

Belgique) et des isolats collectés entre 1993 et 2001 dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) entre Reims, Toulouse, Grenoble et Limoges.

Au total, nous avons pu réaliser un typage multilocus à l'aide de marqueurs microsatellites de 542 isolats, qui correspondent à 510 cas de toxoplasmose. Ces 510 cas se répartissent de la façon suivante : 277 proviennent de toxoplasmoses humaines congénitales, 40 de toxoplasmoses humaines acquises chez l'immunodéprimé, 21 de toxoplasmoses humaines acquises chez l'immunocompétent et 172 de toxoplasmoses animales. Pour pouvoir faciliter le typage génétique de ce grand nombre d'isolats, nous avons mis au point une technique multiplex permettant, en une seule PCR, un typage multilocus simple, rapide, reproductible et adapté aux larges séries d'isolats de *T. gondii* (Ajzenberg et al., 2005b).

### 2.2.1. Ajzenberg, D., Dumètre, A. and Dardé, M.L. (2005b). Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. J. Clin. Microbiol. 43, 1940-1943

Nous avons sélectionné pour notre technique multiplex cinq marqueurs microsatellites (*TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18*, et *B17*). Nous avons précédemment montré (Ajzenberg et al., 2004) que leur polymorphisme modéré permettait de regrouper les souches archétypales dans les 3 principales lignées clonales, mais également d'identifier les génotypes recombinants ou atypiques. Cette technique multiplex n'est cependant qu'une technique de dépistage car elle ne met en évidence que le polymorphisme de longueur de ces cinq microsatellites grâce au logiciel GeneScan après électrophorèse des produits de PCR sur séquenceur automatique. Ce polymorphisme est suffisant pour faire le « tri » entre isolats de types I, II et III et génotypes recombinants ou atypiques. En revanche, si un génotype recombinant ou atypique est identifié, le séquençage de chaque marqueur est nécessaire afin de mieux préciser la séquence des microsatellites (Annexes 1 et 2). Nous disposons également de cinq autres marqueurs hautement polymorphes (*N60608*, *N82375*, *N83021*, *N61191* et *AA519150*) qui permettent, grâce à leur fort pouvoir de discrimination (Ajzenberg et al., 2002a) de différencier des toxoplasmes de même type clonal. Nous réservons l'utilisation de ce type de marqueurs aux études de « fingerprinting » permettant par exemple d'identifier une souche responsable d'une épidémie (Ajzenberg et al., 2005a) ou d'écarter une contamination avec la souche RH lorsqu'une souche de type I est isolée (Ajzenberg et al., 2002b ; Gallego et al., 2004).

L'intérêt de la technique multiplex est de pouvoir détecter les génotypes recombinants ou atypiques par typage multilocus en une seule PCR. Ces génotypes, rares dans une population largement clonale comme en France, mais très fréquents dans d'autres régions géographiques comme en Amérique latine et certainement en Afrique, ne peuvent pas être détectés par un typage monolocus. L'affiliation à un type I, II ou III des isolats typés par PCR-RFLP sur *SAG2* n'a donc aucune valeur, en particulier pour les nombreux isolats d'Amérique du Sud (voir tableau 2, dans la première partie). Seul un typage multilocus pourrait caractériser correctement ces isolats. Récemment, une autre technique multiplex a été décrite (Khan et al., 2005a) qui consiste dans un premier temps à amplifier par PCR multiplex 4 marqueurs (5'*SAG2*, 3'*SAG2*, *SAG3*, *TUB2* et *GRA6*). Dans un second temps, cinq PCR nichées (nested-PCR) sont effectuées séparément sur le produit de PCR amplifié. Puis, par un jeu de 6 enzymes de restriction différentes, il est possible de détecter au maximum 3 allèles par marqueur. Cette technique, par rapport à la nôtre, présente des avantages et des inconvénients.

Selon nous, la principale limite de cette technique est le choix du polymorphisme par PCR-RFLP qui est beaucoup trop limité (3 allèles par marqueur). Ce faible polymorphisme ne permet pas de différencier les génotypes recombinants des génotypes atypiques. Un séquençage de l'intron du gène *UPRT* a été nécessaire pour classer la souche WU05 en atypique (Khan et al., 2005a). Même si le séquençage nous permet d'affiner le génotype des isolats atypiques, notre technique multiplex a le plus souvent dépisté ces génotypes grâce au polymorphisme plus important de nos marqueurs (jusqu'à 16 allèles pour le marqueur *B17*). Il est vrai, cependant, que la distinction entre recombinants et atypiques nous est parfois difficile et nécessite des marqueurs supplémentaires, comme *GRA6* ou *GRA7*.

L'autre inconvénient de la technique multiplex de Khan et al. (2005a) est sa relative lourdeur au niveau technique. Notre technique ne nécessite qu'une seule PCR par isolat, alors qu'il en faut 6 dans celle de Khan et al. (2005a). Ceci est dû au principe de la nested-PCR qui nécessite 2 PCR consécutives. Dans Khan et al. (2005a), la technique multiplex n'est en fait réalisée que sur la première PCR, la deuxième PCR doit être faite séparément pour chaque marqueur. De plus, l'action séparée des enzymes de restriction est une étape supplémentaire. Nous pensons que cette technique est moins bien adaptée aux larges séries que la nôtre. Evidemment, notre technique nécessite un séquenceur automatique qui n'est pas disponible dans tous les laboratoires.

L'intérêt de la technique multiplex de Khan et al. (2005a) est sa très forte sensibilité permettant un typage complet avec seulement 5 -10 parasites dans le prélèvement. Ceci a permis aux auteurs de réaliser un typage directement à partir du prélèvement ou typage direct (*i.e.* sans inoculation aux souris ou aux cultures cellulaires préalable du prélèvement), même si le typage complet avec les 4 marqueurs n'a été possible que dans deux cas. Cette grande sensibilité est due au choix de la nested-PCR. Nous avons toujours refusé de mettre au point une technique nested-PCR pour augmenter la sensibilité de notre PCR multiplex. En effet, en amplifiant un produit PCR déjà amplifié, la nested-PCR est à très haut risque de contamination. D'après certains, cette technique devrait d'ailleurs être interdite dans le diagnostic par PCR en Médecine humaine. Pour augmenter la sensibilité de notre PCR multiplex, dans le cas de typages directs, nous avons légèrement modifié le programme de PCR en diminuant la température d'hybridation de 63°C à 61°C et en augmentant le nombre de cycles de 35 à 40. Avec ce nouveau protocole, nous avons estimé la sensibilité de notre technique multiplex entre 50 et 100 parasites par prélèvement, soit 10 fois moins sensible que

celle de Khan et al. (2005a). Sur les 45 prélèvements divers sur lesquels nous avons tenté un typage direct avec notre technique multiplex, 32 ont cependant pu être typés de façon satisfaisante (au minimum 3 marqueurs sur 5).

Un autre intérêt du typage direct est de pouvoir détecter d'éventuelles infections mixtes. La détection de génotypes différents dans un même prélèvement a cependant des limitations techniques liées à l'extraction d'ADN, à la PCR et aux marqueurs utilisés. En cas d'infection mixte, on peut n'extraire que l'ADN d'un seul génotype si la quantité de tissu extraite est insuffisante du fait de la dispersion des parasites dans les tissus. Si les deux ADN différents sont extraits, au delà d'un ratio de 1 pour 100, seul l'ADN le plus abondant sera amplifié par PCR du fait de la compétition des amorces. Dans la plupart des études, les marqueurs (le plus souvent un seul marqueur *SAG2*) ou la technique de typage (PCR-RFLP principalement) ne peuvent détecter que les infections mixtes impliquant des isolats de type différent (*e.g.* I + II ou I + III), contrairement aux microsatellites hautement polymorphes capables de différencier 2 isolats de même type.

Les infections mixtes sont considérées comme très rares. Nous avons décrit le premier cas d'infection mixte toxoplasmique (Ajzenberg et al., 2002a) chez un mouton grâce aux marqueurs microsatellites hautement polymorphes ayant permis de distinguer 2 isolats de type II chez le même animal. Parmi les 283 isolats collectés à partir de poulets, porcs, chiens ou chats en Amérique latine (voir tableau 2 dans la première partie), seulement 3 avaient une infection mixte I + III (Dubey et al., 2003c ; Dubey et al., 2005a ; Pena et al., sous presse). Chez l'homme, mis à part l'étude d'Aspinall et al. (2003), une seule étude décrit une infection mixte I + II par typage direct sur liquide amniotique (Villena et al., 2004). Par sérotypage, Kong et al. (2003) rapportent un seul sérum réagissant à la fois avec les peptides spécifiques du type II et les peptides spécifiques des types I et III, mais une souche recombinante pourrait aussi donner un tel profil. Enfin, parmi les 542 isolats que nous avons typés avec nos marqueurs microsatellites, nous n'avons mis en évidence que deux infections mixtes : une chez le mouton déjà citée (Ajzenberg et al., 2002a) et une dans le cerveau d'une souris inoculée à partir d'un liquide amniotique dans le cadre d'une toxoplasmose congénitale humaine (LPN-2002-GIO).

L'étude d'Aspinall et al. (2003) retrouve une proportion importante d'infections mixtes dans les toxoplasmoses humaines qu'elles soient congénitales (31,5 % d'infections mixtes I + II sur 19 isolats), acquises chez l'immunodéprimé (2 infections mixtes I + II sur 8

isolats) ou chez l'immunocompétent (1 infection mixte I + II sur 2 isolats). Ces résultats trouveraient leur explication dans la forte proportion d'infections mixtes dans les préparations à base de viande de porc, d'agneau ou de boeuf (saucisses, pâté, etc.) destinés à la consommation humaine avec 22 % d'infections mixtes I + II sur 27 échantillons de viande positifs en PCR (Aspinall et al., 2002). Ces résultats se basent sur la même technique de typage par nested-PCR-RFLP du gène *SAG2* directement à partir du prélèvement (typage direct).

La singularité des résultats d'Aspinall et al. (2003) par rapport au reste de la littérature, notamment par rapport aux données du typage en France où le type II est largement majoritaire sans aucune infection mixte, a fait l'objet d'un débat (Villena et al., 2004 ; Aspinall et al., 2004). Le principal argument d'Aspinall et al. est que la plupart des typages ont été réalisés après isolement des toxoplasmes par inoculation aux souris ou culture cellulaire, ce qui constitue un biais par rapport au typage direct. La multiplication en culture cellulaire ou le passage en souris peut en effet sélectionner une seule souche si le prélèvement en contient plusieurs. La plus grande fréquence de type II en France ne peut être expliquée par ce biais. Il est généralement admis que si un prélèvement contient un mélange I + II ou I + III, c'est le type I qui sera sélectionné chez la souris ou en culture cellulaire du fait de la virulence plus importante et du taux de multiplication plus rapide du type I (Villena et al., 2004). Ceci est confirmé dans l'étude d'Aspinall et al. (2003) où tous les échantillons avec infection mixte I + II inoculés parallèlement à la souris ont entraîné des signes de virulence 3-4 jours p.i.

Le débat (Villena et al., 2004 ; Aspinall et al., 2004) a eu le mérite de terminer sur un consensus : l'isolement des toxoplasmes par culture cellulaire ou inoculation aux souris doit être couplée au typage direct quand il est possible. Néanmoins, il n'est pas du tout évident qu'un typage direct systématique puisse confirmer les taux très élevés d'infection mixtes rapportés par Aspinall et al. (2002, 2003). Ainsi, sur 224 prélèvements ayant été typés de façon directe et complète dans la littérature (Owen et Trees, 1999 ; Costa et al., 1997 ; Fuentes et al., 2001 ; Grigg et al., 2001c ; Villena et al., 2004 ; da Silva et al., 2005 ; Khan et al., 2005a ; Vallochi et al., 2005 ; Gallego et al., sous presse ; Pena et al., sous presse), on ne retrouve que 2 infections mixtes (Villena et al., 2004 ; Pena et al., sous presse), soit 0,9 %. Sur les 32 prélèvements typés directement par notre technique multiplex (Ajzenberg et al., 2005b), nous n'avons retrouvé aucune infection mixte.

En réalité, selon nous, le fait de typer directement ou pas le prélèvement est une question vraiment mineure en comparaison avec les deux principaux biais qui ont appauvri la valeur du typage des isolats de *T. gondii* dans les toxoplasmoses humaines :

- Il est impossible de connaître le génotype d'un isolat par typage monolocus, qui plus est avec une technique de PCR-RFLP qui apporte une information génétique des plus rudimentaires (2 allèles maximum par site de restriction). Le problème est encore plus patent pour les isolats provenant d'Amérique latine, d'Afrique et certainement d'Asie, où on l'a vu, la diversité génotypique est bien plus importante. Si, en plus, la PCR réalisée est nichée (nested-PCR), la qualité du résultat doit être remise en doute au vu du très haut risque de contamination.

- Il est peu utile de réaliser un typage d'isolats d'origine humaine si l'on ne dispose pas d'informations cliniques minimales pour essayer de corréler le résultat du typage avec les formes cliniques observées.

La majorité des études de typage dans le monde ayant été réalisées avec un typage monolocus par n-SAG2 PCR-RFLP, sans renseignements cliniques la plupart du temps dans les toxoplasmoses humaines, il nous est très difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature. Essayer de trouver une influence du génotype dans les formes cliniques de toxoplasmose humaine ne pourra se faire qu'en cumulant le maximum de données du monde entier, mais en suivant une méthodologie identique : typage multilocus et données cliniques. Le but du CRB *Toxoplasma* est de répondre à ces objectifs.

### 2.2.2. CRB et toxoplasmose congénitale : résultats

Nous présentons les résultats du typage de 304 isolats correspondant à 277 cas collectés, via le CRB *Toxoplasma*, de toxoplasmoses congénitales humaines. L'origine géographique de ces isolats est la suivante : 242 proviennent de France métropolitaine, 19 du Portugal, sept de Belgique, deux de Nouvelle-Calédonie, deux du Surinam, un du Brésil, un de Colombie, un de Guyane française, un d'Italie et un de la Réunion. Les isolats français, portugais, belges et l'isolat colombien ont été collectés dans leur pays d'origine. Dans les autres cas, l'isolement a eu lieu en France, mais grâce aux renseignements épidémiologiques du CRB, nous avons pu retrouver une origine de la contamination hors de l'hexagone.

Nous avons choisi de présenter nos résultats de typage en séparant les différentes formes cliniques chez les enfants nés vivants d'une part et les grossesses non menées à terme d'autre part. Nous n'avons pas repris notre classification simplifiée précédente (Ajzenberg et al., 2002b) en formes bénignes et graves. S'il n'y a aucun doute sur la gravité d'une forme disséminée à la naissance, d'une forme mortelle *in utero* ou d'anomalies majeures à l'échographie (notamment cérébrales) justifiant une interruption médicale de grossesse (IMG), une choriorétinite isolée mais récidivante et entraînant une baisse de l'acuité visuelle ne nous paraît pas être une toxoplasmose « bénigne ».

Parmi les enfants nés vivants, 143 isolats proviennent de formes infra-cliniques à la naissance, 27 de formes patentes avec séquelles oculaires et / ou neurologiques et 4 de formes disséminées. Parmi les grossesses non menées à terme, 29 isolats ont entraîné des formes graves cérébrales ou disséminées justifiant une IMG et 11 isolats ont été associés à des morts fœtales *in utero* et avortements spontanés. La liste de ces isolats figure dans le tableau 9 avec les prélèvements d'origine, les données cliniques, le terme de grossesse en semaine d'aménorrhée (SA) au moment de l'infection maternelle et le résultat du typage. Dans le tableau 9, nous avons également inclus 61 isolats n'ayant qu'une partie de ces renseignements ainsi que 2 isolats provenant de placentas alors que les enfants étaient indemnes de toxoplasmose congénitale.

Nous n'avons pas différencié les types II* des II classiques dans l'analyse des résultats.

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes infra-cliniques** | | |
| RMS-1992-CUI | France | LA | Asymptomatique | 6 | II |
| DIJ-2004-GER | France | Placenta | Asymptomatique | 11 à 16 | II |
| LPN-2004-LOR | France | LA | Asymptomatique | 14 | II |
| NAN-2003-AKT | France | Placenta | Asymptomatique | 15 | II |
| IPP-2003-DYA | France | LA et placenta | Asymptomatique | 15 | II |
| RMS-1996-PER | France | LA | Asymptomatique | 16 | II |
| MTP-2005-ELA | France | Placenta | Asymptomatique (séquelles de saignements sous-épendymaires non attribués à la TC) | 16 à 20 | II |
| GRE-1997-DAP | France | LA | Asymptomatique | 17 à 21 | II |
| GRE-1999-MIL | France | LA | Asymptomatique | 18 | II |
| LPN-2002-COU | France | LA | Asymptomatique | 18 | II |
| PSP-2003-RAI | France | LA | Asymptomatique | 18 | II |
| RMS-2003-TOU | France | Placenta | Asymptomatique | 18 | III |
| PSP-2001-DEM | France | LA | Asymptomatique | 18 à 20 | II |
| RMS-1999-GUI | France | Placenta | Asymptomatique | 18 à 22 | II |
| MAR-2004-FAC | France | LA | Asymptomatique | 19 | II |
| TOU-1997-FAB | France | Placenta | Asymptomatique | 19 à 20 | II |
| GRE-2001-MAJ | France | LA | Asymptomatique | 20 | II |
| IPP-2002-COQ | France | Placenta | Asymptomatique | 20 | II |
| RMS-1996-POL | France | LA | Asymptomatique | 20 | II |
| RMS-2000-ESS | France | LA | Asymptomatique | 20 | II |
| IPP-2003-SOU | France | Placenta | Asymptomatique | 20 | II |
| REN-2002-VAL | France | LA et placenta | Asymptomatique | 20 | II |
| IPP-2003-CAI | France | Placenta | Asymptomatique | 20 à 21 | II |
| NAN-2004-VIV | France | Placenta | Asymptomatique | 21 | II |
| TOU-2005-LAL | France | LA | Asymptomatique | 21 | II |
| IPP-2003-FRI | France | Placenta | Asymptomatique | 20 à 28 | II |
| IPP-2002-BAT | Guyane fr. | LA | Asymptomatique | 22 | III / I* |
| TOU-1996-RIP | France | LA | Asymptomatique | 22 | II |
| IPB-2004-HAD | Belgique | Placenta | Asymptomatique | 22 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes infra-cliniques (suite)** | | |
| MTP-2005-OUL | France | Placenta | Asymptomatique | 22 | II |
| TOU-1999-OUR | France | LA | Asymptomatique | 22 | II |
| GRE-2000-BRA | France | LA | Asymptomatique | 22 | II* |
| RMS-2001-MER | France | LA | Asymptomatique | 22 à 26 | II |
| LGE-2005-COL | France | Placenta | Asymptomatique | 22 à 34 | II |
| RMS-2000-CON | France | LA et placenta | Asymptomatique | 23 | II |
| TRS-2002-TON | France | LA | Asymptomatique | 23 | II |
| IPP-2003-GAT | France | LA | Asymptomatique | 23 | II |
| REN-2003-FOU | France | Placenta | Asymptomatique | 23 à 30 | II |
| CRL-2004-OZE | France | LA | Asymptomatique | 24 | II |
| RMS-1998-ROB | France | Placenta | Asymptomatique | 24 | II |
| RMS-2000-MAR | France | Placenta | Asymptomatique | 24 | II |
| GRE-2002-DEV | France | Placenta | Asymptomatique | 25 | II |
| IPP-2003-MAR | France | LA | Asymptomatique | 25 | II |
| IPP-2004-DEM | France | LA | Asymptomatique | 25 | II |
| IPP-2004-JOS | France | LA | Asymptomatique | 25 | II |
| NAN-2004-COU | France | Placenta | Asymptomatique | 25 | II |
| IPP-2003-LEG | France | Placenta | Asymptomatique | 25 à 26 | II |
| NAN-2003-LER | France | Placenta | Asymptomatique | 26 | II |
| TOU-1997-BER | France | Placenta | Asymptomatique | 26 | II |
| LGE-2005-GOK | France | Placenta | Asymptomatique | 26 | II |
| RMS-1987-MER | France | Placenta | Asymptomatique | >26 | II |
| TOU-2003-DAF | France | LA | Asymptomatique | 26 à 27 | II |
| RMS-1999-BOU | France | Placenta | Asymptomatique | 26 à 31 | II |
| TOU-2002-ALI | La Réunion | Placenta | Asymptomatique | 27 | II / III* |
| RMS-2000-SIE | France | LA | Asymptomatique | 27 | II |
| IPP-2003-CEL | France | LA | Asymptomatique | 27 | II |
| IPP-2003-KAH | France | LA | Asymptomatique | 27 | II |
| LGE-2004-CAI | France | Placenta | Asymptomatique | 27 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes infra-cliniques (suite)** | | |
| TOU-2003-MAZ | France | Placenta | Asymptomatique | 27 | II |
| TOU-2003-LAT | France | LA | Asymptomatique | 27 | II |
| IPP-2003-GAU | France | Placenta | Asymptomatique | 27 à 28 | II |
| REN-2003-CAL | France | Placenta | Asymptomatique | 27 à 33 | II |
| MTP15-2005-HAC | France | Placenta | Asymptomatique | 27 à 34 | II |
| RMS-1993-COU | France | LA | Asymptomatique | 28 | II |
| RMS-1999-BOR | France | LA et placenta | Asymptomatique | 28 | II |
| RMS-1999-BES | France | LA | Asymptomatique | 28 | II |
| TOU-1997-TRA | France | LA | Asymptomatique | 28 | II |
| TOU-2003-AUB | France | Placenta | Asymptomatique | 28 | II |
| TOU-2003-DES | France | Sang du cordon | Asymptomatique | 28 | II |
| LGE-2003-DUP | France | Placenta | Asymptomatique | 28 à 30 | II |
| IPB-2003-MAR | Belgique | Placenta | Asymptomatique | 29 | II |
| IPB-2004-GUR | Belgique | Placenta | Asymptomatique | 29 | II |
| DIJ-2002-SEV | France | LA | Asymptomatique (Pyélectasie bilatérale en anténatal) | 29 | II |
| TOU-2004-FEU | France | LA | Asymptomatique | 29 | III |
| IPP-2003-MAL | France | LA | Asymptomatique | 29 à 30 | II |
| TOU-1997-BOR | France | Placenta | Asymptomatique | 29 à 32 | III |
| MTP-2005-BOU | France | Placenta | Asymptomatique | 29 à 33 | II |
| RMS-1998-DAY | France | Placenta | Asymptomatique | 30 | II |
| RMS-2000-PER | France | Placenta | Asymptomatique | 30 | II |
| LGE-2003-BAS | France | LA (direct) | Asymptomatique | 30 | II |
| MAR-2003-ZAR | France | Placenta | Asymptomatique | 30 | II |
| TOU-2003-VIL | France | Placenta | Asymptomatique | 30 | II |
| TOU-2004-AUG | France | LA | Asymptomatique | 30 | II |
| TOU-2004-LIM | France | LA et placenta | Asymptomatique | 30 | II |
| TOU-1998-POR | France | LA et placenta | Asymptomatique | 30 | III |
| RMS-1997-PAR | France | LA | Asymptomatique | 30 à 32 | III |
| TOU-2005-PEY | France | Placenta | Asymptomatique | 30 à 33 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes infra-cliniques (suite)** | | |
| RMS-2001-FEN | France | Placenta | Asymptomatique | 30 à 34 | II |
| RMS-2000-RIS | France | LA | Asymptomatique | 31 | II |
| IPP-2003-LEC | France | LA et placenta | Asymptomatique | 31 | II |
| LGE-2004-VIL | France | LA et placenta | Asymptomatique | 31 | II |
| GRE-2003-NUN | France | Placenta | Asymptomatique | 31 à 33 | II |
| CAE-2005-LEF | France | Placenta et sang du cordon | Asymptomatique | 32 | II / III |
| NAN-2003-MIC | France | Placenta | Asymptomatique | 32 | II |
| IPP-2004-SMA | France | Placenta | Asymptomatique | 32 | II |
| MAR-2003-GEL | France | Placenta | Asymptomatique | 32 | II |
| GRE-1999-DEF | France | Placenta | Asymptomatique | 32 | II |
| TOU-2003-VIL1 | France | Sang du cordon | Asymptomatique (problèmes respiratoires) | 32 | II |
| IPP-2003-PET | France | Placenta | Asymptomatique | 32 à 33 | II |
| GRE-1998-TRA | France | Placenta | Asymptomatique | 32 à 33 | III |
| IPP-2003-GOM | France | Placenta | Asymptomatique | 32 à 34 | II |
| CAE-2003-KLO | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| NAN-2004-FAD | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| RMS-2001-GEA | France | LA | Asymptomatique | 33 | II |
| RMS-2002-LEF | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| MTP-2004-ESQ | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| TOU-2003-DUT | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| TOU-2003-SCH | France | Placenta | Asymptomatique | 33 | II |
| TRS-2004-BAK | France | LA | Asymptomatique | 33 | II |
| CAE-2005-COT | France | Sang du cordon | Asymptomatique | 33 à 34 | II |
| DIJ-2003-VIE | France | LA | Asymptomatique | 34 | II* |
| RMS-2001-PAR | France | Placenta | Asymptomatique | 34 | II |
| PSP-2003-BAR | France | Placenta | Asymptomatique | 34 | II |
| TOU-2003-CAR | France | Placenta | Asymptomatique | 34 | II |
| TOU-2003-NAR | France | Placenta | Asymptomatique | 34 | II |
| TOU-2004-DET | France | LA et Placenta | Asymptomatique | 34 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes infra-cliniques (suite)** | | |
| TOU-2004-MON | France | Placenta + LA (direct) et sang du cordon | Asymptomatique | 34 | II* |
| RMS-2000-BAR | France | Placenta | Asymptomatique | 34 à 35 | II |
| MTP-2005-GRA | France | Placenta et sang du cordon | Asymptomatique | 34 à 37 | II |
| TOU-2005-MAR | France | Placenta et sang du cordon | Asymptomatique | 34 à 37 | II |
| TOU-1997-CAP | France | Placenta | Asymptomatique | 35 | II |
| IPP-2004-MOH | France | Placenta | Asymptomatique | 35 | II |
| IPP-2003-DEL | France | Placenta | Asymptomatique | 35 à 37 | II |
| NAN-2002-FLO | France | Placenta | Asymptomatique | 36 | II |
| RMS-2000-DAF | France | Placenta | Asymptomatique | 36 | II |
| TRS-1996-LOU | France | Placenta | Asymptomatique | 36 | II |
| IPP-2003-DEQ | France | Placenta | Asymptomatique | 36 | II |
| TOU-2003-SEU | France | Placenta | Asymptomatique | 36 | II |
| TOU-2004-ACH | France | LA | Asymptomatique | 36 | II |
| CAE-2003-FAV | France | Placenta | Asymptomatique | 37 | II |
| GRE-2003-SAN | France | Placenta | Asymptomatique | 37 | II |
| TOU-1999-BAL | France | Placenta | Asymptomatique | 37 | II |
| TOU-2003-LAF | France | Sang du cordon | Asymptomatique | 37 | II |
| IPP-2003-BAU | France | Placenta | Asymptomatique (mère VIH) | 37 | II |
| IPP-2003-DAN | France | Placenta | Asymptomatique | 38 | II |
| RMS-1998-GER | France | Placenta | Asymptomatique | 38 à 41 | II |
| RMS-1999-RUN | France | Placenta | Asymptomatique | 38 à 41 | II |
| RMS-2000-ROU | France | Placenta | Asymptomatique | 38 à 41 | II |
| NAN-2002-BRI | France | Placenta | Asymptomatique | 39 | II |
| TOU-2005-HAB | France | Placenta et sang du cordon | Asymptomatique | 39 | II |
| CAE-2004-SEJ | France | Sang du cordon | Asymptomatique | Fin gross | II |
| GRE-1995-PAR | France | Placenta | Asymptomatique | Fin gross | II |
| IPP-2003-MAN | France | Placenta | Asymptomatique | 2-3 trim | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes patentes avec séquelles neuro-oculaires** | | |
| TRS-2004-REV | France | Placenta | CIC | 10 | II |
| GRE-2001-LEB | France | Placenta | CIC | 13 | II |
| RMS-2000-TRA | France | LA | CIC | 14 à 18 | II |
| NAN-2004-GUE | France | Placenta | Choriorétinite et hémorragie ventriculaire évoluant vers l'atrophie | 15 | II |
| IPP-2003-CHA | France | Placenta | CIC | 16 | II |
| MTP-2004-RAC | France | Placenta | CIC | 16 à 18 | II |
| PSP-2004-BOR | France | LA | Troubles du tonus, CIC et dilatations des cornes antérieures | 17 | II |
| TOU-1998-TRI | France | Placenta | Choriorétinite bilatérale | 18 | II |
| LPN-1997-KHE | France | LA | Choriorétinite juxta-papillaire gauche | 18 à 23 | II |
| GRE-1992-BAR | France | Sang fœtal | CIC et calcifications périventriculaires | 19 | II |
| MTP-2005-HEB | France | LA | CIC | 19 | II |
| RMS-1996-SEY | France | LA | CIC | 20 | II |
| RMS-1995-ABE | France | Placenta | Choriorétinite (jumelles) | 20 | II |
| LPN-2004-ARN | France | LA | Choriorétinite maculaire unilatérale | 20 à 22 | II |
| *LPN-2002-GIO* | *France* | *LA* | Choriorétinite et CIC | 21 | II* + I* ? |
| MAR-2004-GAN | France | LA et placenta | CIC | 23 | II |
| LGE-2004-ALB | France | Placenta | Petite asymétrie ventriculaire, calcifications artérielles thalamiques droites | 23 | II |
| TOU-2003-POU | France | LA | CIC (calcifications périventriculaires découvertes à 4 mois) et choriorétinite évolutive | 24 | II* |
| GRE-1997-GEN | France | LA | Choriorétinite | 24 à 25 | II |
| RMS-2002-KOC | France | LA | Choriorétinite (cicatrice suspapillaire à l'œil droit à 10 mois) | 25 à 28 | II |
| RMS-1994-LEF | France | LA | Choriorétinite récidivante 9 mois, 9 et 11 ans | 28 | Atypique |
| CAE-2005-HER | France | Placenta | Dilatation ventriculaire + 1 calcification | 29 | II |
| RMS-1998-BOU | France | Placenta | Choriorétinite à 2 ans | 30 | II |
| RMS-2001-MAU | France | Placenta | Choriorétinite gauche cicatricielle périphérique | 32 | Atypique |
| TOU-2005-RIV | France | Placenta et sang du cordon | Choriorétinite cicatricielle détectée à 3 mois | 33 à 36 | II |
| TOU-2005-BAZ | France | Placenta | Choriorétinite (œil droit, lésion proche du nerf optique ) | 35 | II |
| IPP-2003-DRE | France | Placenta | Choriorétinite | 36 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Enfants nés vivants : formes disséminées** | | |
| CIBMUQ-2002-HDC | Colombie | Sang | Disséminée (ictère, HPM)/ accouchement prématuré à 35 SA | < 17 | I |
| LIL-2003-MON | France | Sang (direct) | Disséminée (HSPM, ppathie, ictère, pétéchies, thrombopénie, hépatite)/ césarienne à 35 SA/ décès J4 | 30 | I |
| GUY-2004-TER[a] | Surinam | Sang (direct) | Disséminée/ accouchement prématuré à 35 SA/ décès J6 | 30 à 32 | Atypique |
| IPP-2002-URB | France | Sang | Disséminée (HSPM, ppathie, pétéchies, calcifications cérébrales, choriorétinite) | 33 à 34 | Atypique |
| | | | **Interruptions médicales de grossesse (IMG)** | | |
| RMS-2001-GRA | France | LA, placenta et sang fœtal | IMG/ malformations cérébrales | AnteC. | II |
| RMS-1994-COE | France | LA | IMG | AnteC. | II |
| GRE-1995-MAE | France | Cerveau fœtal | IMG/ hydrocéphalie | 2 à 6 | II |
| IPB-2003-SER | Belgique | LA | IMG/ méningoencéphalite (autopsie) | 7 | II |
| TRS-1997-MAR | France | Placenta | IMG/ anasarque foeto-placentaire | 7 à 12 | II |
| IPP-2003-COR | France | LA et liquide vitréen fœtal (direct) | IMG/ dilatation ventriculaire + choriorétinite (autopsie en cours) | <8 | II |
| MTP-2005-FEN | France | Placenta | IMG/ 6-8 nodules cérébraux hyperéchogènes (parenchyme et paroi ventriculaire) | <9 | II |
| BRX-MAR | Belgique | LA | IMG/ hydrocéphalie | 7 à 11 | II |
| NAN-2002-BAR | France | LA | IMG/ hépatosplénomégalie | 10 à 12 | II |
| MAR-2003-FLE | France | LA | IMG/ ascite, anasarque, dilatations ventriculaires + CIC, calcifications intra-hépatiques (échographie) | 11 | II |
| IPP-2003-LOU | France | Placenta | IMG/ encéphalite majeure (lésions disséminées dans tout l'encéphale) et atteinte des rétines (autopsie) | 11 | II |
| MTP-2003-PAS | France | Placenta | IMG/ nodules hyperéchogènes cérébraux | 11 | II |
| IPP-2003-LAR | France | Placenta | IMG/ foyers de nécrose cérébrale (autopsie en cours) | 11 à 12 | II |
| CRL-1996-CAL | France | LA | IMG/ hydrocéphalie à l'échographie/ méningoencéphalite et choriorétinite (autopsie) | 12 | II |
| IPP-2004-NOI | France | LA (direct) | IMG/ hydrocéphalie +++, encéphale laminé, anses intestinales hyperéchogènes, ascite, placenta épaissi | 12 | II |
| LPN-2004-HER | France | LA et cerveau fœtal | IMG/ dilatation ventriculaire discrète, multiples abcès cérébraux, abcès cardiaque (autopsie) | 13 | II |
| RMS-1996-STR | France | LA | IMG | 13 à 14 | II |
| RMS-2000-GIL | France | LA | IMG/ malformations cérébrales | 14 à 18 | II |
| DIJ-2004-VIL | France | Cerveau fœtal et placenta (direct) | IMG/ nodules hyperéchogènes intraparenchymateux cérébraux et dilatation ventriculaire | 15 à 19 | II |
| IPB-2002-IND | Belgique | Sang du cordon | IMG/ hydrocéphalie, calcifications intrahépatiques (pas d'autopsie) | 16 | III |
| LGE-2002-FAY | France | LA et placenta | IMG/ hydrocéphalie (pas d'autopsie) | 16 à 24 | II |
| IPP-2003-IMA | France | LA | IMG/ dilatation ventriculaire (pas d'autopsie) | 18 | II |
| BDX-2003-COR | France | LA | IMG/ spots hyperéchogènes intraparenchymateux cérébraux + microcalcifications placentaires | 20 | II* |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Interruptions médicales de grossesse (IMG) (suite)** | | |
| MAR-2003-PEL | Italie | LA et sang du cordon | IMG/ hydrocéphalie, CIC, porencéphalie | 20 | II |
| CAE-2003-LAM | France | LA | IMG/ lésions cérébrales | 20 | II |
| RMS-2001-CHU | France | Placenta | IMG/ malformations cérébrales + ascite | 21 | II |
| BDX-2003-MAR | France | LA | IMG/ spots hyperéchogènes intraparenchymateux cérébraux sans dilatation ventriculaire, HPSM | 23 | II |
| IPP-2002-BAW | France | Placenta | IMG/ cardiomyopathie, encéphalomyélite sans dilatation ventriculaire, choriorétinite (autopsie) | 24 | II* |
| LPN-2005-NOV | France | LA | IMG/ multiples abcès inta-cérébraux (pas d'autopsie) | 24 à 25 | II |
| | | | **Morts fœtales *in utero* et avortements spontanés** | | |
| IPP-2002-BER | France | Placenta | Mort fœtale in utero à 18 SA | 3 à 4 | II |
| PTR-2003-ROB | France | Placenta | Mort fœtale in utero à 15 SA | 5 à 12 | II |
| TOU-2004-MES | France | Fœtus | Avortement spontané à 12 SA | 6 | II |
| CCH-2003-SAH | France | LA | Mort fœtale in utero < 22 SA (étiologie ? À l'échographie, pas d'acitivité cardiaque décelable, pas d'autopsie) | 7 à 13 | II |
| PSP-2001-MAG | France | Placenta | Avortement spontané à 17 SA | 9 | II |
| IPP-2002-VOU | France | LA et placenta | Mort foetale in utero à 20 SA / dilatation ventriculaire à l'échographie | 14 | II |
| MAR-2005-BIA | France | Placenta | Mort fœtale in utero à 29 SA | 16 | II |
| MAR-2000-HOU | Brésil | LA | Mort fœtale in utero d'un jumeau à 31 SA (hydrocéphalie, ascite à l'échographie) ; 2ème jumeau extrait décédé | 17 à 21 | Atypique |
| MTP-2005-BAD | France | Placenta | Mort fœtale in utero à 28 SA (grossesse non suivie, pas d'autopsie) | 19 à 21 | Atypique |
| GUY-2004-ANG1 | Surinam | LA (direct) | Mort fœtale in utero à 24 SA (PCR+ dans LA, liquide péritonéal, placenta, cœur, foie, cerveau, poumons) | 20 à 22 | Atypique |
| MAR-2003-GAR | France | LA | Mort fœtale in utero à 28 SA (dilatation ventriculaire à l'échographie) | 21 | II |
| | | | **Pas de toxoplasmose congénitale** | | |
| RMS-2002-GIL | France | Placenta | Elifa IgM+ à la naissance, sérologie négative à 1 an : pas de TC | 28 | II |
| MTP-2002-ROU | France | Placenta | Pas d'IgM à la naissance, sérologie négative à 1 an : pas de TC | <3 | II |
| | | | **Toxoplasmoses congénitales sans renseignements** | | |
| NAN-2003-BET | France | Placenta | Asymptomatique | ? | II |
| RMS-2003-DUV | France | Placenta | Asymptomatique | ? | II |
| RMS-2004-NOB | France | Placenta | Asymptomatique | ? | II |
| GRE-1997-LOP | France | Cerveau | IMG/ raison inconnue | ? | II |
| RMS-2000-WAU | France | LA | | PC | II |
| MTP-2003-ELM | France | Placenta | Enfant perdu de vue | <7 | II |

| Isolat | Origine | Prélèvement | Signes clinico-radiologiques | SA | Type |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Toxoplasmoses congénitales sans renseignements (suite)** | | |
| GRE-2002-PER | France | Placenta | FO normal | 9 | II |
| TRS-2003-PAU | France | LA | | 10 à 14 | II |
| IPP-2004-LEN | France | LA | | 12 | II |
| IPP-2003-CAR | France | LA | | 13 | II |
| IPP-2003-DUP | France | LA | | 14 | II |
| MAR-2004-THO | France | LA | | 16 | II |
| IPP-2003-KOI | N. Calédonie | LA | | 16 à 24 | III |
| IPP-2004-VAU | France | LA (direct) | | 18 | II |
| IPP-2003-CHS | France | LA | | 19 | II |
| IPP-2003-VAD | France | Placenta | | 19 | II |
| DIJ-2005-CHA | France | LA (direct) et placenta | | 19 à 29 | II |
| MAR-2003-LEH | France | LA | | 21 | II |
| DIJ-2005-DEL | France | LA | | 21 à 27 | II |
| IPP-2003-HEU | France | LA | | 22 | II |
| IPP-2003-REH | France | Placenta | | 22 | II |
| TRS-1993-MOR | France | Placenta | | 23 à 33 | II |
| CCH-2005-MIC | France | LA | | 24 | II |
| IPP-2003-ORI | France | LA | | 25 à 26 | II |
| GRE-2000-THE | France | Placenta | | 26 | II |
| NCY-2003-AIN | France | LA | | 26 | II |
| REN-2005-LEG | France | Placenta | | 26 | II |
| TRS-2003-GAU | France | LA | Petit kyste liquidien | 26 | II |
| DIJ-2004-SHA | France | Placenta | | 26 à 27 | II |
| RMS-1999-LIN | France | Placenta | Décès néonatal non dû toxo | >26 | II |
| IPB-2003-COG | Belgique | Sang du cordon et placenta | | >26 | II / III |
| IPP-2004-KIF | France | LA (direct) | | 27 | II |
| GRE-1996-GAZ | France | LA | | 28 | II |
| IPP-2003-LEF | France | LA | | 28 | II |
| IPP-2004-SIG | France | LA (direct) | | 28 | II |

| Toxoplasmoses congénitales sans renseignements (suite) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| PSP-2005-MIL | France | LA | 29 | II |
| GRE-1997-DES | France | Placenta | 29 à 31 | II |
| IPP-2003-RUO | N. Calédonie | LA | 29 à 31 | III |
| DIJ-2005-DUC | France | LA (direct) | 30 | II |
| PSP-2003-CAG | France | LA | 30 | II |
| GRE-2000-CHA | France | Placenta | 31 | II |
| NAN-2002-FER | France | Placenta | >29 | II |
| AGTsc94 | Portugal | Sang du cordon | | I |
| EMAsc99 | Portugal | Sang du cordon | | I |
| MESla94 | Portugal | LA | | I |
| MLSpl00 | Portugal | Placenta | | I |
| ALMpl00 | Portugal | Placenta | | I / III |
| MMSpl00 | Portugal | Placenta | | I / III |
| IHLpl00 | Portugal | Placenta | | III |
| AGPla99 | Portugal | LA | | II |
| AROpl03 | Portugal | Placenta | | II |
| CJGsc03 | Portugal | Sang du cordon | | II |
| HMSsc03 | Portugal | Sang du cordon | | II |
| IACpl00 | Portugal | Placenta | | II |
| MCCpl01 | Portugal | Placenta | | II |
| MDMpl03 | Portugal | Placenta | | II |
| P15 | Portugal | Placenta | | II |
| RSCsc01 | Portugal | Sang du cordon | | II |
| SGSla99 | Portugal | LA | | II |
| SMSpl00 | Portugal | Placenta | | II |
| AMBpl00 | Portugal | Placenta | | II |

**Tableau 9.** Nature des prélèvements, origine géographique des patients, données cliniques, date en semaine d'aménorrhée (SA) de l'infection maternelle et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 304 isolats provenant de 277 cas de toxoplasmose congénitale.

2.2.2.1. Répartition géographique des génotypes

Dans la figure 1, on peut voir que 95% des isolats français à l'origine de toxoplasmoses congénitales sont de type II. Cette très nette prédominance du type II dans les toxoplasmoses congénitales en France confirme les résultats de notre étude précédente (Ajzenberg et al., 2002b). Nous pensons que ce résultat est représentatif de la situation réelle en France car nous avons étudié un grand nombre de cas (n=242), de façon consécutive dans les différents centres pour minimiser le biais dû à l'effet « collection ». Cette étude rend également compte de la rareté des autres génotypes dans les toxoplasmoses congénitales en France : la somme des isolats de génotype non II (*i.e.* I, III, recombinants et atypiques) ne représente en France que 5 % des isolats sur un total de 242 (figure 1), avec un isolat de type I, six isolats de type III, un isolat recombinant, quatre isolats atypiques et une probable infection mixte I+ II (LPN-2002-GIO).

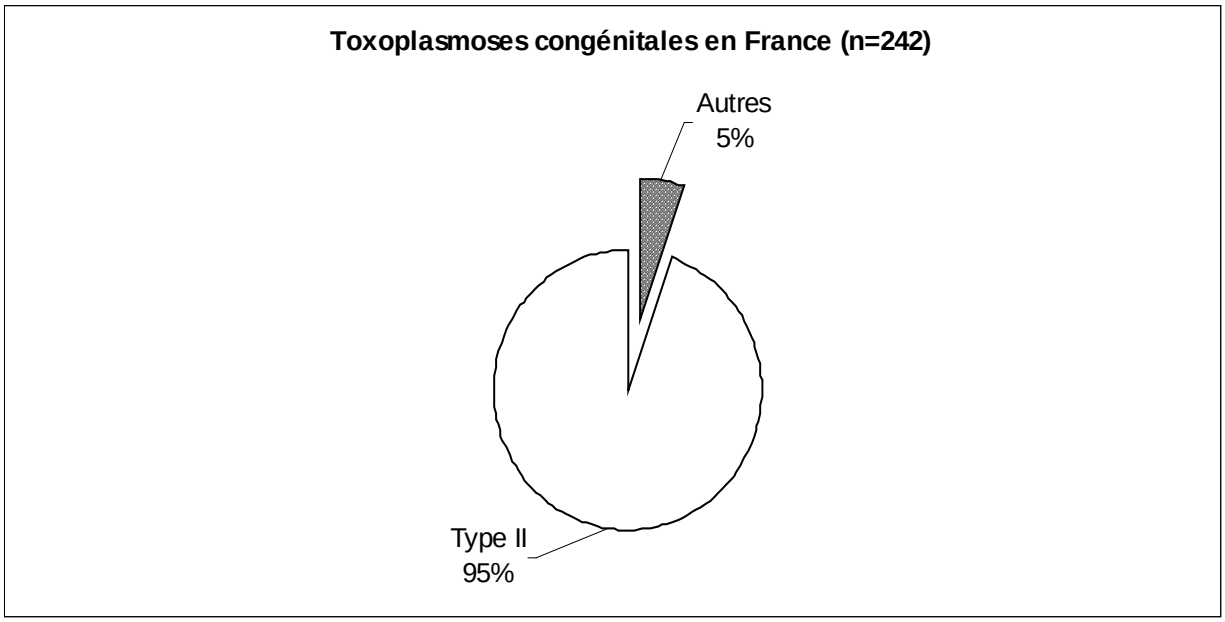


**Figure 1.** Répartition des génotypes dans 242 cas de toxoplasmose congénitale en France (sans séjour hors de la métropole pendant la grossesse).

La répartition des génotypes dans les toxoplasmoses congénitales au Portugal (figure 2) retrouve également une majorité de type II (63%), mais avec une proportion plus importante des autres génotypes, notamment du type I (21%). Ces résultats sont comparables

aux résultats les plus récents obtenus dans le pays voisin, l'Espagne, dans les toxoplasmoses congénitales (Fuentes et al., 2004). Cependant, le faible échantillonnage (n=19) et les biais importants dus à l'effet « collection » et à l'effet « iceberg » (absence de données cliniques et épidémiologiques, sélection possible des cas les plus sévères) ne permettent pas de comparer les résultats obtenus au Portugal avec nos résultats sur les toxoplasmoses congénitales en France.

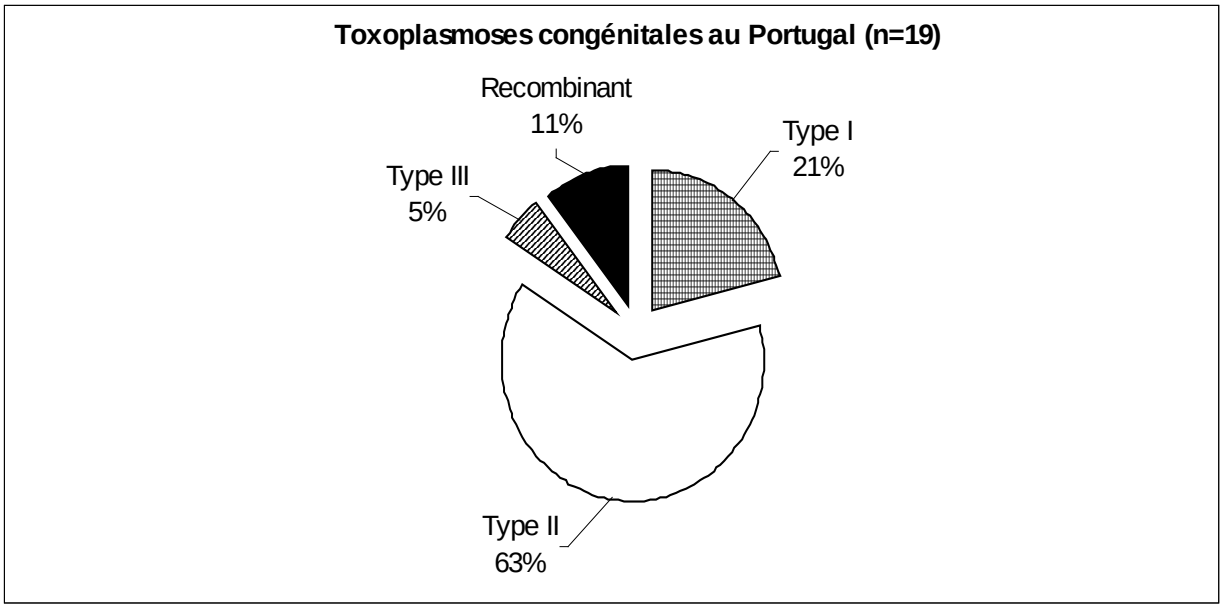


**Figure 2.** Répartition des génotypes dans 19 cas de toxoplasmose congénitale au Portugal (origine géographique de la contamination inconnue).

Sur les 8 isolats dont l'origine est tropicale (Nouvelle-Calédonie, Surinam, Brésil, Colombie, Guyane française et Réunion), aucun type II n'a été isolé : ces isolats sont en majorité atypiques ou recombinants (5/8), 2/8 sont de type III (les deux venant de Nouvelle-Calédonie) et 1/8 de type I (Colombie). Ceci souligne, même si l'échantillonnage est très faible, la plus grande diversité génotypique et la rareté du type II observées en dehors de l'Europe ou de l'Amérique du Nord.

2.2.2.2. Distribution des génotypes en fonction des formes cliniques

2.2.2.2.1. Représentativité globale des différentes formes cliniques

Sur le total de 277 isolats provenant de toxoplasmoses congénitales, 214 avaient des renseignements complets (prélèvement d'origine, données cliniques et terme de grossesse en semaine d'aménorrhée (SA) au moment de l'infection maternelle). L'origine géographique de la contamination est la France dans 201 cas (94%). La figure 3 indique la répartition de ces 214 isolats dans les différentes formes cliniques que nous avons définies précédemment, avec une majorité de formes infra-cliniques (66%).

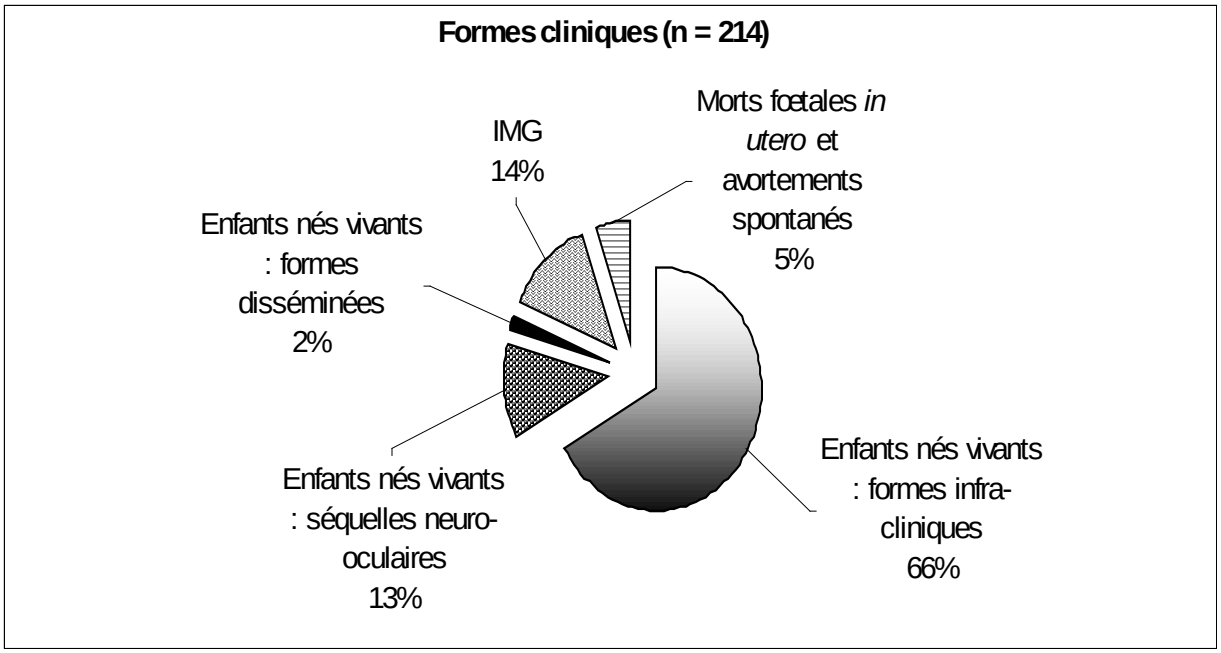


**Figure 3.** Répartition des différentes formes cliniques dans 214 cas de toxoplasmose congénitale.

Pour savoir s'il existe un biais lié à une sur-représentation de formes sévères ou effet « Iceberg » dans notre étude, nous avons comparé les fréquences des différentes formes cliniques entre notre étude et celle de Wallon et al. (2004). Nous avons pris en compte dans cette dernière étude, 380 cas répartis en 53 (14%) grossesses non menées à terme (avortements spontanés, IMG et quatre enfants morts-nés) et 327 (86%) enfants nés vivants dont 232 (61 %) formes infra-cliniques et 95 (25%) formes patentes avec séquelles neuro-oculaires. Dans notre étude sur 214 cas, nous avons observé des résultats similaires avec une fréquence de grossesses non menées à terme de 19 % (avortements spontanés, morts fœtales

*in utero* et IMG*)* et d'enfants nés vivants de 81 % (figure 3). Il ne semble donc pas que nous ayons dans notre étude une sur-représentation de formes graves ayant entraîné une interruption de la grossesse, une mort fœtale *in utero* ou un avortement spontané. En revanche, parmi les enfants nés vivants, les formes patentes avec séquelles neuro-oculaires ne représentent que 13 % dans notre étude contre 25 % dans Wallon et al. (2004). Cette différence s'explique par le suivi plus long (de 6 mois à 14 ans) des enfants atteints de toxoplasmose congénitale dans l'étude de Wallon et al. (2004). Dans notre étude, la grande majorité des données cliniques dont nous disposons ont été établies à la naissance seulement. Or, quand on sait que seulement 58 % des lésions oculaires ont été diagnostiquées avant l'âge de 2 ans dans l'étude de Wallon et al. (2004), on peut penser que notre fréquence de formes patentes, notamment oculaires, est sous-estimée. Si, dans les années à venir, les informations cliniques provenant des pédiatres remontent efficacement au CRB, on peut s'attendre à une augmentation de la fréquence de formes patentes avec séquelles neuro-oculaires dans notre population. L'autre différence par rapport à l'étude de Wallon et al. (2004) est la présence de 4 formes disséminées à la naissance dans notre étude, alors que cette forme n'a pas été observée dans la cohorte lyonnaise. S'il existe un biais dû à l'effet « collection » pour certains isolats (ceux du Surinam, de Colombie et de Lille – ce dernier ayant été « récupéré » après lecture d'une publication d'un cas grave par Cneude et al., 2003), ces formes disséminées à la naissance existent pourtant en France mais très rarement (< 1%).

2.2.2.2.2. Type II et formes cliniques de toxoplasmose congénitale

La répartition des formes cliniques dues au type II (figure 4) est similaire à celle des formes cliniques dans la population globale (figure 3), mise à part l'absence de type II dans les quatre cas de formes disséminées à la naissance.

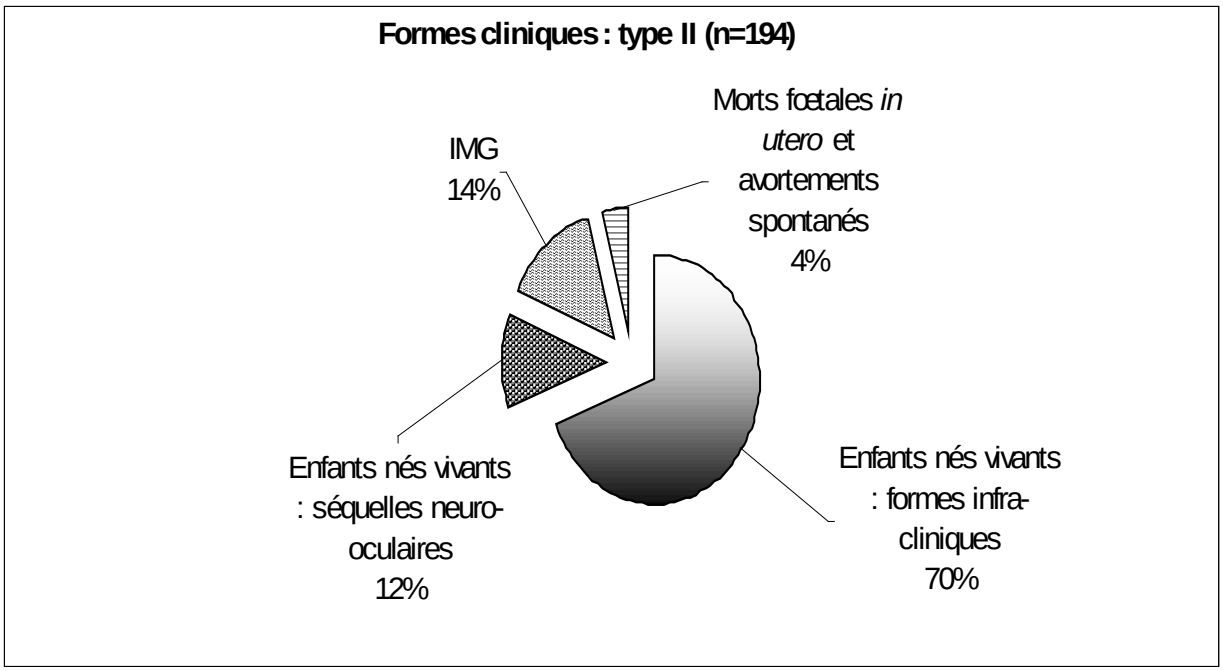


**Figure 4.** Répartition des différentes formes cliniques dans 194 cas de toxoplasmose congénitale dues au Type II.

Chez les enfants nés vivants, mises à part les formes disséminées, le type II est largement majoritaire dans les formes infra-cliniques (94 %, figure 5) et dans les formes patentes avec séquelles neuro-oculaires (89 %, figure 6). Parmi les grossesses non menées à terme, le type II est là aussi prépondérant dans les IMG (97%, figure 7) ou dans les morts fœtales *in utero* et avortements spontanés (73%, figure 8).

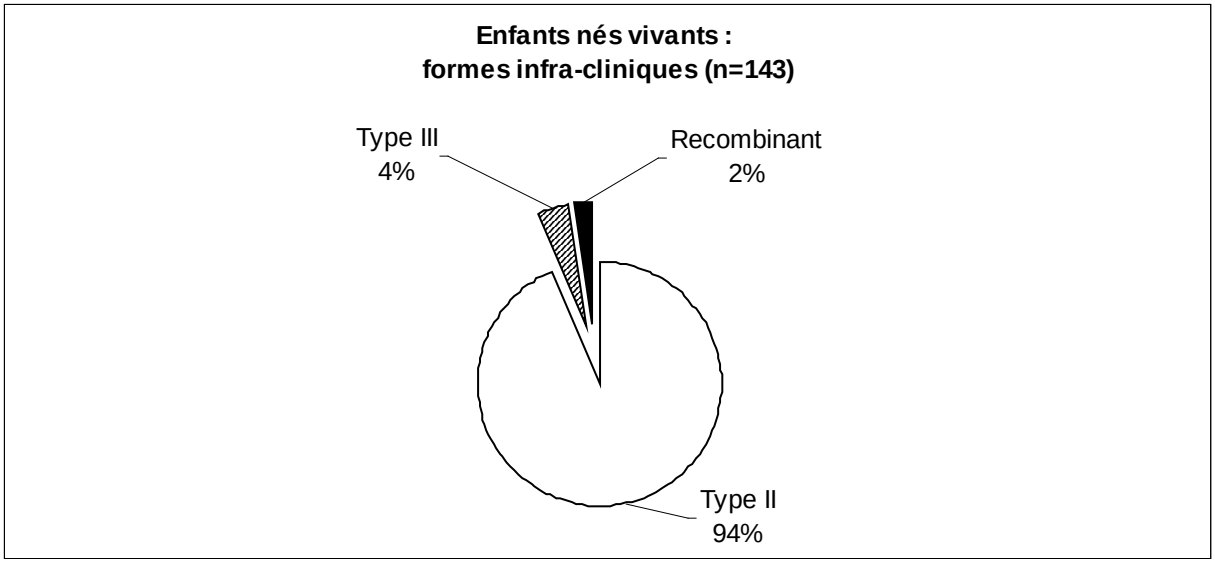


**Figure 5.** Répartition des génotypes dans 143 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes infra-cliniques.

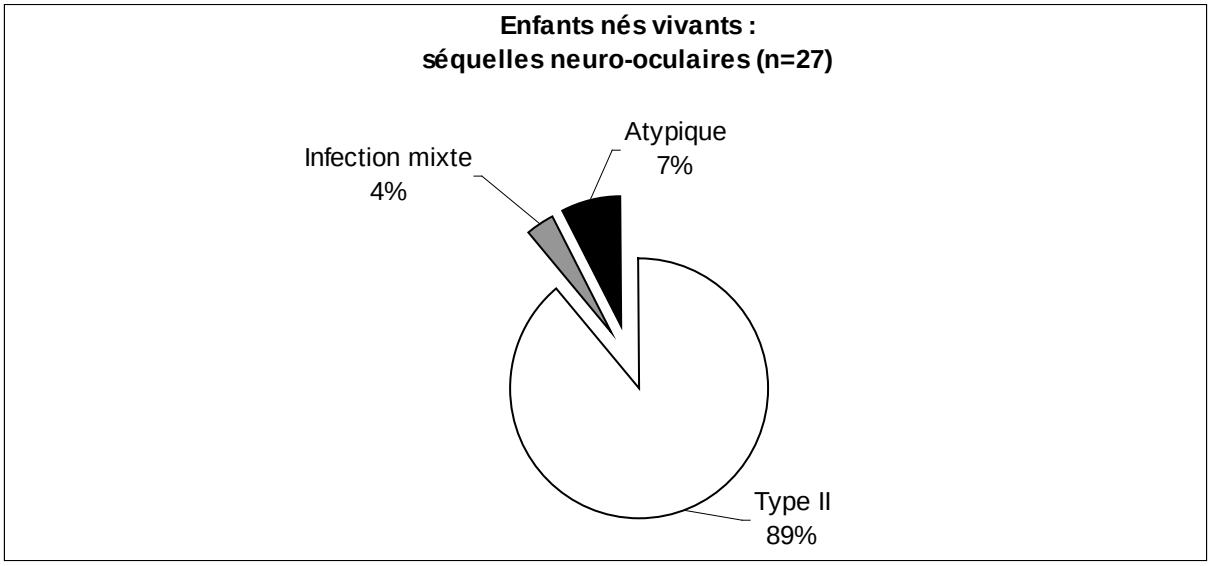


**Figure 6.** Répartition des génotypes dans 27 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des séquelles neuro-oculaires.

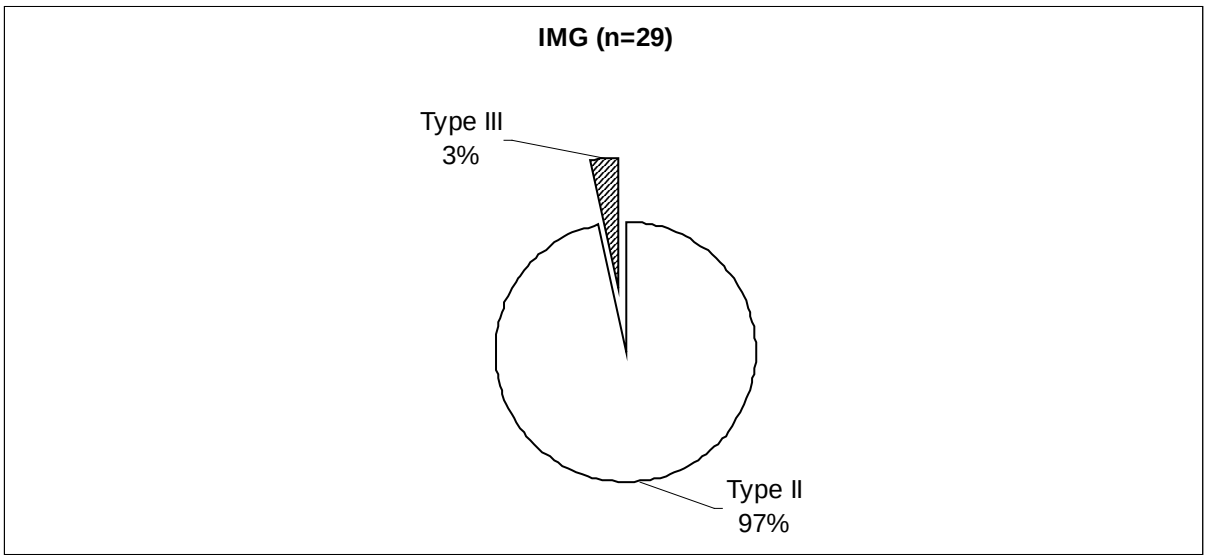


**Figure 7.** Répartition des génotypes dans 29 cas de toxoplasmose congénitale ayant entraîné une interruption médicale de grossesse (IMG).

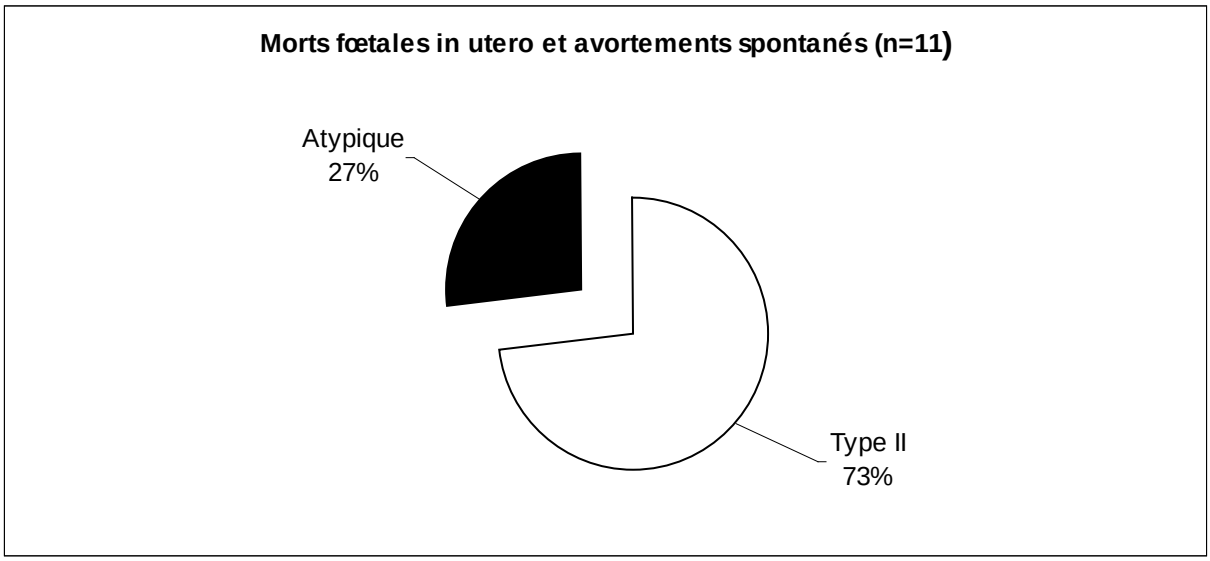


**Figure 8.** Répartition des génotypes dans 11 cas de toxoplasmose congénitale avec mort fœtale *in utero* et avortements spontanés.

Nous confirmons donc qu'il n' y a pas de corrélation entre le génotype II et la gravité des formes cliniques observées en France dans les toxoplasmoses congénitales, ce génotype pouvant être associé aussi bien à des formes asymptomatiques à la naissance qu'à des formes mortelles *in utero*. Seules des formes graves disséminées à la naissance n'ont pas été observées. L'élément déterminant majeur de la gravité de l'atteinte fœtale lors d'une infection par une souche de type II reste l'âge gestationnel au moment de l'infection maternelle. Chez les enfants nés vivants, les formes infra-cliniques et les formes patentes avec séquelles neuro-oculaires dues à des isolats de type II sont observées essentiellement lors d'infections maternelles des deuxième et troisième trimestres (figures 9 et 10), principalement dans le troisième trimestre pour les formes infra-cliniques et dans le deuxième trimestre pour les formes patentes avec séquelles neuro-oculaires.

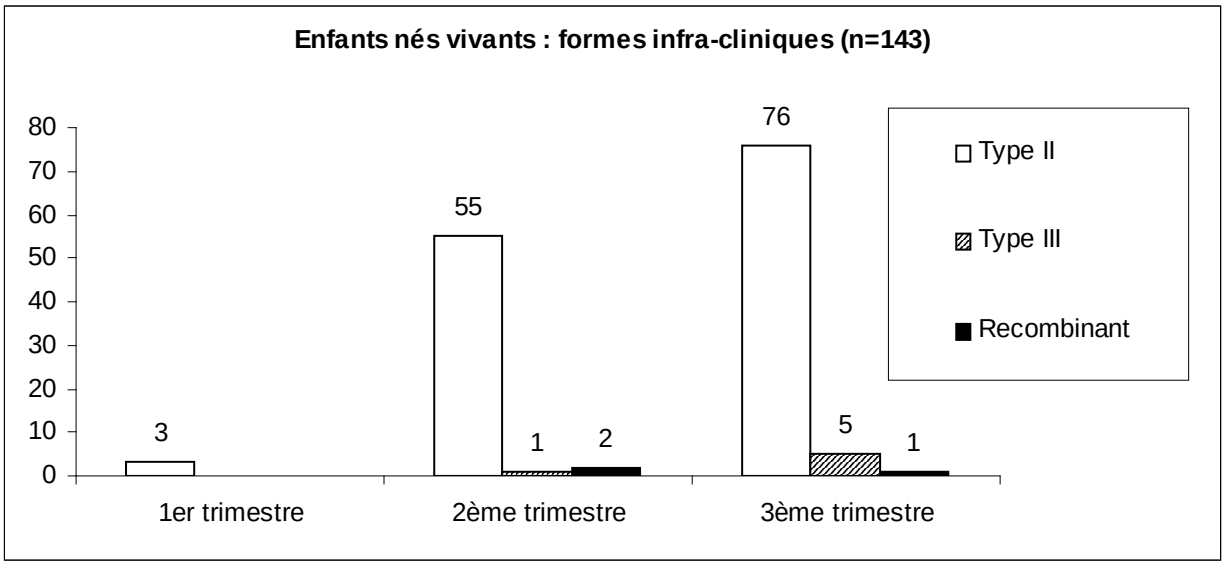


**Figure 9.** Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 143 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes infra-cliniques.

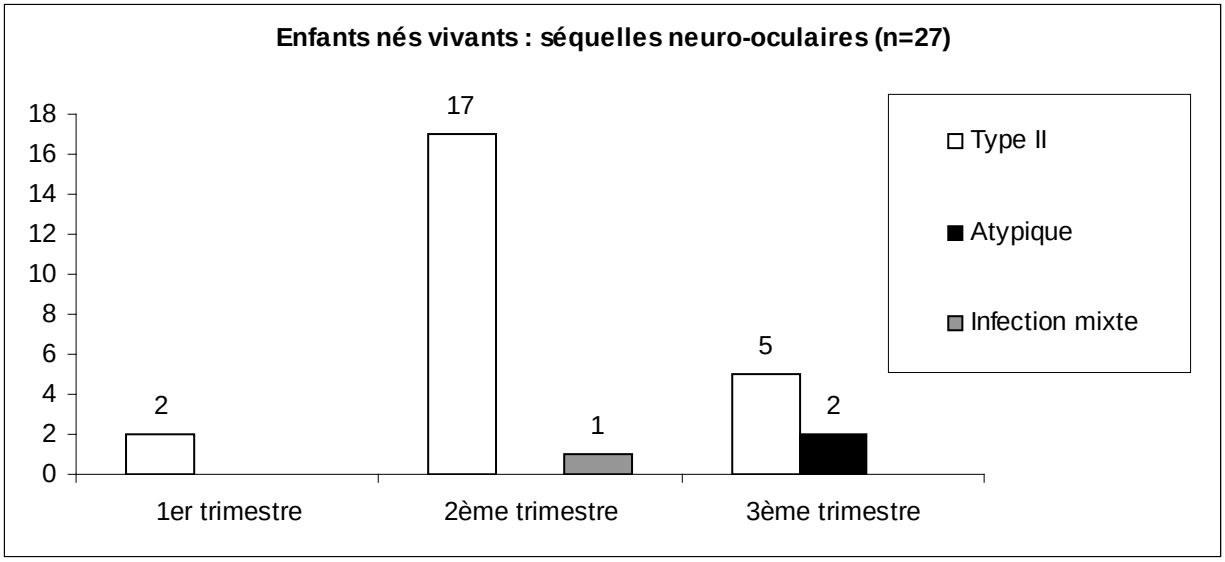


**Figure 10.** Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 27 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des séquelles neuro-oculaires.

En revanche, les grossesses non menées à terme (IMG, avortements spontanés et morts fœtales *in utero*) et associées à une infection par une souche de type II sont la conséquence d'infections maternelles des premiers et deuxièmes trimestres, avec une majorité de cas lors d'infections du premier trimestre (figure 11).

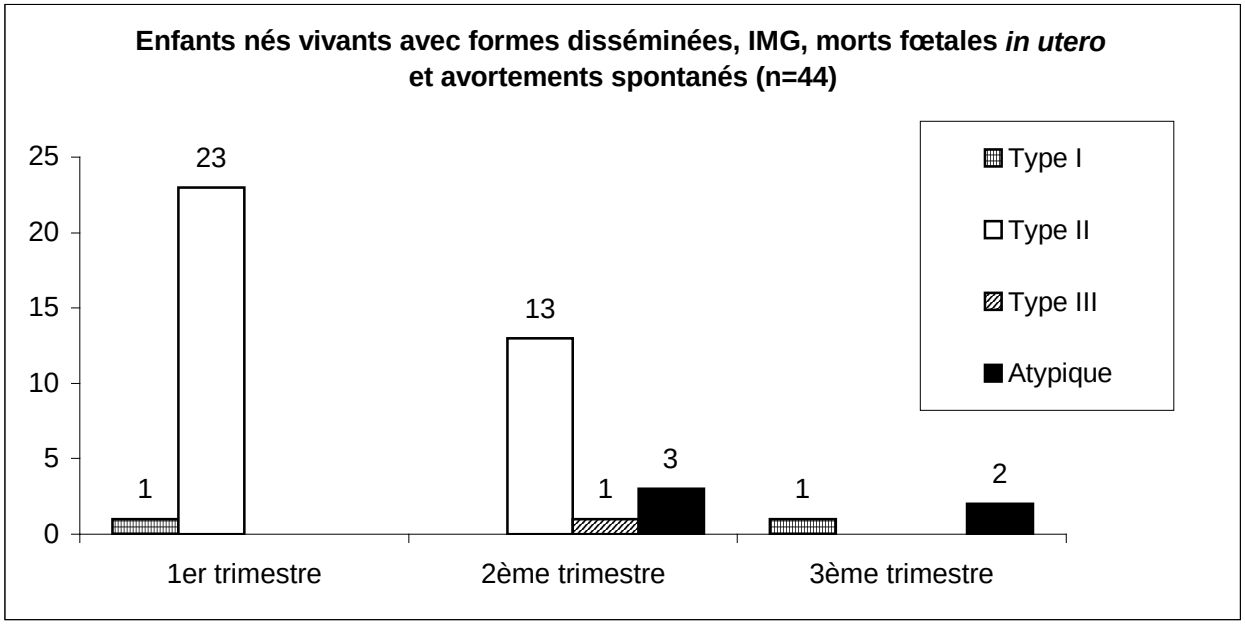


**Figure 11.** Répartition des génotypes selon le trimestre de grossesse lors de l'infection maternelle dans 4 cas de toxoplasmose congénitale chez des enfants nés vivants avec des formes disséminées, dans 29 cas d'IMG et dans 11 cas de toxoplasmose congénitale avec mort fœtale *in utero* et avortements spontanés.

2.2.2.2.3. Autres génotypes et formes cliniques de toxoplasmose congénitale

L'analyse des génotypes non II est limitée par le faible nombre d'isolats.

2.2.2.2.3.1. Type III

Parmi les sept isolats de type III avec renseignements complets, 6/7 ont été associés à des formes infra cliniques (figure 5) lors d'infections maternelles du troisième trimestre (figure 9), tandis qu'un type III (IPB-2002-IND) a été isolé en Belgique dans une forme grave avec atteinte cérébrale et hépatique ayant entraîné une IMG (figure 7) après contamination maternelle à 16 SA (tableau 9). Dans notre précédente étude (Ajzenberg et al., 2002b), seulement deux isolats de type III (NED et LGE 97-3) avaient été collectés sur un total de 86 cas de toxoplasmose congénitale en France. L'isolat NED était associé à une forme infra-clinique (contamination maternelle à 38 SA) tandis que l'isolat LGE 97-3 avait entrainé une choriorétinite (contamination maternelle à 18 SA). Les isolats de type III ont donc été obsevés

aussi bien dans des formes infra-cliniques que dans des formes patentes avec séquelles neuro-oculaires ou dans des formes graves ayant entraîné une IMG. Au total, on peut dire que le type III est rare dans les toxoplasmoses congénitales en France et qu'il semble, comme pour le type II, ne pas exister de corrélation entre le génotype III et la gravité des formes cliniques observées en France. Comme pour le type II, l'élément déterminant majeur de la gravité de l'atteinte fœtale lors d'une infection par une souche de type III reste l'âge gestationnel au moment de l'infection maternelle.

2.2.2.2.3.2. Type I, génotypes recombinants et atypiques

Les trois isolats recombinants (deux II/III et un I/III) avec renseignements complets proviennent de formes infra-cliniques à la naissance (tableau 9 et figure 5). En revanche, aucun isolat de type I ou atypique n'a été retrouvé dans les formes infra-cliniques (figure 5).

Les deux isolats de type I ont entraîné des formes disséminées à la naissance, dont une mortelle (tableau 9). Parmi les sept isolats atypiques, deux ont entraîné des choriorétinites isolées dont une récidivante (tableau 9 et figure 6), les cinq autres ont entraîné des formes graves avec trois morts fœtales *in utero* tardives (tableau 9 et figure 8) et 2 formes disséminées à la naissance dont une mortelle (tableau 9). Comme les quatre isolats atypiques ou de type I isolés dans les formes disséminées à la naissance, les 3 morts fœtales *in utero* dues aux isolats atypiques correspondent à des formes disséminées dans 2 cas (MAR-2000-HOU et GUY-2004-ANG1) d'après les données de l'échographie ou de la PCR réalisée sur plusieurs organes fœtaux (tableau 9). Le troisième cas (MTP-2005-BAD) n'est pas documenté. Les isolats de type II peuvent donner également des formes disséminées visibles à l'échographie justifiant une IMG (tableau 9). Il a de plus été montré que l'autopsie pouvait révéler une forme disséminée, alors que l'échographie n'avait montré que l'atteinte cérébrale (Gay-Andrieux et al., 2003). Ceci veut dire que les formes disséminées dues au type II dans les grossesses non menées à terme de notre étude sont certainement sous-estimées, parce que l'autopsie a été rarement réalisée. Néanmoins, formes disséminées ou pas, les 26 morts fœtales *in utero*, avortements spontanés ou IMG dues au type II sont tous associés à une infection maternelle des premiers ou deuxièmes trimestres, jamais du troisième trimestre (figure 11). Une infection maternelle par une souche de type II pendant le troisième trimestre de grossesse a toujours été associée soit à une forme infra-clinique (figure 5) soit à une forme patente avec séquelles neuro-oculaires (figure 6), jamais à une forme disséminée. Les seuls

cas d'infection disséminée après contamination maternelle du troisième trimestre ont été diagnostiqués à la naissance et sont dus à deux isolats atypiques et un isolat de type I (figure 11).

Dans notre précédente étude (Ajzenberg et al., 2002b), trois isolats atypiques (GPHT, TONT et MAS) ainsi que trois isolats de type I (GIL, MOR et BK) ont été à l'origine de formes disséminées, certaines s'exprimant à la naissance (GPHT et BK), d'autres étant interrompues médicalement pendant la grossesse (TONT, MAS, GIL et MOR).

Au total, dans 359 cas de toxoplasmose congénitale (Ajzenberg et al., 2002b ; données du CRB), nous avons observé 7 isolats de type I et 8 isolats de génotype atypique qui ont entraîné :

- Deux choriorétinites, dont une récidivante
- 13 formes disséminées (six à la naissance; sept IMG ou morts fœtales *in utero*)

Ces données, basées sur un nombre faible d'isolats, ne font que suggérer une plus grande pathogénicité de ces génotypes pour le fœtus, notamment une plus grande capacité de dissémination. Cette plus grande capacité à disséminer a été montrée expérimentalement pour les souches de type I : chez la souris, même avec un *inoculum* faible, les souches de type I ont une dissémination beaucoup plus importante que les souches de type II (Gavrilescu et Denkers, 2001) et atteignent des charges tissulaires élevées beaucoup plus rapidement que les souches de type II (Mordue et al., 2001).

2.2.2.2.3.3. Types I et II isolés du placenta sans toxoplasmose congénitale

Dans notre précédente étude (Ajzenberg et al., 2002b), nous avions rapporté quatre cas d'infection placentaire par quatre isolats de type I (P, PIL, ENT, FAJI) alors que les enfants étaient indemnes de toxoplasmose congénitale. Avec les données du CRB, nous rapportons deux nouveaux cas, mais dus à deux isolats de type II (RMS-2002-GIL et MTP-2002-ROU, tableau 9). Il semblerait donc que le génotype parasitaire ne soit pas en cause dans ces cas très particuliers, contrairement à ce que nous pensions précédemment (Ajzenberg et al., 2002b). L'isolement de ces souches fait poser de nombreuses questions pour l'instant sans réponses :

(i) Est-ce que certaines sous-populations parasitaires ont des capacités transmigratoires différentes à travers le placenta, comme cela a été suggéré expérimentalement pour les souches de type I d'après un modèle de transmigration à travers l'épithélium intestinal *ex vivo* de souris (Barragan et Sibley, 2002) ?

(ii) Comme tous les enfants ont été traités à la naissance, est ce que ces souches sont plus sensibles au traitement spécifique, ce dernier permettant alors d'éliminer totalement le parasite ?

(iii) Existe-t-il chez l'hôte une susceptibilité génétique permettant d'éliminer totalement le parasite via le système immunitaire ?

L'isolement d'autres souches du placenta sans infection de l'enfant nous permettront peut être de mieux comprendre la physiopathologie de la toxoplasmose congénitale et la réponse au traitement spécifique. Une approche épigénétique (Saksouk et al., 2005) plutôt que génétique sera alors nécessaire.

## 2.3. Conclusion

Il est difficile d'établir une corrélation entre le génotype et les formes cliniques de toxoplasmose congénitale en France, étant donné la prépondérance (95 %) d'un seul génotype, le type II et ce, quelle que soit la gravité de la forme clinique. Les rarissimes isolats de type I ou atypiques que nous avons isolés en France laissent supposer une plus forte pathogénicité de ces génotypes, avec notamment une tendance plus marquée à donner des formes graves disséminées lors d'infections tardives dans le troisième trimestre de grossesse. Le seul moyen de confirmer cette tendance est de collecter des isolats avec renseignements cliniques dans d'autres régions du globe ayant une plus forte diversité génotypique, comme les régions tropicales (Amérique du Sud, Afrique, DOM-TOM). Si cette hypothèse se confirme, le dogme de Couvreur (1999), qui stipule que lorsqu'une infection maternelle survient après 26 SA le risque de foetopathie patente devient très rare, devra être nuancé. Ce dogme reste vrai en France et certainement en Europe ou aux USA, car les isolats de type I ou atypiques y sont très rares. En revanche, dans d'autres régions où ces génotypes sont

beaucoup plus fréquents, comme l'Amérique du Sud et certainement l'Afrique, ce dogme pourrait s'avérer faux.

# 3. Toxoplasmose de l'immunodéprimé

Dans un premier temps, nous présenterons un cas clinique atypique chez un patient immunodéprimé originaire de Guadeloupe avec isolement du toxoplasme. Dans un deuxième temps, nous analyserons le rôle du génotype dans les différentes formes cliniques observées chez les immunodéprimés VIH + et VIH - à partir de la collection des isolats du CRB, des isolats historiques et des données de la littérature.

## 3.1. Ghosn, J., Paris, L., Ajzenberg, D., Carcelain, G., Dardé, M.L., Tubiana, R., Bossi, P., Bricaire, F. and Katlama, C. (2003). Atypical toxoplasmic manifestation after discontinuation of maintenance therapy in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient with immune recovery. Clin. Infect. Dis. 37, e112-e114

## 3.2. Données du CRB et cas historiques

Nous avons tenté le typage de 47 isolats collectés lors de toxoplasmoses de l'immunodéprimé. Ces isolats correspondent à des cas historiques que nous avions en banque à Limoges et à tous les cas collectés par le CRB.

Nous n'avons pas réussi le typage direct de sept isolats du fait de la très faible quantité d'ADN toxoplasmique dans le sang (n=1), le LCR (n=2), une biopsie cardiaque (n=1) et l'humeur aqueuse (n=3). Ces prélèvements positifs en PCR diagnostique ont été réalisés dans deux cas de toxoplasmose disséminée (biopsie cardiaque chez un transplanté cardiaque et sang périphérique chez un leucémique), deux cas de toxoplasmose cérébrale (LCR chez un allogreffé de moelle osseuse et chez un patient sidéen d'origine haïtienne), et trois cas de toxoplasmose oculaire (humeurs aqueuses chez des patients atteints de SIDA).

Les 41 isolats que nous avons réussi à typer correspondent à 40 toxoplasmoses de l'immunodéprimé, principalement chez des patients atteints de SIDA (n=23). Parmi les causes d'immunodépression autres que le SIDA (n=17), on retrouve des leucémies ou lymphomes (n=5), transplantations cardiaques (n=4) ou rénales (n=3), greffes de moelle osseuse (n=3), un cas lors d'une aplasie thérapeutique et un autre cas chez un patient hémodialysé atteint de la maladie de Berger. La liste de ces isolats figure dans les tableaux 10 (VIH +) et 11 (VIH -) avec la nature du prélèvement, l'origine géographique du patient, les données cliniques et le résultat du typage.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Clinique | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | | **TA immunodéprimés VIH+** | |
| PSP-2003-ERO | Ganglion inguinal | Guadeloupe | SIDA/ lymphadénopathie | I / III* |
| RMS-2003-DJO | Biopsie cérébrale | Bénin | SIDA/ toxo cérébrale | I / III |
| PSP-2003-KOM | Biopsie cérébrale | Cameroun | SIDA/ toxo cérébrale (abcès cérébraux) | I / III* |
| CRL-2004-MOT | Biopsie cérébrale (direct) | Cameroun | SIDA/ toxo cérébrale (hémiplégie, œdème cérébral, abcès cérébraux)/ 50CD4 | III / I |
| LPN-2004-ROU | Biopsie cérébrale | Cameroun | SIDA/ toxo cérébrale (céphalées, diplopie, paralysie faciale, nodule pariétal gauche)/ 24 CD4 | II |
| CCH-2004-NIA | LBA | Sénégal | SIDA/ toxo disséminée (AEG, fièvre, ppathie, cytolyse hépatique, insuffisance rénale)/ décès | III / I |
| PSP-2004-SAM | Biopsie cérébrale | Centre Afrique | SIDA/ toxo cérébrale (abcès cérébraux)/ 30 CD4 | III |
| PSP-2005-MUP | Biopsie cérébrale | RDC | SIDA/ toxo cérébrale (abcès cérébraux) | III |
| LGE-2003-BOU | Biopsie cérébrale | France | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | III |
| LPN-2005-LUM | Moelle osseuse (direct) | France | SIDA/ toxo disséminée (encéphalite avec coma, choc septique)/ 39 CD4/ décès | III |
| LEG-NJA | LBA ou sang ou MO ou ascite ou LCR | France | SIDA/ toxo disséminée/ 48 CD4/ décès | III |
| BOU | Biopsie cérébrale | France | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite)/ décès | II* |
| LGE-2001-6 | Biopsie cérébrale (direct) | France | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | II |
| LGE-1998-1 | Biopsie cérébrale | France | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite)/ décès | II |
| CRL-2005-YOU | Biopsie cérébrale (direct) | France | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite)/ CD4 indétectables | II |
| SUR | Moelle osseuse | France | SIDA/ toxo disséminée/ 140 CD4 | II |
| MAN-NJA | LBA ou autopsie cérébrale | France | SIDA/ toxo pulmonaire puis rechute toxo cérébrale ?/ < 5 CD4/ décès | II |
| NTE | Nécropsie cérébrale | Allemagne | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | II |
| WH | Nécropsie cérébrale | Autriche | SIDA/ pas d'encéphalite | II |
| HG | Nécropsie cérébrale | Autriche | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | II |
| ELG | Biopsie cardiaque | Tunisie | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | II |
| HIV | Biopsie cérébrale | Portugal | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) | I |
| ATIH | Sang | Uruguay | SIDA/ toxo cérébrale (encéphalite) < 50 CD4/ décès | I |

**Tableau 10.** Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 23 isolats provenant de 23 toxoplasmoses d'immunodéprimés VIH+.

| Isolat | Prélèvement | Origine | Clinique | Type |
|---|---|---|---|---|
| | | | **TA immunodéprimés VIH-** | |
| CCH-2005-REN | Sang | Guadeloupe | Greffe médullaire/ toxo disséminée (fièvre, ppathie)/ décès | I / III* |
| DPHT | Biopsie myocardique ou musculaire | Guinée | Transplantation rénale/ toxo disséminée (fièvre, ppathie, myocardite)/ décès | I / III |
| IPP-2003-KAN | Sang (direct) | Sénégal | Hémodialyse (maladie de Berger)/ toxo disséminée (fièvre, cytolyse hépatique, pancréatite) | I / III |
| LIL-2003-BRI | LBA et sang (direct) | France | Greffe médullaire/ toxo pulmonaire puis disséminée/ décès | II / I* ou II / III* |
| FOU | Moelle osseuse ou myocarde | France | Transplantation rénale/ toxo disséminée (atteintes médullaires, myocardiques..)/ décès | I / III |
| LIL-2003-LAM | LBA | France | Allogreffe médullaire/ toxo pulmonaire/ décès | III |
| LPN-2002-SEE | LBA | France | Leucémie aiguë /cortancyl et cyclosporine/ toxo pulmonaire | III |
| COR (FUR) | Sang ou ascite | France | Lymphome malin non hodgkinien/ toxo disséminée/ décès | III |
| DAM | Moelle osseuse ou sang | France | Aplasie thérapeutique (Méthotrexate + corticoïdes)/ toxo disséminée/ décès | II |
| LGE-2001-5 | Biopsie cérébrale (direct) | France | Lymphome de Hodgkin/ toxo cérébrale (abcès cérébral) | II |
| LPN-2003-TRE | LBA (direct) | France | Lymphome T corticoïdes/ toxo pleurale | II |
| BIL | LBA | France | Transplantation cardiaque et pulmonaire/ toxo pulmonaire/ décès | II |
| TRS-2003-DUB | Sang | France | Transplantation cardiaque/ fièvre + asthènie (primoinfection toxo + réactivation CMV) | II |
| PSP-2004-CON | Liquide pleural | France | Transplantation cardiaque/ toxo disséminée (ppathie, fièvre, PCR+ dans le sang) | II |
| BRE1997 (PERR) | Moelle osseuse ou sang | France | Transplantation rénale/ toxo disséminée (ppathie + défaillance multiviscérale)/ décès | II |
| LGE-2003-JAU | Humeur vitrée (direct) | France | Waldenstrom + corticoïdes/ toxo oculaire (choriorétinite) | II |
| BU/GER/2001 | Biopsie myocardique ou pulmonaire | Allemagne | Transplantation cardiaque/ toxo disséminée (ppathie, myocardite, encéphalite)/ décès | II |

**Tableau 11.** Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 18 isolats provenant de 17 toxoplasmoses d'immunodéprimés VIH-.

Sur l'ensemble de la population étudiée, 50 % des isolats collectés sont de type II (figure 12), 25 % ont un génotype recombinant, 20 % sont de type III et 5 % sont de type I. Le type II est donc majoritaire dans notre étude sur 40 cas de toxoplasmose de l'immunodéprimé en France, mais dans des proportions nettement moins importantes que dans notre étude sur 242 cas de toxoplasmose congénitale en France collectés grâce au CRB (95% de type II). La proportion de type III et de recombinants chez les immunodéprimés est en revanche beaucoup plus élevée que dans les toxoplasmoses congénitales. Il est néanmoins difficile de comparer les résultats de ces deux études car la différence d'échantillonnage est importante.

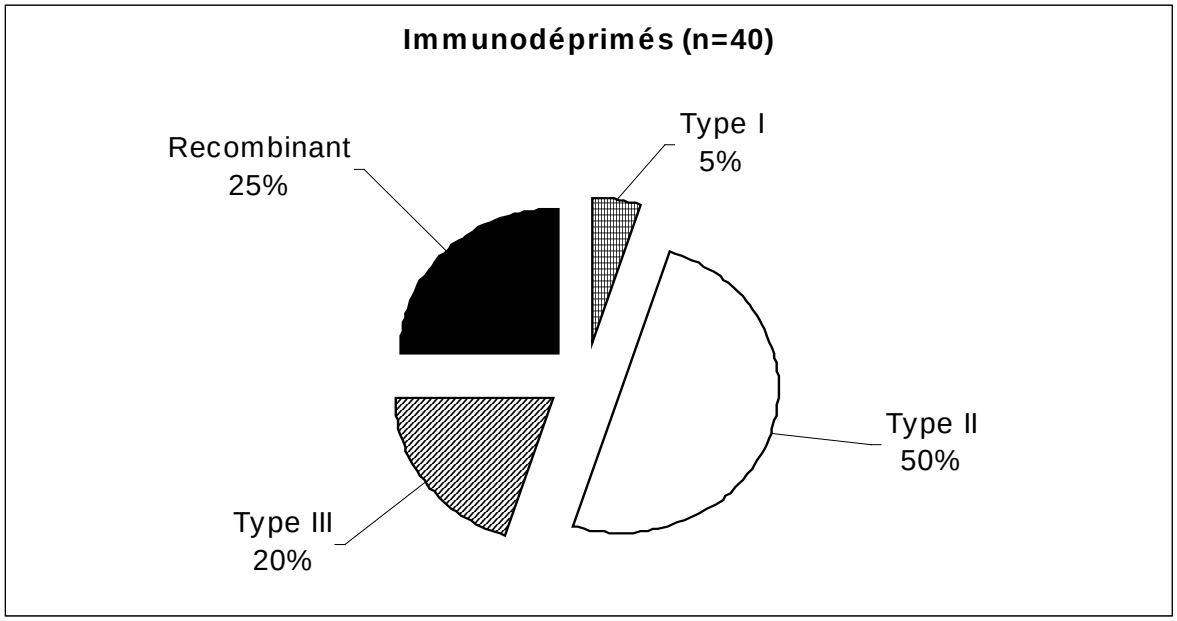


**Figure 12.** Répartition des génotypes dans 40 toxoplasmoses de l'immunodéprimé.

Cette répartition des génotypes reste similaire lorsque l'on compare le groupe VIH - (figure 13) avec le groupe VIH + (figure 14), mis à part l'absence de type I chez les immunodéprimés VIH -.

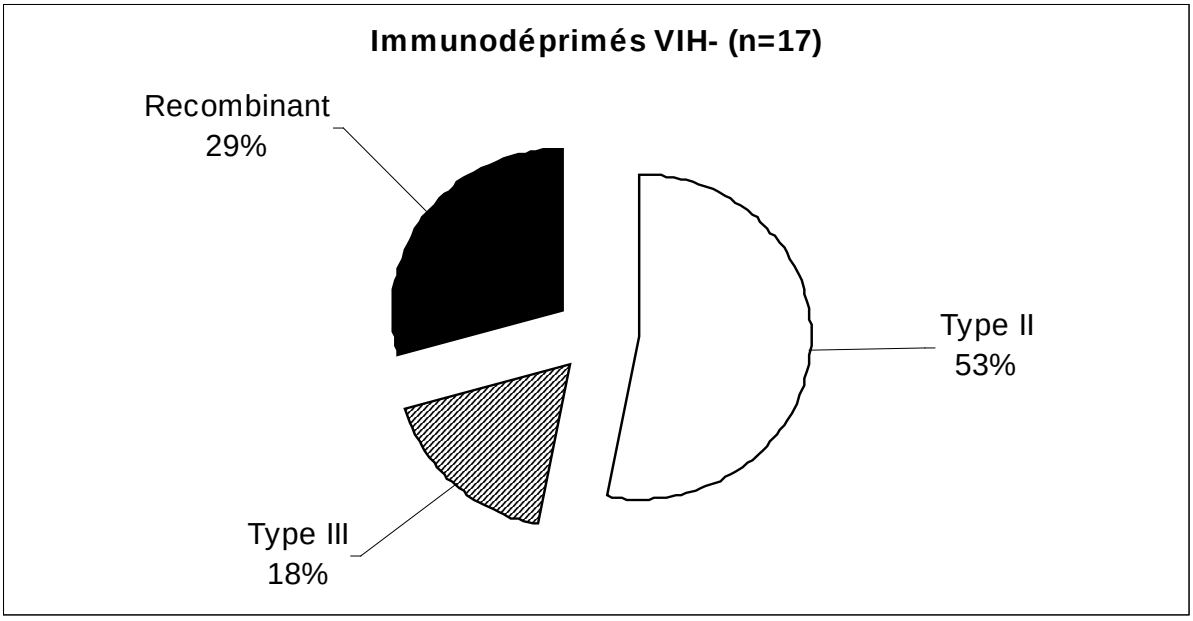


**Figure 13.** Répartition des génotypes dans 17 toxoplasmoses de l'immunodéprimé VIH -.

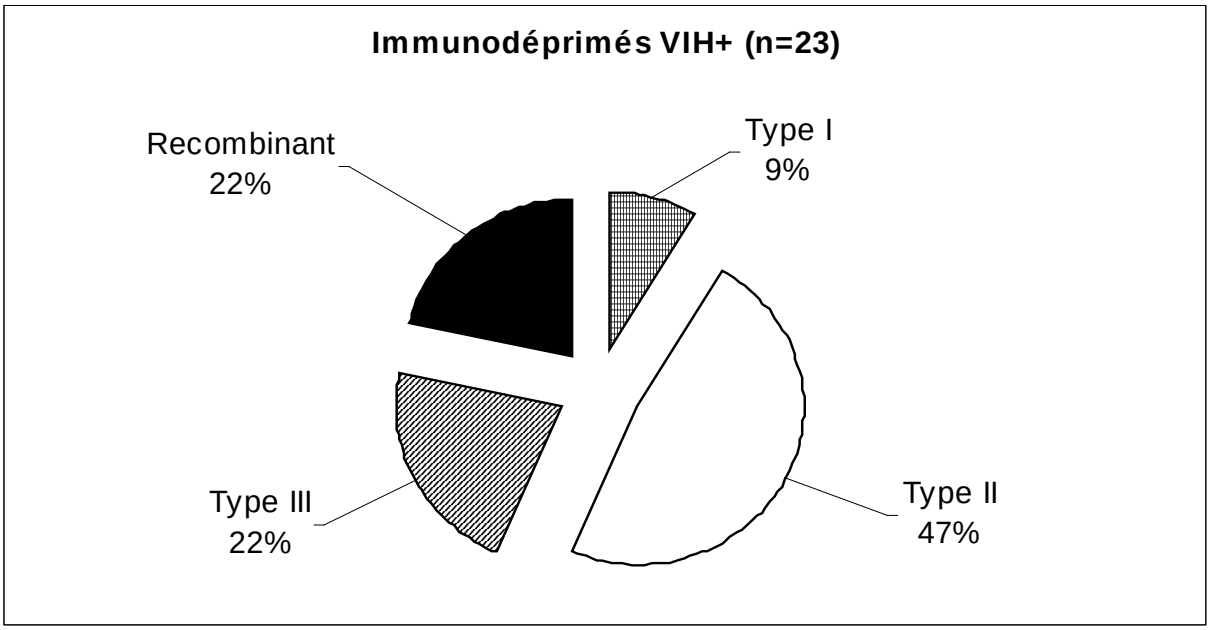


**Figure 14.** Répartition des génotypes dans 23 toxoplasmoses de l'immunodéprimé VIH +.

Parmi les différentes formes cliniques observées dans notre série, la forme cérébrale prédomine largement chez les VIH + (tableau 10), alors que ce sont les formes extra-cérébrales notamment disséminées qui sont majoritaires dans le groupe des VIH – (tableau 11). On ne retrouve cependant pas de corrélation entre le génotype et la localisation cérébrale ou extra-cérébrale de la toxoplasmose. En effet, les génotypes majoritaires de cette étude (II, III et recombinants) ont été isolés dans les trois formes cliniques principales (cérébrales, pulmonaires ou disséminées). Les deux isolats de type I ont entraîné une forme cérébrale chez des patients VIH +, mais cette forme est la plus fréquente chez le groupe de patients VIH +.

L'élément important qui ressort de l'analyse des génotypes est la corrélation observée entre la répartition des génotypes et l'origine géographique des patients (figures 15 et 16).

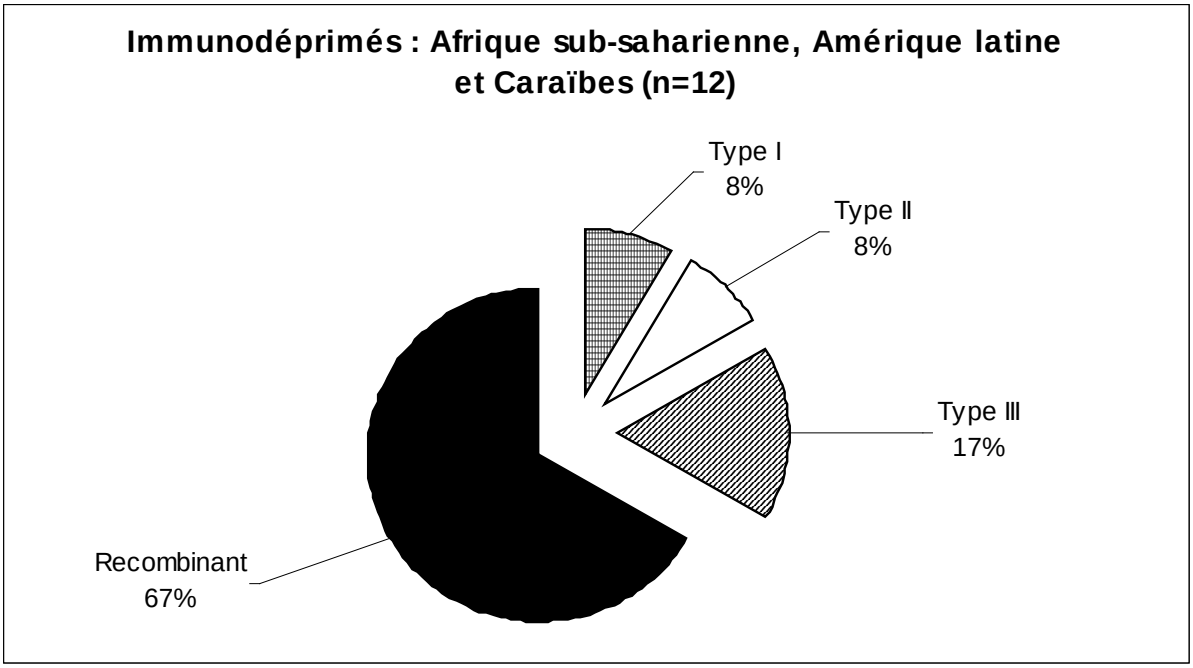


**Figure 15.** Répartition des génotypes dans 12 toxoplasmoses de l'immunodéprimé chez des patients originaires d'Afrique sub-saharienne, Amérique latine et Caraïbes.

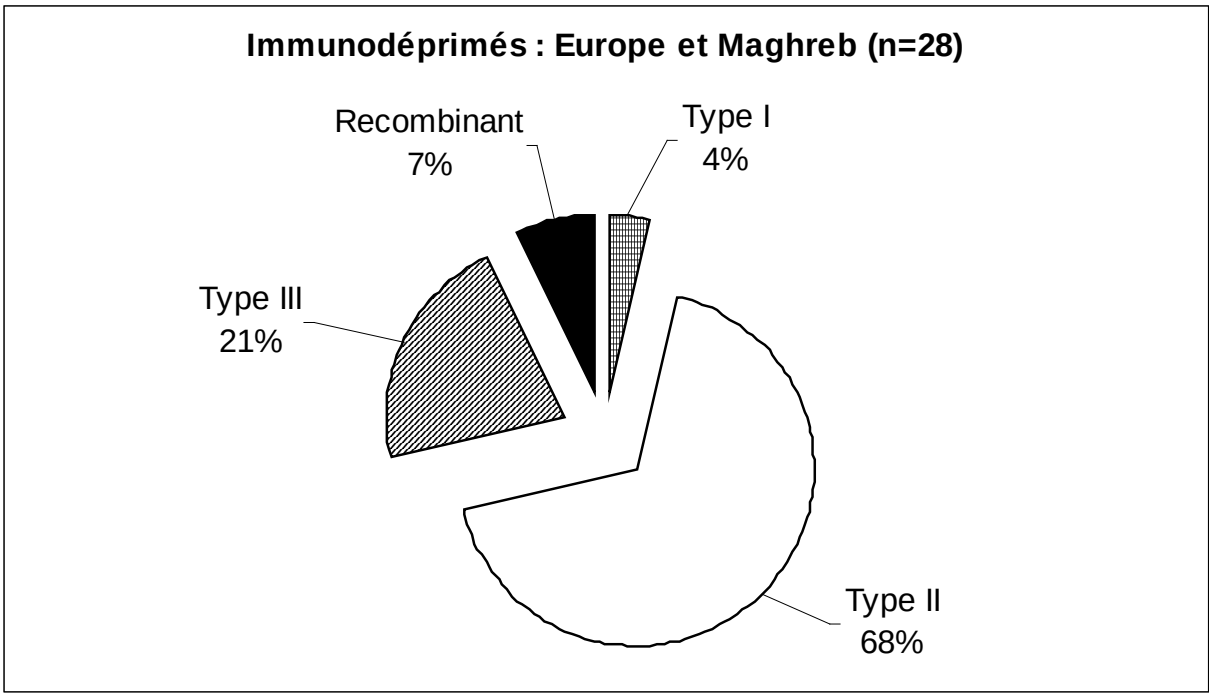


**Figure 16.** Répartition des génotypes dans 28 toxoplasmoses de l'immunodéprimé chez des patients originaires d'Europe ou du Maghreb.

Dans notre étude, neuf patients étaient d'origine africaine, deux d'origine guadeloupéenne et un d'origine uruguayenne. Les isolats correspondants ont été isolés en France, mis à part ATIH isolé en Uruguay. Comme les formes graves de toxoplasmose surviennent dans la majorité des cas après réactivation d'une infection ancienne, on peut supposer que la primo-infection des patients africains ou guadeloupéens a été acquise en Afrique ou en Guadeloupe. On voit que dans ce groupe de patients (figure 15), 8 isolats sur 12 ont un génotype recombinant, alors que les isolats appartenant aux trois lignées clonales sont minoritaires. Ces génotypes recombinants présentent de façon caractéristique un mélange d'allèles de type I avec des allèles de type III. Avec les cinq marqueurs microsatellites utilisés, un génotype caractérisé par quatre allèles de type I (*TUB2*, *W35*, *B18* et *B17*) et un allèle de type III (*TgM-A*) prédomine. Ce génotype I / III a déjà été isolé au Brésil chez des poulets ou au Portugal dans des cas de toxoplasmose congénitale. Ce génotype dit « africain » pourrait représenter une nouvelle lignée clonale, comme nous l'avons suggéré dans la première partie.

Dans le groupe de patients européens et maghrébins (avec un seul isolat chez un patient originaire de Tunisie), on voit que la part de type II est plus importante (68 %, figure

16) par rapport à l'ensemble de la population (figure 12) ou aux sous-groupes VIH- (figure 13) et VIH + (figure 14). La proportion de type III (21%) ne varie pas dans le groupe Maghreb/Europe et reste élevée par rapport à ce que l'on observe dans les toxoplasmoses congénitales par exemple. En revanche, les génotypes recombinants sont plus rares (7%). Parmi les deux isolats recombinants de ce groupe, on note un génotype I / III identique au génotype « africain » pour la souche FOU. Cette souche historique (FOU) a été isolée en 1992 lors d'une toxoplasmose disséminée fatale chez un transplanté rénal. Il s'agissait dans ce cas d'une infection récente transmise par le greffon. L'origine du donneur de rein n'est pas connue.

Les données de la littérature concernant le typage des isolats de toxoplasmoses de l'immunodéprimé sont reportées dans le tableau 12.

| Origine | Nombre d'isolats | Typage | Statut VIH | Type I | Type II | Type III | A/R[a] | Mixte | Références |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| France | 55 | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH + | 12,7 % | 76,4 % | 10,9 % | ND[b] | 0 | Howe et al., 1997 ; Honoré et al., 2000 |
| Espagne | 13 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH + | 23 % | 46 % | 31 % | ND | 0 | Fuentes et al., 2001 |
| Grande Bretagne | 8 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH + | 4/8 | 1/8 | 1/8 | ND | 2/8 | Aspinall et al., 2003 |
| USA et Europe | 28 | 6 loci PCR-RFLP | VIH + | 10,7 % | 57,1 % | 17,9 % | 14,3 % | 0 | Howe et Sibley, 1995 |
| USA | 4 (direct) | 5 loci n-PCR-RFLP | VIH + | 1/4 | 2/4 | 0 | 1/4 | 0 | Grigg et al., 2001c |
| USA | 8 (direct) | 5 loci n-PCR-RFLP | VIH + | 5/8 | 0 | 1/8 | 2/8 | 0 | Khan et al., 2005a |
| Colombie | 3 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH + | 3/3 | 0 | 0 | ND | 0 | Gallego et al., sous presse |
| France | 16 | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH - | 18,75 % | 75 % | 6,25 % | ND | 0 | Howe et al., 1997, Honoré et al., 2000 |
| Espagne | 4 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH - | 1/4 | 3/4 | 0 | ND | 0 | Fuentes et al., 2001 |
| Grande Bretagne | 3 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | VIH - | 0 | 2/3 | 0 | ND | 1/3 | Aspinall et al., 2003 |

**Tableau 12.** Distribution des génotypes dans la toxoplasmose humaine de l'immunodéprimé : données de la littérature. Deux études avec un nombre très faible (n < 3) d'isolats provenant de patients VIH- (Howe et Sibley, 1995 ; Grigg et al., 2001c) n'ont pas été incluses dans ce tableau.

[a] A : génotypes atypiques ; R : génotypes recombinants

[b] ND : non disponible (typage monolocus *SAG2*)

On voit qu'il s'agit d'études à partir de toxoplasmes isolés uniquement en Europe ou aux USA chez des patients principalement VIH +. Ces données sont difficilement comparables aux nôtres car la plupart de ces études, en n'utilisant qu'un seul marqueur (*SAG2*), ne peuvent détecter les génotypes recombinants ou atypiques, dont la fréquence est plus élevée dans notre étude sur les immunodéprimés que dans notre étude précédente sur les toxoplasmoses congénitales. Nous avons de plus montré que cette proportion de génotypes recombinants ou atypiques est directement liée à l'origine géographique des patients, information non disponible dans toutes ces études sauf pour une souche (Khan et al., 2005a).

Les études ayant un échantillonnage supérieur à 10 isolats retrouvent une prédominance de type II parmi les isolats provenant de patients VIH+, que ce soit en France (Howe et al., 1997 ; Honoré et al., 2000), en Espagne (Fuentes et al., 2001) ou dans différents pays d'Europe (Autriche, Belgique, Allemagne) et aux USA (Howe et Sibley, 1995). La prédominance du *SAG2* type II en Espagne chez des patients VIH + a été confirmée sur un plus grand nombre d'isolats (n=31) dans une communication affichée récente avec 58 % de *SAG2* type II, 26% de *SAG2* type I et 16% de *SAG2* type III (Fuentes et al., 2004). Deux études, en Grande-Bretagne (Aspinall et al., 2003) et aux USA (Khan et al., 2005a), retrouvent une prédominance de type I parmi les isolats collectés de patients VIH+. Un biais lié au faible échantillonnage (n = 8) peut expliquer ces différences. Malgré le typage multilocus de Khan et al. (2005a), il se peut aussi que les isolats de type I décrits soient en fait recombinants en multipliant le nombre de marqueurs, voire atypiques par séquençage. Le génotype I / III, dit « africain » que nous décrivons est en fait très proche du type I, avec un seul marqueur (*TgM-A*) montrant la présence de l'allèle de type III dans le génotype.

Parmi les isolats de patients VIH -, une étude retrouve une majorité de *SAG2* type II en France (Howe et al., 1997 ; Honoré et al., 2000). Les autres études sur les isolats de patients VIH- ont un échantillonnage insuffisant (Fuentes et al., 2001 ; Aspinall et al., 2003 ; Howe et Sibley, 1995 ; Grigg et al., 2001c).

La corrélation génotype / pathologie est disponible dans 2 études (Honoré et al., 2000 ; Grigg et al., 2001c). Honoré et al. (2000) ne retrouvent pas de corrélation entre le génotype et la localisation cérébrale ou extra-cérébrale de la toxoplasmose, que ce soit chez les VIH + ou VIH -, comme dans notre étude. Alors que nous n'avions pas décrit de type I chez les VIH-, Honoré et al. (2000) en rapportent 3 dans un échantillonnage similaire au nôtre (n=16). Ceci

montre bien qu'il est risqué de tirer des conclusions sur un échantillonnage limité donc non représentatif. Dans Grigg et al. (2001c), 2 formes oculaires sur 4 étaient dues à un type II chez des patients VIH +. La seule souche à l'origine d'une forme oculaire chez un VIH+ que nous ayons pu typer dans notre étude est également un type II. Bien évidemment, le nombre de cas décrits est insuffisant pour dire que le type II prédomine dans les formes oculaires chez le VIH+, mais la répartition des génotypes dans les formes oculaires chez les immunocompétents semble différente avec une majorité de génotypes recombinants et l'absence de type II sur 6 cas étudiés (Grigg et al., 2001c).

Chaque fois qu'une étude multilocus a été réalisée, elle retrouve une part non négligeable de génotypes recombinants ou atypiques chez les immunodéprimés aux USA (Howe et Sibley, 1995 ; Grigg et al., 2001c ; Khan et al., 2005a). Ceci est étonnant car ces génotypes sont rares dans la population globale de *T. gondii* circulant aux USA (Howe et Sibley, 1995). La sur-représentation de ces génotypes chez les immunodéprimés aux USA pourrait être due, comme dans notre étude, à l'acquisition de la primo-infection en dehors des USA ou dans des conditions épidémiologiques particulières au sein de ce pays.

## 3.3. Conclusion

Il semblerait que, dans les toxoplasmoses graves de l'immunodéprimé, le génotype n'ait aucun rôle dans l'expression clinique de la maladie. L'immunodépression de l'hôte est évidemment le facteur causal majeur. Il n'a pas été retrouvé de corrélation entre les différentes formes cliniques de la maladie (cérébrale ou extra-cérébrale) et le génotype quel que soit le type d'immunodépression sous-jacente (VIH + / VIH -). En sachant que les formes graves s'expriment le plus souvent après réactivation d'une infection latente, la répartition des génotypes observés chez les immunodéprimés reflète, selon nous, la diversité génotypique de la région géographique où a eu lieu la primo-infection. Lors de primo-infection en France, en Europe et aux USA, les immunodéprimés réactiveront majoritairement une infection liée à une souche de type II, alors qu'en Amérique du Sud ou en Afrique, du fait de la diversité génotypique plus importante, d'autres génotypes seront impliqués comme le type I, ou plus vraisemblablement des génotypes atypiques ou recombinants. Il reste également à préciser le rôle de la souche dans le fait que seulement 30-50 % des patients VIH + ayant une immunité toxoplasmique ancienne développent une toxoplasmose cérébrale en cas d'immunodépression profonde (Luft et Remington, 1992). Parallèlement à l'étude du système HLA (Suzuki et al.,

1996), seul le sérotypage chez tous les patients ayant une immunité toxoplasmique ancienne pourra faire la part entre le facteur d'hôte et le facteur parasitaire lié au génotype dans la survenue ou non d'une forme grave chez ces patients.

# 4. Toxoplasmose acquise chez l'immunocompétent

Dans un premier temps, nous allons présenter deux publications concernant plusieurs cas de toxoplasmoses sévères chez des immunocompétents dues à des isolats au génotype atypique en Guyane française (Carme et al., 2002), mais aussi en France (de Salvador-Guillouët et al., sous presse). Dans un deuxième temps, nous analyserons le rôle du génotype dans les différentes formes cliniques observées chez l'immunocompétent (ganglionnaires, oculaires et sévères) à partir de la collection des isolats du CRB, des isolats historiques et des données de la littérature.

## 4.1. Carme, 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. (2002). Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J. Clin. Microbiol. 40, 4037-4044

4.2. de Salvador-Guillouët, F., Ajzenberg, D., Chaillou-Opitz, S., Saint-Paul, M.C., Dunais, B., Dellamonica, P. and Marty, P. (sous presse). Severe pneumonia during primary infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. J. Infection.

## 4.3. Données du CRB et cas historiques

Nous avons tenté le typage de 30 isolats collectés lors de toxoplasmoses acquises chez l'immunocompétent. Ces isolats correspondent à des cas historiques que nous avions en banque à Limoges et à tous les cas collectés par le CRB. Sur les cinq prélèvements d'humeur aqueuse correspondant à cinq cas de toxoplasmose oculaire, nous n'avons réussi le typage direct qu'une seule fois (PSP-2005-JAN) et encore de façon incomplète (3 marqueurs sur 5). Nous n'avons pas réussi également le typage direct d'une biopsie musculaire d'un patient guyanais atteint de myosite toxoplasmique. Au total, nous avons typé 25 isolats provenant de 25 cas de toxoplasmose symptomatique chez des patients immunocompétents (tableau 13).

| Isolat | Prélèvement | Origine | Clinique | Type |
|---|---|---|---|---|
| MARTIN | Ganglion | UK | Lymphadénopathie | I |
| JONES | Ganglion | UK | Lymphadénopathie | II |
| CHILE | Ganglion | Chili | Lymphadénopathie | II |
| MILIS | Ganglion | Belgique | Lymphadénopathie | II |
| DEGROS | Ganglion | Belgique | Lymphadénopathie + méningite | II |
| DUCH | Ganglion | Belgique | Lymphadénopathie | I / III |
| WIK | Ganglion ? | Afrique | Lymphadénopathie ? | I / III |
| PSP-2005-JAN | HA (direct) | France | Toxo oculaire (panuvéite de l'œil gauche avec vascularite et hyalite dense évoluant depuis 2 mois) | I / III |
| LPN-2003-FOU | LBA (direct) | France | Toxo disséminée (ppathie, fièvre, hépatosplénomégalie, cytolyse hépatique, adénopathies) | Atypique |
| GUY-2004-ANG | Sang | Surinam | Toxo disséminée chez une femme enceinte (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique) | Atypique |
| GUY-2004-ABE | Sang (direct) | Surinam | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, défaillance multiviscérale)/ décès | Atypique |
| GUY-2004-TER | Sang (direct) | Surinam | Contractions fébriles chez une femme enceinte, accouchement prématuré à 35 SA | Atypique |
| GUY-2004-TER1 | Sang | Surinam | Enfant de 8 mois, fièvre depuis 3 semaines, splénomégalie | Atypique |
| GUY-2003-BAS1 | Sang | Guyane fr. | Enfant de 2 ans et 1/2, fièvre, lymphadénopathie, hépatosplénomégalie | Atypique |
| GUY-2003-BAS | Sang | Guyane fr. | Enfant de 3 ans et 1/2, fièvre, lymphadénopathie généralisée, splénomégalie, discrète atteinte pulmonaire | Atypique |
| GUY-2004-ITI | LBA (direct) | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique), polymyosite sous Adiazine / Malocide | Atypique |
| VAND | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique, pancréatite, diarrhée, rash maculopapuleux, choriorétinite, Guillain-Barré) | Atypique |
| RUB | LBA | Guyane fr | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique, diarrhée, rash maculopapuleux) | Atypique |
| GUY-2002-MAT | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, adénopathies, atteinte oculaire avec nodule cotonneux à l'œil droit) | Atypique |
| GUY-2003-MEL | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cardiomégalie) | Atypique |
| GUY-2001-DOS | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, céphalées, myalgie, amaigrissement, adénopathie, diarrhées, érythème cutané | Atypique |
| GUY-2002-KOE | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, céphalées, amaigrissement, adénopathies) | Atypique |
| GUY-2003-ADA | LBA (direct) | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique) | Atypique |
| GUY-2004-AKO | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, hépatomégalie, pleuropneumopathie, atélectasie pulmonaire, péricardite, ascite) | Atypique |
| GUY-2004-LAB | Sang | Guyane fr. | Toxo disséminée (fièvre, ppathie, cytolyse hépatique) | Atypique |

**Tableau 13.** Nature des prélèvements, origines géographiques des patients, données cliniques et génotypes avec cinq marqueurs microsatellites de 25 isolats provenant de 25 toxoplasmoses aquises chez les immunocompétents.

### 4.3.1. Toxoplasmose ganglionnaire.

Les toxoplasmes provenant d'adénopathies et qui ont été typés sont rares dans la littérature : une souche de type II par typage multilocus aux USA (Howe et Sibley, 1995) et deux isolats (un type II et une infection mixte I + II) par nested PCR-RFLP sur *SAG2* en Grande-Bretagne (Aspinall et al., 2003). Nous avons envoyé une souche historique de type II (DEGROS) au laboratoire du Professeur Derouin qui a été typée par nested PCR-RFLP sur *SAG2* (Honoré et al., 2000).

Les sept isolats que nous avons typés (tableau 13) correspondent à des isolats historiques gardés en collection à Limoges. Parmi ce très faible échantillonnage, aux origines géographiques très diverses (aucun isolat collecté en France), le type II prédomine néanmoins (4/7). La seule souche d'origine africaine (WIK), isolée sans certitude d'une forme ganglionnaire, présente justement un génotype recombinant I/ III, dit « africain », de même qu'un isolat (DUCH) collecté en Belgique. Pour ce dernier, l'origine géographique de la contamination n'a pu être déterminée.

Au total, dans les toxoplasmoses ganglionnaires, le faible échantillonnage de notre série et la rareté des cas décrits dans la littérature, ne permettent pas d'associer un génotype particulier à cette forme clinique.

### 4.3.2. Toxoplasmose oculaire.

D'assez nombreuses publications (tableau 14) ont reporté le typage (le plus souvent direct à partir de l'humeur aqueuse) d'isolats lors de toxoplasmose oculaire acquise chez l'immunocompétent, même si le nombre total de cas reste faible (n=20).

| Origine | Nombre d'isolats | Typage | Type I | Type II | Type III | A/R[a] | Références |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Brésil | 11 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | 11 | 0 | 0 | ND[b] | Vallochi et al., 2005 |
| Corée | 1 | 2 loci PCR-RFLP et 3 loci séquencés | 0 | 0 | 0 | 1/1 A | Lin et al., 2005 |
| Brésil | 1 | 6 loci PCR-RFLP | 1 | 0 | 0 | 0 | Howe et Sibley, 1995 |
| Colombie | 1 (direct) | *SAG2* n-PCR-RFLP | 0 | 0 | 0 | 1/1 A | Gallego et al., sous presse |
| USA | 6 (direct) | 5 loci n-PCR-RFLP et séquençage | 1/6 | 0 | 0 | 5/6 R | Grigg et al., 2001c |

**Tableau 14.** Distribution des génotypes dans la toxoplasmose oculaire chez des patients immunocompétents (toxoplasmose oculaire présumée acquise) : données de la littérature.

[a] A : génotypes atypiques ; R : génotypes recombinants

[b] ND : non disponible (typage monolocus *SAG2*)

Le fait marquant par rapport à ce que l'on a vu dans les autres formes cliniques de toxoplasmose qu'elles soient acquises ou congénitales est l'absence de type II (et III) dans ces 20 isolats typés lors de toxoplasmose oculaire. De même, la seule souche isolée en France que nous ayons pu typer (PSP-2005-JAN) n'est pas un type II (tableau 13). On voit dans le tableau 14 que 12 cas sur 20 proviennent du Brésil avec 100 % de type I *(SAG2*), même si les 11 types I décrits par Vallochi et al. (2005) pourraient s'avérer être en fait recombinants ou atypiques si un typage multilocus devait être réalisé. D'après les données de la littérature (da Silva et al., 2005 ; de A Dos Santos et al., 2005 ; Dubey et al., 2002, 2003c, 2003d, 2004d ; Ferreira et al., 2006 ; Pena et al., sous presse), notamment à partir d'isolats provenant d'animaux, aucun type II n'a été décrit à ce jour au Brésil sur un total de 206 isolats. De même en Colombie, sur 24 isolats de poulets, aucun type II n'a été décrit par *SAG2* n-PCR-RFLP (Gallego et al., sous presse). La souche isolée dans une forme oculaire en Colombie est clairement atypique, malgré le typage monolocus, car à notre connaissance, il s'agit de la première souche décrite ayant les deux sites de restriction pour Sau3AI et HhaI sur *SAG2*.

On pourrait donc penser que l'absence de type II dans les formes oculaires au Brésil ou en Colombie est liée à une diversité génotypique bien plus importante et à la rareté du type II parmi les isolats de toxoplasme circulant dans ces deux pays d'Amérique latine. Si le type II ne circule pas ou très rarement dans une aire géographique donnée, il est logique de ne pas l'observer dans les formes humaines. En revanche, il est admis que le type II circule majoritairement aux USA (Howe et Sibley, 1995). Le fait de ne trouver aucun type II dans ce pays parmi 6 formes sévères de toxoplasmose oculaire chez l'immunocompétent (Grigg et al., 2001c) doit donc attirer l'attention. Les mêmes auteurs décrivent un génotype multilocus identique pour 4 isolats, baptisé type IV. Ce type IV est un génotype combinant des allèles de type III et de type I. En France, où le type II est largement majoritaire dans la population de toxoplasmes circulants, la seule souche (PSP-2004-JAN) que nous ayons typée dans une forme oculaire acquise chez l'immunocompétent est caractérisée également par un mélange d'allèle de type I et III avec 3 marqueurs microsatellites. Comme le type IV a été défini avec d'autres marqueurs (*SAG1, SAG2, SAG3, SAG4* et *B1*), il faudrait typer cet isolat avec ces marqueurs pour savoir s'il s'agit ou non du type IV décrit par Grigg et al., (2001c).

Les études de la littérature rapportent le plus souvent des cas sévères de formes oculaires chez l'immunocompétent, constituant ainsi un effet « iceberg ». Ces travaux doivent être poursuivis pour préciser le rôle des isolats de type I et de génotype atypique ou recombinant dans ces formes oculaires. Mais ces études seront toujours limitées par la difficulté d'avoir du matériel (prélèvement d'humeur aqueuse) et l'obligation d'avoir une technique de typage multilocus et très sensible pour pouvoir réaliser le typage direct.

### 4.3.3. Toxoplasmose sévère.

Tous les cas de toxoplasmose sévère que nous avons observés chez l'immunocompétent étaient dus à des isolats au génotype atypique (tableau 13). Le biais géographique est majeur avec 16 cas en Amérique du Sud (12 en Guyane française et quatre au Surinam) et 1 seul cas en France déjà présenté (de Salvador-Guillouët et al., sous presse).

Les 12 cas de Guyane française correspondent à cinq cas déjà présentés (Carme et al., 2002) et à sept nouveaux cas. Ces 12 isolats correspondent à 11 souches, car les isolats GUY-2003-BAS et GUY-2003-BAS1 sont une seule et même souche isolée lors d'une mini épidémie familiale (isolement chez le frère et la sœur). Toutes les souches guyanaises ont été isolées à partir du sang périphérique ou du liquide de LBA. Comme nous l'avions déjà rapporté (Carme et al., 2002), les isolats à l'origine de toxoplasmose sévère en Guyane française proviennent du cycle sauvage de *T. gondii* dans la forêt amazonienne. L'homme est un hôte accidentel de ce cycle sauvage en mangeant de la viande peu cuite de mammifères sauvages infectés ou en buvant de l'eau non traitée et souillée par des oocystes émis par des félidés sauvages. La sévérité de ces toxoplasmoses chez l'homme pourrait être expliquée, en partie, par une inadéquation du système immunitaire pour juguler l'infection face à ces isolats au génotype atypique peu adapté à l'homme. Un argument indirect en faveur de cette hypothèse est apporté par les taux extrêmement élevés d'IgG et d'IgM observés dans les cas rapportés (Carme et al., 2002).

Notre échantillonnage d'isolats provenant de toxoplasmoses humaines en Guyane est cependant largement biaisé par « l'effet iceberg », car nous n'avons isolé ces isolats atypiques que dans des cas sévères de toxoplasmose chez l'immunocompétent. Étant donné la séroprévalence importante de cette parasitose chez l'homme en Guyane française (Carme et al., 2002), il est évident que tous les cas d'infection toxoplasmique acquise chez les immunocompétents ne sont pas aussi bruyants cliniquement dans cette région. Nous ne savons pas quels sont les génotypes à l'origine des autres formes cliniques chez l'homme (chez l'immunocompétent, mais aussi chez l'immunodéprimé ou dans les formes congénitales), ni quels génotypes circulent chez les animaux sauvages ou domestiques en Guyane française. La question est donc de savoir si les génotypes atypiques isolés dans ces formes sévères sont représentatifs ou non de la population de toxoplasmes circulant en Guyane française. Dans l'affirmative, il sera difficile de faire le lien entre le génotype et les

formes sévères observées. Nous ne savons pas non plus si les types classiques I, II ou III circulent dans cette région. Le pool de gènes dont sont issus ces 3 archétypes existe en Guyane française, car nous avons identifié des allèles I, II ou III dans les génotypes des 11 souches isolées. Mais ces allèles classiques sont souvent mélangés dans le génotype et surtout sont associés à un pool de gènes différent (allèles atypiques dont la plupart sont spécifiques à la Guyane, ou du moins à l'Amérique du Sud). Seul un échantillonnage beaucoup plus diversifié pourra répondre à ces questions.

Nous pensons que le génotype joue un rôle dans l'évolution des formes cliniques chez le sujet immunocompétent, mais qu'il ne peut pas expliquer à lui seul la sévérité des formes observées. C'est ce que l'on observe dans une épidémie où une même souche a été à l'origine de formes cliniques très différentes.

Les cas du Surinam correspondent à une épidémie de toxoplasmose sévère ayant touché 11 personnes. Nous avons rapporté ces observations au VIII$^{ème}$ congrès international sur la toxoplasmose (Ajzenberg et al., 2005a). Entre fin décembre 2003 et mi-janvier 2004, sept cas groupés de toxoplasmose disséminée chez des patients immunocompétents ont été diagnostiqués à l'hôpital de Saint-Laurent du Maroni en Guyane française. Ces patients appartenaient à la même famille (voir figure 17) et vivaient à Patam, un petit village surinamien dans la forêt amazonienne situé tout près de la frontière guyanaise en face de Saint-Laurent du Maroni. Ces patients ont traversé le fleuve Maroni pour être soignés en Guyane française.

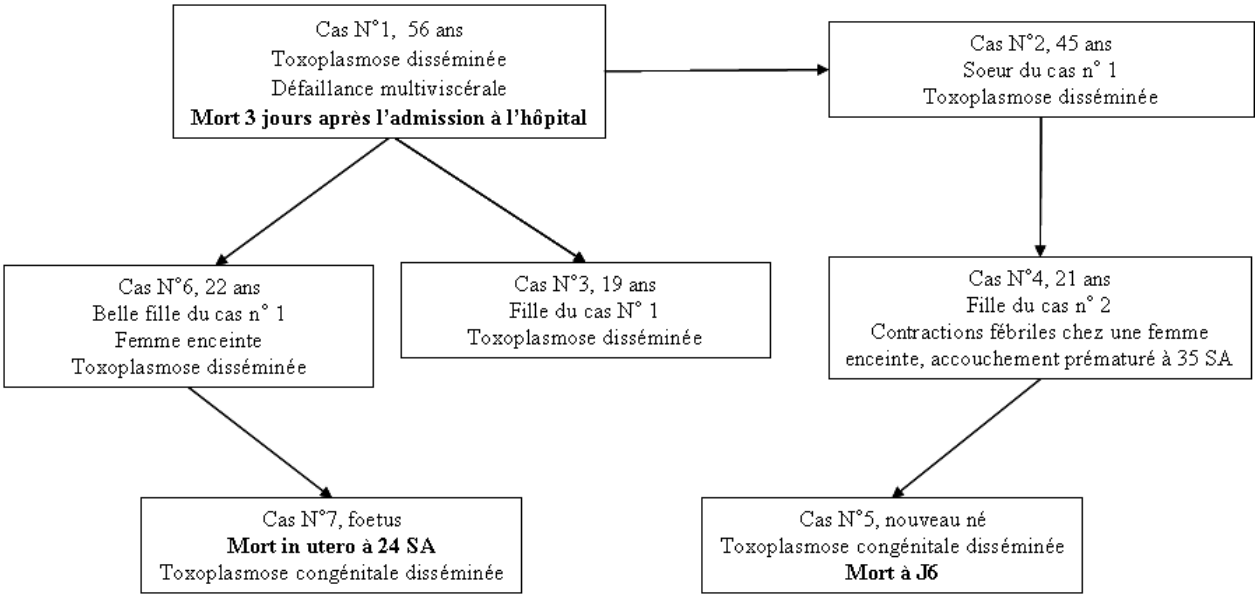


**Figure 17.** Liens de parenté et formes cliniques des sept premiers cas de l'épidémie de toxoplasmose à Patam au Surinam.

L'enquête sérologique réalisée en janvier 2004 chez 38 habitants de Patam (*i.e.* la quasi totalité du village) a permis de diagnostiquer quatre cas supplémentaires de toxoplasmose aiguë. Ces quatre cas correspondaient à des formes plus bénignes (fièvre, adénopathie, splénomégalie). Au total, 11 cas de toxoplasmose aiguë ont été diagnostiqués dans cette épidémie : neuf chez des adultes immunocompétents dont cinq formes disséminées avec un cas dont l'évolution a été mortelle et deux cas de toxoplasmoses congénitales létales.

L'inoculation aux souris et la PCR par amplification du gène *B1* ont été réalisées à partir du sang périphérique chez neuf patients (tableau 15), alors que la PCR *B1* seule a été réalisée sur les tissus formolés du fœtus expulsé (cas n°7). Nous n'avons pas reçu de prélèvements du nouveau-né décédé à 6 jours de vie (cas n°5). La PCR B1 a été positive dans quatre cas. L'isolement de *T. gondii* après inoculation à la souris a été possible dans quatre cas, dont un négatif par PCR. Les souris sont mortes à l'isolement entre 16 et 30 jours p.i. dans la grande majorité des cas.

| | Cas N°1 | Cas N°2 | Cas N°3 | Cas N°4 | Cas N°5 | Cas N°6 | Cas N°7 | Cas N°8 | Cas N°9 | Cas N°10 | Cas N°11 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Prélèvement | Sang | Sang | Sang | Sang | N.F. | Sang | Tissus foetaux | Sang | Sang | Sang | Sang |
| PCR B1 | Positive | Négative | Négative | Positive | N.F. | Négative | Positive | Négative | Négative | Négative | Positive |
| Inoculation aux souris | Positive | Négative | Négative | Positive | N.F. | Positive | NF (tissus formolés) | Négative | Négative | Négative | Positive |
| Virulence chez la souris à l'isolement | 100 % mortalité J19-J30 | | | 100 % mortalité J16-J18 | | 100 % mortalité J18 | | | | | Absence |
| Isolat | GUY-2004-ABE | | | GUY-2004-TER | | GUY-2004-ANG | GUY-2004-ANG1 | | | | GUY-2004-TER1 |

**Tableau 15.** Épidémie du Surinam. Résultats de l'inoculation aux souris et de la PCR *B1* réalisées sur prélèvements sanguins périphériques ou tissus foetaux.

Note. NF : non fait.

La caractérisation génétique a été possible sur les quatre isolats obtenus après inoculation à la souris (GUY-2004-ABE, GUY-2004-TER, GUY-2004-ANG, GUY-2004-TER1) et directement à partir du liquide amniotique correspondant au fœtus mort *in utero* (GUY-2004-ANG1). Un typage direct à partir du sang périphérique a également été réalisé avec succès pour deux isolats (GUY-2004-ABE, GUY-2004-TER). Nous avons réalisé une analyse par GeneScan du polymorphisme de longueur de huit marqueurs microsatellites dont trois (*N60608*, *N82375*, *AA519150*) hautement polymorphes (tableau 16). Un seul génotype multilocus a été identifié.

| | *TUB2* | *W35* | *TgM-A* | *B18* | *B17* | *N60608* | *N82375* | *AA519150* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GUY-2004-ABE | 289 | 246 | 198 | 156 | 336 | 133 | 109 | 160 |
| GUY-2004-ANG | 289 | 246 | 198 | 156 | 336 | 133 | 109 | 160 |
| GUY-2004-ANG1 | 289 | 246 | 198 | 156 | 336 | 133 | 109 | 160 |
| GUY-2004-TER | 289 | 246 | 198 | 156 | 336 | 133 | 109 | 160 |
| GUY-2004-TER1 | 289 | 246 | 198 | 156 | 336 | 133 | 109 | 160 |

**Tableau 16.** Épidémie du Surinam. Résultats du typage multilocus par analyse GeneScan du polymorphisme de longueur de huit marqueurs microsatellites.

Le séquençage de cinq microsatellites (*TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18*, *B17*) a confirmé l'identité des cinq séquences (figure 18), démontrant ainsi qu'une seule souche était responsable d'au moins cinq cas de toxoplasmose aiguë parmi les 11 de l'épidémie. Par comparaison avec les séquences de trois isolats archétypaux (I, II et III), le génotype de la souche de l'épidémie est atypique pour trois marqueurs sur cinq (*W35*, *TgM-A* et *B17*). Les allèles de ces marqueurs sont atypiques soit par la présence de polymorphismes nucléotidiques uniques dans les régions flanquantes des microsatellites (*TgM-A* et *B17*) soit par une longueur inhabituelle du motif de base dinucléotidique des microsatellites (*W35*, *TgMA* et *B17*).

**Alleles**

| ***TUB2* (257-259 bp)** | **SNP** | **MS** | 46 | 169 | 170 | 171 | 172 | 173 | 174 | 175 | 176 | 177 | 178 | 179 | 180 | 181 | 182 | 183 | 184 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BK (Type I) | 1.2.3 | 1 | C | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A |
| ME49 (Type II) , CEP (Type III) | 1.2.3 | 2.3 | C | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | * | * |
| GUY-2004-ABE, TER, TER1, ANG, ANG1 | 1.2.3 | 2.3 | C | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | * | * |

| ***W35* (210-216 bp)** | | | 17 | 35 | 36 | 38 | 40 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 105 | 124 | 125 | 128 | 132 | 142 | 187 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BK (Type I) | 1 | 1 | G | C | **T** | G | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | G | T | G | * | * | G | C | G | T | T | **C** | T |
| ME49 (Type II) | 2 | 2 | G | C | G | G | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | * | * | * | * | T | G | T | G | * | * | **A** | C | G | T | T | T | T |
| CEP (Type III) | 3 | 3 | G | C | G | **A** | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | * | * | * | * | * | * | T | G | T | G | T | G | G | C | G | T | T | T | T |
| GUY-2004-ABE, TER, TER1, ANG, ANG1 | 1 | **9** | G | C | **T** | G | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | T | G | T | G | * | * | G | C | G | T | T | **C** | T |

| ***TgM-A* (152-158 bp)** | | | 1 | 16 | 22 | 30 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 96 | 123 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BK (Type I) | 1.2 | 1 | T | A | G | C | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | * | * | T | G |
| ME49 (Type II) | 1.2 | 2 | T | A | G | C | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | * | * | * | * | T | G |
| CEP (Type III) | 3 | 3 | T | A | G | **T** | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | * | * | * | * | * | * | T | G |
| GUY-2004-ABE, TER, TER1, ANG, ANG1 | **6** | **4** | **G** | **G** | G | C | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | * | * | * | * | * | * | * | * | T | G |

| ***B18* (113-115 bp)** | | | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 88 | 90 | 91 | 92 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BK (Type I) , CEP (Type III) | 1.2.3 | 1.3 | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | G | T | C | T |
| ME49 (Type II) | 1.2.3 | 2 | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | G | T | C | T |
| GUY-2004-ABE, TER, TER1, ANG, ANG1 | 1.2.3 | 2 | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | C | A | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | G | T | C | T |

| ***B17* (163-169 bp)** | | | 15 | 21 | 33 | 34 | 43 | 44 | 54 | 76 | 77 | 78 | 79 | 96 | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | 102 | 103 | 104 | 105 | 106 | 107 | 108 | 109 | 110 | 111 | 112 | 113 | 114 | 115 | 116 | 117 | 118 | 119 | 120 | 121 | 122 | 123 | 124 | 125 | 126 | 127 | 128 | 129 | 130 | 131 | 132 | 133 | 134 | 135 | 165 | 189 | 192 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BK (Type I) | 1 | 1 | T | C | **T** | **G** | G | T | C | C | * | * | * | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | T | **C** | G |
| ME49 (Type II) , CEP (Type III) | 2.3 | 2.3 | T | C | G | A | G | T | C | C | * | * | * | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | T | **G** | G |
| GUY-2004-ABE, TER, TER1, ANG, ANG1 | **4** | **4** | T | C | G | A | G | T | C | C | * | * | * | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | T | C | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | **C** | **C** | G |

**Figure 18.** Épidémie du Surinam. Polymorphismes nucléotidiques de 5 marqueurs microsatellites (*TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18*, *B17*). Les séquences de trois isolats représentant les trois lignées archétypales de *T. gondii* (BK, ME49 et CEP) ont été comparées aux séquences des cinq isolats GUY-2004-ABE, GUY-2004-TER, GUY-2004-ANG, GUY-2004-TER1 et GUY-2004-ANG1. Les SNPs non retrouvés dans au moins 2 séquences archétypales sont encadrés en noir, de même que les allèles atypiques ; (*) indique un site de délétion.

L'enquête épidémiologique n'a pas pu identifier la source de la contamination. Tous les prélèvements d'eau et de terre réalisés dans le village étaient négatifs. Les habitants du village disent ne pas avoir mangé de viande insuffisamment cuite le mois précédant l'épidémie du fait de leur conviction religieuse évangélistique qui interdit cette forme de préparation de la nourriture. Nous pensons que la contamination a eu lieu par l'intermédiaire d'oocystes. En effet, durant l'enquête épidémiologique, la sérologie pratiquée chez un enfant âgé de 8 mois, chez qui nous avons isolé la souche (cas n°11, GUY-2004-TER1), ne montrait que des IgM et pas d'IgG. Ce profil sérologique est en faveur d'une infection 1 mois après l'épisode initial de l'épidémie. Ceci suggère une source persistante de contamination comme de l'eau de boisson souillée par des oocystes et non traitée. Cette hypothèse peut être retenue à Patam où l'eau de boisson est collectée à partir d'eau de pluie ou de rivière non traitée et où la présence de nombreux félidés sauvages a été rapportée.

Cette épidémie nous montre qu'une même souche peut entraîner des formes cliniques variées allant de la forme mortelle chez une patiente adulte ou dans deux cas de toxoplasmoses congénitales à des formes paucisymptomatiques dans quatre cas. Le génotype atypique de la souche infectante ne peut donc pas expliquer à lui seul la sévérité des tableaux cliniques observés. Les moyens de défense de l'hôte ont certainement joué un rôle capital dans le contrôle de l'infection, car les trois formes mortelles ont été observées chez la patiente la plus âgée (56 ans), chez un fœtus et chez un nouveau-né. Mais d'autres facteurs doivent être invoqués pour expliquer chez les autres patients la survenue de formes disséminées chez certains ou bénignes chez d'autres. Si l'on suppose que la source de contamination est identique, notamment par l'intermédiaire d'oocystes, il est fort probable que la survenue de formes sévères soit liée à un *inoculum* plus important chez ces patients. C'est l'hypothèse que nous avions également proposée pour expliquer la survenue concomitante d'une toxoplasmose disséminée avec symptômes pulmonaires au premier plan chez un homme de 19 ans en France et d'une forme ganglionnaire bénigne chez sa sœur âgée de 11 ans (de Salvador-Guillouët et al., sous presse).

## 4.4. Conclusion

Parmi les formes cliniques de toxoplasmose humaine, c'est dans les toxoplasmoses acquises chez l'immunocompétent que le nombre d'isolats disponible est le plus faible, alors que c'est justement dans ces formes que le rôle du génotype semble le plus marqué. Aucune souche de type II n'a été isolée dans les formes oculaires ou disséminées que ce soit dans notre étude ou dans la littérature. Les formes oculaires acquises de l'immunocompétent étaient associées à des type I ou atypiques ou recombinants, alors que les formes disséminées étaient toutes dues à des isolats de génotype atypique. Le biais géographique est important car les isolats proviennent en majorité de zones (Brésil, Guyane française) où le type II n'a pour l'instant jamais été isolé et où la diversité génotypique de *T. gondii* est beaucoup plus importante qu'en France ou aux USA. En France et aux USA, le type II est largement prépondérant dans la nature que ce soit chez les animaux ou dans les toxoplasmoses humaines congénitales et chez l'immunodéprimé. Le fait d'isoler des génotypes différents du type II dans six formes oculaires aux USA et dans un cas de forme disséminée en France, donne à penser que le génotype a joué un rôle dans la survenue de ces formes cliniques, même si d'autres facteurs sont en cause, en premier lieu l'hôte, mais aussi des facteurs parasitaires comme l'*inoculum*. C'est en multipliant le nombre d'isolats disponibles, en particulier dans des zones où la fréquence de formes oculaires (Brésil) ou disséminées (Guyane française) est plus importante que l'on pourra préciser le rôle du génotype. Ce travail n'aura de sens qu'en isolant et caractérisant parallèlement les isolats circulant dans la nature, notamment en Guyane française.

# Conclusion et perspectives

Nous avons effectué un premier pas dans la compréhension de la structure complexe de la population de *Toxoplasma gondii* et du rôle du génotype dans certaines formes cliniques de toxoplasmose. Les deux étant liés, il faudra dans l'avenir collecter un nombre encore plus important d'isolats provenant de formes cliniques humaines sévères parallèlement à la collecte d'isolats provenant d'animaux totalement asymptomatiques. Nous avons vu également que la qualité des renseignements clinico-épidémiologiques est primordiale pour pouvoir avancer dans la compréhension de ce parasite.

Pour cela, la création du pôle souche du Centre National de Référence permettra de poursuivre le chemin parcouru sur les relations génotypes / toxoplasmoses humaines, notamment en étendant la collecte d'isolats à d'autres zones géographiques (DOM-TOM, Afrique, Amérique du Sud) et en augmentant le nombre d'isolats provenant de toxoplasmoses acquises de patients immunodéprimés et immunocompétents. Si la plus grande pathogénicité des souches de type I ou de génotype atypique se confirme, notamment dans les toxoplasmoses congénitales humaines, cela pourrait modifier la prise en charge des patients avec une surveillance plus poussée et un traitement plus agressif lors d'infections par ces génotypes.

Il existe également tout un pan de l'infection toxoplasmique, les formes acquises asymptomatiques sur lesquelles on ne sait pas grand-chose. Là encore, le CNR nous permettra de développer une technique de sérotypage performante pour explorer les génotypes responsables de la majorité des cas de toxoplasmose humaine.

Il apparaît également très important de ne pas se limiter à l'étude du génome pour expliquer des différences de pathogénicité entre les souches qui finalement diffèrent très peu entre elles au niveau génétique (< 5 % de divergence par séquençage de l'ADN). La variabilité au niveau épigénétique pourrait être beaucoup plus importante. Un typage « épigénétique » dans un futur proche permettrait peut être d'apporter plus de réponses à nos questions que le typage génétique proprement dit.

# Bibliographie

AFSSA (sous presse). Toxoplasmose: état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail "*Toxoplasma gondii*" de l'AFSSA

Ajzenberg, D., Bañuls, A.L., Tibayrenc, M., 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., Cogné, N., Paris, L., Bessières, M.H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P., 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., Bañuls, A.L., Su, C., Dumètre, A., Demar, M., Carme B., Dardé, M.L. (2004). Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 34, 1185-1196

Ajzenberg, D., Demar, M., Bañuls, A.L., Peneau, C., Dumètre, A., Punwasi, W., Carme, B., Dardé, M.L. (2005a). Outbreak of severe toxoplasmosis with strain characterization in Surinam. Eight International Congress on Toxoplasmosis, Porticcio, Corsica, France, May 27-31, 2005

Ajzenberg, D., Dumètre, A., Dardé, M.L. (2005b). Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. J. Clin. Microbiol. 43, 1940-1943

Albrecht, H., Skörde, J., Arasteh, K., Heise, W., Stellbrink, H.J., Grosse, G., L'Age, M. (1995). Disseminated toxoplasmosis in AIDS patients - report of 16 cases. Scand. J. Infect. Dis. 27, 71-74

Ambroise-Thomas, P., Garin, J.P. (1984). Toxoplasmose. Encycl. Méd. Chir. (Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8098 $A^{10}$, 4-1984

Ancelle, T., Goulet, V., Tirard-Fleury, V., Baril, L., du Mazaubrun, C., Thulliez, P., Wcislo, M., Carme, B. (1996). La toxoplasmose chez la femme enceinte en 1995. BEH n°51/1996

Anderson, T.J.C., 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., Day, K.P. (2000). Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Mol. Biol. Evol. 17, 1467-1482

Asai, T., Miura, S., Sibley, L.D., Okabayashi, H., Takeuchi, T. (1995). Biochemical and molecular characterization of nucleoside triphosphate hydrolase isozymes from the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii.* J. Biol. Chem. 270, 11391-11397

Aspinall, T.V., Marlee, D., Hyde, J.E., Sims, P.F.G. (2002). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction--food for thought? Int. J. Parasitol. 32, 1193-1199

Aspinall, T.V., Guy, E.C., Roberts, K.E., Joynson, D.H.M., Hyde, J.E., Sims, P.F.G. (2003). Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. Int. J. Parasitol. 33, 97-103

Aspinall, T.V., Guy, E.C., Roberts, K.E., Joynson, D.H.M., Hyde, J.E., Sims, P.F.G. (2004). Response to Villena et al.: *Toxoplasma* strain type and human disease. Trends Parasitol. 20, 162-163

Barragan, A., Sibley, L.D. (2002). Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. J. Exp. Med. 195, 1625-1633

Biñas, M., 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

Blackston, C.R., Dubey, J.P., Dotson, E., Su, C., Thulliez, P., Sibley, D., Lehmann T. (2001). High-resolution typing of *Toxoplasma gondii* using microsatellite loci. J. Parasitol. 87, 1472-1475

Boothroyd, J.C., Grigg, M.E. (2002). Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? Curr. Opinion Microbiol. 5, 438-442

Bossi, P., Bricaire, F. (2004). Severe acute disseminated toxoplasmosis. Lancet. 364, 579

Bossi, P., Caumes, E., Paris, L., Dardé, M.L., Bricaire, F. (1998). *Toxoplasma gondii*-associated Guillain-Barré syndrome in an immunocompetent patient. J. Clin. Microbiol. 36, 3724-3725

Bossi, P., Paris, L., Caumes, E., Katlama, C., Danis, M., Bricaire, F. (2002). Severe acute disseminated toxoplasmosis acquired by an immunocompetent patient in French Guiana. Scand. J. Infect. Dis. 34, 311-314

Bourdillon, F., Raffi, F., Pradier, C. (1996). Les principales circonstances de survenue de la toxoplasmose cérébrale chez les patients atteints par le V.I.H en France. BEH n°17/1996

Bowie, W.R., King, A.S., Werker, D.H., Isaac-Renton, J.L., Bell, A., Eng, S.B., Marion, S.A. (1997). Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. Lancet. 350, 173-177

Brézin, A.P., Delair-Briffod, E. (2003a). Toxoplasmose oculaire. Encycl. Méd. Chir. (Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Ophtalmologie, 21-230-B-15, 14p

Brézin, A.P., Delair-Briffod, E. (2003b). Suivi ophtalmologique des toxoplasmoses congénitales. Arch. Pediatr. 10 Suppl 1, 5-9

Burnett, A.J., Shortt, S.G., Isaac-Renton, J., King, A., Werker, D., Bowie, W.R. (1998). Multiple cases of acquired toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. Ophtalmology. 105, 1032-1037

Candolfi, E., de Blay, F., Rey, D., Christmann, D., Treisser, A., Pauli, G., Kien, T. (1993). A parasitologically proven case of *Toxoplasma* pneumonia in an immunocompetent pregnant women. J. Infect. 26, 79-81

Carme, B., Bissuel, F., Ajzenberg, D., Bouyne, R., Aznar, C., Demar, M., Bichat, S., Louvel, D., Bourbigot, A.M., Peneau, C., Neron, P., Dardé, M.L. (2002). Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J. Clin. Microbiol. 40, 4037-4044

Chakraborty, R., Stivers, D.N., Su, B., Zhong, Y., Budowle, B. (1999). The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: implications for development of new DNA typing systems. Electrophoresis. 20, 1682-1696

Chandenier, J., Jarry, G., Nassif, D., Douadi, Y., Paris, L., Thulliez, P., Bourges-Petit, E., Raccurt, C. (2000). Congestive heart failure and myocarditis after seroconversion for toxoplasmosis in two immunocompetent patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 19, 375-379

Cneude, F., Deliège, R., Barbier, C., Durand-Joly, I., Bourlet, A., Sonna, M., El Kohen, R., Locquet, A., Vittu, G., Decoster, A. (2003). Toxoplasmose congénitale disséminée responsable d'un choc septique?. Arch. Pediatr. 10, 326-328

Cole, R.A., Lindsay, D.S., Howe, D.K., Roderick, C.L., Dubey, J.P., Thomas, N.J., Baeten, L.A. (2000). Biological and molecular characterizations of *Toxoplasma gondii* strains obtained from southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). J. Parasitol. 86, 526-530

Colombo, F.A., Vidal, J.E., Penalva de Oliveira, A.C., Hernandez, A.V., Bonasser-Filho, F., Nogueira, R.S., Focaccia, R., Pereira-Chioccola, 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

Conrad, P.A., Miller, M.A., Kreuder, C., James, E.R., Mazet, J., Dabritz, H., Jessup, D.A., Gulland, F., Grigg, M.E. (2005). Transmission of *Toxoplasma*: Clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. Int. J. Parasitol. 35, 1155-1168

Cook, A.J., Gilbert, R.E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P.A., Foulon, W., Semprini, A.E., Dunn, D.T. (2000). Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. B.M.J. 321, 142-147

Costa, J.M., Dardé, M.L., Assouline, B., Vidaud, M., 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

Couvreur, J. (1999). Le problème de la toxoplasmose congénitale. L'évolution sur quatre décennies. Presse Med. 28, 753-757

Couvreur, J., Alison, F., Boccon-Gibod, L., Desmonts, G., Tournier, G. (1984). Rein et toxoplasmose. Ann. Pediatr. (Paris). 31, 847-852

Couvreur, J., Tournier, G., Sardet-Frismand, A., Fauroux, B. (1992). Transplantation cardiaque ou cardio-pulmonaire et toxoplasmose. Presse Méd. 21, 1569-1574

Cristina, N., Liaud, M.F., Santoro, F., Oury, B., Ambroise-Thomas, P. (1991). A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii:* cloning, sequence analysis, and use in strain characterization. Exp. Parasitol. 73, 73-81

Cristina, N., Dardé, M.L., Boudin, C., Tavernier, G., Pestre-Alexandre, M., Ambroise-Thomas, P. (1995). A DNA fingerprinting method for individual characterization of *Toxoplasma gondii* strains*:* combination with isoenzymatic characters for determination of linkage groups. Parasitol. Res. 81, 32-37

Dardé, M.L. (1996) Biodiversity in *Toxoplasma gondii*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 219, 27-41

Dardé, M.L., Bouteille, B., 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., 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., 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

da Silva, A.V., Pezerico, S.B., de Lima, V.Y., d'Arc Moretti, L., Pinheiro, J.P., Tanaka, E.M., Ribeiro, M.G., Langoni, H. (2005). Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. Vet. Parasitol. 127, 23-27

de A. dos Santos, C.B., de Carvalho, A.C.F.B., Ragozo, A.M.A., Soares, R.M., Amaku, M., Yai, L.E.O., Dubey, J.P., Gennari, S.M. (2005). First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 131, 207-211

de Salvador-Guillouët, F., Ajzenberg, D., Chaillou-Opitz, S., Saint-Paul, M.C., Dunais, B., Dellamonica, P., Marty, P. (sous presse). Severe pneumonia during primary infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. J. Infection

de Sousa, S.D., Ajzenberg, D., Canada, N., Freire, L., Correia da Costa, J.M., Dardé, M.L., Thulliez, P., Dubey, J.P. **(**2006). Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. Vet. Parasitol. 135, 133-136

Demar, M., Ajzenberg, D., Serrurier, B., Dardé, M.L., Carme, B. Emerging toxoplasmosis of wildlife origin in French Guiana: characterization of a *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*). Soumis dans Emerg. Infect. Dis.

Derouin, F., Devergie, A., Auber, P., Gluckman, E., Beauvais, B., Garin, Y.J.F., Lariviere, M. (1992). Toxoplasmosis in bone marrow-transplant recipients: report of seven cases and review. Clin. Infect. Dis. 15, 267-270

Desmonts, G., Couvreur, J. (1985). Toxoplasmosis. In: Conn R.B. (ed). Current Diagnosis. W.B. Saunders (Philadelphia). 274-287

Diagana, M., Millogo, A., Bouteille, B., Preux, P.M. (2005). Affections neurologiques en milieu tropical. Encycl. Méd. Chir. (Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Neurologie, Volume 2, Issue 3, 17-052-A-10, 232-256

Dollfus, H., Dureau, P., Hennequin, C., Uteza, Y., Bron, A., Dufier, J.L. (1998). Congenital *Toxoplasma* chorioretinitis transmitted by preconceptionally immune women. Br. J. Ophthalmol. 82, 1444-1445

Dubey, J.P., Shen, S.K., Kwok, O.C., Frenkel, J.K. (1999). Infection and immunity with the RH strain of *Toxoplasma gondii* in rats and mice. J. Parasitol. 85, 657-662

Dubey, J.P., Graham, D.H., Blackston, C.R., Lehmann, T., Gennari, S.M., Ragozo, A.M.A., Nishi, S.M., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Hill, D.E., Thulliez, P. (2002). Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus)* from São Paulo, Brazil: unexpected findings. Int. J. Parasitol. 32, 99-105

Dubey, J.P., Graham, D.H., Dahl, E., Hilali, M., El-Ghaysh, A., Sreekumar, C., Kwok, O.C.H., Shen, S.K., Lehmann, T. (2003a). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens and ducks from Egypt. Vet. Parasitol. 114, 89-95

Dubey, J.P., Graham, D.H., Dahl, E., Sreekumar, C., Lehmann, T., Davis, M.F., Morishita, T.Y. (2003b). *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. J. Parasitol. 89, 1060-1062

Dubey, J.P., Graham, D.H., da Silva, D.S., Lehmann, T., Bahia-Oliveira, L.M.G. (2003c). *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype and oocyst shedding by cats. J. Parasitol. 89, 851-853

Dubey, J.P., Navarro, I.T., Graham, D.H., Dahl, E., Freire, R.L., Prudencio, L.B., Sreekumar, C., Vianna, M.C.B., Lehmann, T. (2003d). Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paranà, Brazil. Vet. Parasitol. 117, 229-234

Dubey, J.P., Venturini, M.C., Venturini, L., Piscopo, M., Graham, D.H., Dahl, E., Sreekumar, C., Vianna, M.C.B.,, Lehmann, T. (2003e). Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. J. Parasitol. 89, 1063-1064

Dubey, J.P., Graham, D.H., De Young, R.W., Dahl, E., Eberhard, M.L., Nace, E.K., Won, K., Bishop, H., Punkosdy, G., Sreekumar, C., Vianna, M.C.B., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Sumners, J.A., Demarais, S., Humphreys, J.G., Lehmann, T. (2004a). Molecular and biologic

characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. J. Parasitol. 90, 67-71

Dubey, J.P., Levy, M.Z., Sreekumar, C., Kwok, O.C.H., Shen, S.K., Dahl, E., Thulliez, P., Lehmann, T. (2004b). Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. J. Parasitol. 90, 1015-1018

Dubey, J.P., Morales, E.S., Lehmann, T. (2004c). Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. J. Parasitol. 90, 411-413

Dubey, J.P., Navarro, I.T., Sreekumar, C., Dahl, E., Freire, R.L., Kawabata, H.H., Vianna, M.C.B., Kwok, O.C.H., Shen, S.K., Thulliez, P., Lehmann, T. (2004d). *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paranà, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. J. Parasitol. 90, 721-726

Dubey, J.P., Parnell, P.G., Sreekumar, C., Vianna, M.C.B., De Young, R.W., Dahl, E., Lehmann, T. (2004e). Biological and molecular characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from striped skunks (*Mephitis mephitis*), Canada goose (*Branta canadensis*), black-winged lory (*Eos cyanogenia*), and cats (*Felis catus*). J. Parasitol. 90, 1171-1174

Dubey, J.P., Salant, H., Sreekumar, C., Dahl, E., Vianna, M.C.B., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Spira, D., Hamburger, J., Lehmann, T.V. (2004f). High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. Vet. Parasitol. 121, 317-322

Dubey, J.P., Bhaiyat, M.I., de Allie, C., Macpherson, C.N.L., Sharma, R.N., Sreekumar, C., Vianna, M.C.B., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Miska, K.B., Hill, D.E., Lehmann T. (2005a). Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens in Grenada, West Indies. J. Parasitol. 91, 557-560

Dubey, J.P., Edelhofer, R., Marcet, P.L., Vianna, M.C.B., Kwok, O.C.H., Lehmann, T. (2005b). Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. Vet. Parasitol. 133, 299-306

Dubey, J.P., Gomez-Marin, J.E., Bedoya, A., Lora, F., Vianna, M.C.B., Hill, D., Kwok, O.C.H., Shen, S.K., Marcet, P.L., Lehmann, T. (2005c). Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. Vet. Parasitol. 134, 67-72

Dubey, J.P., Karhemere, S., Dahl, E., Sreekumar, C., Diabaté, A., Dabiré, K.R., Vianna, M.C.B., Kwok, O.C.H., Lehmann, T. (2005d). 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., Lopez, B., Alveraz, M., Mendoza, C., Lehmann, T. (2005e). Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Guatemala. J. Parasitol. 91, 955-957

Dubey, J. P., Vianna, M.C.B., de Sousa, S., Canada, N., Meireles, C.S., Correia da Costa, J.M., Marcet, P. L., Lehmann, T., Dardé, M. L., Thulliez P. (sous presse). Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. J. Parasitol.

Dunn, D., Wallon, M., Peyron, F., Petersen, E., Peckham, C., Gilbert, R. (1999). Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet. 353, 1829-1833

Fazaeli, A., Carter, P.E., Dardé, M.L., Pennington, TH. (2000a). Molecular typing of *Toxoplasma gondii* strains by *GRA6* gene sequence analysis. Int. J. Parasitol. 30, 637-642

Fazaeli, A., Carter, P.E., Pennington, T.H. (2000b). Intergenic spacer (IGS) polymorphism: a new genetic marker for differentiation of *Toxoplasma gondii* strains and *Neospora caninum*. J. Parasitol. 86, 716-723

Ferreira, A.M., Vitor, R.W.A., Carneiro, A.C.A.V., Brandão, G.P., Melo, M.N. (2004). Genetic variability of Brazilian *Toxoplasma gondii* strains detected by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) and simple sequence repeat anchored-PCR (SSR-PCR). Infect. Genet. Evol. 4, 131-142

Ferreira, A.M., Vitor, R.W.A., Gazzinelli, R.T., Melo, M.N. (2006). Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. Infect. Genet. Evol. 6, 22-31

Fortier, B., Aissi, E., Ajana, F., Dieusart, P., Denis, P., Martin de Lassalle, E., Lecomte-Houcke, M., Vinatier, D. (1991). Spontaneous abortion and reinfection by *Toxoplasma gondii*. Lancet. 338, 444

Fuentes, I., Rubio, J.M., Ramirez, C., Alvar, J. (2001). Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. J. Clin. Microbiol. 39, 1566-1570

Fuentes, I., Rodriguez, M., Ladron de Guevara, C., Perez, C., Del Castillo, F., Gutierrez, M.J., Rubio, J.M. (2004). Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain. Abstract 237. MEEGID VII, Valencia, Spain

Gallego, C., Castano, J.C., Giraldo, A., Ajzenberg, D., Dardé, M.L., Gomez, J.E. (2004). Caractérización biológica y molecular del aislado CIBMUQ/HDC, una cepa de referencia colombiana para *Toxoplasma gondii*. Biomédica. 24, 282-290

Gallego, C., Saavedra-Matiz, C., Gómez-Marin, J.E. (sous presse). Direct genotyping of animal and human isolates of *Toxoplasma gondii* from Colombia (South America). Acta. Trop.

Gardener, P.J., Howells, R.E. (1972). Isoenzyme variation in leishmanial parasites. J. Protozool. 19, 47-48

Gavinet, M.F., Robert, F., Firtion, G., Delouvrier, E., Hennequin, C., Maurin, J.R., Tourte-Schaefer, C., Dupouy-Camet, J. (1997). Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. J. Clin. Microbiol. 35, 1276-1277

Gavrilescu, L.C., Denkers, E.Y. (2001). IFN-gamma overproduction and high level apoptosis are associated with high but not low virulence *Toxoplasma gondii* infection. J. Immunol. 167, 902-909

Gay-Andrieu, F., Marty, P., Pialat, J., Sournies, G., Drier de Laforte, T., Peyron, F. (2003). Fetal toxoplasmosis and negative amniocentesis: necessity of an ultrasound follow-up. Prenat. Diagn. 23, 558-560

Ghosn, J., Paris, L., Ajzenberg, D., Carcelain, G., Dardé, M.L., Tubiana, R., Bossi, P., Bricaire, F., Katlama, C. (2003). Atypical toxoplasmic manifestation after discontinuation of maintenance therapy in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient with immune recovery. Clin. Infect. Dis. 37, e112-e114

Gilbert, R.E., Dunn, D.T., Lightman, S., Murray, P.I., Pavesio, C.E., Gormley, P.D., Masters, J., Parker, S.P., Stanford, M.R. (1999). Incidence of symptomatic *Toxoplasma* eye disease: aetiology and public health implications. Epidemiol. Infect. 123, 283-289

Gilbert, R.E., Stanford, M.R. (2000). Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? Br. J. Ophthalmol. 84, 224-226

Grigg, M.E., Bonnefoy, S., Hehl, A.B., Suzuki, Y., Boothroyd, J.C. (2001a). Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. Science. 294, 161-165

Grigg, M.E., Boothroyd, J.C. (2001b). Rapid identification of virulent type I strains of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* by PCR-Restriction fragment length polymorphism analysis at the *B1* gene. J. Clin. Microbiol. 39, 398-400

Grigg, M.E., Ganatra, J., Boothroyd, J.C., Margolis, T.P. (2001c). Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 184, 633-639

Grigg, M.E., Suzuki, Y. (2003). Sexual recombination and clonal evolution of virulence in *Toxoplasma*. Microbes Infect. 5, 685-690

Guo, Z.G., Johnson, A.M. (1995). Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. Parasitology. 111, 127-132

Guo, Z.G., Gross, U., Johnson, A.M. (1997). *Toxoplasma gondii* virulence markers identified by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. Parasitol. Res. 83, 458-463

Hennequin, C., Dureau, P., N'Guyen, L., Thulliez, P., Gagelin, B., Dufier, J.L. (1997). Congenital toxoplasmosis acquired from an immune woman. Pediatr. Infect. Dis. J. 16, 75-77

Høgdall, E., Vuust, J., Lind, P., Petersen, E. (2000). Characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the non-coding *Toxoplasma gondii* (*TGR*)–gene sequences. Int. J. Parasitol. 30, 853-858

Hofman, P., Michiels, J.F., Saint-Paul, M.C., Galibert, A., Marty, P., Durant, J., Fuzibet, J.G., Mouroux, J., Le Fichoux, Y., Loubiere, R. (1993). Toxoplasmose au cours du SIDA. Ann. Pathol. 13, 233-240

Honoré, S., Couvelard, A., Garin, Y.J.F., Bedel, C., Hénin, D., Dardé, M.L., Derouin, F. (2000). Génotypage de souches de *Toxoplasma gondii* chez des patients immunodéprimés. Pathol. Biol. 48, 541-547

Howe, D.K., Sibley, L.D. (1994). *Toxoplasma gondii*: analysis of different laboratory stocks of the RH strain reveals genetic heterogeneity. Exp. Parasitol. 78, 242-245

Howe, D.K., Sibley, L.D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J. Infect. Dis. 172, 1561-1566

Howe, D.K., Summers, B.C., Sibley, L.D. (1996). Acute virulence in mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. Infect. Immun. 64, 5193-5198

Howe, D.K., Honoré, S., Derouin, F., Sibley, L.D. (1997). Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 35, 1411-1414

Institut de Veille Sanitaire. (2001). Surveillance du SIDA en France. BEH N°24/2001

Israelski, D.M., Remington, J.S. (1993). Toxoplasmosis in patients with cancer. Clin. Infect. Dis. 17(Suppl 2), S423-435

Jacquemard, F. (2003). Signes échographiques de la toxoplasmose congénitale. Arch. Pediatr. 10 Suppl 1, 35-38

Jankù, J. (1923) Pathogenesa a pathologickà anatomie tak nazvaného vrozenéko kolobomu zluté skvrny v oku normàlnne velikem a mikrophtalmickém s nàlazem parasitù v sitnici. Casopis Lékaruv Ceskych. 62, 1021-1027. Translated from the Czech

Kaplan, J.C., Delpech, M. (1993). Biologie moléculaire et médecine : de la biologie à la clinique. 2ème éd. Paris : Flammarion Médecine-Science, 1993. 790p

Katlama, C. (1987). Toxoplasmose cérébrale et immunodépression. Le Concours Médical. 109-27, 2468-2742

Khan, A., Su, C., German, M., Storch, G.A., Clifford, D.B., Sibley, L.D. (2005a). Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from immunocompromised patients reveals high prevalence of type I strains. J. Clin. Microbiol. 43, 5881-5887

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., Pfefferkorn, E.R., Dubey, J.P., Ajioka, J.W., Roos, D.S., Wootton, J.C., Sibley, L.D. (2005b). Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. Nucleic Acids Res. 33, 2980-2992

Kong, J.T., Grigg, M.E., Uyetake, L., Parmley, S., Boothroyd, J.C. (2003). Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. J. Infect. Dis. 187, 1484-1495

Krawczak, M. (1999). Informativity assessment for biallelic single nucleotide polymorphisms. Electrophoresis. 20, 1676-1681

Lebas, F., Ducrocq, S., Mucignat, V., Paris, L., Megier, P., Baudon, J.J., Gold, F. (2004). Toxoplasmose congénitale : un nouveau cas d'infection pendant la grossesse chez une femme antérieurement immunisée et immunocompétente. Arch. Pediatr. 11, 926-928

Lehmann, T., Blackston, C.R., Parmley, S.F., Remington, J.S., Dubey, J.P. (2000). Strain typing of *Toxoplasma gondii*: comparison of antigen-coding and housekeeping genes. J. Parasitol. 86, 960-971

Lehmann, T., Graham, D.H., Dahl, E., Sreekumar, C., Launer, F., Corn, J.L., Gamble, H.R., 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.G., Gennari, S.M., 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

Leport, C., Derouin, F., Morlat, P., Chene, G., Vildé, J.L. (1996). Toxoplasmose chez les patients immunodéprimés. Apport à la connaissance de l'infection toxoplasmique. Méd. Mal. Infect. 26, 437-440

Lesur, G., Turner, L., Bougnoux, M.E., Parlier, H., Dupuy, P. (1994). Hépatite aiguë toxoplasmique chez un adulte non immunodéprimé. Gastroenterol. Clin. Biol. 18, 798-799

Lin, A., Shin, E.H., Kim, T.Y., Park, J.H., Guk, S.M., Chai, J.Y. (2005). Genetic characteristics of the Korean isolate KI-1 of *Toxoplasma gondii*. Korean J. Parasitol. 43, 27-32

Literák, I., Rychlík, I., Svobodová, V., Pospíšil, Z. (1998). Restriction fragment length polymorphism and virulence of Czech *Toxoplasma gondii* strains. Int. J. Parasitol. 28, 1367-1374

Lucet, J.C., Bailly, M.P., Bedos, J.P., Wolff, M., Gachot, B., Vachon, F. (1993). Septic shock due to toxoplasmosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. Chest. 104, 1054-1058

Luft, B.J., Remington, J.S. (1992). Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin. Infect. Dis. 15, 211-222

Magid, S.K., Kagen, L.J. (1983). Serologic evidence for acute toxoplasmosis in polymyositis-dermatomyositis. Increased frequency of specific anti-toxoplasma IgM antibodies. Am. J. Med. 75, 313-320

Mallon, M., MacLeod, A., Wastling, J., Smith, H., Reilly, B., Tait, A. (2003). Population structures and the role of genetic exchange in the zoonotic pathogen *Cryptosporidium parvum*. J. Mol. Evol. 56, 407-417

Meisel, R., Stachelhaus, S., Mévélec, M.N., Reichmann, G., Dubremetz, J.F., Fischer, H.G. (1996). Identification of two alleles in the *GRA4* locus of *Toxoplasma gondii* determining a differential epitope which allows discrimination of type I versus type II and III strains. Mol. Biochem. Parasitol. 81, 259-263

Messina, M., Kim, S., Sibley, L.D. (1996). A family of dispersed DNA elements that contain GAA repeats in *Toxoplasma gondii.* Mol. Biochem. Parasitol. 81, 247-252

Miles, M.A., Lanham, S.M., de Souza, A.A., Povoa, M. (1980). Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 74, 221-237

Miller, M.A., Grigg, M.E., Kreuder, C., James, E.R., Melli, A.C., Crosbie, P.R., Jessup, D.A., Boothroyd, J.C., Brownstein, D., Conrad, P.A. (2004). An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. Int. J. Parasitol. 34, 275-284

Mondragon, R., Howe, D.K., Dubey, J.P., Sibley, L.D. (1998) Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. J. Parasitol. 84, 639-641

Montoya, A., Miro, G., Jimenez, S., Mateo, M., Frisuelos, C., Ramirez, C., Fuentes, I. (2004). Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from stray, farm and household cats in Spain. Abstract 239. MEEGID VII, Valencia, Spain

Mordue, D.G., Monroy, F., La Regina, M., Dinarello, C.A., Sibley, L.D. (2001). Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. J. Immunol. 167, 4574-4584

Nicolle, C., Manceaux, L. (1908). Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C. R. Acad. Sci. 146, 207-209

Oliveira, R.P., Broude, N.E., Macedo, A.M., Cantor, C.R., Smith, C.L., Pena, S.D.J. (1998). Probing the genetic population structure of *Trypanosoma cruzi* with polymorphic microsatellites. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 3776-3780

Owen, M.R., Trees, A.J. (1999). Genotyping of *Toxoplasma gondii* associated with abortion in sheep. J. Parasitol. 85, 382-384

Parmley, S.F., Gross, U., Sucharczuk, A., Windeck, T., Sgarlato, G.D., Remington, J.S. (1994). Two alleles of the gene encoding surface antigen P22 in 25 strains of *Toxoplasma gondii.* J. Parasitol. 80, 293-301

Pena, H.F., Soares, R.M., Amaku, M., Dubey, J.P., Gennari, S.M. (sous presse). *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: Seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. Res. Vet. Sci.

Peyron, F., Wallon, M., Bernardoux, C. (1996). Long-term follow-up of patients with congenital ocular toxoplasmosis. N. Engl. J. Med. 334, 993-994

Pomeroy, C., Filice, G.A. (1992). Pulmonary toxoplasmosis: a review. Clin. Infect. Dis. 14, 863-870

Rabaud, C., May, T., Amiel, C., Katlama, C., Leport, C., Ambroise-Thomas, P., Canton, P. (1994). Extracerebral toxoplasmosis in patients infected with HIV. A French National Survey. Medicine (Baltimore). 73, 306-314

Rinder, H., Thomschke, A., Dardé, M.L., Löscher, T. (1995). Specific DNA polymorphisms discriminate between virulence and non-virulence to mice in nine *Toxoplasma gondii* strains. Mol. Biochem. Parasitol. 69, 123-126

Saeij, J.P.J., Boyle, J.P., Boothroyd, J.C. (2005a). Differences among the three major strains of *Toxoplasma gondii* and their specific interactions with the infected host. Trends Parasitol. 21, 476-481

Saeij, J.P.J., Boyle, J.P., Grigg, M.E., Arrizabalaga, G., Boothroyd J.C. (2005b). Bioluminescence imaging of *Toxoplasma gondii* infection in living mice reveals dramatic differences between strains. Infect. Immun. 73, 695-702

Saksouk, N., Bhatti, M.M., Kieffer, S., Smith, A.T., Musset, K., Garin, J., Sullivan, W.J. Jr., Cesbron-Delauw, M.F., Hakimi, M.A. (2005). Histone-modifying complexes regulate gene expression pertinent to the differentiation of the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. Mol. Cell. Biol. 25, 10301-10314

Sargeaunt, P.G., Williams, J.E. (1979). Electrophoretic isoenzyme patterns of the pathogenic and non-pathogenic intestinal amoebae of man. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 73, 225-227

Sauer, S., Lechner, D., Berlin, K., Lehrach, H., Escary, J.L., Fox, N., Gut, I.G. (2000). A novel procedure for efficient genotyping of single nucleotide polymorphisms. Nucleic. Acids. Res. 28, e13

Schwenkenbecher, J.M., Wirth, T., Schnur, L.F., Jaffe, C.L., Schallig, H., Al-Jawabreh, A., Hamarsheh, O., Azmi, K., Pratlong, F., Schonian, G. (sous presse). Microsatellite analysis reveals genetic structure of Leishmania tropica. Int. J. Parasitol.

Sibley, L.D., Boothroyd, J.C. (1992). Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. Nature. 359, 82-85

Sibley, L.D., Howe, D.K. (1996). Genetic basis of pathogenicity in toxoplasmosis. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 219, 3-15

Sibley, L.D., LeBlanc, A.J., Pfefferkorn, E.R., Boothroyd, J.C. (1992). Generation of a restriction fragment length polymorphism linkage map for *Toxoplasma gondii*. Genetics. 132, 1003-1015

Splendore, A. (1908). Un nuovo protozoa parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattiache ricorda in moltopunti il kalaazar dell'uomo. Revista da sociedade de ciencias, São Paulo. 3, 109-112. Translated from the Italian

Sreekumar, C., Graham, D.H., Dahl, E., Lehmann, T., Raman, M., Bhalerao, D.P., Vianna, M.C.B., Dubey, J.P. (2003). Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. Vet. Parasitol. 118, 187-194

Su, C., Howe, D.K., Dubey, J.P., Ajioka, J.W., Sibley, L.D. (2002). Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 10753-10758

Su, C., Evans, D., Cole, R.H., Kissinger, J.C., Ajioka, J.W., Sibley, L.D. (2003). Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. Science. 299, 414-416

Suzuki, Y., Conley, F.K., Remington, J.S. (1989). Differences in virulence and development of encephalitis during chronic infection vary with the strain of *Toxoplasma gondii*. J. Infect. Dis. 159, 790-794

Suzuki, Y., Wong, S.Y., Grumet, F.C., Fessel, J., Montoya, J.G., Zolopa, A.R., Portmore, A., Schumacher-Perdreau, F., Schrappe, M., Koppen, S., Ruf, B., Brown, B.W., Remington, J.S. (1996). Evidence for genetic regulation of susceptibility to toxoplasmic encephalitis in AIDS patients. J. Infect. Dis. 173, 265-268

Terry, R.S., Smith, J.E., Duncanson, P., Hide, G. (2001). MGE-PCR: a novel approach to the analysis of *Toxoplasma gondii* strain differentiation using mobile genetic elements. Int. J. Parasitol. 31, 155-161

Tibayrenc, M., Kjellberg, F., Ayala, F.J. (1990). A clonal theory of parasitic protozoa: the population structures of *Entamoeba, Giardia, Leishmania, Naegleria, Plasmodium, Trichomonas,* and *Trypanosoma* and their medical and taxonomical consequences. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 87, 2414-2418. Erratum in: Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 87, 8185

Tibayrenc, M., Kjellberg, F., Arnaud, J., Oury, B., Brenière, S.F., Dardé, M.L., Ayala, F.J. (1991). Are eukaryotic microorganisms clonal or sexual? A population genetics vantage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88, 5129-5133

Tinti, M., Possenti, A., Cherchi, S., Barca, S., Spano, F. (2003). Analysis of the *SAG5* locus reveals a distinct genomic organisation in virulent and avirulent strains of *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 33, 1605-1616

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. Am. J. Ophtalmol. 139, 350-351

Vastava, P.B., Pradhan, S., Jha, S., Prasad, K.N., Kumar, S., Gupta, R.K. (2002). MRI features of *Toxoplasma* encephalitis in the immunocompetent host: a report of two cases. Neuroradiology. 44, 834-838

Villena, I., Marle, M., Dardé, M.L., Pinon, J.M., Aubert, D. (2004). *Toxoplasma* strain type and human disease: risk of bias during parasite isolation? Trends Parasitol. 20, 160-162

Wallon, M., Kodjikian, L., Binquet, C., Garweg, J., Fleury, J., Quantin, C.and Peyron, F. (2004). Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. Pediatrics. 113, 1567-1572

Weber, J.L. (1990). Informativeness of human $(dC\text{-}dA)_n.(dG\text{-}dT)_n$ polymorphisms. Genomics. 7, 524-530

Windeck, T., Gross, U. (1996). *Toxoplasma gondii* strain-specific transcript levels of *SAG1* and their association with virulence. Parasitol. Res. 82, 715-719

Wolf, A., Cowen, D., Paige, B. (1939). Human toxoplasmosis: occurrence in infants as an encephalomyelitis verification by transmission to animals. Science. 89, 226

Zenner, L., Foulet, A., Caudrelier, Y., Darcy, F., Gosselin, B., Capron, A., Cesbron-Delauw, M.F. (1999). Infection with *Toxoplasma gondii* RH and Prugniaud strains in mice, rats and nude rats: kinetics of infection in blood and tissues related to pathology in acute and chronic infection. Pathol. Res. Pract. 195, 475-485

# Publications en rapport avec le sujet de thèse

**CHAPITRE DE LIVRE**

DARDÉ M.L., AJZENBERG D., SMITH J. Population structure and Epidemiology. In *Toxoplasma Gondii* - The Model Apicomplexan Perspectives and Methods. Edited by Louis Weiss & Kami Kim. Academic Press, London (an imprint of Elsevier Ltd.). Sous presse.

**PUBLICATIONS INTERNATIONALES**

AJZENBERG D., BAŇULS A.L., TIBAYRENC M., DARDÉ M.L. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. *Int. J. Parasitol*. 2002a; 32:27-38. I.F. (2004) : 3,092.

AJZENBERG D., COGNE N., PARIS L., BESSIERES M.H., THULLIEZ P., FILISETTI D., PELLOUX H., MARTY P., DARDÉ M.L. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.* 2002b; 186:684-689. I.F. (2004) : 4,943.

CARME B., BISSUEL F., AJZENBERG D., BOUYNE R., AZNAR C., DEMAR M., BICHAT S., LOUVEL D., BOURBIGOT A.M., PENEAU C., NERON P., DARDÉ M.L. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J. Clin. Microbiol*. 2002; 40:4037-4044. I.F. (2004) : 3,439.

GHOSN J., PARIS L., AJZENBERG D., CARCELAIN G., DARDÉ M.L., TUBIANA R., BOSSI P., BRICAIRE F., KATLAMA C. Atypical toxoplasmic manifestation after discontinuation of maintenance therapy in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient with immune recovery. *Clin Infect Dis*. 2003; 37:e112-114. I.F. (2004) : 5,594.

AJZENBERG D., BAŇULS A.L., SU C., DUMÈTRE A., DEMAR M., CARME B., DARDÉ M.L. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol*. 2004; 34:1185-1196. I.F. (2004) : 3,092.

AJZENBERG D., DUMÈTRE A., DARDÉ M.L. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43:1940-1943. I.F. (2004) : 3,439.

DE SOUSA S., AJZENBERG D., CANADA N., FREIRE L., CORREIA da COSTA J. M., DARDÉ M.L., THULLIEZ P., DUBEY J. P. Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. *Vet. Parasitol.* 2006; 135:133-136. I.F. (2004) : 1,445.

DE SALVADOR-GUILLOUËT F., AJZENBERG D., CHAILLOU-OPITZ S., SAINT-PAUL M.C., DUNAIS B., DELLAMONICA P., MARTY P. Severe pneumonia during primary infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. *J. infection.* Sous presse. I.F. (2004) : 1,502.

DEMAR M., AJZENBERG D., SERRURIER B., DARDÉ M.L., CARME B. Emerging toxoplasmosis from wildlife origin in French Guiana: characterization of a *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*). Soumis dans *Emerg. Infect. Dis.*

**PUBLICATIONS NATIONALES**

GALLEGO C., CASTANO J.C., GIRALDO A., AJZENBERG D., DARDÉ M.L., GOMEZ J.E.. Caracterización biológica y molecular del aislado CIBMUQ/HDC, una cepa de referencia colombiana para *Toxoplasma gondii*. *Biomédica*. 2004; 24:282-290. Article en espagnol.

**COMMUNICATIONS ORALES INTERNATIONALES**

AJZENBERG D., DARDÉ M.L. Microsatellite markers as a new tool to study mixed infection and reinfection with different strains of *Toxoplasma gondii*. *VI International Congress on Toxoplasmosis*, Freising, Germany, May 21-25, 2001.

AJZENBERG D., BAŇULS A.L., DUMÈTRE A., VILLENA I., DARDÉ M.L., and BRC TOXOBS GROUP. Biodiversity, genetic population and phylogeny of *Toxoplasma gondii*. *Cost Action 857*, Lisboa, Portugal, May, 2004.

AJZENBERG D., BAŇULS A.L., VILLENA I., DARDÉ M.L., and BRC TOXOBS GROUP. Genetics in unusual *Toxoplasma gondii* strains. *VII International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases*, Valencia, Spain, July 19-22, 2004.

VILLENA I., PELLOUX H., BESSIERES M.H., AJZENBERG D., AUBERT D., FRICKER-HIDALGO H., CASSAING S., DARDÉ M.L. Interest of *Toxoplasma* biological resource centre in collection and characterization of strains from congenital toxoplasmosis. *IX European Multicolloquium of Parasitology*, Valencia, Spain, July 19-22, 2004.

AJZENBERG D., Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma* reconsidered by microsatellite analysis of unusual isolates. *Cost Action 857* – Working Group 5 Biodiversity and population genetics of the Apicomplexa – Roma, Italy, November 8-9, 2004.

AJZENBERG D., DEMAR M., BAŇULS A.L, PENEAU C., DUMÈTRE A., PUNWASI W., CARME B., DARDÉ M.L. Outbreak of severe toxoplasmosis with strain characterization in Surinam. *Eight International Congress on Toxoplasmosis*, Porticcio, Corsica, France, May 27-31, 2005.

**COMMUNICATIONS ORALES NATIONALES**

AJZENBERG D., DARDÉ M.L. Apport des microsatellites à l'épidémiologie de *Toxoplasma gondii*. *Congrès de la Société Française de Parasitologie*, Montpellier, 2-3 Mars 2000.

AJZENBERG D., DARDÉ M.L. Apport des microsatellites au typage des isolats de *Toxoplasma gondii*. *Club Toxo*, Paris, 14 mars 2002.

AJZENBERG D., BANULS A.L., SU C., DUMÈTRE A., DEMAR M., CARME B., BRC TOXO BS, DARDÉ M.L. Clonalité et sexualité : 2 aspects de *Toxoplasma gondii* démontrés par analyse moléculaire et phylogénétique de souches typiques et atypiques. *Club Toxo*, Paris, 26 mai 2004.

DE SOUSA, S., AJZENBERG D., VIANNA M.C.B., CANADA N., FREIRE L., MEIRELES S., CORREIA DA COSTA J.M., MARCET P.L., LEHMANN T., DARDÉ M.L., THULLIEZ P., DUBEY J.P. Caracterizaçao genética dos isolados de *Toxoplasma gondii* em Portugal. IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Université de Coimbra, Portugal, 25-28 octobre 2005.

DARDÉ M.L., AJZENBERG D. Biodiversity of *Toxoplasma gondii* and human toxoplasmosis. 5e seminario del instituto de higiene : « toxoplasmosis congénita en el contexto regional », Instituto de higiene, Montevideo, Uruguay, 18 novembre 2005.

## COMMUNICATIONS AFFICHÉES INTERNATIONALES

AJZENBERG D., DARDE M.L. Microsatellites and polymorphism in a *Toxoplasma* population. *Fifth International Toxoplasma Conference*, Marshall, California, May 1-6, 1999.

AJZENBERG D., BANULS A.L.; TIBAYRENC M., DARDE M.L. High polymorphism and clonal structure in two main phylogenetic subdivisions of *Toxoplasma gondii* using microsatellite markers. *Sixth International Congress on Toxoplasmosis*, Freising, Allemagne, May 21-25, 2001.

AJZENBERG D., BAŇULS A.L.; TIBAYRENC M., DARDE M.L. Microsatellite and multilocus sequence typing of *Toxoplasma gondii* atypical strains. *Seventh International Congress on Toxoplasmosis*, Tarrytown, New-York, May 23-27, 2003.

AJZENBERG D., THULLIEZ P., DUMÈTRE A., ROMAND S., SALLET N., ELBEZ A., DARDÉ M.L., and CRB ToxoBS. Disseminated congenital toxoplasmosis transmitted by pre-conceptionally immune woman: strain characterization and experimental reinfection. *Eight International Congress on Toxoplasmosis*, Porticcio, Corsica, France, May 27-31, 2005.

CARME B., DEMAR M., AJZENBERG D., de THOISY B., AZNAR C., DJOSSOU F., DARDÉ M.L. Severe aspects of toxoplasmic primary infection in French Guiana: are they Guianese or neotropical forest or more largely (or overall) tropical specificities ? *Medicine and Health in the Tropics*, Marseille, France, September 11-15, 2005.

DEMAR M., AJZENBERG D., SERRURIER B., DARDÉ M.L., CARME B. Isolation and characterization of a *Toxoplasma gondii* strain obtained from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. *Medicine and Health in the Tropics*, Marseille, France, September 11-15, 2005.

## COMMUNICATIONS AFFICHÉES NATIONALES

DARDE M.L., BART-DELABESSE E., AJZENBERG D., TURLURE P., BORDESSOULE D., BOUTEILLE B., BRETAGNE S. Typage par microsatellites d'isolats d'*Aspergillus fumigatus* recueillis au CHU de Limoges. *Congrès de la Société Française de Mycologie Médicale*, Paris, 26-27 Novembre 1999.

PUIME A., LIPORACE V., PERERA P., AJZENBERG D., DARDE M.L., GEZUELE E. Prevalencia de infección toxoplásmica en palomas urbanas y suburbanas de Montevideo, Uruguay. *Actas de la VIII Jornadas de zoología del Uruguay*. Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay, 24 au 28 Octobre 2005.

# Annexes

**Annexe 1.** Génotypes avec les marqueurs microsatellites *TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18* et *B17* des isolats de *Toxoplasma gondii* collectés dans 510 cas de toxoplasmose humaine et animale.

Note. G : longueur en paire de bases après analyse GeneScan du polymorphisme de longueur du produit de PCR contenant le marqueur microsatellite ; A : allèle correspondant ; NA : non amplifié par PCR ; les allèles atypiques (*i.e.* différents des allèles archétypaux I, II ou III) sont sur fond noir.

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines chez des enfants nés vivants avec formes infra-cliniques** | | | | | | | | | | | |
| RMS-1992-CUI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2004-GER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-2004-LOR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2003-AKT | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-DYA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1996-PER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-ELA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1997-DAP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1999-MIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-2002-COU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2003-RAI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2003-TOU | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PSP-2001-DEM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-GUI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2004-FAC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1997-FAB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2001-MAJ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2002-COQ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1996-POL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-ESS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-SOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| REN-2002-VAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-CAI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2004-VIV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-LAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-FRI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| IPP-2002-BAT | III / I* | 291 | 1 | 242 | 3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 334 | 2.3 |
| TOU-1996-RIP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPB-2004-HAD | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-OUL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1999-OUR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2000-BRA | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2001-MER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2005-COL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-CON | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-2002-TON | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-GAT | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| REN-2003-FOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CRL-2004-OZE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1998-ROB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2002-DEV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-MAR | II | | | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-DEM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-JOS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2004-COU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-LEG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2003-LER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1997-BER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2005-GOK | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1987-MER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-DAF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-BOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2002-ALI | II / III* | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| RMS-2000-SIE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-CEL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-KAH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2004-CAI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-MAZ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-LAT | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IPP-2003-GAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| REN-2003-CAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP15-2005-HAC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1993-COU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-BOR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-BES | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1997-TRA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-AUB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-DES | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2003-DUP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPB-2003-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPB-2004-GUR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2002-SEV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-FEU | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-MAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1997-BOR | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-BOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1998-DAY | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-PER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2003-BAS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| MAR-2003-ZAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-VIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-AUG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-LIM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1998-POR | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| RMS-1997-PAR | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-PEY | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2001-FEN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-RIS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-LEC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2004-VIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2003-NUN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2005-LEF | II / III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2003-MIC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-SMA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2003-GEL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1999-DEF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-VIL1 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-PET | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1998-TRA | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-GOM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2003-KLO | II | | | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2004-FAD | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2001-GEA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2002-LEF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2004-ESQ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-DUT | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-SCH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-2004-BAK | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2005-COT | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | |
| DIJ-2003-VIE | II* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 160 | 4 | 334 | 2.3 |
| RMS-2001-PAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2003-BAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-CAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-NAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-DET | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-MON | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-BAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-GRA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1997-CAP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-MOH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-DEL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2002-FLO | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| RMS-2000-DAF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-1996-LOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-DEQ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-SEU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-ACH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2003-FAV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2003-SAN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1999-BAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-LAF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-BAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| IPP-2003-DAN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| RMS-1998-GER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-RUN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-ROU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2002-BRI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-HAB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2004-SEJ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1995-PAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-MAN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines chez des enfants nés vivants avec séquelles neuro-oculaires** | | | | | | | | | | | |
| TRS-2004-REV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2001-LEB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-TRA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2004-GUE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-CHA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2004-RAC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2004-BOR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-1998-TRI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-1997-KHE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1992-BAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-HEB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1996-SEY | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1995-ABE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-2004-ARN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| *LPN-2002-GIO* | *II* + I* ?* | *289* | *2.3* | *242 + 248* | *2.3 + 1.6* | *202* | *2* | *158+160* | *1.3+4* | *334* | *2.3* |
| MAR-2004-GAN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2004-ALB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2003-POU | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1997-GEN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2002-KOC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1994-LEF | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 360 | 10 |
| CAE-2005-HER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1998-BOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2001-MAU | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 206 | 5 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-RIV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2005-BAZ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-DRE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines chez des enfants nés vivants avec formes disséminées** | | | | | | | | | | | |
| CIBMUQ-2002-HDC | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| LIL-2003-MON | I | | | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | | |
| GUY-2004-TER | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| IPP-2002-URB | Atypique | 287 | 4 | 242 | 2 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 352 | 7 |
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines associés à une interruptions médicales de grossesse (IMG)** | | | | | | | | | | | |
| RMS-2001-GRA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1994-COE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1995-MAE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPB-2003-SER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-1997-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-COR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2005-FEN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BRX-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2002-BAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2003-FLE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-LOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MTP-2003-PAS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-LAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| CRL-1996-CAL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-NOI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-2004-HER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1996-STR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-GIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2004-VIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPB-2002-IND | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LGE-2002-FAY | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| IPP-2003-IMA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BDX-2003-COR | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2003-PEL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CAE-2003-LAM | II | | | | | 202 | 2 | 156 | 2 | | |
| RMS-2001-CHU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BDX-2003-MAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2002-BAW | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LPN-2005-NOV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines avec morts fœtales *in utero* et avortements spontanés** | | | | | | | | | | | |
| IPP-2002-BER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PTR-2003-ROB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TOU-2004-MES | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CCH-2003-SAH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2001-MAG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2002-VOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2005-BIA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2000-HOU | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| MTP-2005-BAD | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| GUY-2004-ANG1 | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| MAR-2003-GAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats collectés de placentas sans toxoplasmose congénitale humaine** | | | | | | | | | | | |
| RMS-2002-GIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2002-ROU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses congénitales humaines sans renseignements** | | | | | | | | | | | |
| NAN-2003-BET | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2003-DUV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2004-NOB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1997-LOP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-2000-WAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MTP-2003-ELM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2002-PER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-2003-PAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-LEN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-CAR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-DUP | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 154 | 2? | 334 | 2.3 |
| MAR-2004-THO | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-KOI | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-VAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-CHS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-VAD | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2005-CHA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAR-2003-LEH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2005-DEL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-HEU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-REH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-1993-MOR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CCH-2005-MIC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-ORI | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2000-THE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NCY-2003-AIN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| REN-2005-LEG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| TRS-2003-GAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2004-SHA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RMS-1999-LIN | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IPB-2003-COG | II / III | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 200 | 3 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-KIF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1996-GAZ | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-LEF | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2004-SIG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2005-MIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-1997-DES | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IPP-2003-RUO | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| DIJ-2005-DUC | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2003-CAG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GRE-2000-CHA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NAN-2002-FER | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| AGTsc94 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| EMAsc99 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| MESla94 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| MLSpl00 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| ALMpl00 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| MMSpl00 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| IHLpl00 | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| AGPla99 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| AROpl03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CJGsc03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| HMSsc03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IACpl00 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MCCpl01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MDMpl03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| P15 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| RSCsc01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| SGSla99 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| SMSpl00 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| AMBpl00 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses humaines chez des immunodéprimés VIH-** | | | | | | | | | | | |
| CCH-2005-REN | I / III* | 291 | 1 | 242 | 3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| DPHT | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| IPP-2003-KAN | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| LIL-2003-BRI | II / I* ou II / III* | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 206 | 5 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| FOU | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| LIL-2003-LAM | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LPN-2002-SEE | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| COR (FUR) | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | | | | |
| DAM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2001-5 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| LPN-2003-TRE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BIL | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| TRS-2003-DUB | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PSP-2004-CON | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BRE1997 (PERR) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| LGE-2003-JAU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| BU/GER/2001 | II | 289 | 2.3 | | | 202 | 2 | | | | |
| **Isolats de toxoplasmoses humaines chez des immunodéprimés VIH+** | | | | | | | | | | | |
| PSP-2003-ERO | I / III* | 291 | 1 | 242 | 3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| RMS-2003-DJO | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| PSP-2003-KOM | I / III* | 291 | 1 | 248 | 6 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CRL-2004-MOT | III / I | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LPN-2004-ROU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CCH-2004-NIA | III / I | 289 | 2.3 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PSP-2004-SAM | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PSP-2005-MUP | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LPN-2005-LUM | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LGE-2003-BOU | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| LEG-NJA | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| BOU | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| LGE-2001-6 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| LGE-1998-1 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CRL-2005-YOU | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| SUR | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MAN-NJA | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| NTE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| WH | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| HG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| ELG | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| HIV | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| ATIH | I | 291 | 1 | 248 | 1 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| **Isolats de toxoplasmoses acquises humaines chez des immunocompétents** | | | | | | | | | | | |
| MARTIN | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| JONES | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CHILE | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| MILIS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DEGROS | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| DUCH | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| WIK | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| PSP-2005-JAN | I / III | NA | NA | 248 | 1.6 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | NA | NA |
| LPN-2003-FOU | Atypique | 287 | 4 | 242 | 2 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 352 | 7 |
| GUY-2004-ANG | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| GUY-2004-ABE | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| GUY-2004-TER | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| GUY-2004-TER1 | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 9 | 198 | 4 | 156 | 2 | 336 | 4 |
| GUY-2003-BAS1 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 198 | 4 | 158 | 5 | 342 | 5 |
| GUY-2003-BAS | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 198 | 4 | 158 | 5 | 342 | 5 |
| GUY-2004-ITI | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 332 | 18 |
| VAND | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2 | 198 | 4 | 160 | 4 | 342 | 5 |
| RUB | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 168 | 7 | 358 | 9 |
| GUY-2002-MAT | Atypique | 291 | 1 | 242 | 7 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 337 | 11 |
| GUY-2003-MEL | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 198 | 4 | 156 | 2 | 342 | 5 |
| GUY-2001-DOS | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 4 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 342 | 5 |
| GUY-2002-KOE | Atypique | 289 | 2.3 | 246 | 4 | 198 | 4 | 158 | 5 | 335 | 4 |
| GUY-2003-ADA | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 200 | 3 | 164 | 6 | 336 | 4 |
| GUY-2004-AKO | Atypique | 291 | 1 | 242 | 10 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| GUY-2004-LAB | Atypique | 291 | 1 | 242 | 8 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 340 | 17 |
| **Isolats de toxoplasmoses animales en France** | | | | | | | | | | | |
| CH1 | II / III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| CH2 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| FR1-2003-Cap cap-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Cap cap-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Cap cap-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Cap cap-05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Cap cap-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Cap cap-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2003-Str alu-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| 76K | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2004-OVI-ARI-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2004-OVI-ARI-02 | II | 289 | 2.3 | | | | | 156 | 2 | | |
| FR2-2005-OVI-ARI-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-OVI-ARI-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-OVI-ARI-03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-OVI-ARI-04 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-OVI-ARI-05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| S1 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| S1K | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| S2 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| S3 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| S3K | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| FR2-2005-GAL DOM 01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-GAL DOM 02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-GAL DOM 03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-GAL DOM 04 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-GAL DOM 05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FR1-2004-Myo coy-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-07 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-15 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-16 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-17 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-18 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Myo coy-20 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Myo coy-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Myo coy-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2004-Myo coy-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR2-2005-Myo coy-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Ond zib-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Ond zib-03 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Ond zib-04 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Vul vul-0? | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Vul vul-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2005-Vul vul-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2001-Sus scr-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2001-Sus scr-02 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2001-Sus scr-04 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2001-Sus scr-12 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2001-Sus scr-14 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2002-Sus scr-01 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2003-Sus scr-05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2003-Sus scr-05 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Sus scr-10 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Sus scr-11 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| FR1-2004-Sus scr-13 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses animales en Europe (hors France)** | | | | | | | | | | | |
| PT-2005-GAL DOM 01 (GA 147) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-GAL DOM 02 GA163) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-GAL DOM 03 (GA 164) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-GAL DOM 04 (GA 167) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 01 (PV 44) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 04 (PV 214) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 06 (PV 227) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 07 (PV 231) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 08 (PV 272) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 09 (PV266) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 10 (PV 232) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 12 (PV282) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 13 (PV274) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 15 (PV 302) | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 11 (PV 238) | II* | 289 | 2.3 | 244 | 5 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 02 (PV116) | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 05 (PV 220) | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 14 (PV 311) | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PT-2005-SUS SCR 16 (PV 316) | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| B1 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| BEV | II | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| M3 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| SQM | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| ISSR-2005-ORY CUN | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses animales en Iran** | | | | | | | | | | | |
| Cat 152 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| Cat 155 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| Sheep 120 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| Chicken 103 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Chicken 140 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Chicken 141 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Chicken 157 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Chicken 162 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chicken 164 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Duck 38 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Sheep 114 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| Sheep 68 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Sheep 81 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses animales aux USA** | | | | | | | | | | | |
| CT1 | I | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| WTD1 | II / I | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| CEP | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| T61 | II / I* ou II / III* | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 206 | 5 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| ME49 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| M7741 | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| B73 | II / I ou II / III | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| B41 | II* | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 202 | 2 | 160 | 4 | 334 | 2.3 |
| P89 | III / I* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 346 | 6 |
| P80 | III / I / II* | 291 | 1 | 242 | 3 | 200 | 3 | 156 | 2 | 346 | 6 |
| P1-2000-PT12 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| P1-2001-PT12 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| P93-PT12 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| C56 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| **Isolats de toxoplasmoses animales en Amérique latine** | | | | | | | | | | | |
| CK358 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 346 | 6 |
| CK196 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 198 | 4 | 154 | 8 | 340 | 1 |
| CK215 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 198 | 4 | 154 | 8 | 340 | 1 |
| CK194 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 338 | 12 |
| CK211 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 338 | 12 |
| CK207 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 346 | 6 |
| CK212 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 344 | 13 |
| CK214 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 346 | 6 |
| CK305 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 360 | 10 |
| CK309 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 354 | 14 |
| CK313 | Atypique | 291 | 1 | 248 | 1 | 202 | 2 | 160 | 4 | 364 | 16 |
| CK314 | Atypique | 291 | 1 | 248 | 1 | 202 | 2 | 160 | 4 | 362 | 15 |
| CK315 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 358 | 9 |
| CK332 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 360 | 10 |
| CK335 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 358 | 9 |
| CK337 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 354 | 14 |
| CK351 | Atypique | 291 | 1 | 246 | 4 | 202 | 2 | 160 | 4 | 358 | 9 |
| CK364 | Atypique | 291 | 1 | 248 | 1 | 202 | 2 | 160 | 4 | 362 | 15 |
| CK342 | Atypique | 291 | 1 | 248 | 1 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK323 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 162 | 9 | 340 | 1 |
| CK328 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 364 | 16 |
| CK341 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 364 | 16 |
| CK199 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 162 | 9 | 336 | 4 |
| CK200 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 162 | 9 | 336 | 4 |
| CK201 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 162 | 9 | 336 | 4 |
| CK204 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 336 | 4 |
| CK218 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 336 | 4 |
| CK216 | Atypique | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 338 | 12 |
| CK197 | Atypique | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 360 | 10 |
| CK307 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK312 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK316 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK340 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK343 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK347 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK198 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK202 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK353 | I / III* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| CK319 | I / II* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| CK203 | I / II* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| CK300 | II / I* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| CK195 | II / I* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |

| Isolat | Type | *TUB2* G | *TUB2* A | *W35* G | *W35* A | *TgM-A* G | *TgM-A* A | *B18* G | *B18* A | *B17* G | *B17* A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CK213 | II / I* | 291 | 1 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| CK206 | II / I | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK345 | III / I | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK357 | III / I | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 340 | 1 |
| CK208 | III / I* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 160 | 4 | 340 | 1 |
| CK304 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| CK344 | III | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| CK205 | III* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| CK209 | III* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| CK210 | III* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| CK217 | III* | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 336 | 4 |
| CO-2005-GAL-DOM-177 | I / III | 291 | 1 | 248 | 1.6 | 204 | 1 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| Tg-CK-AR23 | Atypique | 287 | 4 | 242 | 2 | 202 | 2 | 156 | 2 | 352 | 7 |
| OPA | III | 289 | 2.3 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| PIG 3 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | | | | |
| ENVL-2002-MAC | III / I | 291 | 1 | 242 | 3 | 200 | 3 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| IH-2004-PGE89 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IH-2005-PGE 101 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| IH-2005-PGE 102 | II | 289 | 2.3 | 242 | 2.3 | 202 | 2 | 156 | 2 | 334 | 2.3 |
| GUY-2004-JAG1 | Atypique | 289 | 2.3 | 242 | 2 | 198 | 4 | 158 | 1.3 | 334 | 2.3 |
| CASTELLS | Atypique | 287 | 4 | 242 | 2 | 202 | 2 | 156 | 2 | 356 | 8 |

**Annexe 2.** Séquences de marqueurs microsatellites *TUB2*, *W35*, *TgM-A*, *B18* et *B17* pour 74 isolats de *Toxoplasma gondii*.

| Isolat | Type | *TUB2(CA)n* | *W35 (TC)n(TG)n* | *TgM-A(TG)n* | *B18 (CA)n* | *B17 (TC)n* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| REN-2002-VAL | II | 7 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 9 | (TC)7 |
| IPP-2002-BAT | III / I* | 8 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 11 | (TC)7 |
| TOU-2002-ALI | II / III* | 7 | (TC)7 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)8 |
| CAE-2005-LEF | II / III | | (TC)6 (TG)3 | | | |
| RMS-1994-LEF | Atypique | 8 | (TC)7 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)20 |
| RMS-2001-MAU | Atypique | 7 | (TC)7 (TG)2 | 10 | 10 | (TC)7 |
| IPP-2002-URB | Atypique | 6 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 10 | (TC)16 |
| MAR-2000-HOU | Atypique | 7 | (TC)7 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)10 |
| GUY-2004-ANG1 | Atypique | 7 | (TC)9 (TG)2 | 6 | 9 | (TC)8 |
| IPB-2003-COG | II / III | 7 | (TC)7 (TG)2 | 7 | 9 | (TC)7 |
| CCH-2005-REN | I / III* | | (TC)6 (TG)3 | | | |
| DPHT | I / III | | (TC)10 (TG)2 | | | |
| IPP-2003-KAN | I / III | 8 | (TC)10 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)10 |
| LIL-2003-BRI | II / I* ou II / III* | 7 | (TC)7(TG)2 | 10 | 10 | (TC)7 |
| FOU | I / III | | (TC)10 (TG)2 | | | |
| LPN-2002-SEE | III | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| PSP-2003-ERO | I / III* | 8 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 11 | (TC)10 |
| RMS-2003-DJO | I / III | 8 | (TC)10 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)10 |
| PSP-2003-KOM | I / III* | 8 | (TC)9 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)10 |
| CRL-2004-MOT | III / I | 8 | (TC)10 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)7 |
| CCH-2004-NIA | III / I | 7 | (TC)10 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)7 |
| LEG-NJA | III | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| BOU | II* | 7 | (TC)8(TG)2 | 8 | 9 | (TC)7 |
| ATIH | I | 8 | (TC)10 (TG)2 | 9 | 10 | (TC)10 |
| DUCH | I / III | | (TC)10 (TG)2 | | | |
| WIK | I / III | 8 | (TC)10 (TG)2 | 7 | 10 | (TC)10 |
| LPN-2003-FOU | Atypique | 6 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 10 | (TC)16 |
| GUY-2004-ANG | Atypique | 7 | (TC)9(TG)2 | 6 | 9 | (TC)8 |
| GUY-2004-ABE | Atypique | 7 | (TC)9(TG)2 | 6 | 9 | (TC)8 |
| GUY-2004-TER | Atypique | 7 | (TC)9(TG)2 | 6 | 9 | (TC)8 |
| GUY-2004-TER1 | Atypique | 7 | (TC)9(TG)2 | 6 | 9 | (TC)8 |
| GUY-2003-BAS | Atypique | 7 | (TC)7 (TG)2 | 6 | (CA)2CG(CA)7 | (TC)7TT(TC)3 |
| GUY-2004-ITI | Atypique | 8 | (TC)3CC(TC)5(TG)2 | 8 | 11 | (TC)6 |
| VAND | Atypique | 8 | (TC)7 (TG)2 | 6 | 11 | (TC)7TT(TC)3 |
| RUB | Atypique | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 15 | (TC)19 |
| GUY-2002-MAT | Atypique | 8 | (TC)6TT(TG)2 | 6 | 10 | (TC)3TT(TC)3 |
| GUY-2003-MEL | Atypique | 7 | (TC)7 (TG)2 | 6 | 9 | (TC)7TT(TC)3 |
| GUY-2001-DOS | Atypique | 7 | (TC)3CC(TC)5(TG)2 | 6 | 10 | (TC)7TT(TC)3 |
| GUY-2002-KOE | Atypique | 7 | (TC)3CC(TC)5(TG)2 | 6 | (CA)2CG(CA)7 | (TC)8 |
| GUY-2003-ADA | Atypique | 8 | (TC)3CC(TC)5(TG)2 | 7 | 13 | (TC)8 |
| GUY-2004-AKO | Atypique | 8 | (TC)3CC(TC)3(TG)2 | 6 | 10 | (TC)8 |
| GUY-2004-LAB | Atypique | 8 | (TC)4TG(TC)2(TG)2 | 6 | 10 | (TC)6TT(TC)3 |
| CH1 | II / III | | | 7 | | |
| BEV | II | 7 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 9 | (TC)7 |
| WTD1 | II / I | 7 | (TC)7 (TG)2 | 9 | 10 | (TC)7 |
| CEP | III | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| T61 | II / I* ou II / III* | 7 | (TC)7 (TG)2 | 10 | 10 | (TC)7 |
| ME49 | II | 7 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 9 | (TC)7 |
| M7741 | III | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| B73 | II / I ou II / III | 7 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 10 | (TC)7 |
| B41 | II* | 7 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 11 | (TC)7 |
| P80 | III / I / II* | 8 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 9 | (TC)13 |
| CK196 | Atypique | | | | | (TC)10 |

| **Isolat** | **Type** | ***TUB2(CA)n*** | ***W35 (TC)n(TG)n*** | ***TgM-A(TG)n*** | ***B18 (CA)n*** | ***B17 (TC)n*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CK214 | Atypique | | | | | (TC)13 |
| CK305 | Atypique | | | | | (TC)20 |
| CK313 | Atypique | | | | | (TC)22 |
| CK314 | Atypique | | | | | (TC)21 |
| CK315 | Atypique | | | | | (TC)19 |
| CK332 | Atypique | | | | | (TC)20 |
| CK337 | Atypique | | | | | (TC)17 |
| CK351 | Atypique | | | | | (TC)19 |
| CK364 | Atypique | | | | | (TC)21 |
| CK328 | Atypique | | | | | (TC)22 |
| CK341 | Atypique | | | | | (TC)22 |
| CK199 | Atypique | | | | | (TC)8 |
| CK200 | Atypique | | | | | (TC)8 |
| CK201 | Atypique | | | | | (TC)8 |
| CK204 | Atypique | | | | | (TC)8 |
| CK218 | Atypique | | | | | (TC)8 |
| CK197 | Atypique | | | | | (TC)20 |
| OPA | III | 7 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| ENVL-2002-MAC | III / I | 8 | (TC)6 (TG)3 | 7 | 10 | (TC)7 |
| GUY-2004-JAG1 | Atypique | 7 | (TC)7 (TG)2 | 6 | 10 | (TC)7 |
| CASTELLS | Atypique | 6 | (TC)7 (TG)2 | 8 | 9 | (TC)18 |