



INSTITUT
DE VEILLE SANITAIRE

Surveiller, alerter, prévenir

CNR Toxoplasmose

Rapport d'Activités 2008

Pr I. VILLENA
Coordonnateur du CNR Toxoplasmose
Laboratoire de Parasitologie
Hopital Maison Blanche
45, rue Cognacq Jay
51092 REIMS CEDEX

SOMMAIRE

1- Introduction	p.4
1-1 Contexte du CNR de la toxoplasmose	p.4
1-2 Les missions	p.5
1-3 Résumé: Faits marquants du CNR de la toxoplasmose (année 2008)	p 6
1-4 Organisation du CNR de la Toxoplasmose	p.9
1-5 Locaux et Equipements	p.12
2- Activités d'expertises	p.14
2-1 Capacités techniques du CNR	p.14
2-2 Activités d'expertise de l'année 2008	p.17
3 - Activités de surveillance	p.22
3-1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	p.22
3-2 Surveillance de la toxoplasmose congénitale en France	p.27
3-3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	p.29
3-4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens	p.29
4/ Mission d'alerte	p.31
5/ Activites d'enseignement, de formation et de conseil	p.32
6/ Travaux de recherche en lien direct avec l'activité du CNR	p.34
7/ Liste des publications et communications	p.37
8/ Programme d'activité 2009-2010	p.47
8-1 Perspectives du Pôle Epidémiologie	p.47
8-2 Perspectives du Pôle Souches	p.47
8-3 Perspectives du Pôle Sérologie	p.48
8-4 Perspectives du Pôle Biologie Moléculaire	p.48
Conclusion	p.50

Annexes	p.1
Annexe Pôle Epidémiologie	p.2
Annexe 1 : Membres du réseau du CNR de la toxoplasmose.	p.2
Annexe 2 : Membres du réseau national de surveillance ToxoSurv.	p.3
Annexe 3 : Plan d'analyse Toxosurv.	p.7
Annexe Pôle Souches	p.22
Annexe Pôle Sérologie	p.25
Annexe Enseignement et Formations	p.41
Résumé des communications	p.45

1/ INTRODUCTION

- Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR en terme de santé publique, son organisation, le cas échéant, la répartition des missions avec son ou ses laboratoires associés et ses principaux partenaires

1-1 Contexte du CNR de la Toxoplasmose

Le Centre National de Référence de la Toxoplasmose a été nommé en janvier 2006 en réponse à l'appel d'offre lancé par l'Institut de veille sanitaire relatif à la création de nouveaux centres de référence, notamment dédié à cette pathologie en particulier. Les principaux objectifs sont une meilleure connaissance épidémiologique de cette maladie en France et une évaluation des pratiques de diagnostic pour tendre à une meilleure standardisation de la prise en charge des patients. Pour répondre à ces objectifs, **le CNR (qui est en charge du Pôle Epidémiologie) est entouré de 3 Laboratoires associés animant 3 Pôles d'activités : Pôle Souches, Pôle Sérologie et Pôle Biologie moléculaire.** Le CNR de la Toxoplasmose s'appuie sur un réseau de laboratoires spécialisés fortement impliqués dans le diagnostic, l'épidémiologie, le traitement de la toxoplasmose et reconnus pour leur domaine d'excellence dans la toxoplasmose.

La toxoplasmose est une zoonose transmissible à l'homme et aux animaux (à sang chaud), fréquente et transmise par un parasite protozoaire ubiquitaire. La toxoplasmose est l'une des infections les plus prévalentes en France avec des valeurs de séroprévalence chez l'adulte comprises entre 30 et 60%, variables suivant l'âge, la région géographique et la catégorie socioprofessionnelle. La séroprévalence a varié considérablement depuis 30 ans avec une baisse de prévalence régulière ; ainsi la séroprévalence moyenne a été estimée à 54,3% dans l'enquête nationale périnatale de 1995 (Ancelle, 1996) et à 43,8% en 2003 (Berger, 2005). L'incidence annuelle de la toxoplasmose est estimée à 680 000 nouveaux cas par an, asymptomatique dans 85% des cas.

Généralement bénigne pour l'homme, cette maladie peut cependant être grave dans certaines circonstances :

1/ Chez la femme enceinte, la primo-infection toxoplasmique peut être transmise au fœtus et être à l'origine de la toxoplasmose congénitale pouvant entraîner de graves séquelles. Les formes inapparentes paraissent les plus fréquentes à l'heure actuelle mais leur pronostic évolutif demeure incertain (risque de chorioretinites ultérieur). Environ 2500 infections par an surviennent chez les femmes enceintes, à l'origine de 400 à 600 cas estimés de toxoplasmose congénitale (données du rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire Alimentaire, décembre 2005). Cependant ces données ne sont qu'estimées puisqu'aucun système de déclaration de la toxoplasmose congénitale n'était encore en place en 2006. La fréquence et la gravité des toxoplasmoses congénitales ont conduit à la mise en place d'un programme national de dépistage sérologique systématique chez la femme enceinte, avec émission de recommandations de prévention par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Ce programme n'a pas encore fait l'objet d'évaluation.

En 2006, lors de la création de ce CNR, un des objectifs majeurs était de contribuer à l'évaluation de la pertinence du programme national de prévention de cette maladie, programme instauré depuis 1978 en France. Pour cela, l'InVS en partenariat avec le Pôle

Epidémiologie du CNR a proposé d'établir un système de surveillance national de la toxoplasmose congénitale basé sur une notification des cas.

2/ Chez les malades immunodéprimés, la toxoplasmose est particulièrement sévère, mortelle sans traitement. Elle correspond le plus souvent à la réactivation d'une infection antérieurement acquise. La forte prévalence de la toxoplasmose en France dans la population générale explique la très forte incidence de la toxoplasmose au cours du SIDA avec une diminution des cas observés depuis l'introduction de la chimioprophylaxie et des nouveaux traitements antiviraux. Cependant, ce risque demeure pour d'autres types d'immunodépression (patients atteints de cancer, patients greffés).

3/ Chez le patient immunocompétent, des formes graves avec détresse respiratoire aiguë, voire des formes mortelles ont été décrites notamment en Guyane Française. Des formes graves ont aussi été décrites, bien que plus exceptionnellement, sur le territoire métropolitain. Les souches à l'origine de ces cas sévères se sont révélées génétiquement différentes de celles circulant habituellement en France métropolitaine.

Un des objectifs du CNR est de mieux connaître l'épidémiologie des souches de toxoplasmes en France métropolitaine et DOM-TOM. Pour cela, le Pôle Souches est en charge de collecter les souches issues des prélèvements cliniques, de les caractériser (d'un point de vue clinique et génotypique), les comparer aux souches circulant dans le monde et le cas échéant, alerter les autorités sanitaires de la survenue de cas groupés dus à des génotypes identiques ou voisins. Un Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma est intégré à ce Pôle en partenariat avec le Pôle Epidémiologie (inclusion des souches collectées dans le cadre du CNR dans le CRB). Avec le Pôle Epidémiologie, il contribue à l'étude de la circulation de la toxoplasmose chez l'animal notamment pour mieux identifier les sources de contamination humaine.

Le **diagnostic** de la toxoplasmose repose principalement sur l'étude immunologique. La recherche du parasite ou de son ADN est réalisée chez les patients immunodéprimés, les patients immunocompétents en cas de toxoplasmose virulente, chez les femmes enceintes au décours d'une séroconversion et chez les enfants suspects de toxoplasmose congénitale à la naissance. Actuellement, de nombreux laboratoires français (hospitaliers et privés) ont acquis une expertise technique en matière de diagnostic sérologique, cependant le diagnostic par biologie moléculaire reste encore peu développé et non standardisé. Appliqué au diagnostic anténatal, il est réservé à 22 laboratoires agréés en France.

Un autre objectif du CNR réside dans l'évaluation des pratiques du diagnostic, l'essai de leur standardisation et la diffusion auprès des laboratoires en charge du diagnostic de bonnes pratiques d'analyses. Des guides d'interprétations des résultats doivent être rédigés par le CNR et diffusés à l'ensemble des professionnels de santé.

1-2 Les missions :

Le CNR Toxoplasmose a pour objectif général de répondre aux besoins exprimés par les gestionnaires de santé, les cliniciens et les biologistes, en termes d'épidémiologie et de diagnostic de la toxoplasmose sous toutes ses formes, mais aussi de soutien aux études portant sur le traitement et la prévention de la toxoplasmose congénitale et de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé.

Missions de contribution à la surveillance :

- Recueillir les informations nécessaires à une meilleure compréhension de l'épidémiologie et de la biodiversité de *T. gondii*.
- Evaluer la pertinence du programme national de dépistage de la toxoplasmose congénitale. Cette mission est conduite par le CNR (Pôle Epidémiologie) en collaboration avec l'InVS avec en particulier la mise en place d'un système national de déclaration des cas.

- Surveiller l'évolution de l'infection chez l'homme (recueil des informations épidémiologiques et recueil des souches responsables de l'infection).
- Typer les souches humaines de toxoplasmes et comparer ces souches avec celles isolées dans l'environnement (souches isolées des animaux qui transmettent la maladie et de l'environnement au niveau du sol ou de l'eau). Une collaboration du CNR (Pôle Epidémiologie) avec le Laboratoire National de Référence « Parasites transmis par les aliments » (AFSSA-LERPAZ) permet notamment cette approche.
- Identifier les sources de transmission de la toxoplasmose : à l'heure actuelle nous constatons une absence de connaissance sur le poids respectif des modes de contamination en cas d'infection toxoplasmique. Aucun moyen diagnostique ne permet de faire la part dans la contamination alimentaire entre celle due à l'ingestion de viande (contamination par les kystes) et celle due à la consommation de végétaux (contamination par les oocystes), ou encore dans le risque de contamination hydrique (seulement des données d'infections d'origine hydrique rapportées dans la bibliographie).

Mission d'alerte :

Les Centres de Référence doivent transmettre à l'InVS et la DGS l'identification de cas groupés de la maladie et pour cela une centralisation des données est nécessaire. Le CNR participe grâce au maillage national des laboratoires du réseau, à la mise en place d'un relevé des cas de toxoplasmoses en lien avec l'InVS.

La recherche dans des conditions épidémiologiques particulières, de souches de toxoplasmes génétiquement différentes des souches usuelles (et que l'on sait associées à des pathologies sévères), participe à cette mission d'alerte.

Mission de conseil :

Elle doit être assurée aux professionnels de santé notamment pour un meilleur dépistage et des conseils actualisés de prévention sur la transmission, conseils sur le diagnostic et le traitement. Un guide des bonnes pratiques doit être rédigé par le Pôle Sérologie au cours de l'année 2009 pour assurer le diagnostic immunologique dans les meilleures conditions, il est destiné notamment aux laboratoires privés ou de CHG ayant recours aux laboratoires des CHU lors de difficultés d'interprétation des résultats sérologiques ou de datation d'une infection en particulier chez la femme enceinte. Un guide des bonnes pratiques doit être également rédigé par le Pôle Biologie Moléculaire, destiné aux laboratoires prenant en charge le diagnostic de cette affection par PCR, en particulier dans le cadre du diagnostic prénatal de la toxoplasmose congénitale.

1-3. Résumé: Faits marquants du CNR de la toxoplasmose (année 2008).

Les activités de surveillance épidémiologique se sont traduites par l'évaluation du nombre de cas de toxoplasmoses congénitales diagnostiquées en France en 2007 et la poursuite de l'animation du réseau « Toxosurv » en charge de la notification des cas diagnostiqués dans l'année 2008. **La mise en place de ce système de surveillance a été publiée dans le BEH (Numéro thématique - Infections congénitales et transmises de la mère à l'enfant en France : des progrès notables en lien avec les actions de prévention ; 8 avril 2008 / n° 14-15 ; p122-124).**

La notification des cas a débuté au niveau national en mars 2007. Le bilan des notifications des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France pour l'année 2007 a été effectué au cours de l'année 2008 et discuté à trois reprises au sein d'un comité de pilotage mis en place par l'InVS et le CNR, le programme statistique développé spécifiquement pour l'analyse des résultats a été revu au cours de ces rencontres. L'analyse détaillée des cas réalisée par le Pôle Epidémiologie a permis un contrôle des cas avec retour vers les centres déclarants lorsque cela l'imposait (incohérence de données, imprécisions sur les notifications, manque de notifications des cas à la naissance...). La notification des cas et/ou les corrections apportées

par les centres a été définitivement bloquée par les responsables de la base au 31 janvier 2009, donnant lieu à une nouvelle analyse des résultats fin février 2009. Les résultats sont présentés en annexe du rapport et ne sont pas encore disponibles sur le site internet, la validation finale devant être faite par ce comité.

Les premiers résultats ont permis de constater une quasi-absence de notification de la part des laboratoires « non spécialisés » (hors CHUs, CERBA et Mérieux), conduisant le Pôle Epidémiologie à une nouvelle enquête auprès des 74 laboratoires préalablement identifiés (enquêtes 2006 et 2007). Les contacts avec les biologistes de ces laboratoires ont permis une nouvelle configuration du réseau « Toxosurv » plus restreinte, l'ensemble des laboratoires dits spécialisés (n=32) recueillant la majorité des diagnostics de toxoplasmose congénitale posés sur le territoire français. L'exhaustivité du recueil paraît satisfaisante en reposant sur ces laboratoires auxquels 13 laboratoires polyvalents (privés ou CH) s'ajoutent car posant le diagnostic de façon occasionnelle (1 à 3 cas par an).

Une alerte sur la présence de cas groupés de toxoplasmose (16 patients avec pour certains une virulence particulière d'un point de vue clinique) a été donnée fin décembre 2008 par un des laboratoires membre du Pôle Epidémiologie (CHU de Montpellier). Une investigation des cas a été menée en collaboration avec l'InVS (via la CIRE de Montpellier) dès le mois de janvier 2009 afin de caractériser cette « épidémie ».

Un objectif important pour la surveillance et le cas échéant l'alerte, réside dans la **collecte des souches responsables de toxoplasmose en vue de leur caractérisation génotypique et de leur conservation** pour des études ultérieures. Cet aspect de conservation a été pris en compte avec la constitution du Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma* (depuis 2002), en cours de certification selon le référentiel AFNOR NF S 96-900 « Système de management d'un CRB et qualité des ressources biologiques d'origine humaine et microbienne ».

Au cours de l'année 2008, la collecte d'isolats provenant de toxoplasmoses congénitales a été poursuivie. Comme demandé aux participants du réseau ToxoBS, partenaires du Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma*, l'accent a été mis plus particulièrement sur les formes cliniques inhabituelles (formes sévères acquises après une séroconversion maternelle tardive, toxoplasmoses acquises par la mère en dehors du territoire métropolitain). Les envois systématiques des isolats de tous les cas de toxoplasmose congénitale restent d'actualité pour les centres qui le désirent.

Les membres du Pôle Souches avaient également insisté au cours de l'année pour obtenir des **isolats responsables de toxoplasmoses de patients immunodéprimés ou de toxoplasmose oculaire**. Dans ce cadre, les centres ont envoyé au CNR essentiellement des extraits d'ADN, accompagnés de données cliniques. Ceci a permis au CNR de disposer d'une quantité importante d'informations sur ces formes cliniques pour lesquelles la relation avec le génotype parasitaire est encore mal évaluée.

Les collaborations avec les laboratoires des **Antilles et de la Guyane** se sont accentuées et ont permis de conforter l'idée de l'existence **de souches différentes circulant dans ces départements**, en dehors du contexte de la toxoplasmose en rapport avec le cycle sauvage amazonien décrit les années précédentes.

La caractérisation des souches de toxoplasmes s'est renforcée par une technique de génotypage par microsatellites qui a été affinée avec le développement de deux techniques multiplex, l'une, comportant 6 marqueurs, permettant le typage de routine, la seconde comportant 6 autres marqueurs, permettant un traçage épidémiologique fin si nécessaire.

La majorité des souches retrouvées en France est de génotype II sans virulence chez la souris, les manifestations cliniques qui s'y rattachent peuvent cependant être sévères en fonction notamment du statut immunitaire du patient. En cas d'isolement de souches de toxoplasme de virulence anormale, le CNR informera l'InVS de l'existence de ces souches en les caractérisant d'un point de vue génétique. **La présence de souches virulentes en**

Guyane Française a incité à une surveillance accrue dans cette région des cas de toxoplasmose, ceci est effectué en collaboration avec le laboratoire du CHU de Cayenne

L'analyse de la chimiosensibilité de 17 souches issues du Centre de Ressources Biologiques *Toxoplasma*, représentatives des différents génotypes a été réalisée vis-à-vis de la pyriméthamine, la sulfadiazine, et l'atovaquone (principales molécules employées dans le traitement des toxoplasmoses). Les résultats ont montré une faible variation de sensibilité du toxoplasme à la pyriméthamine et à l'atovaquone, sans réelle chimiorésistance. Une plus grande variabilité de sensibilité a été mise en évidence pour la sulfadiazine, avec une possibilité de **résistance pour 3 souches**. Il n'a pas été trouvé de relation entre la chimiosensibilité, la présence de mutations sur les gènes cibles (DHFR, DHPS) et le génotype parasite (Menecoeur et al. 2008). Cette analyse de chimiosensibilité pourra s'étendre à l'ensemble des souches isolées par développement d'une technique de screening rapide de la sensibilité.

Pour répondre aux objectifs d'évaluations des pratiques de diagnostic sérologique ou par biologie moléculaire et des réactifs commercialisés, les deux Laboratoires associés en charge de ces activités ont effectué plusieurs enquêtes nationales et ont mis en place des comparaisons de méthodes.

Une biothèque (incluant les panels de l'AFSSA) **est constituée permettant l'évaluation des kits de diagnostic immunologique** commercialisés en France (techniques manuelles et automatisées). Les modalités d'expertise des réactifs sérologiques ont été définies permettant une analyse objective des réactifs par les laboratoires membres du Pôle Sérologie. Les premiers résultats sont énoncés dans le rapport.

La rédaction d'un guide d'interprétation des sérologies toxoplasmiques par le groupe de travail du Pôle Sérologie a été réalisée au cours de l'année, ce guide (avec logigrammes d'interprétation) a été adressé à l'ensemble des membres du réseau du CNR pour validation ou recueil de modifications, deux questionnaires sur les pratiques dans le diagnostic sérologique ont été adjoints. L'analyse des réponses sera exposée lors du congrès de la Société Française de Parasitologie et une réunion de consensus aura lieu à l'automne lors de la journée du CNR de la Toxoplasmose avec pour objectif final de le mettre à disposition de l'ensemble des biologistes qui ont en charge le diagnostic sérologique de la toxoplasmose.

Pour l'évaluation des pratiques du diagnostic moléculaire de la toxoplasmose, plusieurs **initiatives ont été menées dont l'élaboration d'un matériel biologique de référence**. Le Pôle s'est focalisé sur cet objectif pour l'année 2008 afin de disposer d'un matériel dit "étalon", discriminant, robuste, reproductible, et produit en grande quantité. Des quantités importantes ont pu être préparées, et des protocoles d'utilisation peuvent être diffusés aux laboratoires volontaires pour améliorer leurs propres pratiques et méthodes. **Le Contrôle de Qualité national en PCR-Toxoplasmose a été renouvelé en 2008 sous l'égide du CNR**, basé sur une gamme de trois concentrations basses de toxoplasmes, préparées avec le matériel étalon cité ci-dessus. Il a été suivi par 29 laboratoires participants et a montré une excellente sensibilité de la méthode pour la grande majorité des laboratoires impliqués, avec globalement un seuil inférieur à 10 toxoplasmes / mL de liquide amniotique. Pour la troisième année consécutive, aucun faux positif n'a été relevé.

Les **études comparatives multicentriques** réalisées au cours de l'année 2007 ont fait l'objet d'une analyse détaillée en 2008 et deux articles sont encore en cours de préparation.

L'objectif d'**homogénéisation des méthodes de diagnostic moléculaire** à un niveau national a fait place, de façon plus pragmatique, à celui de proposer des seuils de détection minimum qui devraient être atteints par les laboratoires.

Plusieurs congrès internationaux ont été organisés pour le centenaire de la découverte du parasite, nombreux membres du CNR y ont participé dont certains invités ou organisateurs de congrès (F. Derouin et ML. Dardé pour le congrès du Brésil). (Chap 7. Communications)

1-4 Organisation du CNR de la Toxoplasmose

Un Laboratoire Coordonnateur et 3 Laboratoires Associés assistés par un groupe de travail (Laboratoires Supports) assurent les missions du CNR en s'appuyant sur un réseau national de laboratoires spécialisés et reconnus dans diagnostic, l'épidémiologie et le traitement de cette affection. Des **Laboratoires Supports** (n= 17) constituent des groupes de travail au sein de chaque Pôle. Les groupes de travail apportent un soutien au Laboratoire Associé ; ils sont coordonnés par les Responsables des Pôles auxquels ils sont rattachés.

Des **Laboratoires Réseau Supports** (n= 28), constitués par l'ensemble des laboratoires qui ont manifesté leur souhait de participer aux activités du CNR. Ces laboratoires constituent un maillage national des laboratoires ayant en charge le diagnostic des toxoplasmoses. Ils fournissent des informations d'ordre épidémiologique, envoient les souches isolées de patients, mettent à disposition leur sérothèque, peuvent participer à diverses études visant à une standardisation de techniques. Ces laboratoires de CHU sont, à un échelon local, référents pour les laboratoires hospitaliers et privés dont ils sont un interlocuteur constant, ils sont notamment en première ligne pour la mission d'alerte sur l'apparition de cas groupés.

Total ETP affecté CNR Toxoplasmose en 2007 : 7,15 ETP participent au fonctionnement du CNR

Organigramme global

Biologistes : PU-PH 1,3 ETP ; MCU-PH/ PH 3,1 ETP
Techniciens : 1,15 ETP
Secrétariat : 1 ETP
Attaché de Recherche Clinique 0,6 ETP

Organigramme par laboratoire

Laboratoire Coordonnateur (CHU Reims)

Pr. I. Villena, Responsable de la Coordination du CNR et Responsable du Pôle Epidémiologie

Nom Prénom	Fonctions	Appartenance (organisme payeur)	Temps consacré (% ETP)
Isabelle VILLENA	PU-PH, Chef de Service	CHU /Université Reims EA3800	30%
<i>Dominique AUBERT</i>	<i>MCU-PH</i>	<i>CHU /Université Reims</i>	10%
Cathy CHEMLA	PH	CHU Reims	5%
Laurence DUBOIS	Secrétaire	CHU Reims	50%
<i>Naima ORTIS</i>	<i>Technicienne</i>	<i>CHU Reims</i>	25%
Régine GEERS	Technicienne	CHU Reims	10%
Christelle DELMAS	ARC	CHU Reims/ InVS	30%
Laboratoires support			
Marie-Laure DARDÉ	<i>PU-PH</i> Chef de Service	Université Limoges/CHU	10%
Thierry ANCELLE	MCU-PH	Université Paris 5 /Cochin	10%
Philippe THULLIEZ	Chef de service	Institut Puériculture/IPP	10%
Francline PRATLONG	MCU-PH	Université Montpellier/CHU	10%
Pierre MARTY	MCU-PH	Université Nice/CHU	10%
Nicole FERRET	PH	CHU Nice	10%
Marie-Hélène BESSIERES	MCU-PH	Université Toulouse/CHU	10%
Marie-France KUBLER	Secrétaire	CHU Toulouse	5%
Joëlle VIGUIE	Technicienne	CHU Toulouse	5%
Bernard CARME	PU-PH	Université Antilles-Guyane / CH Cayenne	10%
<i>Stéphane SIMON</i>	<i>Technicien</i>	<i>Université Antilles-Guyane/</i>	10%

Laboratoire Associé Pôle Souches : Epidémiologie moléculaire et Chimiosensibilité (CHU Limoges)

Pr. M L Dardé, Responsable

Nom Prénom	Fonctions	Appartenance (organisme payeur)	Temps consacré
<i>Marie-Laure DARDÉ</i>	<i>PU-PH Chef de Service</i>	<i>Université Limoges/CHU</i>	20%
Daniel Ajzenberg	MCU-PH	Université Limoges/CHU	20%
Homayoun RIAHI	ARC	CHU Limoges	30%
Laboratoires support			
<i>Dominique AUBERT</i>	<i>MCU-PH</i>	<i>CHU /Université Reims</i>	10%
<i>Naima ORTIS</i>	<i>Technicienne</i>	<i>CHU Reims</i>	25%
Francis Derouin	PU-PH Chef de Service	Université Paris 7	10%
Pascale Meneceur	Ingénieur d'Études	Université Paris 7	10%
Magali Demar	Médecin, PH	Université Antilles-Guyane/CH Cayenne	10%

En italique personnes impliqués dans les deux Pôles

Laboratoire Associé Pôle Sérologie ((CHU/Université Louis Pasteur Strasbourg)

Pr E. Candolfi, Responsable

Nom Prénom	Fonctions	Appartenance	Temps consacré
Laboratoire associé			
CANDOLFI Ermanno	PU-PH	ULP de Strasbourg	10%
VILLARD Odile	MCU-PH	ULP de Strasbourg	20%
FILISSETTI Denis	MCU-PH	ULP de Strasbourg	5%
DODERER Cécile	Ingénieur	ULP de Strasbourg	30%
BACHMANN Michèle	Secrétaire	ULP de Strasbourg	30%
LIENHARDT Elisabeth	Technicien	ULP de Strasbourg	30%
HOFFMANN Estérina	Bibliothécaire	ULP de Strasbourg	10%
Laboratoires support			
CIMON Bernard	MCU-PH	CHU/ Université Angers	10%
<i>PELLOUX Hervé</i>	PU-PH	CHU/ Université Grenoble	10%
FRICKER HIDALGO Hélène	PH	CHU/ Université Grenoble	10%
FRANCK Jacqueline	MCU-PH	CHU/ Université Marseille	10%
HOUZE Sandrine	MCU-PH	CHU/ Université Paris-Bichat	10%
PARIS Luc	MCU-PH	CHU/ Université Paris- Pitié Salpétrière	10%
GODINEAU Nadine	PH	CHG Saint-Denis	10%

Laboratoire Associé Pôle Biologie Moléculaire (CHU Montpellier)

Pr P. Bastien, Responsable

Nom Prénom	Fonctions	Appartenance	Temps consacré
Laboratoire associé			
BASTIEN Patrick	PU-PH	CHU/Université Montpellier	20%
STERKERS Yvon	AHU	CHU/Université Montpellier	10%
VARLET M Emmanuelle	Praticien attaché	CHU/Université Montpellier	30%
LAMI Joelle	Secrétaire	CHU Montpellier	5%
DOUZOU Sylvie	Technicien	CHU Montpellier	5%
BRESSON Guillaume	Technicien	CHU Montpellier	5%

Laboratoires support			
BONNIN Alain	PU-PH	CHU/Université Dijon	5%
DALLE Frédéric	MCU-PH	CHU/Université Dijon	10%
PELLOUX Hervé	PU-PH	CHU/ Université Grenoble	5%
BRENIER PINCHART M Pierre	MCU-PH	CHU/ Université Grenoble	10%
DELHAES Laurence	MCU-PH	CHU/ Université Lille	10%
YERA Hélène	MCU-PH	CHU/ Université Paris Cochin	10%
BRUN Sophie	MCU-PH	CHU/ Université Paris Salpêtrière	10%
CASSAING Sophie	MCU-PH	CHU/ Université Toulouse	10%
FILISSETTI Denis	MCU-PH	ULP de Strasbourg	10%

Description de la démarche qualité du laboratoire : GBEA, participation à un contrôle de qualité externe, programmes, accréditation...

Tous les laboratoires membres du CNR de la Toxoplasmose sont en démarche qualité et tous ont rédigé leurs procédures selon le GBEA.

Le Laboratoire coordonnateur et les trois Laboratoires Associés sont en phase active d'accréditation et disposent d'un référentiel qualité sous la responsabilité du chef de service et d'un responsable qualité.

Pour le **Pôle Epidémiologie**, un PH (Dr Foudrinier) est dédié à la qualité, elle est titulaire d'un DIU de Qualité (Marseille, diplôme 2007). Ce PH assure la qualité des procédures instaurées dans le laboratoire qui a déjà bénéficié de 3 audits qualité (par 2 auditeurs externes). Deux techniciennes ont suivi une formation à l'audit et procèdent à des audits internes des différents secteurs diagnostic.

Le Dr Foudrinier est également en charge de l'assurance qualité du CRB Toxoplasma dont la localisation est double (Reims et Limoges/Pôle Souches) en cours de certification selon le référentiel AFNOR NF 96-900 (grâce à l'obtention d'un programme ANR dédié à la certification des CRB en France obtenu en 2006, I.Villena). La co-localisation de la banque à Reims et à Limoges renforce la sécurité de la conservation des échantillons, la réception des prélèvements, leur mise en cryobanque font l'objet de procédures écrites selon le référentiel AFNOR. Le transport des prélèvements est assuré par un transporteur agréé. Cette démarche de certification est accompagnée par un ingénieur qualité déléguée par l'INSERM, la visite prévue pour cette certification est programmée pour le mois de Juin 2009. En outre, le CRB Toxoplasma a intégré le réseau européen des CRB (BBMRI) et bénéficie du label IBISA. Etant donné l'intrication étroite entre les activités de CRB Toxoplasma et du Pôle souches du CNR Toxoplasmose, cette démarche qualité du CRB retentit sur le niveau de qualité du CNR.

Le Laboratoire du Pôle Sérologie est engagé dans une démarche d'accréditation pour la portée « diagnostic biologique de la toxoplasmose » (COFRAC norme ISO 15189) avec mise en place de comités de pilotage pré et post analytique, analytique, hygiène /sécurité, informatique, métrologie, commandes et ressources humaines. Un premier audit COFRAC est prévu pour le troisième trimestre 2009.

La démarche qualité a conduit à mettre en place

- Un système de signalement des non conformités avec suivi des actions menées en vue d'améliorer le fonctionnement du laboratoire
- Un nouveau contrôle de qualité externe qui s'ajoute à celui de l'AFSSAPS et de Biologie Prospective : UK National External Quality Assessment Service For Microbiology (London)
- Une validation interne des techniques utilisées au sein du laboratoire par la réalisation de tests de reproductibilité, répétabilité selon les recommandations publiées dans le guide de validation en biologie médicale du COFRAC. Comparaison avec les données fabricants.

- Un contrôle de qualité interne journalier pour les techniques ELISA , immunofluorescence et ELISA IgG avidité
- Un guide d'interprétation du diagnostic de la toxoplasmose adapté au fonctionnement des laboratoires

Le laboratoire élabore et évalue des réactifs employés pour la mise au point de réactifs de diagnostic *in vitro* dans le cadre de contrat de collaboration entre l'industrie et l'université.

Pour le Pôle Biologie moléculaire, le laboratoire est engagé dans le processus qualité global des laboratoires et un de ses membres (Toulouse) est accrédité pour « Sérologie pour le diagnostic de la toxoplasmose et Techniques de Biologie moléculaire : recherche d'ADN parasitaire par PCR » (COFRAC N°1- 1769, Accréditation Septembre 2006) -

La démarche qualité a conduit à mettre en place dans chacun de ces laboratoires:

- Un système de signalement des non conformités avec suivi des actions menées en vue d'améliorer le fonctionnement du laboratoire.
- Des contrôles de qualité externe nationaux et européens en particulier pour le diagnostic de la toxoplasmose par biologie moléculaire. Le contrôle national de qualité pour cette activité est d'ailleurs organisé par le Pôle Biologie moléculaire du CNR.
- Une validation interne des techniques utilisées au sein du laboratoire par la réalisation de tests de reproductibilité, répétabilité selon les recommandations publiées dans le guide de validation en biologie médicale du COFRAC. Comparaison avec les données fabricants.

1-5 Locaux et Equipements

Les locaux équipements des différents laboratoires (Coordonnateur et Laboratoires Associés) sont décrits ici. Le CNR dispose des équipements nécessaires pour les études sérologiques (automates de sérologie et techniques manuelles) et en biologie moléculaire pour le diagnostic (PCR temps réel et PCR conventionnelle) et le cas échéant la caractérisation des souches (séquenceur, PCR-RFLP....). Les laboratoires disposent de hottes PSM et d'animaleries (zone A2) pour la récolte et l'entretien des souches et de cryoconservateur à azote liquide sécurisé pour leur stockage. Les Pôles Epidémiologie et Souches ont développé un logiciel spécifique à la gestion des souches incluses dans le CRB Toxoplasma avec traçabilité complète des échantillons et des événements.

Les locaux sont en adéquation avec la réglementation actuelle notamment celle spécifique à la biologie moléculaire. Les Laboratoires du CNR (Coordonnateur et Associés) possèdent l'agrément pour le diagnostic prénatal de la toxoplasmose incluant des locaux dédiés.

En complément, les Laboratoires supports mettent à disposition leurs locaux et équipements pour participer aux activités du CNR.

Laboratoire Coordonnateur CNR :

- Locaux universitaires (locaux de recherche, surface : 220m²). Ces locaux regroupent des pièces de culture cellulaire, biologie moléculaire. En outre, le CNR a accès à l'animalerie commune en soutien à l'animalerie propre du laboratoire hospitalier.

- Locaux hospitaliers (800m² dont surface dédiée au CNR : 100 m²). Ces locaux sont partagés entre les pièces dévolues au Centre de Ressources Biologiques (pièce de cultures cellulaires avec recueil de souches, multiplication des souches et cryoconservation dans pièce spécifique), une pièce où sont effectuées les sérologies et une animalerie agréée à l'intérieur du laboratoire (renouvellement agrément en juillet 2008).

Adresse : Laboratoire Parasitologie-Mycologie, Hôpital Maison Blanche, CHU Reims, 45 rue Cognacq-Jay, 51092 REIMS CEDEX

Laboratoire Associé Pôle Souches :

L'activité du CNR Toxoplasmose Pôle souches se déroule dans les locaux du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Limoges où environ 40 m² sont consacrés à cette activité dans plusieurs pièces du laboratoire. Des locaux spécifiques sont dédiés aux activités de

biologie moléculaire. Une partie du typage moléculaire des souches est réalisée sur les locaux universitaires voisins du CHU.

Adresse : Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges,

La partie chimiosensibilité des souches est réalisée dans les locaux du laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine Denis Diderot (EA 3520, Paris 7) et dans les locaux du CHU de Reims.

Laboratoire Associé Pôle Sérologie (CHU/Université Louis Pasteur Strasbourg)

Le Laboratoire situé au sein de l'Insitut de Parasitologie Tropicale (surface de 2000 m²), est constitué de trois entités : (i) un laboratoire de parasitologie et de mycologie médicale de 1500 m² (30 personnes) agréé par le ministère de la santé pour le diagnostic prénatal (DPN) de la toxoplasmose (ii) une équipe pédagogique participant aux enseignements à la faculté de médecine, de pharmacie et de sciences ainsi qu'à différentes écoles paramédicales ou non ; (iii) une équipe d'accueil reconnue par le ministère, composée de 4 hospitalo-universitaires et de trois chercheurs INSERM.

Le laboratoire dispose de locaux équipés en immunologie (automate de microplaques EVOLIS, lecteur de microplaques, deux laveurs de microplaques, générateur Biorad, cuves à électrophorèse et système de transfert, système de chromatographie en basse pression Biorad et haute pression Waters, un PC, diverses étuves à 37°C, deux microscopes à épifluorescence dont l'un est équipé d'une caméra numérique, 4 congélateurs à -80°C, container à azote liquide, autoclave de décontamination et de stérilisation) ainsi que d'une animalerie agréée. En biologie moléculaire, il dispose également de locaux en conformité avec la réglementation, quatre thermocycleurs et un thermocycleur en temps réel (LightCycler). Ces outils sont employés non seulement pour le diagnostic mais également pour des expertises. Le laboratoire dispose aussi d'une animalerie agréée et d'un laboratoire de culture cellulaire.

Adresse : Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU/Université Louis Pasteur Strasbourg, 3, rue Koeberlé, 67000 Strasbourg.

Laboratoire Associé Pôle Biologie Moléculaire : (CHU Montpellier)

Le laboratoire est installé sur une surface totale de 1 500 m² sur 3 étages, divisée pour moitié en locaux hospitaliers, et pour moitié en locaux universitaires et de recherche (environ 500m²). L'unité de diagnostic moléculaire proprement dit (C.H.U.) occupe environ 70 m².

Dans le domaine particulier des activités de référence, objet du présent dossier, le laboratoire possède les locaux et équipements en adéquation avec les missions proposées (animalerie agréée, pièces de biologie moléculaire notamment).

Adresse : Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Montpellier, rue A. Broussonet, 34092 Montpellier Cédex.

2/ ACTIVITES D'EXPERTISE

2-1 Capacités techniques du CNR

2-1-1 Liste des techniques :

- Liste des techniques de référence: diagnostic/identification, typage, évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux
- Techniques disponibles
- Techniques développées l'année N: brève description (principes, validation)
- Techniques en développement : principes et état d'avancement

Pour remplir ses missions notamment les missions épidémiologiques et de typage des souches toxoplasmiques collectées par l'ensemble des laboratoires français appartenant au réseau du CNR ; les Pôles Epidémiologie et Souches disposent de plusieurs techniques :

- ***Techniques disponibles***

Les techniques de typage des souches ou ADN parasitaires par des techniques de biologie moléculaire reposent sur les mêmes marqueurs que ceux indiqués en 2007 : 12 marqueurs microsatellites, dont 6 utilisés en routine et 6 pour un typage destiné à une traçabilité épidémiologique, et 3 marqueurs de PCR-RFLP.

- ***Techniques développées l'année 2008:***

Au cours de l'année 2008, a été développée la technique de sérotypage permettant une approche du génotype infectant le patient à partir de l'étude des anticorps dirigés contre des peptides polymorphes des antigènes GRA6 et GRA7.

- **Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles**

- Microsatellites pour typage de routine : *TUB2*, *TgM-A*, *M33*, *W35*, *B17*, *B18* (Ajzenberg et al. 2005 ; Blackston et al. 2001)
- PCR-RFLP sur gènes *SAG2*, *SAG1*, *GRA7*
- Microsatellites pour épidémiologie moléculaire : *N60-N82-N61-AA* (Ajzenberg et al. 2002), *M48-M102* (Blackston et al. 2001)
- Séquençage de *GRA7*, *GRA6*, microsatellites

Pour remplir ses missions d'évaluation du diagnostic sérologique (pratique du diagnostic et interprétation des résultats) les Laboratoires Associés correspondant au Pôle Sérologie disposent des techniques classiques commercialisées et diffusées aux laboratoires de biologie polyvalente et de techniques « maison » ou spécifiquement développées au sein des laboratoires du réseau du CNR et des laboratoires associés.

- ***Techniques disponibles :***

Afin de réaliser l'évaluation des coffrets diagnostic disponibles sur le marché, le laboratoire Associé et ses partenaires ont à disposition les techniques ELISA classiques et les techniques de référence (Immunofluorescence, Agglutination Directe Haute Sensibilité, Dye Test).

Le laboratoire Associé Sérologie a mis en place un procédé d'expertise des coffrets diagnostic en constituant un panel de sérums qui sont utilisés pour cette évaluation. En 2008, le Pôle a poursuivi la constitution de la biothèque conformément aux critères déterminés en 2006 avec caractérisation et aliquotage de tous les sérums en 3 panels distincts selon les critères définis.

Ces sérums sont inclus dans une **biothèque** et se décomposent comme suit :

Panel 1: permettant l'estimation de la sensibilité et de la spécificité des IgG et des IgM toxoplasmiques de 500 sérums dont :

- 200 sérums avec des IgG négatives et des IgM négatives permettant d'estimer la spécificité IgG et IgM
- 200 sérums avec des IgG positives et des IgM négatives permettant d'estimer la sensibilité des IgG
- 100 sérums avec des IgG positives et des IgM positives permettant d'estimer la sensibilité des IgM

Panel 2: destiné à analyser la détectabilité et la spécificité des techniques comportant 100 sérums dont :

- 30 sérums avec des « taux limite » présentant des IgG proches du seuil de positivité par l'une des techniques employées et des IgG positives ou négatives par une autre technique.
- 70 sérums « d'autres pathologies » virales, bactériennes et d'immunitaires présentant une pathologie potentiellement interférente et négatifs en IgG et IgM toxoplasmique par les techniques de référence.

Panel 3 : destiné à évaluer les techniques de diagnostic précoce avec datation d'une séroconversion toxoplasmique comporte 200 sérums dont :

- 100 sérums issus de 30 dossiers de séroconversions toxoplasmiques
- 100 sérums de toxoplasmoses chroniques

La déclaration de la biothèque auprès du CPP a été effectuée auprès des services compétents des Hospices Universitaires de Strasbourg (Direction de la Recherche Clinique).

Pour remplir ses missions d'évaluation du diagnostic par biologie moléculaire (pratique du diagnostic et interprétation des résultats) les Laboratoires Associés correspondant au Pôle Biologie moléculaire disposent de techniques « maison » ou spécifiquement développées au sein des laboratoires du réseau du CNR et des laboratoires associés. L'accès à ces techniques est plus restreint dans le cadre du diagnostic moléculaire (comparativement au diagnostic sérologique) étant donné l'indisponibilité de trousse commercialisées, cette pratique est donc réservée aux laboratoires de CHU et laboratoires privés Cerba et Mérieux (agréés pour le diagnostic anténatal de la toxoplasmosose congénitale).

- ***Techniques disponibles :***

La constitution du Pôle "Biologie moléculaire" permet de disposer d'un vaste panel de techniques de diagnostic moléculaire, représentatif des méthodes utilisées au niveau national et essentiel pour les études comparatives : PCR conventionnelle avec révélation sur gel, PCR conventionnelle avec révélation en ELISA, PCR en temps réel utilisant diverses technologies (Light-Cycler + sondes FRET, ABI Prism + sondes TaqMan, ABI Prism + sondes Taqman MGB).

Par ailleurs, plusieurs membres du Pôle possèdent une expertise indispensable dans la préparation de toxoplasmes destinés à fabriquer des échantillons artificiels pour les études en réseau.

- ***Techniques développées l'année 2008 :***

- Laboratoire Associé de Montpellier : mise au point d'un matériel biologique de référence (dit "étalon") pour l'évaluation des performances des techniques de diagnostic moléculaire; ce matériel est lyophilisé en collaboration avec un partenaire industriel et a fait l'objet de mises au point approfondies; il est utilisé pour le Contrôle national de Qualité en PCR-Toxoplasmosose et pourra être également proposé aux laboratoires en vue d'une auto-évaluation.

- Laboratoire-Support de Grenoble : Adaptation au laboratoire de la PCR quantitative en temps réel ciblant sur la séquence répétée REP529 de *Toxoplasma gondii* par LightCycler (Roche Diagnostics) et mise en place d'un contrôle interne (beta-globine humaine). Cette technique a

été utilisée, avec succès, sur les échantillons du Contrôle national de Qualité en décembre 2008; elle est actuellement évaluée sur des échantillons de patients.

- Laboratoire-Support de Paris-Pitié : amélioration des techniques, avec l'introduction d'un contrôle interne de type plasmidique et le passage en « Fast » sur un appareil Taqman 7500 (run de 40 min).

- Laboratoire-Support de Lille : Adaptation au laboratoire de la PCR quantitative en temps réel ciblant sur la séquence répétée REP529 de *Toxoplasma gondii* par LightCycler (Roche Diagnostics) et mise en place d'un contrôle interne (beta-globine humaine). Cette technique a été utilisée, avec succès, sur les échantillons du Contrôle national de Qualité en décembre 2008 et 2009; elle est actuellement évaluée sur des échantillons de patients (Travail de thèse).

De façon parallèle à la mise en place de techniques pour le diagnostic moléculaire, la diffusion d'un contrôle national de qualité est une priorité du CNR.

2-1-2 Description de la collection des souches de toxoplasmes disponible au CNR

- **Description :**

La collection associée au CNR comporte 821 échantillons provenant de cas de toxoplasmoses humaines (apport de 142 prélèvements supplémentaires en 2008) :

- 317 extraits ADN toxoplasmiques provenant de produits pathologiques (apport 2008 : 100) : 217 ont pu être génotypés
- 504 isolats (apport 2008 : 42).

Dans le cadre d'une activité de recherche, la collection CRB s'est également enrichie en 2008 de souches d'origine animale, 63 provenant d'Afrique (Gabon), 8 provenant du territoire français (faune sauvage Champagne Ardenne et Corse).

- **Conditions de stockage**

Les souches sont stockées en azote liquide à Reims et à Limoges.

Les ADN extraits de produits pathologiques sont stockés à -80°C dans un congélateur sécurisé. Pour ces derniers, la déclaration de collection conforme au décret n°2007- 1220 du 10 août 2007 relatif au prélèvement, à la conservation et à la préparation à des fins scientifiques d'éléments du corps humain a été faite en 2008 à Reims et à Limoges au titre des collections des CHU respectifs et déclarée acceptable

- **Conditions de mise à disposition de ces collections**

Les souches, avec l'accord de cession signé du biologiste responsable de l'isolement, sont destinées à être disponibles pour des projets scientifiques. Elles sont alors intégrées à la structure Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma. Un site Internet avec catalogue a été créé (<http://www.toxobrc.com>) exposant les conditions de dépôt et de cession des souches.

Les subcultures de la souche déposée au CRB *Toxoplasma* sont distribuées à la communauté scientifique, après avis d'un conseil scientifique, moyennant un coût permettant de couvrir les frais encourus par la préparation et la conservation.

Cette activité de cession ne concerne que les souches, et non l'ADN issu de produits pathologiques humains.

2.2 Activités d'expertise de l'année 2008

- **Décrire le nombre de souches ou prélèvements** réceptionnées, identifiées, caractérisées et leur provenance (LABM, laboratoires hospitaliers...) en distinguant leur origine le cas échéant (France, étranger) et le niveau de caractérisation

Tous les échantillons provenant de cas de toxoplasmose humaine ont été adressés par des laboratoires hospitaliers (CHU et CH). Pour les laboratoires de Fort de France et de Saint Laurent du Maroni, les échantillons sont réacheminés au CNR par le laboratoire Cerba. En 2008, ont également été étudiés au CNR des extraits ADN d'humeur aqueuse provenant de Colombie.

Ainsi, 142 prélèvements ont été étudiés, correspondant à 125 dossiers (patient individuel ou couple mère-enfant). La proportion de souches par rapport aux extraits d'ADN provenant de produits pathologiques n'est plus que de 30% (42/142) contre 47% en 2007.

Sur les 125 dossiers, des fiches de renseignements cliniques et épidémiologiques étaient jointes dans 116 cas.

- **Décrire le nombre de souches testées pour leur sensibilité aux anti-infectieux et résultats**

La chimiosensibilité de 17 souches de la collection du CRB *Toxoplasma* a été étudiée en 2007 au sein du laboratoire du Pr Derouin consitutif du Pôle Souches du CNR, des souches appartenant aux génotypes I (n=3), II (n=6), III (n=3), recombinant I/III ou atypique (n=4) avaient été choisies. Trois souches ont été caractérisées avec des niveaux de résistance à la sulfadiazine (Meneceur et al., 2008).

Les mécanismes de résistance ont été recherchés sur trois souches résistantes à la sulfadiazine (RMS-1995-ABE, RMS-2001-MAU et B1). Les variations des niveaux d'expression des ABC transporteurs paraissent plus liées au génotype de la souche analysée qu'à son niveau de sensibilité à la sulfadiazine. L'étude des polymorphismes sur le gène de la DHPS a permis l'identification d'une mutation en position 587 pour la souche RMS-1995-ABE dont l'implication dans la résistance à la sulfadiazine reste à démontrer. Il a surtout été observé une augmentation de l'activité d'efflux due aux Pgp, dans les souches résistantes avec une différence marquée entre souches résistantes et sensibles (Thèse d'Université, Reims).

- **Décrire le nombre de souches ou échantillons de matériel biologique issus des collections du CNR distribués**

Des souches de référence (type I, type II ou III) ou leur ADN ont été demandées au CRB pour des études scientifiques en Uruguay, aux USA, en Finlande, et en Allemagne. Cinquante souches de la collection CRB issue du CNR ont fait l'objet d'une cession dans le cadre d'une étude sur la variabilité génétique et l'évolution de la virulence chez *Toxoplasma gondii* pilotée par l'UMR 5163 CNRS-UJF, Grenoble. Une autre souche du CNR, typique de souches africaines, a été envoyée en Allemagne (Köln) pour une étude sur un système cellulaire de résistance à l'infection.

- **Analyse de l'évolution des tendances en termes d'activités**

La part des extraits ADN par rapport aux souches est en augmentation (70% versus 53% en 2007). Pour expliquer cette évolution (déjà notée en 2007), on peut reprendre les explications déjà avancées en 2007 (recours plus important à la biologie moléculaire pour le diagnostic des différentes formes cliniques de toxoplasmose dont les toxoplasmoses d'immunodéprimés ou les toxoplasmoses oculaires, formes cliniques pour lesquelles le recours à l'inoculation à la souris est moins systématique), on peut également ajouter l'abandon par plusieurs laboratoires du réseau de la technique d'inoculation à la souris du placenta ou du liquide amniotique pour des raisons en partie économiques (coût de la main d'œuvre et du maintien d'une Animalerie agréée). Cette tendance rend plus difficile le génotypage (Annexe Pôle Souches Fig 1).

- **Expertise dans le domaine de la sérologie :**

Réalisation des premières expertises sur les réactifs commercialisés testés

Ces premières évaluations sur le panel 1 du CNR et le panel de l'AFSSAPS ont été réalisées sur 9 réactifs par 3 laboratoires du groupe de travail.

Panel 1 du CNR: estimation de la sensibilité et de la spécificité (n= 500)

- 200 sérums IgG négatives et IgM négatives : permettant l'estimation de la spécificité
 - 200 sérums IgG positives et IgM négatives : permettant l'estimation de la sensibilité des IgG
 - 50 sérums entre 10-100 UI/ml
 - 50 sérums entre 100-150 UI/ml
 - 50 sérums entre 150-250 UI/ml
 - 50 sérums > 250 UI/ml
 - 100 sérums IgG positives et IgM positives pour estimer la sensibilité des IgM
- Tous les sérums avec des IgM positifs ont une avidité des IgG élevée avec la technique EVOLIS Biorad.

Panel de l'AFSSAPS utilisé pour réévaluer les réactifs toxoplasmose comportant :

Le panel G constitué de 68 sérums dont :

- 23 négatifs
- 9 taux limites
- 36 positifs

La gamme S constituée de 10 échantillons de 0.3 à 288.5 UI/ml

Les neuf premières techniques de diagnostic *in vitro* évaluées sont :

- Techniques d'agglutination
 - Toxoscreen BioMérieux
 - Toxocell Biokit
 - Toxolatest Fumouze
 - HAI Fumouze
 - Pastorex Toxo BioRad
- Techniques type ELISA automatisées
 - VIDAS IgG et IgM BioMérieux
 - VIDIA IgG et IgM BioMérieux
 - AXSYM IgG et IgM Abbott
 - Platelia IgG et IgM BioRad

Résultats préliminaires sur le panel 1

Le nombre total de sérums analysés est de 430 et se décompose comme suit :

- Sérums avec des IgG négatives et IgM négatives : 199
- Sérums avec des IgG positives et IgM négatives : 174
- Sérums avec des IgG positives et des IgM positives : 57

Les premiers résultats en terme de spécificité, sensibilité, valeur prédictive positive (VPP) et négative (VPN) sont rassemblés dans les tableaux ci-dessous (Tableau 1,2 et 3).

L'ensemble de ces résultats sera discuté (début 2009) par les membres du groupe de travail du Pôle afin de déterminer la poursuite des évaluations sur les panels 2 et 3.

Tableau 1 : Résultats des techniques de dépistage rapide (agglutination)

	Spécificité	Sensibilité	VPP	VPN
Toxocell Biokit	99,5	99,96	99,55	96,59
Toxolatest Fumouze	98,99	93,51	99,08	92,92
Toxoscreen Biomérieux	100	100	100	100
Pastorex Biorad	100	98,7	100	98,51
HAI Fumouze	100	100	100	100
Cellognost Behring	100	99,5	99,57	100

Tableau 2 : Résultats des techniques ELISA pour les IgG

	Spécificité	Sensibilité	VPP	VPN
VIDAS IgG	100	99,57	100	99,5
VIDIA IgG	100	99,57	100	99,5
AXSYM IgG	99,5	99,57	99,57	99,5

Tableau 3 : Résultats des techniques ELISA pour les IgM

Nous avons fait figurer les résultats en tenant compte ou non de la zone grise dans les calculs

	Spécificité	Sensibilité	VPP	VPN
VIDAS IgM	99,7	64,91	9,05	94,91
VIDAS IgM	99,7	56,14	7,92	92,08
VIDIA IgM	97,86	78,95	84,91	96,82
VIDIA IgM	97,86	61,4	81,4	94,32
AXSYM IgM	100	85,96	100	97,9
AXSYM IgM	100	82,46	100	97,39

Résultat dans la zone grise considéré comme positif

Le Laboratoire Associé Sérologie a été sollicité par la DRASS Provence –Alpes –Côte d'Azur pour une expertise sur un cas de signalement pour anomalie au contrôle national de qualité visant sur les déterminations des sérodiagnostics de la toxoplasmose. Après enquête, le CNR a été interrogé sur les suites à donner concernant les patients ayant reçu des résultats considérés comme non fiables. Le Pôle a examiné ce dossier et le CNR a rendu un avis de conduite d'information auprès des patientes en âge de procréer.

Expertise dans le domaine de la biologie moléculaire :

1. Expertise des pratiques de diagnostic

La recommandation de pratiques et de techniques/méthodes de diagnostic moléculaire fait partie des objectifs de ce Pôle. Néanmoins, cet objectif a été repoussé étant donné que des études comparatives de méthodologie de réalisation complexe sont d'abord nécessaires avant de pouvoir parvenir à un consensus sur ce sujet délicat.

2. Expertise des techniques et réactifs

L'un des premiers objectifs du Pôle "Biologie moléculaire" du CNR est de réaliser des études comparatives des méthodes de diagnostic moléculaire de la toxoplasmose afin d'une part de définir des seuils minimum de sensibilité à atteindre, et d'autre part, de dégager des méthodes à recommander au niveau national. Ces méthodes de PCR sont "artisanales" ("*in-house*") dans tous les centres de diagnostic en France, ce qui entraîne nécessairement des variations d'efficacité, et peut-être de performances. Ces différences apparaissent surtout dans de faibles concentrations de toxoplasmes (< 10 parasites par mL). Néanmoins, il est primordial de tester ces faibles concentrations dans les études comparatives car près de la moitié des liquides amniotiques infectés contiennent des charges parasitaires inférieures à 10 / mL (Costa et al. 2001, *Prenat Diagn.* 21:85-8).

Les deux études comparatives de 2007 ont été réalisées avec le souci constant d'éliminer au maximum les multiples biais et causes de variations qui peuvent entrer en jeu dans les méthodes moléculaires. Ces études avaient deux objectifs différents : pour la première, évaluer et classer les différentes méthodes de diagnostic moléculaire utilisées dans les laboratoires impliqués dans le Pôle; pour la deuxième, évaluer et comparer cinq méthodes commerciales d'extraction de l'ADN pour ce diagnostic moléculaire. Ces deux études ont été réalisées avec le souci constant d'éliminer au maximum les multiples biais et causes de variations qui peuvent entrer en jeu dans les méthodes moléculaires et ne sont pas directement en rapport avec l'objet étudié. Cette mission s'avère très délicate lorsqu'on connaît l'intrication étroite des différentes étapes, soit pré-analytiques soit intrinsèques au diagnostic moléculaire. Malgré la complexité de l'analyse des résultats, il apparaît que chacune de ces études pourra donner lieu à des recommandations futures concernant l'extraction d'ADN, la cible ADN utilisée, et l'optimisation des conditions de la méthode de PCR.

L'analyse des résultats de ces études a été faite en 2008 montrant:

1) qu'une des cibles ADN utilisées autorise des performances nettement supérieures de la méthode de PCR;

2) que l'optimisation des conditions de PCR (à méthode égale) a également une importance. Par contre, nos données sont insuffisantes pour conclure à des différences significatives entre couples d'amorces différents pour une cible donnée; bien que la littérature ait déjà signalé de telles différences.

De même, l'analyse de l'autre étude comparative, réalisée en 2007 entre trois laboratoires du GdT, et qui visait à comparer cinq méthodes commerciales d'extraction, a été faite. Les résultats mettent en évidence des **différences significatives entre les méthodes d'extraction**.

Ces études pourront donner lieu à des **recommandations futures** concernant l'extraction d'ADN, la cible ADN utilisée, et l'optimisation des conditions de la méthode de PCR. Deux articles sont en cours de rédaction, de façon à conforter les recommandations qui en découleront par le poids d'une publication.

3. Elaboration d'un matériel biologique de référence.

Le Pôle s'est focalisé sur cet objectif pour l'année 2008 : pouvoir disposer d'un matériel dit "étalon", discriminant, robuste, reproductible, et produit en grande quantité. L'objectif étant que tout laboratoire puisse en disposer pour tester et valider des méthodes de PCR-toxoplasmose sur une base commune. La lyophilisation de ce matériel a fait l'objet de nombreuses mises au point et été réalisée en collaboration avec un industriel. Des études réalisées à Montpellier ont montré que la perte d'ADN parasitaire était négligeable, même à de très basses concentrations

(plus discriminantes pour tester les performances des laboratoires). Des quantités importantes ont pu être préparées, et des protocoles d'utilisation sont diffusés aux laboratoires volontaires pour améliorer leurs propres pratiques et méthodes.

4. Contrôle de Qualité national en PCR-Toxoplasmose

Le Pôle a renouvelé l'organisation du CQN en 2008, basé sur une gamme de trois concentrations basses de toxoplasmes, préparées avec le matériel étalon cité ci-dessus. Il a été suivi par 29 participants (ensemble des laboratoires de CHU possédant l'agrément pour le DPN de la toxoplasmose, mais aucun laboratoire privé). Il a montré une excellente sensibilité de la méthode pour la grande majorité des laboratoires impliqués, avec un seuil inférieur à 10 toxoplasmes / mL de liquide amniotique pour 27 centres et entre 20 et 50 toxoplasmes par mL pour les deux restants. Aucun faux positif n'a été relevé. Par ailleurs, 15 laboratoires ont exprimé des résultats de quantification de la charge parasitaire en toxoplasmes par mL. Quatre de ces centres ont rendu des résultats hors-gamme. Pour les 11 autres, les résultats sont relativement fiables et en adéquation avec les concentrations attendues. Ces données montrent un net progrès sur ce point entre 2007 et 2008, tout en soulignant le besoin d'une méthode de quantification et d'une gamme identique pour tous.

5. L'objectif d'homogénéisation des méthodes de diagnostic moléculaire à un niveau national a fait place, de façon plus pragmatique, à celui de proposer des seuils de détection minimum qui devraient être atteints par les laboratoires. Ces seuils seraient définis grâce à des contrôles de qualité externes plus fins que ceux actuellement proposés (tant au niveau national qu'au niveau européen). La comparaison des performances des méthodes diagnostiques au sein du GdT vise précisément à définir ces seuils. La définition de ces seuils est en cours de réalisation au sein du Pôle.

3/ ACTIVITES DE SURVEILLANCE

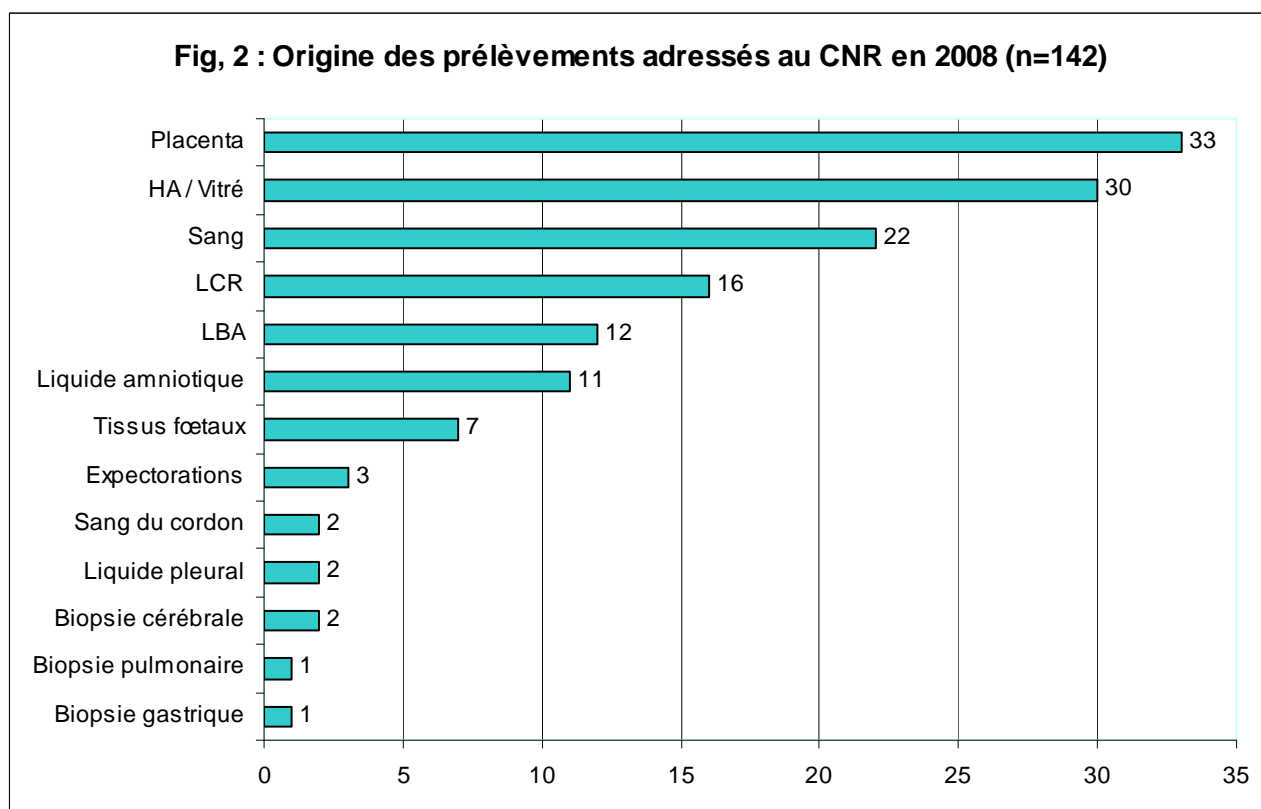
Le réseau des laboratoires participant aux activités du CNR a été créé en 2006 sur la base du volontariat avec fédération de 32 laboratoires experts dans le domaine répartis en France métropolitaine et dans les DOM-TOM (**Annexe 1 Pôle Epidémiologie**).

3.1. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

- Réseau de partenaires :

- **Description des partenaires** : la collecte des souches de toxoplasmes et des ADN toxoplasmiques provenant de produits pathologiques repose sur un réseau de parasitologues (ToxoBS) mis en place depuis 2002. Il rassemble 29 laboratoires hospitaliers, correspondant à tous les laboratoires de parasitologie de France, à l'Institut de Puériculture de Paris, le laboratoire du CH de Saint Laurent du Maroni, le laboratoire Cerba. Des envois occasionnels ont été faits par des laboratoires étrangers (Allemagne, Belgique, Italie, Danemark, Colombie). (Annexe Pôle souches Tableau 4).
- **Répartition par type d'activités** : chacun de ces laboratoires participe au diagnostic de la toxoplasmose par PCR et, pour la majorité à l'isolement du toxoplasme par inoculation à la souris. Il collecte les données cliniques et épidémiologiques afférentes avant d'adresser l'isolat ou l'ADN parasitaire aux laboratoires de Reims et de Limoges.
- **Répartition géographique** : En 2008, sur les 29 centres français, 20 ont adressé des prélèvements. Il reste des zones non couvertes telles que les territoires et départements de l'Océan Indien et du Pacifique.

Définition de l'échantillon de souches isolées



- Analyse de la distribution des différents types d'agents caractérisés en fonction des critères pertinents (âge, sexe, géographie) et analyse des tendances

1- Distribution des géotypes chez les patients et relation avec l'origine géographique

L'origine géographique de la contamination ne peut être que présumée pour les patients immunodéprimés réactivant une infection ancienne. Pour les cas de toxoplasmose congénitale ou les cas de primo-infection chez des patients immunocompétents ou immunodéprimés, en l'absence de voyage récent à l'étranger, l'infection est présumée être en relation avec le pays d'habitation. Même dans ces cas de primo-infection (en cours de grossesse ou non), en raison de la possibilité d'infection à partir de viande importée, l'origine géographique de la souche ne peut être affirmée avec certitude.

Compte-tenu de ces remarques, la répartition des patients en fonction de l'origine géographique présumée de l'infection est la suivante :

- France : 97
- Amérique du Sud (Guyane française, Brésil, Colombie) : 15
- Afrique (Cameroun, Côte d'Ivoire, Sénégal) : 13

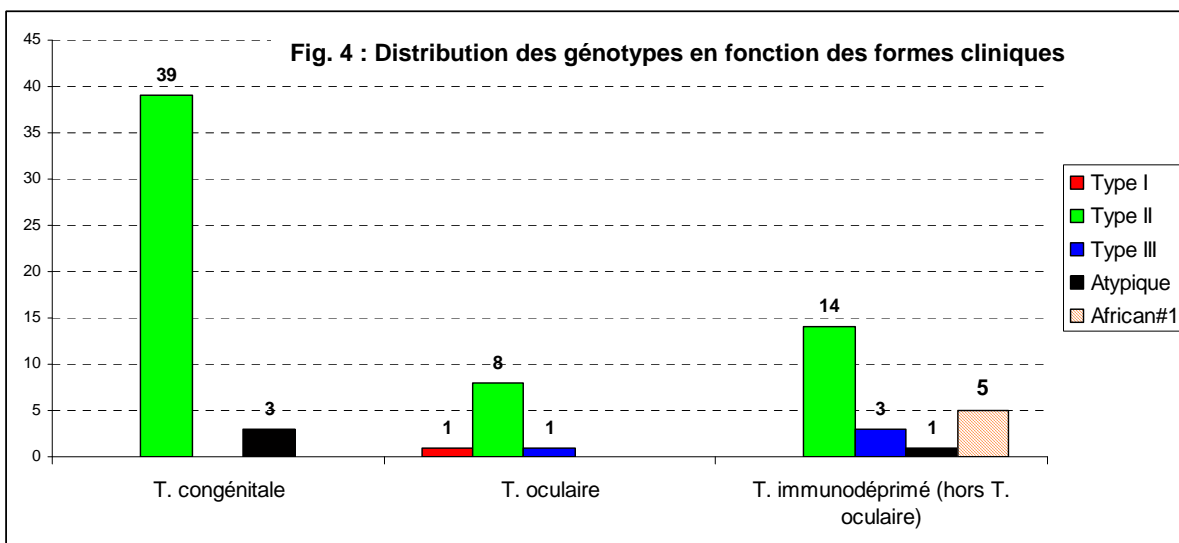
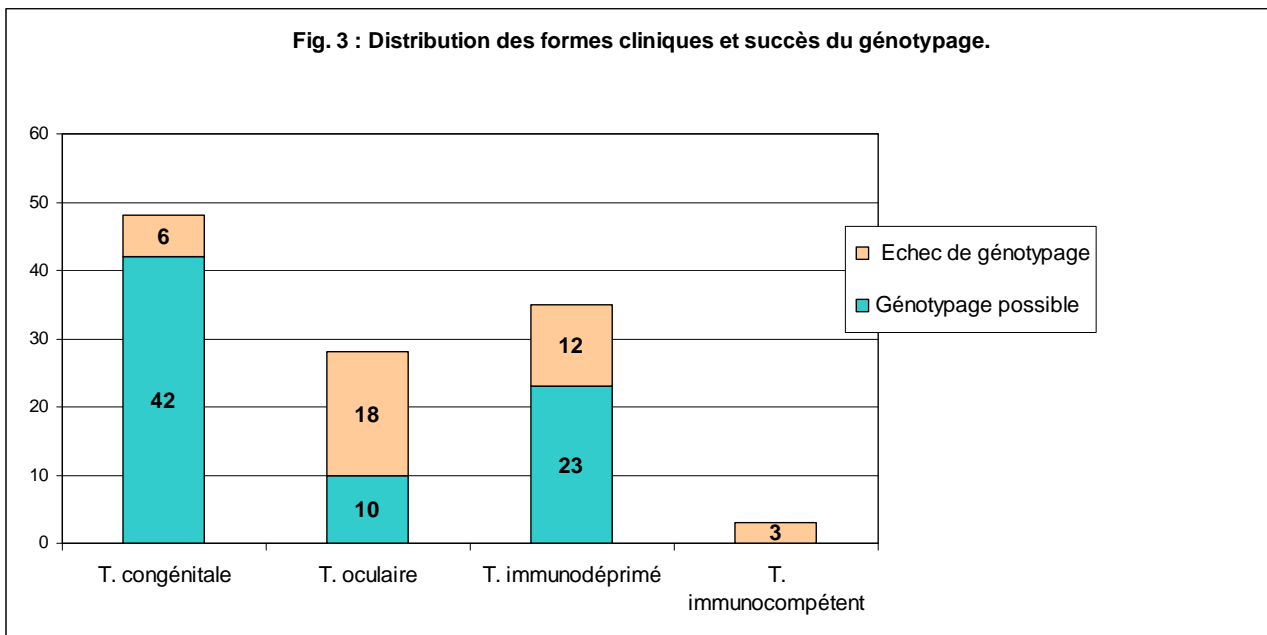
Le géotypage a été possible dans 78 cas. La répartition des géotypes en fonction de l'origine géographique est la suivante :

Le géotypage a été possible dans 78 cas. La répartition des géotypes en fonction de l'origine géographique est la suivante :

- **65 infections présumées acquises en France métropolitaine :**
 - o 59 Type II (93.65%) : Un pourcentage similaire, montrant la prédominance du type II en France, est retrouvé d'année en année. Il n'y a pas de modification fondamentale de l'épidémiologie de la toxoplasmose acquise en France. Ceci peut être mis en relation avec l'enquête faite sous l'égide de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) qui retrouve 99% de type II dans les souches provenant de viandes de mouton en France.
 - o 1 Type III : à signaler que l'enquête de la DGAL a permis de détecter un cas d'infection due à un type III dans la viande de mouton.
 - o 2 Africa #1 : ce géotype ainsi dénommé car retrouvé habituellement chez les patients africains est retrouvé chez 2 patients sidéens réactivant leur infection. Un séjour en Afrique n'est pas rapporté pour ces patients.
 - o 3 Atypiques : ces 3 cas correspondent à des cas de toxoplasmoses congénitales pour lesquelles aucun voyage à l'étranger en cours de grossesse n'a été retrouvé. Ils peuvent témoigner soit de la circulation en France de géotypes atypiques (non détectés jusqu'à présent dans la faune locale domestique ou sauvage), soit d'une infection liée à la consommation de viande importée.
- **4 infections acquises en Amérique du Sud :**
 - o 3 Atypiques : il s'agit d'infections acquises en Guyane Française.
 - o 1 type I : il s'agit d'une infection acquise en Colombie.
- **9 infections présumées acquises en Afrique** (réactivation chez de patients immunodéprimés)
 - o 2 Type II (22%)
 - o 3 Type III (33%)
 - o 3 Africa #1 (33%) : ce géotype est retrouvé de façon habituelle chez des patients venant de différents pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre. Il a également été retrouvé lors d'un travail de recherche chez les animaux domestiques au Gabon (travail de thèse A. Mercier, en collaboration avec le Centre International de Recherche de Franceville, Gabon). Cette large répartition confirme la nature clonale de ce géotype.
 - o 1 Atypique

L'analyse détaillée des différents marqueurs montrent que les génotypes atypiques sont différents les uns des autres (Annexe Pôle Souche Tableau 5).

2- Distribution des formes cliniques associées aux souches et/ou ADN toxoplasmiques envoyés au CNR en 2008. (Figure 3 et 4).



3- Génotypes des isolats responsables de toxoplasmoses congénitales envoyés au CNR en 2008.

Le génotypage a été possible dans 87.5% des cas.

Le génotype II est en cause dans 92.5% des dossiers étudiés. Il représente l'essentiel des formes asymptomatiques à la naissance (Tableau 6). La sévérité de la forme clinique obéit à la règle classique des formes asymptomatiques observées essentiellement après infection du dernier trimestre de la grossesse. Toutefois, nous observons :

- une infection antéconceptionnelle et une périconceptionnelle, dues à des toxoplasmes de type II, transmises au fœtus : les 2 enfants sont asymptomatiques, même si l'un présente des calcifications intracrâniennes.

- A l'opposé, une infection tardive, estimée entre 20 et 30 SA, due à un type II responsable d'une mort néonatale dans un tableau de toxoplasmose disséminée :

Observation IPP-2008-BER – type II:

Département d'habitation de la mère : 77

Pas de voyage à l'étranger

Infection vers 28-29 semaines d'aménorrhée, Pas de traitement antenatal

A la naissance :

Détresse respiratoire, hépatosplénomégalie, anasarque, CIVD, ictère, pétéchies, thrombopénie, cytolysse hépatique.

A J10 :

Images d'atrophie cérébrale à l'ETF, vaste oedème inflammatoire maculaire unilatéral masquant probablement une atteinte rétinienne. Décès par hypoxémie réfractaire en incompetence myocardique.

Anatomopathologie : atteinte pluriviscérale à T. gondii. Pneumopathie interstitielle, myocardite, myosite, inflammation des testicules, des surrénales, de la thyroïde, du pancréas, de l'œsophage et de l'estomac. Méningo-encéphalo-myélite subaiguë diffuse, sans nécrose, compatible avec une infection toxoplasmique à un stade précoce de l'atteinte cérébrale.

Ces aspects inhabituels évoquent soit le rôle de facteurs parasitaires non explorés par le génotypage (facteurs de virulence, inoculum), soit de facteurs génétiques ou immunitaires de l'hôte. Il n'y a pas eu d'exploration immunologique pour l'enfant décédé en période néonatale.

Tableau 6 : Distribution des génotypes en fonction des formes cliniques de toxoplasmoses congénitales.

	Type II	Atypique
TC asymptomatiques	27 - 1 infection périconceptionnelle - 2 infections 1 ^{er} trimestre - 23 infections 3 ^{ème} trimestre - 1 non précisée	1 - infection 3 ^{ème} trimestre
TC sévères	5 - 1 avortement spontané (infection 19 SA) - 2 morts fœtales (infections 5 et 18 SA) - 1 mort néonatale J10 –infection 28 SA) - 1 dilatation ventriculaire (infection 8 SA)	1 - IMG
Calcifications intracrâniennes	2 - 1 infection anteconceptionnelle - 1 infection vers 22 SA	0
Calcifications intracrâniennes + chorioretinite	0	1 - infection avant 17 SA
Pas de renseignements	5	0

Les 3 génotypes atypiques se distribuent entre une forme sévère, une asymptomatique, et des calcifications intracrâniennes associées à une rétinohoroïdite. Lors des années précédentes, nous avons noté que ces génotypes atypiques étaient associés à des formes sévères.

Un article de synthèse de tous les cas de toxoplasmoses congénitales observées est en cours d'écriture afin de mieux comprendre les relations entre génotypes et formes cliniques.

4- Toxoplasmose du patient immunodéprimé (hors toxoplasmose oculaire)

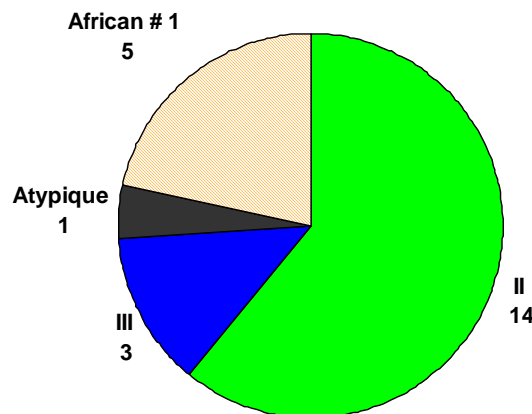
Le CNR a analysé en 2008, 35 dossiers de cas de toxoplasmose chez des patients immunodéprimés :

- 26 sidéens
- 7 hémopathies, allogreffes de moelle ou greffe de sang du cordon
- 1 transplantation rénale
- 1 hépatite C

Le typage a été complet dans 23 cas (6 microsattellites), incomplet dans 3 cas (1 à 2 microsattellites), impossible dans 9 cas.

La distribution des génotypes chez les immunodéprimés est en rapport avec l'origine géographique du patient (Fig.5): sur les 9 génotypes différents du type II, l'infection est présumée avoir eu lieu en Afrique dans 5 cas. Un article colligeant 88 cas de toxoplasmoses des immunodéprimés confirme cette association avec l'origine géographique, mais ne retrouve pas d'association avec la forme clinique de la toxoplasmose ou le pronostic (Ajzenberg et al. JID, 2009).

Fig. 5 : Répartition des génotypes dans 23 cas de toxoplasmoses de l'immunodéprimé analysés en 2008.



5- Toxoplasmose oculaire

Vingt huit dossiers de toxoplasmose oculaire ont été analysés au CNR Pôle souche en 2008. Il s'agit de patients immunodéprimés (11 cas, lymphomes, LLC, SIDA), patients immunocompétents (9 cas). L'état immunitaire n'a pas été précisé dans 8 cas.

Le typage par microsattellites a été possible pour 10 patients (35%). Il n'a été possible dans aucun des cas de toxoplasmose oculaire chez des patients immunocompétents, probablement en raison du nombre plus faible de parasites dans l'humeur aqueuse ou le vitré. Il n'y a pas de spécificité de la toxoplasmose oculaire en France chez les immunodéprimés : la prédominance du type II est celle que l'on retrouve dans les autres formes cliniques de toxoplasmose.

Dans les toxoplasmoses oculaires du patient immunocompétent, seul un plus grand nombre de cas permettra de savoir si l'on retrouve ce qui a été décrit dans la littérature, une association avec des allèles de type I et III.

Pour les patients pour lesquels le génotypage a été possible, les résultats sont les suivants :

Tableau 7 : Distribution des géotypes au cours des toxoplasmoses oculaires.

		Etat immunitaire	Origine géographique
Type II	8	6 immunodéprimés 2 inconnus	
Type I	1	1 inconnu	1 Am Sud (Colombie)
Type III	1	1 immunodéprimé	1 Afrique ?

- Décrire les collaborations avec des réseaux ou partenaires nationaux dans les domaines suivants : santé animale, alimentaire, environnement.

Pour les études destinées à l'épidémiologie animale, le Pôle Epidémiologie collabore directement avec le Pôle Souches pour l'isolement et la caractérisation de souches issues de la faune sauvage ou domestique. Un réseau de correspondants en santé animale a été établi (Laboratoires Vétérinaires Départementaux, réseau SAGIR, AFSSA Nancy, ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) pour les études sur la faune sauvage. Dans le cadre d'une activité de recherche, la collection CRB s'est également enrichie en 2008 de souches d'origine animale, 63 provenant d'Afrique (Gabon), 8 provenant du territoire français (faune sauvage Champagne-Ardenne et Corse).

Le CNR collabore avec le Laboratoire National de Référence (LNR) « Parasites transmis par l'alimentation » AFSSA-LERPAZ (responsable P. Boireau) pour des études visant à une meilleure connaissance de l'impact de l'alimentation sur la contamination humaine. Des programmes de surveillance, établis et financés par la DGAL, portant sur l'évaluation de la présence de toxoplasmes dans la viande de boucherie sont menés dans ce cadre (programme sur la viande ovine en 2007 et sur la viande bovine en 2009).

3.2. Surveillance de la toxoplasmose congénitale en France.

Les objectifs du Pôle Epidémiologie du CNR Toxoplasmose doivent permettre une évaluation de l'incidence et de la prévalence de la toxoplasmose d'une façon générale (circulation du parasite) et en particulier des toxoplasmoses congénitales. Le CNR doit contribuer à la mesure de l'efficacité des mesures de prévention ou de dépistage mises en place depuis de nombreuses années en collaboration avec l'InVS. L'ensemble des études épidémiologiques doivent intéresser les différentes communautés de France métropolitaine mais aussi des DOM-TOM qui vivent dans des contextes environnementaux différents avec des particularités socioculturelles souvent marquées.

1- Une enquête sérologique ponctuelle a été réalisée sur des sérums (de différentes classes d'âge) collectés par l'InVS pour d'autres enquêtes, en vue d'obtenir la prévalence de la toxoplasmose par tranche d'âge. Cette enquête a été confiée par le CNR Coordonnateur à un des laboratoires experts du Pôle Sérologie au CHU de Grenoble où avait également lieu une étude sérologique sur la sérologie herpétique. Ainsi, 1360 sérums ont ainsi été testés en 2008 pour établir un statut sérologique vis-à-vis de la toxoplasmose, selon les modalités suivantes: seules les IgG spécifiques ont été testées, par les techniques Abbott AxSYM IgG et bioMérieux Vidas IgG. Les sérums présentant des résultats discordants ont été analysés par une technique d'immunofluorescence indirecte. Une analyse complémentaire sur un plus grand nombre de sérums a été demandée fin 2008 par l'InVS (réalisation en 2009) afin de disposer de plus de données pour établir la prévalence de la maladie selon les tranches d'âge.

2- Le CNR a répondu à l'Appel d'offre initié par l'INED en collaboration avec l'InVS visant à la constitution d'une cohorte nationale (cohorte ELFE) d'enfants qui naîtront en 2009 et qui seront suivis longitudinalement sur une durée de 20 ans. Le CNR a participé à l'élaboration du

questionnaire pour la question relative à la toxoplasmose et doit analyser courant 2009 les échantillons (sang du cordon) collectés lors de l'enquête préalable conduite en 2008 dans un échantillon de maternités. Les résultats sérologiques permettront de vérifier la concordance des données issues du recueil d'informations dans le carnet de maternité (statut sérologique des mères) et de les comparer aux résultats des enquêtes périnatales.

3- Système national de notification des cas de toxoplasmose congénitale.

Rappel de la constitution de ce système et de ses objectifs (rapport 2007) :

Le CNR de la Toxoplasmose (laboratoire Coordonnateur) en collaboration étroite avec l'InVS a organisé la mise en place d'un système national de déclaration des cas de toxoplasmose congénitale basé sur la notification des cas diagnostiqués par les laboratoires du réseau « Toxosurv ». Un comité de pilotage a été constitué en 2006 par l'InVS regroupant des membres du Pôle Epidémiologie du CNR (I. Villena, T. Ancelle, P. Thulliez), des épidémiologistes de l'InVS (V. Goulet, L. King, V. Vaillant), un médecin parasitologue hors CNR (M. Wallon, Lyon), un gynécologue-obstétricien (A. Berrebi), un pédiatre (P. Garcia), un ophtalmologue (A. Brézin) et un médecin épidémiologiste en Santé Publique (C. Binquet). Ce comité a validé le logiciel spécifique de notification développé par le laboratoire Coordonnateur du CNR en partenariat avec la Société Epiconcept et l'InVS ainsi que le programme statistique développé spécifiquement pour l'analyse des résultats (T. Ancelle, I. Villena, C. Delmas).

Les objectifs de ce système de surveillance sont :

- **Constituer une base nationale des cas de toxoplasmose congénitale afin d'estimer la prévalence de la toxoplasmose congénitale en France.**
- **Recenser au moins 80 % des cas diagnostiqués en France**
- **Estimer le nombre de toxoplasmoses cliniques sévères à la naissance ou au moment du diagnostic (lésions neurologiques et oculaires)**
- **Produire des tableaux de synthèse, accessibles à tous les acteurs impliqués dans la toxoplasmose en France et régulièrement actualisés.**
- **Suivre les tendances de cette prévalence en pérennisant la notification des cas au cours du temps (analyse des cas tous les ans, réalisée l'année N+ 6 mois afin d'inclure tous les enfants atteints notifiés l'année N- y compris les cas notifiés en période anténatale).**

Pour l'instant, il a été décidé que cette surveillance n'avait pas d'objectif de suivi des toxoplasmoses congénitales et ne pourrait donc pas produire de données sur le nombre de séquelles dues à la maladie.

Les laboratoires spécialisés (n=35) déclarent les cas de toxoplasmose congénitale via le site Web (<https://www.chu-reims.fr/notification> de cas). Les laboratoires polyvalents dont la fréquence de notification est moindre déclarent les cas avec une fiche de notification (en période néo et postnatale) adressée au CNR Coordonnateur qui en effectue la saisie dans la base du logiciel. La représentativité nationale de la notification est assurée par l'ensemble des CHU, CHG et laboratoires privés déclarants, drainant l'ensemble du territoire (y compris DOM-TOM). (**Annexe 2 Pôle Epidémiologie**).

Activité 2008 :

La notification des cas a débuté au niveau national en mars 2007. Le bilan des notifications des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France pour l'année 2007 a été effectué au cours de l'année 2008 et discuté à trois reprises au sein d'un comité de pilotage. A l'issue des premières analyses des résultats, le logiciel spécifique de notification a été légèrement modifié dans ses items cliniques (visant notamment à l'amélioration du recueil dans la caractérisation des chorioretinites).

L'analyse détaillée des cas réalisée par le Pôle Epidémiologie a permis un contrôle des cas avec retour vers les centres déclarants lorsque cela l'imposait (incohérence de données,

imprécisions sur les notifications, manque de notifications des cas à la naissance...). Des relances pour la notification des cas de 2007 et 2008 ont été faites au cours de l'année à quatre reprises par le Laboratoire Coordonnateur par mail pour les laboratoires spécialisés (n=35), par courrier, mail et téléphone pour les autres laboratoires (n=74). A l'issue des relances, nous avons pu identifier les laboratoires effectivement impliqués dans le diagnostic de la toxoplasmose congénitale (n=13), les autres (qui avaient été préalablement identifiés en 2006-2007) adressent en fait leurs analyses vers ces laboratoires spécialisés. Une mauvaise compréhension de la demande portant sur l'identification des laboratoires effecteurs de ce diagnostic a été à l'origine de cette surévaluation du nombre de laboratoires inclus dans le réseau de surveillance « Toxosurv ».

Au total le réseau « Toxosurv » comprend donc, à partir de 2009, 48 laboratoires qui participeront à la surveillance de la toxoplasmose congénitale en France, ce système de notification devant être pérenne.

La notification des cas et/ou les corrections apportées par les centres a été définitivement bloquée par les responsables de la base au 31 janvier 2009, donnant lieu à une nouvelle analyse des résultats fin février 2009.

En 2007, 272 cas de toxoplasmoses congénitales ont été diagnostiqués en France conduisant à une interruption de grossesse dans 11 cas (6 Interruptions de grossesse pour raison médicale et 5 Morts fœtales *in utero*) ; 234 enfants sont nés dont sept présentent une atteinte sévère de la maladie et 21 une atteinte modérée, 206 enfants sont asymptomatiques à la naissance. Un logigramme (page suivante) représente le récapitulatif de ces cas.

Ainsi, la létalité liée à la toxoplasmose congénitale est de 4.5% (11 cas/245 cas suivis) et la morbidité globale représente 11.5% (28 cas/245 cas suivis de toxoplasmoses congénitales).

Les résultats présentés (**Annexe 3 Pôle Epidémiologie**) ne sont pas encore disponibles sur le site internet, la validation finale devant être faite par ce comité. Un article sera rédigé dans EuroSurveillance en 2009.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

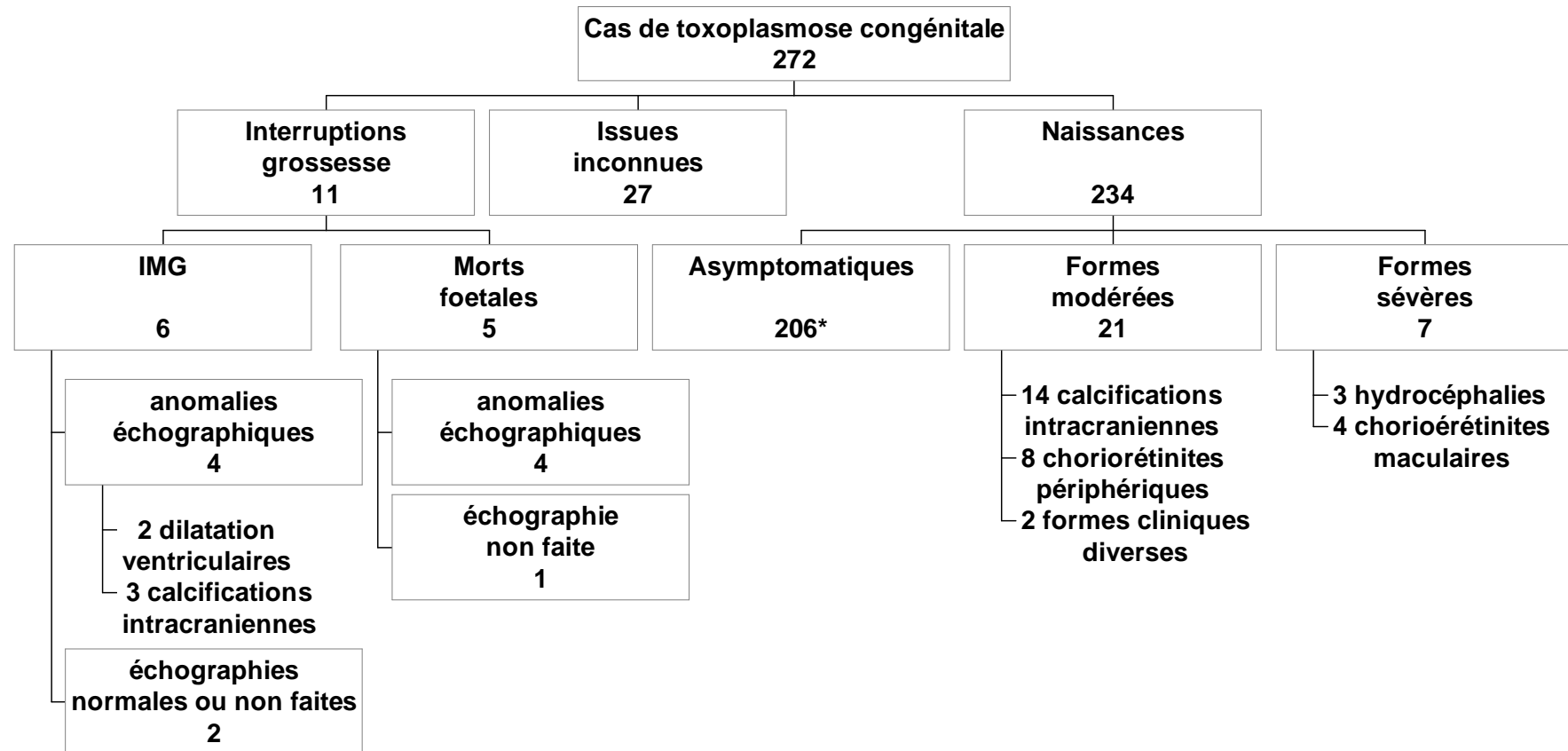
La chimiosensibilité des souches reçues par le CNR dans le courant de l'année 2008 n'ont pas été étudiées. La mesure de la chimiosensibilité actuellement disponible (culture sur cellule MRC5, test de 10 concentrations et quantification par ELISA) reste très difficile à appliquer en routine. Des tests rapides de détection doivent être développés au cours de l'année 2009. Les études ont porté sur la recherche des mécanismes de résistance (Thèse d'Université, 2008).

3.4. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Il n'y a pas de réseau de surveillance européen dans le domaine de la toxoplasmose ni dans celui des souches de toxoplasme.

Suite à une recommandation de l'EFSA, plusieurs pays ont débuté des recherches sur les génotypes de toxoplasmes présents dans la viande, l'expertise du Pôle souches a été sollicitée. Le Pôle Epidémiologie collabore à cette surveillance en France par des programmes de surveillance en partenariat avec le LNR « Parasites transmis par l'alimentation ».

Récapitulatif des cas de toxoplasmose congénitale en France, 2007



* : 1 mort né infecté mais DC sans rapport avec infection toxoplasmose

4/ MISSION D'ALERTE

Une alerte sur la présence de cas groupés de toxoplasmose a été donnée Laboratoire Coordonnateur fin décembre 2008 par un des laboratoires membre du Pôle Epidémiologie (CHU de Montpellier) : 16 patients résidant dans la couronne de l'agglomération de Montpellier ont été recensés pendant une durée de 3 mois (octobre 2008 à janvier 2009), une toxoplasmose évolutive d'un point sérologique a été relevée avec pour certains cas une virulence d'un point de vue clinique (présence d'adénopathies). Une investigation des cas a été menée en collaboration avec l'InVS (via la CIRE de Montpellier et le laboratoire du CHU de Montpellier) dès le mois de janvier 2009 afin de caractériser cette « épidémie ». Aucune souche n'a été isolée à partir de ces cas mais la surveillance de 3 grossesses est encore en cours (recueil du placenta à la naissance pour tenter d'isoler la souche et la génotyper). L'analyse de ces cas groupés est encore en cours et fera l'objet d'une synthèse en 2009.

5/ ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT, DE FORMATION ET DE CONSEIL

- Lister les enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires,

Pour répondre à ces missions, le CNR met en place plusieurs niveaux d'information et de formation. Ainsi, le Laboratoire Coordonnateur, les Laboratoires Associés et les laboratoires constitutifs du réseau du CNR sont des lieux d'enseignement, de stage et de formation de par leur nature hospitalo-universitaire.

Les activités de formation relevant des enseignements effectués par les différents laboratoires constitutifs du CNR sont listées en Annexe Enseignement-Formations.

- Lister les guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

Rédaction d'un guide d'interprétation des sérologies toxoplasmiques et des logigrammes associés (Annexes 1 et 2 Pôle Sérologie).

La rédaction d'un document pour uniformiser les interprétations des sérologies toxoplasmiques a été finalisée et validée par les membres du groupe de travail du Pôle sérologie. Le document a été transmis à l'ensemble des membres du réseau en février 2009 pour avis. Une réunion de consensus pour la validation définitive se tiendra au cours du dernier trimestre 2009 afin de finaliser le document qui sera par la suite mis à la disposition des biologistes sur le site du CNR Toxoplasmosse.

Définition des modalités techniques de prise en charge d'un sérum « problématique » ou en fonction de situations cliniques (Annexes 3 et 4 Pôle Sérologie).

Deux questionnaires sur les modalités techniques de prise en charge d'un sérum « problématique » d'une part et en fonction des situations cliniques rencontrées d'autre part ont été validés par le groupe de travail. Ces questionnaires ont été soumis à l'ensemble des membres du réseau en février 2009 pour avis. Une réunion de consensus pour la validation définitive se tiendra au cours du dernier trimestre 2009 et permettra de finaliser le document.

Etat des lieux des pratiques et des méthodes de diagnostic moléculaire

L'analyse des données complexes et multiformes tirées des enquêtes menées en 2007 a été faite en 2008. A côté des méthodes de PCR pures, les pratiques pré- et para-analytiques ont un rôle essentiel dans les performances du diagnostic moléculaire. Or, elles présentent aussi d'énormes disparités entre laboratoires au niveau national. La publication de cet état des lieux sous forme d'article a été discutée mais peut s'avérer difficile en raison de l'aspect "catalogue" des résultats. Par contre, il pourra servir de base à des propositions d'études comparatives extrêmement ciblées (ex : influence du volume de liquide amniotique utilisé sur la sensibilité du diagnostic) visant à améliorer et harmoniser les pratiques pré- et para-analytiques de ce diagnostic et au terme desquelles un guide des méthodes pourra ensuite être élaboré.

- Modalités de diffusion des données de surveillance et production du CNR :

- Rétro-information aux partenaires

- Une réunion a eu lieu le 16 octobre 2008 à l'initiative du Laboratoire Coordonnateur et des 3 Laboratoires Associés, réunissant l'ensemble des Laboratoires faisant partie du réseau national (32 laboratoires membres du CNR). Cette réunion a permis de présenter le bilan des deux premières années d'activité de chacun des Pôles. Une large participation des centres a été observée (22 centres) et les présentations des activités menées au sein des différents Pôles ont permis un débat entre les responsables de Pôle et les membres du CNR expliquant notamment les stratégies des actions menées et les perspectives pour l'année 2009.

- Envoi individuel du Rapport d'activités 2007 à tous les membres du réseau du CNR.

- Information individuelle des résultats des génotypages des souches envoyées au CNR : en 2008, a été systématisée un envoi individuel des résultats des génotypages selon les modalités de l'informatique du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Limoges.

- L'envoi des résultats du Plan d'Analyse Toxosurv est prévu pour les membres constitutifs du réseau de surveillance Toxosurv dépendant du CNR de la Toxoplasmose (35 Laboratoires).

- Une adresse mail toxosurv@chu-reims.fr est à la disposition de tous les membres pour toutes questions relatives à la notification des cas de toxoplasmoses congénitales, elle est consultable simultanément au CHU de Reims par le Coordonnateur du CNR (I.Villena), l'ARC (C. Delmas) et T. Ancelle du Pôle Epidémiologie (CHU Cochin) permettant ainsi une réponse rapide, l'ensemble des mails est tracé et conservé par le Coordonnateur.

- Diffusion aux professionnels : conférences, Site web

Un site Internet a été créé dès 2007 par le Pôle Epidémiologie ([http://www.brc.toxo.com](https://www.chu-reims.fr/CNR>Toxoplasmose), il est commun à l'ensemble des laboratoires associés du CNR Toxoplasmose par liens avec ces laboratoires. Ce site permet la présentation du CNR de la toxoplasmose (organigramme, missions) et la notification directe des cas de toxoplasmose congénitale. Ce site offre un lien avec le site de l'InVS ainsi qu'avec le Centre de Ressources Biologiques <i>Toxoplasma</i> (<a href=)) créé en 2008 et en lien avec le Pôle Souches.

Des résultats partiels du Plan d'Analyse Toxosurv seront diffusés via le site Internet, les données mises en ligne ont été discutées au sein du Comité de Pilotage mis en place pour ce programme de surveillance des toxoplasmoses congénitales : ces données visent à présenter le réseau et les principaux résultats de cette surveillance avec le logigramme récapitulatif des cas (p. 30).

- [Activités de conseil aux professionnels \(organisation du CNR pour réceptionner les appels ou emails, volume d'activités...\)](#)

Le Rapport annuel d'activités du CNR est mis en ligne sur le site Internet une fois validé par l'InVS (rapport 2007 en ligne hors Annexes).

Le système de surveillance pour la toxoplasmose congénitale mis en place par le Laboratoire Coordonnateur prévoit dans sa structuration des relances périodiques par voie de mail ou courriers (y compris appels téléphoniques pour répondre à certaines demandes spécifiques). Ces envois ainsi que leurs réponses sont tracées. En 2008, quatre relances générales ont ainsi été effectuées pour l'ensemble des laboratoires du réseau Toxosurv et une relance spécifique auprès de chaque laboratoire hors laboratoires spécialisés a été menée pour vérifier la pertinence d'appartenance à ce réseau de notification.

Le Pôle Epidémiologie a été sollicité par une des médecins hygiénistes pour actualiser, sur leur forum de discussion (NOSOBASE) les questions relatives aux mesures de prévention de la toxoplasmose ; une réponse du CNR (T. Ancelle, H. Yéra, I. Villena) a été formalisée.

- [Liste des activités d'expertises ...](#)

ML Dardé, Participation au groupe de travail sur la toxoplasmose de l'EFSA et expert auprès de l'ECDC. P. Thulliez expert auprès de l'AFSSAPS.

I. Villena, expert auprès de l'AFSSA (CES Microbiologie), de l'AFSSAPS (Commission d'Evaluation des Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*) et de l'AFSSET (CES Eaux et agents biologiques).

Un rapport visant à une évaluation du programme national de dépistage de la toxoplasmose congénitale, est mené par l'HAS à la demande de la DGS, avec notamment la participation de plusieurs membres du CNR de la Toxoplasmose (H. Pelloux, P. Thulliez, I. Villena) et l'InVS (V. Goulet) ainsi que d'autres professionnels de santé impliqués dans cette affection. Le rapport et les recommandations de l'HAS seront publiés dans l'année 2009.

6/ TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR

Les travaux de recherche sont menés au sein des Laboratoires du CNR, les Laboratoires coordonnateur et Associés étant tous labellisés (CNRS ou EA).

Pôle Epidémiologie et Pôle Souches

Les travaux en matière d'épidémiologie portent sur les études de prévalence (séroprévalence et isolement de souches) décrites précédemment. Ils ont été menés en 2008 par le Pôle Epidémiologie, en collaboration pour l'isolement des souches avec le Pôle Souches. Des thèses d'exercice ou des thèses d'Université ont été soutenues en 2008 au sein des différents laboratoires constitutifs du CNR (Annexe Enseignement-Formations). Des programmes spécifiques sont également développés :

- Programme interdisciplinaire CNRS « Maladies Infectieuses Emergentes » :
Différentiels génétiques et évolution de la virulence chez le toxoplasme

Objectif :

Projet transversal visant à l'étude de la diversité génétique du toxoplasme et de l'évolution des facteurs parasitaires qui influencent la virulence chez l'homme.

Objectifs spécifiques :

Comparer la structure génétique et l'évolution des populations de toxoplasme circulant en France métropolitaine et en Guyane à travers leur diversité génétique neutre (microsatellites) et sélectionnée (marqueurs génétiques de virulence).

Valider le potentiel discriminant du modèle rat en comparant l'évolution de la toxoplasmose suite à une infection par un type II versus des souches « virulentes » guyanaises.

Porteur de projet : MF Cesbron-Delauw, DR CNRS Grenoble

Equipes associées :

IRD Montpellier (AL Banuls) Génétique des populations

CNR Toxoplasmose Pôle souches (ML Dardé, D. Ajzenberg)

Participation du CNR : les membres du CNR Pôle souches assurent la sélection des souches qui rentreront dans l'étude et effectuent le génotypage par microsatellites. Les souches sélectionnées ont été achetées au CRB en 2008.

- Partenariat CIRMF (Centre International de Recherches de Franceville – Gabon) / équipe EA3174 Université de Limoges – CNR Toxoplasmose Pôle souches :
Diversité génétique des souches de toxoplasme circulant au Gabon (travail de thèse A. Mercier – bourse région Limousin)

Objectif :

Comprendre la diversité génétique des souches africaines et l'éventuel impact des souches de type « européen » sur l'évolution des souches en Afrique

Etat d'avancement :

67 souches ont pu être isolées à partir d'animaux divers dans plusieurs localités du Gabon. Leur étude génétique a confirmé la nature différente des génotypes circulant en Afrique Centrale par rapport à la France, l'existence de plusieurs lignées clonales spécifiques (dont l'Africa#1 retrouvé également chez les patients en Afrique de l'Ouest et du Centre). L'étude visait également, grâce à l'utilisation de 12 microsatellites d'étudier les flux génétiques entre des populations de toxoplasmes isolées dans différentes localisations du pays. L'expérience acquise va être transposée en Guyane Française, et en France métropolitaine.

- PHRC interrégional TOXODFA : **Toxoplasmose cérébrale et SIDA dans les départements français d'Amérique. Apport diagnostique de la PCR et diversité génétique du Toxoplasme.**

Objectif principal :

Evaluer la performance diagnostique de la PCR *Toxoplasma* en temps réel à partir du sang dans la toxoplasmose cérébrale chez les patients atteints de SIDA dans les DFA.

Objectifs secondaires:

Isolement, typage génétique et mise en collection des souches de *Toxoplasma gondii* à l'origine de toxoplasmose cérébrale chez les patients atteints de SIDA dans les DFA.

Partenariats :

Porteur du projet : D. Ajzenberg , EA3174 Limoges, CNR/CRB Toxoplasmose

Centre Hospitalier Universitaire de Pointe à Pitre, Guadeloupe

- Maladies Infectieuses : Lamaury Isabelle
- Laboratoire de Microbiologie : Nicolas Muriel :

Centre Hospitalier Universitaire de Fort-de-France, Martinique

- Maladies Infectieuses et Tropicales : Cabié André
- Laboratoire de microbiologie : Desbois-Nogard Nicole :

Centre Hospitalier Andrée Rosemon de Cayenne, Guyane française

- Maladies Infectieuses et Tropicales : Demar Magalie : (CNR Pôle souches) / Djossou Félix
- Dermatologie : Couppie Pierre :
- Centre d'Information et de Soins de l'Immunodeficiency Humaine de Cayenne: Nacher Mathieu
- Laboratoire de Parasitologie / Mycologie : Carme Bernard (CNR Pôle épidémiologie)

Centre Hospitalier de l'Ouest guyanais, Guyane française

- Médecine : Vautrin Cyrille
- Laboratoire de Biologie Médicale : Boukhari Rachida

Etat d'avancement :

Après avis favorable du CPP Sud Ouest et de la DGS, l'étude a pu commencer en septembre 2008.

- **Convention d'étude pour sérologie, typage et isolement de souches de *Toxoplasma gondii* en Corse**

Objectif : détermination de séroprévalence de la toxoplasmose et caractérisation des génotypes circulant dans la population de sangliers Corse.

Porteur du projet : Laboratoire de Recherches sur le Développement de l'Élevage de Corte (LRDE), INRA (Céline Richomme)

Unité d'Epidémiologie animale de Clermont-Theix (EpiA), INRA (Christian Ducrot)

Partenariats :

- Laboratoire National de Référence (LNR) « Parasites transmis par l'alimentation », AFSSA LERPAZ / UMR BIPAR Maisons-Alfort (Lénaïg Halos)
- Centre National de Référence Toxoplasmose (CNR), CHU de Reims - Laboratoire Parasitologie-Mycologie (Dominique Aubert, Isabelle Villena) Pôle épidémiologie, Laboratoire de Parasitologie de Limoges (ML Darde, D Ajzenberg) Pôle souche
- UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 (Emmanuelle Gilot-Fromont)

Etat d'avancement : (Article soumis à Vet Parasitol.)

50 sérologies ont été effectuées sur des sérums de sangliers capturés en Corse.

13 souches ont été isolées, toutes de type II.

- **Convention d'étude avec co-financement de thèse par la Société Roche pour étude de la résistance des souches de toxoplasmes**

Objectif : déterminer le niveau de résistance médicamenteuse des souches de *T. gondii* et caractériser les mécanismes de résistance impliqués.

Porteur du projet : I. Villena. Etude en cours avec développement d'un test rapide de détermination de la sensibilité des souches.

Pôle Sérologie

- Laboratoire support de Strasbourg : "Infections intra-oculaires : caractérisation de nouveaux biomarqueurs dans la perspective d'une amélioration de la prise en charge diagnostique et thérapeutique": PHRC promu par les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, multicentrique et ouvert, visant à améliorer la prise en charge des infections oculaires graves (uvéites infectieuses et endophtalmies) en caractérisant la réponse inflammatoire et en améliorant la sensibilité diagnostique.

Pôle Biologie Moléculaire

- Laboratoire associé de Montpellier : Etude de la valeur de la PCR sur des prélèvements de sang chez le nouveau-né pour le diagnostic de toxoplasmose congénitale.

Objectif : comparer la valeur de cette analyse à celle plus classique de la PCR sur sang de cordon. Article en cours de rédaction.

- Laboratoire support de Dijon : Evaluation d'une méthode d'extraction automatisée (Appareil commercialisé par Bionobis): Etude encore en cours.

Objectifs : Standardiser la méthode d'extraction d'ADN dans le cadre du DPN en remplaçant la méthode utilisée actuellement (Qiagen DNA Blood Minikit) par une méthode automatisée. L'évaluation de cette technique se fera en partenariat avec le CNR Toxoplasmose qui fournira des suspensions de toxoplasmes parfaitement calibrées en termes de concentration de toxoplasmes. Ce travail permettra à la fois l'évaluation de la technique dans notre laboratoire et la comparaison de cette méthode avec d'autres techniques automatisées déjà évaluées dans le cadre du CNR. Une première phase d'évaluation a montré que cette méthode est aussi sensible que la méthode manuelle préalablement utilisée.

- Laboratoire support de Paris-Cochin : Comparaison du calcul du coefficient de Desmots, de l'immunoblot et de la PCR pour le diagnostic de toxoplasmose oculaire. Cette étude, réalisée sur 40 cas de chorioretinites atypiques, a permis de définir avec quels critères ophtalmologiques guider et augmenter l'efficacité du diagnostic biologique des toxoplasmoses oculaires. Une réaction de chambre antérieure importante et la présence d'un foyer cicatriciel feront privilégier le calcul du coefficient de Desmots. Une taille de foyer actif importante orientera vers la réalisation de l'immunoblot. La sensibilité et la spécificité de la PCR sont élevées quel que soit le statut immunitaire. Le délai entre l'apparition des symptômes et la ponction de chambre antérieure semble être un facteur déterminant pour la positivité des tests sérologiques mais pas pour la PCR. Ce travail a fait l'objet d'une Thèse d'exercice et d'un Mémoire de Biologie Médicale (Mme Hana Talabani, Mars 2008).

- Laboratoire support de Lille : Place de la PCR en temps réel dans le diagnostic de toxoplasmose pulmonaire grave chez le patient immunodéprimé et étude des génotypes toxoplasmiques. Travail soumis à Bone Marrow Transplantation 2009

- Laboratoire support de Grenoble : Etude des transcrits de protéines de rhoptries de *T. gondii* par PCR quantitative en temps réel. Etude encore en cours.

Enfin, deux demandes de PHRC national sont déposées dans le cadre de l'évaluation de protocoles thérapeutiques sur la toxoplasmose congénitale : l'un portant sur les traitements instaurés en cas de séroconversion maternelle (comparaison d'efficacité de la spiramycine versus l'association pyriméthamine –sulfadiazine), l'autre portant sur la durée du traitement postnatal (3 mois versus 12 mois). Les deux PHRC sont portés en **collaboration avec le CNR et la majorité des centres du réseau sont impliqués dans ces programmes.**

7/ LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications nationales

Liste des publications du Pôle Epidémiologie et du Pôle Souches et Laboratoires support.

VILLENA I. Epidémiologie de l'infection congénitale à *Toxoplasma gondii* en France en 2008. Médecine Fœtale et Echographie en Gynécologie N° 76, 36-40, décembre 2008 .

MANDELBROT L., VILLENA I., THIEBAUT R., CHENE G., DEROUIN F., BREZIN A., KIEFFER F., THULLIEZ P. Actualités et controverses thérapeutiques dans la toxoplasmose au cours de la grossesse. Médecine Fœtale et Echographie en Gynécologie N° 76, 45-53, décembre 2008.

BESSIERES MH, CASSAING S, FILLAUX J, BERREBI A
Toxoplasmose et grossesse. Revue Francophone des Laboratoires 2008, Mai, 402, 37-48

Publications internationales

Liste des publications et communications du Pôle Epidémiologie et du Pôle Souches.

D AJZENBERG, H YERA; P MARTY; L PARIS; F DALLE; J MENOTTI; D AUBERT; J FRANCK; MH BESSIÈRES; D QUINIO; H PELLOUX; L DELHAES; N DESBOIS; P THULLIEZ; F ROBERT-GANGNEUX; C KAUFFMANN-LACROIX; S PUJOL; M RABODONIRINA; ME BOUGNOUX; B CUISENIER; C DUHAMEL; T HAI DUONG; D FILISETTI; P FLORI; F GAY-ANDRIEU; F PRATLONG; G NEVEZ; A TOTET; B CARME; H BONNABAU; ML DARDÉ; I VILLENA.
Genotype of 88 *Toxoplasma gondii* isolates associated with toxoplasmosis in immunocompromised patients, and correlation with clinical findings. J Infect Dis, 2009, 199, 1-13.
(incluant tous les laboratoires membres du CNR Toxoplasmose)

AFONSO E., LEMOINE M., POULLE M.L., RAVAT M.C., ROMAND S., THULLIEZ Ph. VILLENA I., AUBERT D., RABILLOUD M., RICHE B., GILOT-FROMONT E. Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. Int. J. for Parasitol., 2008, 38, 1017-23.

AUBERT D., TERRIER ME., DUMETRE A., BARRAT J., VILLENA I. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in some raptors from France. J. Wildlife Dis., 2008, 44, 172-3.

BENARD A., PETERSEN E., SALAMON R., CHENE G., GILBERT R., SALMI L.R. European Toxo Prevention Study Group (Eurotox). (DARDE ML, DEROUIN F, THULLIEZ P, VILLENA I) Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. EuroSurveillance, 2008, 13 (15). Pii : 18834, Review.

DARDÉ ML. *Toxoplasma gondii*, "new" genotypes and virulence. Parasite. 2008;15(3):366-71

DEMAR M., D. AJZENBERG, B. SERRURIER, ML DARDÉ, B. CARME. Atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. Am J Trop Med Hyg. 2008, 78(2):195-197

FREEMAN K, KUAN TAN H., PRUSA A., PETERSEN E., BUFFOLANO W., MALM G., CORTINA-BORJA M. & GILBERT R. The European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot): Hayde M., Pollack A., Wallon M., Peyron F., Romand S., Thulliez P., Romano A., Franck J., Dumon H., Bastien P., Issert E., Bessières M.H., Ferret N., Marty P., Chemla C., Pelloux H., Fricker-Hidalgo H., Bost-Bru C., Semprini E., Savasi V., Paul M., Evengard B., Schmidt D., Salt A., Stanford M.R Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. Pediatrics, 2008, 121: 1215-1222.

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot): Hayde M., Pollack A., Wallon M., Peyron F., Romand S., Thulliez P., Romano A., Franck J., Dumon H., Bastien P., Issert E., Bessières M.H., Ferret N., Marty P., Chemla C., Pelloux H., Fricker-Hidalgo H., Bost-Bru C., Semprini E., Savasi V., Paul M., Evengard B., Schmidt D., Salt A., Stanford M.R. Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. PLoS Neglect. Trop. Dis.: 2008, 2 : e277.

GOLLUB E.L., LEROY V., GILBERT R., CHENE G., WALLON M and the European Toxoprevention Study Group (EUROTOXO) Villena I citée parmi les co-auteurs. Effectiveness of health education on *Toxoplasma*-related knowledge, behaviour, and risk of seroconversion in pregnancy. Eur. J. Obst. Gynecol. and Reprod Biol. 2008, 136, 137-145.

MAUBON D., AJZENBERG D., BRENIER-PINCHART M.P., DARDÉ M.L. & PELLOUX H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis ? *Trends Parasitol.*: 2008 ;24 (7):299-303.

MENECEUR P., BOULDOUYRE M.A., AUBERT D., VILLENA I., MENOTTI J., SAUVAGE V., GARIN J.F., DEROUIN F. *Toxoplasma* drug susceptibility and resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Apr;52(4):1269-77

SOUSA S, AJZENBERG D., VILANOVA M, COSTA J, DARDÉ ML. Use of GRA6-derived synthetic polymorphic peptides in an immunoenzymatic assay to serotype *Toxoplasma gondii* in human serum samples collected from three continents. Clin Vaccine Immunol. 2008;15(9):1380-6

Institut de Puériculture

BENARD A, PETERSEN E, SALAMON R, CHENE G, GILBERT R, SALMI LR; European Toxo Prevention Study Group (EUROTOXO). Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. Euro Surveill. 2008 Apr 10;13(15). pii: 18834. Review.

DUBEY JP, HILL DE, SUNDAR N, VELMURUGAN GV, BANDINI LA, KWOK OC, PIERCE V, KELLY K, DULIN M, THULLIEZ P. IWUEKE C, SU C. Endemic toxoplasmosis in pigs on a farm in Maryland: isolation and genetic characterization of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 2008; 94:36-41.

DUBEY JP, VELMURUGAN GV, ULRICH V, GILL J, CARSTENSEN M, SUNDAR N, KWOK OC, THULLIEZ P. MAJUMDAR D, SU C. Transplacental toxoplasmosis in naturally-infected white-tailed deer: Isolation and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* from fetuses of different gestational ages. Int J Parasitol. 2008; 38:1057-63.

DUBEY JP, MANSFIELD K, HALL B, KWOK OC, THULLIEZ P. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*) and mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). Vet Parasitol. 2008;156:310-3.

FREEMAN K, TAN HK, PRUSA A, PETERSEN E, BUFFOLANO W, MALM G, CORTINA-BORJA M, GILBERT R; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. Pediatrics. 2008;121:e1215-22.

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. PLoS Neglect. Trop. Dis.: 2008, 2 : e277.

JAMIESON SE, DE ROUBAIX LA, CORTINA-BORJA M, TAN HK, MUI EJ, CORDELL HJ, KIRISITS MJ, MILLER EN, PEACOCK CS, HARGRAVE AC, COYNE JJ, BOYER K, BESSIERES MH, BUFFOLANO W, FERRET N, FRANCK J, KIEFFER F, MEIER P, NOWAKOWSKA DE, PAUL M, PEYRON F, STRAY-PEDERSEN B, PRUSA AR, THULLIEZ P, WALLON M, PETERSEN E, MCLEOD R, GILBERT RE, BLACKWELL JM. Genetic and epigenetic factors at COL2A1 and ABCA4 influence clinical outcome in congenital toxoplasmosis. PLoS ONE. 2008 Jun 4;3(6):e2285.

KIEFFER F, WALLON M, GARCIA P, THULLIEZ P, PEYRON F, FRANCK J. Risk factors for retinochoroiditis during the first 2 years of life in infants with treated congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:27-32.

CHU Montpellier

LACHAUD L., CALAS O., PICOT M.C., ALBABA S., BOURGEOIS N. AND PRATLONG F. Value of two IgG avidity commercial tests used alone or in association to date toxoplasmosis contamination. *Diagn Microbiol and Infect Dis*, sous presse

CHU Nice

FREEMAN K, TAN HK, PRUSA A, PETERSEN E, BUFFOLANO W, MALM G, CORTINA-BORJA M, GILBERT R; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. *Pediatrics*. 2008;121:e1215-22.

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. *PLoS Neglect. Trop. Dis.*: 2008, 2 : e277

JAMIESON SE, DE ROUBAIX LA, CORTINA-BORJA M, TAN HK, MUI EJ, CORDELL HJ, KIRISITS MJ, MILLER EN, PEACOCK CS, HARGRAVE AC, COYNE JJ, BOYER K, BESSIERES MH, BUFFOLANO W, FERRET N, FRANCK J, KIEFFER F, MEIER P, NOWAKOWSKA DE, PAUL M, PEYRON F, STRAY-PEDERSEN B, PRUSA AR, THULLIEZ P, WALLON M, PETERSEN E, MCLEOD R, GILBERT RE, BLACKWELL JM. Genetic and epigenetic factors at COL2A1 and ABCA4 influence clinical outcome in congenital toxoplasmosis. PLoS ONE. 2008 Jun 4;3(6):e2285.

CHU Saint Louis

DEROUIN F, PELLOUX H; ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(12):1089-101.

DEROUIN F. & PELLOUX H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2008, 14 : 1089-1101. DUMETRE A, LE BRAS C, BAFET M, MENECEUR P, DUBEY JP,

DEROUIN F, DUGUET JP, JOYEUX M, MOULIN L. Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Vet Parasitol*. 2008.

FRANCK J, GARIN Y JF, DUMON H. LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot confirmatory test for anti-*Toxoplasma* antibody detection. *J Clin Microbiol* 2008, 46, (7), 2334-2338.

FURCO A, CARMAGNAT M, CHEVRET S, GARIN YJ, PAVIE J, DE CASTRO N, CHARRON D, DEROUIN F, RABIAN C, MOLINA JM. Restoration of *Toxoplasma gondii*-specific immune responses in patients with AIDS starting HAART AIDS. 2008 Oct 18;22(16):2087-96.

MENECEUR P, BOULDOUYRE MA, AUBERT D, VILLENA I, MENOTTI J, SAUVAGE V, GARIN YJF and DEROUIN F. *Toxoplasma gondii*: In Vitro Susceptibility of Various Genotypic Strains to Pyrimethamine, Sulfadiazine and Atovaquone. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(4):1269-77.

CHU Toulouse

AUTHIER H, CASSAING S, BANS V, BATIGNE P, BESSIERES MH, PIPY B. IL-13 pre-treatment of murine peritoneal macrophages increases their anti-Toxoplasma gondii activity induced by lipopolysaccharides. Int J Parasitol. 2008 Mar;38(3-4):341-52.

AUTHIER H, CASSAING S, COSTE A, BALARD P, GALES A, BERRY A, BANS V, BESSIÈRES MH, PIPY B. Interleukin-13 primes iNO synthase expression induced by LPS in mouse peritoneal macrophages. Mol Immunol. 2008 Jan;45(1):235-43.

FREEMAN K, TAN HK, PRUSA A, PETERSEN E, BUFFOLANO W, MALM G, CORTINA-BORJA M, GILBERT R; European Multicentre Study On Congenital Toxoplasmosis. Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. Pediatrics Vol. 121 No. 5 May 2008, pp. e1215-e1222

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. PLoS Neglect. Trop. Dis.: 2008, 2 : e277

HÉBRAUD B, KAMAR N, BORDE JS, BESSIÈRES MH, GALINIER M, ROSTAING L. Unusual presentation of primary toxoplasmosis infection in a kidney-transplant patient complicated by an acute left-ventricular failure. NDT Plus. 2008 Dec;1(6):429-432.

JAMIESON SE, DE ROUBAIX LA, CORTINA-BORJA M, TAN HK, MUI EJ, CORDELL HJ, KIRISITS MJ, MILLER EN, PEACOCK CS, HARGRAVEAC, COYNE JJ, BOYER K, BESSIERES MH, BUFFOLANO W, FERRET N, FRANCK J, KIEFFER F, MEIERP, NOWAKOWSKA DE, PAUL M, PEYRON F, STRAY-PEDERSEN B, PRUSA AR, THULLIEZ P, WALLON M, PETERSEN E, MCLEOD R, GILBERT RE, BLACKWELL JM. Genetic and epigenetic factors at COL2A1 and ABCA 4 influence clinical outcome in congenital toxoplasmosis. PLoS ONE. 2008 Jun 4;3(6):e2285

Liste des publications du Pôle Sérologie et laboratoire supports

BRUNET J, PFAFF AW, ABIDI A, UNOKI M, NAKAMURA Y, GUINARD M, KLEIN JP, CANDOLFI E, AND MOUSLI M (2008). *Toxoplasma gondii* exploits UHRF1 and induces host cell cycle arrest at G2 to enable its proliferation. Cell Microbiol 10(4): 902-20.

PFAFF A and CANDOLFI E. New insights in toxoplasmosis immunology during pregnancy. perspective for vaccine prevention. (2008) Parassitologia, 50(1-2): 55-8.

PFAFF A., GEORGES S., CANDOLFI E. (2008) Different effects of *Toxoplasma gondii* infection on adhesion capacity of fibroblasts and monocytes. Parasite Immunol. 30(9) : 487-90.

PFAFF AW, MOUSLI M, SENEGAS A, MARCELLIN L, TAKIKAWA O, KLEIN JP, AND CANDOLFI E (2008) Impact of foetus and mother on IFN-gamma-induced indoleamine 2,3-dioxygenase and inducible nitric oxide synthase expression in murine placenta following *Toxoplasma gondii* infection. Int J Parasitol 38: 249-58.

CHU de Grenoble

DEROUIN F. & PELLOUX H. ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. Clin. Microbiol. Infect., 2008, 14 : 1089-1101.

FREEMAN K, KUAN TAN H., PRUSA A., PETERSEN E., BUFFOLANO W., MALM G., CORTINA-BORJA M. & GILBERT R. The European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot).

Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. *Pediatrics*, 2008, **121** : 1215-1222.

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. *PLoS Neglect. Trop. Dis.*: 2008, **2** : e277

GOLKAR M., AZDAMANESH K., KHALILI G., KOSHKOLGH SIMA B., BABAIE J., MERCIER C., BRENIER-PINCHART M.P., FRICKER-HIDALGO H., PELLOUX H. & CESBRON-DELAUW M.F. Serodiagnosis of recently acquired *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women using enzyme-linked immunosorbent assays with a recombinant dense granule GRA6 protein. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, **61**: 31-39.

MAUBON D., AJZENBERG D., BRENIER-PINCHART M.P., DARDE M.L. & PELLOUX H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis ? *Trends Parasitol.*, 2008, **24** : 299-303.

CHU de Marseille

FRANCK J, GARIN Y JF, DUMON H. LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot confirmatory test for anti-*Toxoplasma* antibody detection. *J Clin Microbiol* 2008, 46, (7), 2334-2338.

FREEMAN K, TAN HK, PRUSA A, PETERSEN E, BUFFOLANO W, MALM G, CORTINA-BORJA M, GILBERT R; European Multicentre Study On Congenital Toxoplasmosis. Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. *Pediatrics* Vol. 121 No. 5 May 2008, pp. e1215-e1222

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. *PLoS Neglect. Trop. Dis.*: 2008, **2** : e277

JAMIESON SE, DE ROUBAIX LA, CORTINA-BORJA M, TAN HK, MUI EJ, CORDELL HJ, KIRISITS MJ, MILLER EN, PEACOCK CS, HARGRAVEAC, COYNE JJ, BOYER K, BESSIERES MH, BUFFOLANO W, FERRET N, FRANCK J, KIEFFER F, MEIERP, NOWAKOWSKA DE, PAUL M, PEYRON F, STRAY-PEDERSEN B, PRUSA AR, THULLIEZ P, WALLON M, PETERSEN E, MCLEOD R, GILBERT RE, Blackwell JM. Genetic and epigenetic factors at COL2A1 and ABCA 4 influence clinical outcome in congenital toxoplasmosis. *PLoS ONE*. 2008 Jun 4;3(6):e2285

KIEFFER F, WALLON M, GARCIA P, THULLIEZ P, PEYRON F, FRANCK J. Risk factors for retinochoroiditis during the first 2 years of life in infants with treated congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27:27-32.

CHU Pitié Salpêtrière

FEKKAR A, BODAGHI B, TOUAFEK F, LE HOANG P, MAZIER D, PARIS L. Comparison of immunoblotting, calculation of the Goldmann-Witmer coefficient, and real-time PCR using aqueous humor samples for diagnosis of ocular toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2008;46(6):1965-7.

Liste des publications du Pôle Biologie moléculaire et laboratoires support

FREEMAN K, TAN HK, PRUSA A, PETERSEN E, BUFFOLANO W, MALM G, CORTINA-BORJA M, GILBERT R; European Multicentre Study On Congenital Toxoplasmosis. Predictors of retinochoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. *Pediatrics* Vol. 121 No. 5 May 2008, pp. e1215-e1222

GILBERT R., FREEMAN K., LAGO E.G., BAHIA-OLIVEIRA L.M.G., TAN H.K., WALLON M., BUFFOLANO W., STANFORD M.R., PETERSEN E. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (Emscot). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared to Europe. *PLoS Neglect. Trop. Dis.*: 2008, **2** : e277

STERKERS Y, VARLET-MARIE E, MARTY P, BASTIEN P, on behalf of the ANOFEL *Toxoplasma*-PCR Quality Control Group. Diversity and evolution of methods and practices for the molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis in France: a four years survey (soumis à publication).

CHU Grenoble

MAUBON D., AJZENBERG D., BRENIER-PINCHART M.P., DARDÉ M.L. & PELLOUX H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis ? *Trends Parasitol.*: 2008 ;24 (7):299-303.

CHU Lille

L DELHAES, J-C MRAZ, E FRÉALLE, I DURAND-JOLY, L MAGRO, D AJZENBERG, M-L DARDÉ, E DEI-CAS, I YAKOUB-AGHA. Severe disseminated toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation in two patients - From txoplasma genotyping to clinical management: an update. (*Soumis à Bone Marrow Transplantation 2009*).

CHU Toulouse

AUTHIER H, CASSAING S, BANS V, BATIGNE P, BESSIERES MH, PIPY B. IL-13 pre-treatment of murine peritoneal macrophages increases their anti-Toxoplasma gondii activity induced by lipopolysaccharides. *Int J Parasitol.* 2008 Mar;38(3-4):341-52.

AUTHIER H, CASSAING S, COSTE A, BALARD P, GALES A, BERRY A, BANS V, BESSIÈRES MH, PIPY B. Interleukin-13 primes iNO synthase expression induced by LPS in mouse peritoneal macrophages. *Mol Immunol.* 2008 Jan;45(1):235-43.

Communications nationales

Liste des communications du Pôle Epidémiologie et du Pôle Souches.

DARDÉ ML, AJZENBERG D. Bilan du CNR Toxoplasmose. 5^{ème} journée du Centre Pluridisciplinaire du Diagnostic Périnatal du Limousin, 19 décembre 2008.

VILLENA I. Actualité sur la toxoplasmose et surveillance de la toxoplasmose congénitale en France. JIB Journées Internationales de Biologie – Paris la Défense – 4-7 novembre 2008.

VILLENA I. Epidémiologie de l'infection congénitale à toxoplasme en 2008. 9^o Congrès de Médecine Fœtale – Cannes 27-29 novembre 2008.

Liste des communications du Pôle Sérologie et laboratoires support

CHU Grenoble

MAUBON D., BOUGDOUR A., HAKIMI M.A. & PELLOUX H. Effet des inhibiteurs d'histones-déacétylases sur le protozoaire *Toxoplasma gondii*. *Journée de la Recherche Médicale*. GRENOBLE : 04 avril 2008.

BULABOIS C.E., FRICKER-HIDALGO H., GARBAN F., BRENIER-PINCHART M.P., HAMIDFAR R., TIMSIT J.F., PELLOUX H. & CAHN J.Y. Infection par *Toxoplasma gondii* après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) : expérience monocentrique sur 4 ans. *Congrès de la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire*. MARSEILLE : 08-11 octobre 2008.

Liste des communications du Pôle Biologie moléculaire et laboratoires support

CHU Grenoble

BULABOIS C.E., FRICKER-HIDALGO H., GARBAN F., BRENIER-PINCHART M.P., HAMIDFAR R., TIMSIT J.F., PELLOUX H. & CAHN J.Y. Infection par *Toxoplasma gondii* après allogreffe de cellules souches hématopoiétiques (CSH) : expérience monocentrique sur 4 ans. *Congrès de la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire*. MARSEILLE : 08-11 octobre 2008.

Communications internationales

Liste des communications du Pôle Epidémiologie et du Pôle Souches.

AUBERT D., AJZENBERG D., DARDE ML., VILLENA I. Molecular characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

DESTAIN ML, FRANCK J, DARDE ML. Evaluation of VIDIA Toxo IgG and Toxo IgM for the routine serodiagnosis of Toxoplasmosis compared to VIDAS reagents. Toxoplasma Centennial Congress, Brazil, September 20-24, 2008

FEKKAR A, AJZENBERG D., DARDÉ ML., BODAGHI B, TOUAFEK F, LE HOANG P, MAZIER D, PARIS L. Direct genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from aqueous humor shows no association between genotype and occurrence of ocular toxoplasmosis. Toxoplasma centennial congress, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008.

HALOS L., AUBERT D., THÉBAULT A., THOMAS M., PERRET C., GEERS R., ALLIOT A., DURAND B., BOIREAU P., VILLENA I. Large scale study of the seroprevalence of toxoplasma gondii in ovine meat for human consumption in France – EMOP, Xth European Multicolloquium of Parasitology, Paris – 24-28 août 2008.

HALOS L., AUBERT D., THÉBAULT A., THOMAS M., PERRET C., GEERS R., ALLIOT A., DURAND B., BOIREAU P., VILLENA I. Survey of the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in ovine meat in France - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

IVOVIĆ V., VUJANIĆ M., KATARANOVSKI M., NIKOLIĆ A., KLUN I., BOBIĆ B., VILLENA I., KATARANOVSKI D., DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ O. Toxoplasmosis in urban rodents in the Belgrade area - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

KLUN I., VUJANIC M., NIKOLIC A., IVOVIC V., BOBIC B., VILLENA I., BRADONJIC S., DJURKOVIC-DJAKOVIC O. Toxoplasmosis In Swine Intended For Human Consumption Slaughtered At The Belgrade City Abatoirs - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

LELU M., LANGLAIS M., VILLENA I., GILOT-FROMONT E. Dynamics of the natural cycle of *Toxoplasma gondii* in contrasted environments: a modeling approach - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

MERCIER A, NGOUBANGOYE B, SALLE B, BISVIGOU U, DARDE ML. Human and animal seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Gabon: comparison between a rural and a urban area. *Xth European Multicolloquium of Parasitology* (EMOP X), Paris, 21-24 Août 2008. (communication orale)

MERCIER A, NGOUBANGOYE B, SALLE B, BISVIGOU U, AJZENBERG D., DARDÉ ML. Population structure of *Toxoplasma gondii* in Gabon. *Xth European Multicolloquium of Parasitology* (EMOP X), Paris, 21-24 Août 2008. (communication orale)

MERCIER A, AJZENBERG D., DURAND P, BAÑULS AL, NGOUBANGOYE B, AUBERT D., VILLENA I., DARDÉ ML. Population structure of *Toxoplasma gondii* in Gabon. *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008.

PEYRON F., MORISSET S., LOBRY J., GARWEG J., PETERSEN E., MERONI V., GOMEZ-MARTIN JE., DE-LA-TORRE A., CARME B., GARIN JF., CESBRON MF. Serotyping of toxoplasma gondii : striking homogeneous pattern between symptomatic and asymptomatic infections within europe and south america. Toxoplasma centennial congress, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008

RICHOMME C., HALOS L., ALLIOT A., PERRET C., THOMAS M., BOIREAU P., CASABIANCA F., DUCROT C., AUBERT D., VILLENA I., DARDE ML., AJZENBERG D., GILOT-FROMONT E., Toxoplasmosis in Corsican wildlife : a first epidemiological survey - Poster. EMOP, Xth European Multicolloquium of Parasitology, Paris – 24-28 août 2008.

SCHMID A., SAUVAGE V., ESCOTTE-BINET S., AUBERT D., TERRYN C., GARNOTEL R., VILLENA I. Molecular characterization expression analysis of a glycoprotein homologue in *Toxoplasma gondii* – Poster. EMOP, Xth European Multicolloquium of Parasitology, Paris – 24-28 août 2008.

SCHMID A., SAUVAGE V., ESCOTTE-BINET S., AUBERT D., VILLENA I. Expression analysis of P-glycoprotein and MRP homologues in the three major genotypes of *Toxoplasma gondii* - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

SCHMID A., SAUVAGE V., ESCOTTE-BINET S., AUBERT D., MENECEUR P., DEROUIN F., VILLENA I. Mechanisms of sulfonamide resistance in three strains in *Toxoplasma gondii* - TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

THÉBAULT A , DARDÉ ML., DEROUIN F FOR TOXOPLASMA AFSSA WORKING GROUP. Estimation of the dose-infection relationship for *Toxoplasma gondii* from experimental animal data. *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008

VILLENA I. Oocyst detection of *Toxoplasma* in water : an example of detection from water in Champagne-Ardenne, France - EMOP, Xth European Multicolloquium of Parasitology, Paris – 24-28 août 2008.

VILLENA I., KING L., ANCELLE T., GOULET V., THULLIEZ P., WALLON M., and the National Centre of Reference for Toxoplasmosis Group, Surveillance system of congenital toxoplasmosis in France. TCC Toxoplasma centennial congress. Buzios, RJ, Brazil - 21-24 septembre 2008.

CHU Cochin/ IPP

TALABANI H, ASSERAF M, YERA H, DELAIR E, ANCELLE T., THULLIEZ P., BRÉZIN A, DUPOUY-CAMET J. Contribution of immunoblotting, real time PCR and Goldma,-Witmer coefficient to the diagnosis of atypical toxoplasmic retinochoroiditis. *Xth European Multicolloquium of Parasitology, Paris, Aug. 2008*

CHU St Louis

A THEBAULT , ML DARDE , F DEROUIN. Estimation of the dose infection relationship for *Toxoplasma gondii* from experimental animal data. Toxoplasma Centennial Congress. Buzios (Brésil) 20-24 sept. 2008

A SCHMID; V SAUVAGE; S ESCOTTE-BINET; D AUBERT; P MENECEUR, F DEROUIN, I VILLENA Mechanisms of sulfonamide resistance in three strains in *Toxoplasma gondii*. Toxoplasma Centennial Congress. Buzios (Brésil) 20-24 sept. 2008.

CHU Toulouse

MH BESSIERES , A BERREBI, S CASSAING, J FILLAUX, JP CAMBUS , A BERRY, C ASSOULINE , JM AYOUBI, JF MAGNAVAL. Diagnosis of congenital toxoplasmosis: prenatal and neonatal evaluation of methods used in Toulouse University Hospital and incidence of congenital toxoplasmosis . Toxoplasma Centennial Congress, Buzios, Brésil, 20-24 sept. 2008.

Liste des communications du Pôle Sérologie et laboratoires support

CHU Grenoble

BOUGDOUR A., MAUBON D., BALDACCI P., BARALE J.C., PELLOUX H., MENARD R. & HAKIMI M.A. Drug-inhibition of HDAC activity: epigenetic control of cell cycle and differentiation in apicomplexan parasites. *Xth European Multicollloquium of Parasitology*. Paris : 24-28 août 2008.

BOUGDOUR A., MAUBON D., BALDACCI P., BARALE J.C., PELLOUX H., MÉNARD R. & HAKIMI M.A. Drug-inhibition of HDAC activity: epigenetic control of cell cycle and differentiation in apicomplexan parasites. *Toxoplasma Centennial Congress*. Buzios, Brésil : 20-24 septembre 2008.

FRICKER-HIDALGO H., BULABOIS C.E. BRENIER-PINCHART M.P., HAMIDFAR R., GARBAN F., BRION J.P., TIMSIT J.F., CAHN J.Y. & PELLOUX H. Diagnosis of toxoplasmosis after allogenic stem cell transplantation: biological results (DNA detection and serological techniques) in 70 patients. *Toxoplasma Centennial Congress*. Buzios, Brésil : 20-24 septembre 2008

CHU Marseille

FRANCK J., Ranque S, Dumon H. Performance evaluation of the new automated VIDIA IgG and status assessment of results within the grey zone. *Toxoplasma Centennial Congress*, Brazil, September 20-24, 2008

GARCIA-MERIC P, FRANCK J., FRANÇOIS P, DUMON H, SIMEONI U. Ophthalmologic outcomes of 113 congenital toxoplasmosis. *Toxoplasma Centennial Congress*, Brazil, September 20-24, 2008

DESTAIN ML, FRANCK J., DARDE ML. Evaluation of VIDIA Toxo IgG and Toxo IgM for the routine serodiagnosis of Toxoplasmosis compared to VIDAS reagents. *Toxoplasma Centennial Congress*, Brazil, September 20-24, 2008

CHU Pitié-Salpêtrière

FEKKAR A, AJZENBERG D, DARDÉ ML, BODAGHI B, TOUAFEK F, LE HOANG P, MAZIER D, PARIS L. Direct genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from aqueous humor shows no association between genotype and occurrence of ocular toxoplasmosis. *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008. (communication affichée)

Liste des communications du Pôle Biologie Moléculaire et laboratoires support

CHU Cochin

TALABANI H, ASSERAF M, YERA H., DELAIR E, ANCELLE T, THULLIEZ P, BRÉZIN A, DUPOUY-CAMET J. Contribution of immunoblotting, real time PCR and Goldma₂-Witmer coefficient to the diagnosis of atypical toxoplasmic retinochoroiditis. *Xth European Multicollloquium of Parasitology*, Paris, Aug. 2008

DELAR E., MONNET D., GRABAR S., DUPOUY-CAMET J., YERA H., BREZIN AP. Respective roles of acquired and congenital infections in presumed ocular toxoplasmosis. *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008

CHU Grenoble

FRICKER-HIDALGO H., BULABOIS C.E. BRENIER-PINCHART M.P., HAMIDFAR R., GARBAN F., BRION J.P., TIMSIT J.F., CAHN J.Y. & PELLOUX H. Diagnosis of toxoplasmosis after allogenic stem cell transplantation: biological results (DNA detection and serological techniques) in 70 patients. *Toxoplasma Centennial Congress*. Buzios, Brazil : 20-24 septembre 2008

Conférences sur invitations

Liste du Pôle Epidémiologie et du Pôle Souches et Laboratoires support.

AJZENBERG D. Genotypes in *Toxoplasma gondii*. *Toxoplasmosis: 100 years later. State of the art in Europe and Italy*, Aula del Quattrocento, University of Pavia, Italy, March 28-29, 2008.

AJZENBERG D. Genotypes in *Toxoplasma gondii*. *Seminar in l' istituto superiore di sanità di Roma*, Italy, April 10, 2008

AJZENBERG D. Genotypes in *Toxoplasma gondii*. *XXVII convegno nazionale della società italiana di protistologia*, University of Camerino, Italy, April 11-12, 2008.

AJZENBERG D. Influence of parasite genotype on clinical manifestations. *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, September 20-24, 2008

DARDÉ ML. *Toxoplasma gondii*, new genotypes and virulence. *Xth European Multicolloquium of Parasitology (EMOP X)*, Paris, 21-24 Août 2008. (communication orale)

DARDÉ ML. Diversity of *Toxoplasma gondii* and clinical consequences. *Germano-Japanese Seminar, Goettingen, Allemagne*, 24 septembre 2008.

DARDÉ ML. Génotypes de *Toxoplasma gondii*. *Toxoplasma gondii, de la découverte à l'épidémiologie moléculaire*, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie, 16 Décembre 2008

DARDÉ ML. for the ToxoBS Network and CNR Toxoplasmosis. AJZENBERG D, AUBERT D, DEMAR M, DEROUIN F, VILLENA I. *Toxoplasma gondii* strain collection and genotyping in France: Biological Resource Centre (BRC ToxoBS). *Toxoplasma centennial congress*, Buzios, Brazil, 20-24 September 2008

VILLENA I. Congenital Toxoplasmosis: Surveillance systems in Europe. *Toxoplasmosis : 100 years later, state of the art in Europe and in Italy*. Pavia, Italie, 28-29 mars 2008.

VILLENA I. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts from water: new approaches and experience in France. *TCC Toxoplasma centennial congress*. Buzios, RJ, Brazil, 21-24 septembre 2008

CHU St Louis

F. DEROUIN. Risk assessment for foodborne toxoplasmosis *Toxoplasma Centennial Congress*. Buzios (Brésil) 20-24 sept. 2008

Liste des communications du Pôle Sérologie et Pôle Biologie moléculaire et laboratoires support

E. CANDOLFI. Physiopathology of congenital toxoplasmosis: cellular and molecular aspects. *Toxoplasmosis : 100 years later*. Pavia (Italie) 28-29 Mars 2008.

E. CANDOLFI. New insights in toxoplasmosis immunology during pregnancy. Perspective for vaccine prevention.. *Congrès de la Société Italienne de Parasitologie*. Pisa (Italie) 18-19 Juin 2008.

CHU Grenoble

PELLOUX H. *Toxoplasma* and AIDS : basic interactions and clinical consequences. *International Conference on Opportunistic Pathogens*. New Delhi (Inde) : 27-29 janvier 2008.

PELLOUX H. Toxoplasmosis in the immunocompromised host : overview of epidemiology and diagnosis. *Toxoplasmosis: 100 years later*. Pavia (Italie) : 28-29 mars 2008.

PELLOUX H. How far have multiplex-PCR and quality assessment of PCR come? 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Barcelone (Espagne) : 19-22 avril 2008.

PELLOUX H, MAUBON D, FRICKER-HIDALGO H & BRENIER-PINCHART M.P. The biological diagnosis of toxoplasmosis: what is new ? *Conférence Internationale de Parasitologie*. Cluj-Napoca (Roumanie) : 06-08 novembre 2008.

8- PROGRAMME D'ACTIVITE 2009-2010

8.1 Perspectives du Pôle Epidémiologie

- Le système national de déclaration des cas de toxoplasmoses congénitales mis en place en 2007 avec notification via le site Web du CNR de la toxoplasmose par le réseau ToxoSurv ou via les fiches de notification adressées aux laboratoires authentifiés, sera renforcé : des relances trimestrielles seront effectuées auprès de l'ensemble des laboratoires participants (n= 48).

Une première analyse des résultats de la notification effectuée en 2008 (fermeture de la base au 30 avril 2009) sera faite par le CNR Coordonnateur pour vérifier les fiches et demander des compléments d'informations aux centres si nécessaire (contrôle des incohérences, données manquantes...) avec demande de réponses avant septembre 2009.

Puis en collaboration avec l'InVS, l'analyse des notifications de 2008 sera faite dans le cours du dernier trimestre pour comparer avec le niveau de notification des cas de 2007.

La poursuite de la notification des cas diagnostiqués en 2009 est demandée (mail de relance effectué au cours du premier trimestre 2009) afin de suivre les tendances et pour répondre aux objectifs de surveillance des maladies infectieuses mis en place par l'InVS avec les différents CNR.

- Le système d'information aux professionnels de santé sera développé et structuré avec accès direct via le site Web du CNR. Les guides de bonnes pratiques en matière de diagnostic sérologique et par biologie moléculaire seront diffusés aux professionnels de santé.

- Les études visant à mieux connaître l'épidémiologie de la toxoplasmose animale se poursuivront via des collaborations avec les différents partenaires cités et en lein avec le Pôle Souches.

8.2 Perspectives du Pôle Souches

Aspects techniques :

- Elaboration d'une technique simplifiée de criblage de la chimiosensibilité, basée sur un test *in vitro* (culture cellulaire) réalisé uniquement avec les concentrations seuils que nous avons définies pour la résistance vis-à-vis de la pyriméthamine, sulfadiazine et atovaquone.

- Etude de la chimiosensibilité de souches ayant été soumises à une pression médicamenteuse (isolats de prélèvement anténatal et isolats placentaires de la même patiente, après traitement)

- Mise au point d'une PCR multiplex avec 9 microsatellites pour améliorer la discrimination des génotypes.

- Etudier à l'aide de 12 microsatellites une sélection de souches françaises afin de mieux comprendre l'épidémiologie locale (flux génétiques, source commune de contamination)

- Meilleure définition des génotypes atypiques, recherche d'autres marqueurs connus pour être associés à la virulence chez la souris.

Aspects organisationnels :

. Améliorer la coordination entre les sites de Reims et de Limoges pour le génotypage et la conservation des souches (processus de certification CRB)

. Améliorer la rapidité du rendu des résultats de génotypage

. Améliorer l'acquisition des données cliniques et épidémiologiques associés aux envois des souches

8.3 Perspectives du Pôle Sérologie

8.3.1. Résultats des premières évaluations sur le panel 1 des neufs premiers réactifs sélectionnés.

8.3.2. Poursuite des expertises des neufs premiers réactifs sur les panels 2 et 3 du CNR.

8.3.3 Expertise sur le panel 1 d'une deuxième série de réactifs de diagnostic *in vitro*.

8.3.4. Validation et diffusion du guide d'interprétation des sérologies toxoplasmiques.

8.3.5. Définition des modalités de prise en charge de sérums dans le cadre d'une expertise. L'activité de contrôle et de conseil fait partie des missions du CNR. Les laboratoires du groupe expert se fixent l'objectif d'une charte d'expertise des sérums à problème.

8.3.6. Tenue à l'automne 2009 d'une réunion regroupant l'ensemble des membres du réseau CNR afin de valider le document « guide d'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose ».

8.4 Perspectives du Pôle Biologie Moléculaire

8.4.1. Contrôle national de Qualité externe en PCR-Toxoplasmose

Un nouveau Contrôle de Qualité externe (CQE) national est prévu en 2009 pour le diagnostic moléculaire de la toxoplasmose congénitale. Ce CQE concerne toujours exclusivement le DPN (excluant pour l'instant le travail sur le sang et le placenta, moins courant et techniquement beaucoup plus difficile à évaluer). Il reste basé sur une participation volontaire, anonyme et gratuite.

Il sera associé cette année à une nouvelle proposition de mise à disposition de matériel biologique "étalon" en vue d'une auto-évaluation par les laboratoires français des performances de leurs propres méthodes moléculaires. Ce matériel sera accompagné d'un guide de réalisation pratique et de conseils destinés à augmenter l'efficacité du procédé.

8.4.2. Comparaison et évaluation de méthodes de diagnostic moléculaire

L'analyse et l'interprétation des données expérimentales des études multicentriques de 2006 et 2007 devrait faire l'objet de deux publications et à des recommandations concernant les cibles ADN, l'extraction d'ADN et l'optimisation des conditions de PCR.

Par ailleurs, plusieurs études comparatives sont en cours ou en prévision :

- une étude comparative de PCR-toxoplasmose entre une méthode "maison" et une trousse commerciale considérée comme la plus performante aujourd'hui est en cours au Laboratoire Associé de Montpellier. Il serait en effet important de disposer d'une méthode commerciale à la fois standardisée et performante pour ce diagnostic délicat.
- une étude de comparaison de kits d'extraction d'ADN commercialisés est en cours dans le Laboratoire-Support de Dijon.
- une étude de comparaison de kits d'extraction d'ADN commercialisés prévue dans le Laboratoire-Support de Paris-Cochin sur l'automate d'extraction d'acides nucléiques Freedom Evo, Tecan®, prévue pour 2008, a été repoussée en 2009.

8.4.3. Etape préliminaire de validation de la quantification par PCR en temps réel

Le Contrôle de Qualité national en DPN de la toxoplasmose a clairement mis en évidence un manque de cohérence entre CHU dans la quantification de la concentration en toxoplasmes dans le liquide amniotique. Or, bien que ce fait soit encore controversé, la charge parasitaire a été rapportée comme pouvant renseigner sur le pronostic foetal et pourrait à ce titre être réclamée par les cliniciens en charge de la toxoplasmose congénitale. Homogénéiser la quantification par PCR sur le plan national est un vaste chantier. Notre objectif aujourd'hui est

de réaliser des études ponctuelles afin de proposer des éléments scientifiques précis pour valider telle ou telle façon de procéder pour cette quantification.

La cible ADN rep529 est de plus en plus utilisée pour le diagnostic moléculaire de la toxoplasmose par PCR en temps réel. Il s'agit d'une séquence non-codante répétée en tandem, dont le nombre de répétitions n'est connu qu'approximativement (autour de 300) et pour une souche. Une étude ponctuelle est prévue par les LS de Toulouse et Paris-Cochin avec pour objectif de valider l'utilisation de la cible rep529 pour la quantification. A partir d'une gamme définie de parasites, le nombre de copies de cette cible sera évalué et comparé avec celui du gène p30, ainsi qu'avec celui du gène B1. Ce dosage sera réalisé pour au moins trois souches du principal type taxonomique de *Toxoplasma gondii* impliqué dans la toxoplasmose congénitale en France (type II) et si possible avec d'autres génotypes.

8.4.4 Recommandations / site Internet

La rédaction de recommandations concernant le "Diagnostic Moléculaire de la Toxoplasmose" sur le site Internet du CNR Toxoplasmose fait partie des objectifs du Pôle "Biologie Moléculaire".

Un premier volet de recommandations s'adressera aux biologistes amenés à réaliser ce diagnostic moléculaire. Elles porteront sur les bonnes pratiques de ce diagnostic (prévention des contaminations, témoins d'inhibition, témoins de contamination, nombre de tubes, ...).

Un deuxième volet de recommandations, adressé aux professionnels de santé, attirera l'attention sur les difficultés et l'interprétation de ce diagnostic et fera le point sur la conduite à tenir recommandée en cas de diagnostic positif ou négatif. Ces recommandations concerneront en priorité le diagnostic de la toxoplasmose congénitale, mais il peut être envisagé dans les années suivantes de les élargir à la toxoplasmose de l'immuno-déprimé.

Le site pourrait également (avec l'accord des participants) recenser la diversité des diverses pratiques et méthodes de ce diagnostic en France.

Des recommandations plus poussées visant à une homogénéisation des méthodes de diagnostic par PCR devront attendre la validation d'études comparatives qui s'avèrent complexes. Par exemple, il pourra être proposé des seuils de détection minimum «standardisés» qui serviraient de référence aux différents laboratoires concernés.

La rédaction de ces recommandations prend plus de temps que prévu. Ceci pour plusieurs raisons : complexité et multiplicité des aspects à aborder, nécessité (pour certains points) d'une validation par des études multicentriques, des expertises ou des conférences de consensus...

La stratégie adoptée en 2009 est de sub-diviser ces recommandations en un nombre maximum de points précis et de rédiger les différents items point par point. Chaque point rédigé et approuvé par le Groupe de Travail pourrait faire l'objet d'une page sur le site du CNR.

Le plan de la partie du site correspondant à ces recommandations devra également être étudié cette année.

CONCLUSION

Le CNR de la Toxoplasmose, créé en 2006, a assuré **une structuration en réseau** reposant sur l'ensemble des laboratoires spécialisés dans le diagnostic de la toxoplasmose (acquise, congénitale, de l'immunodéprimé) sur le territoire national (et DOM-TOM). Pour remplir ses différentes missions d'expertise, contribution à la surveillance, alerte, conseils aux professionnels, le CNR s'est structuré autour de **quatre Pôles d'activités**. Ainsi le **laboratoire Coordonnateur** (Pôle Epidémiologie) assisté de **trois Laboratoires Associés** (Pôle Souches, Pôle Sérologie, Pôle Biologie moléculaire), a entrepris depuis sa création, différentes **actions répondant bien aux missions qui lui ont été confiées**.

Le CNR poursuit ses activités toujours en lien avec les laboratoires de son réseau mais aussi avec les laboratoires d'analyses médicales (privés ou publics) exerçant un rôle dans le diagnostic de cette affection (par exemple en faisant participer ces laboratoires à diverses enquêtes afin d'identifier mieux les pratiques de diagnostic) dans le souci d'une aide aux professionnels de santé. Pour répondre à un objectif d'évaluation de la pertinence de la politique de prévention de la toxoplasmose congénitale mis en place depuis 1978 par les autorités, **le CNR de la Toxoplasmose en collaboration avec l'InVS a instauré un système de surveillance** de cette affection sur la base d'une **notification des cas de toxoplasmose congénitale** reposant sur une collaboration avec tous les acteurs impliqués dans ce diagnostic (laboratoires d'analyses médicales spécialisés ou polyvalents en charge de ce diagnostic) soit 48 laboratoires impliqués dans cette surveillance. **La pérennisation de ce système de surveillance est confiée au CNR par recueil des notifications de cas depuis 2007**. L'analyse des résultats permettra de suivre les tendances de l'infection, pouvant ainsi contribuer dans les années à venir à la réévaluation de la politique de prévention instaurée en France depuis 1978 (à la demande de l'HAS, rapport à paraître).

Le CNR poursuit la **collecte des souches responsables de toxoplasmose en vue de leur caractérisation génotypique et de leur conservation**, assurant ainsi les **missions de surveillance** et le cas échéant d'**alerte** qui lui sont confiées. Une alerte donnée en fin d'année 2008 par un Laboratoire du Réseau et relayée par le Laboratoire Coordonnateur du CNR, est en cours d'investigation en collaboration avec la CIRE concernée (et l'Invs).

En développant et évaluant les techniques de **diagnostic sérologique et moléculaire**, le CNR contribue **aux missions de conseils** et **d'aide** aux laboratoires français en charge de ce diagnostic. Un objectif important pour les deux années à venir est de finaliser des guides d'interprétation des résultats et de proposer des positions de consensus quant aux techniques à mettre en œuvre pour réaliser un diagnostic optimum et fiable. Un lien doit notamment être fait avec les cliniciens en charge de cette affection.

Enfin, le site internet du CNR est un outil important dans la diffusion des informations relatives à cette affection, il est en lien avec le site du Centre de Ressources Biologiques dédié à Toxoplasma.