



HAL
open science

Toxoplasma gondii : aspects cliniques et élaboration d'un modèle animal expérimental pour l'étude du sommeil et du comportement

Damien Dupont

► To cite this version:

Damien Dupont. Toxoplasma gondii : aspects cliniques et élaboration d'un modèle animal expérimental pour l'étude du sommeil et du comportement. Neurosciences. Université de Lyon, 2021. Français. NNT : 2021LYSE1098 . tel-03648745

HAL Id: tel-03648745

<https://theses.hal.science/tel-03648745v1>

Submitted on 21 Apr 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N°d'ordre NNT :

2021LYSE1098

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 476
Neurosciences et Cognition

Spécialité de doctorat : Neurosciences

Soutenue publiquement le 28 mai 2021, par :
Damien, Fabrice DUPONT

***Toxoplasma gondii* : aspects cliniques
et élaboration d'un modèle animal
expérimental pour l'étude du sommeil
et du comportement**

Devant le jury composé de :

Professeur Hervé PELLOUX
Docteure Anna BENCSIK
Professeur Lionel ZENNER
Professeure Patricia FRANCO
Professeure Martine WALLON
Docteur Hideo AKAOKA

PU-PH
DR
PU
PU-PH
PU-PH
CR

Président
Rapporteuse
Rapporteur
Examinatrice
Directrice de thèse
Co-directeur de thèse

Université Claude Bernard – LYON 1

| | |
|---|------------------------------|
| Président de l'Université | M. Frédéric FLEURY |
| Président du Conseil Académique | M. Hamda BEN HADID |
| Vice-Président du Conseil d'Administration | M. Didier REVEL |
| Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire | M. Philippe CHEVALLIER Vice- |
| Président de la Commission de Recherche | M. Jean-François MORNEX |
| Directeur Général des Services | M. Damien VERHAEGHE |

COMPOSANTES SANTE

| | |
|---|--|
| Faculté de Médecine Lyon-Est – Claude Bernard | Doyen : M. Gilles RODE |
| Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud Charles. Mérieux | Doyenne : Mme Carole BURILLON |
| UFR d'Odontologie | Doyenne : Mme Dominique SEUX |
| Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques | Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA |
| Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation | Directeur : M. Xavier PERROT |
| Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine | Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT |

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

| | |
|---|--|
| UFR Biosciences | Directrice : Mme Kathrin GIESELER |
| Département Génie Electrique et des Procédés (GEP) | Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO |
| Département Informatique | Directeur : M. Behzad SHARIAT |
| Département Mécanique | Directeur M. Marc BUFFAT |
| UFR - Faculté des Sciences | Administrateur provisoire : M. Bruno ANDRIOLETTI |
| UFR (STAPS) | Directeur : M. Yannick VANPOULLE |
| Observatoire de Lyon | Directrice : Mme Isabelle DANIEL |
| Ecole Polytechnique Universitaire Lyon 1 | Directeur : Emmanuel PERRIN Ecole |
| Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon) | Directeur : Gérard PIGNAULT |
| Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1 | Directeur : M. Christophe VITON |
| Institut de Science Financière et d'Assurances | Directeur : M. Nicolas LEBOISNE |
| ESPE Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON | |

Résumé

Le parasite *Toxoplasma gondii* a la particularité d'être très répandu chez un grand nombre d'hôtes, dont l'Homme, et de persister sous la forme de kystes, essentiellement au niveau cérébral. Ce tropisme pour le système nerveux central et cette persistance sont associés chez l'Homme à des conséquences potentiellement sévères, bien connues chez le sujet contaminé *in utero* à la suite d'une infection toxoplasmique maternelle pergravidique, et chez l'immunodéprimé. Mon travail a porté sur ces deux contextes particuliers en fournissant des données utiles pour la prise en charge individuelle de ces infections, mais il s'est en grande partie également intéressé à des conséquences nouvellement décrites qui pourraient accroître la morbidité liée à la toxoplasmose chez l'Homme et notamment remettre en cause l'opinion selon laquelle la toxoplasmose chronique de l'immunocompétent serait asymptomatique. Ces données reposent sur des modifications du comportement chez l'animal, et sur des études de séroprévalence chez l'Homme suggérant un lien entre la toxoplasmose et toute une série de troubles de la personnalité, du comportement, et de l'humeur. Le point commun de ces affections est une altération précoce du sommeil. Un substratum biochimique a également été décrit qui comprend également des éléments susceptibles d'altérer le rythme veille sommeil, et notamment une synthèse de dopamine par le parasite. L'objectif principal de mon travail a été d'étudier l'impact d'une toxoplasmose post-natale chronique sur le rythme éveil/sommeil chez la souris. La mise au point d'un modèle murin original à partir de souris CBA/Jrj a permis de réaliser des enregistrements électrophysiologiques très complets, sur une durée de six mois. L'expérimentation incluait une phase de traitement anti-inflammatoire non stéroïdien, et antiparasitaire par sulfaméthoxazole-triméthoprime. Les résultats ont révélé que l'infection chronique par *T. gondii* était associée avec une augmentation de l'éveil et une diminution du sommeil, persistante à long terme mais réversible sous traitement anti-stéroïdien. Ces résultats montrent pour la première fois les conséquences directes de l'infection toxoplasmique sur le comportement, et pourraient laisser penser qu'elles contribuent à faciliter la dissémination du parasite par une activité plus importante de son hôte qui favoriserait sa prédation. Le modèle élaboré pour ce travail et les résultats originaux qu'il a permis d'obtenir ouvrent de nombreuses perspectives pour des travaux chez la souris, destinés notamment à explorer l'impact de modifications de paramètres liés à l'hôte, au parasite, et à la période de contamination par rapport à la naissance. L'étude des conséquences de l'infection au niveau neuronal et neurochimique, et des circuits neurobiologiques impliqués dans le changement de valence olfactive de l'odeur du prédateur pourraient aider à une meilleure compréhension du mécanisme. Des applications sont également prévues chez l'Homme à partir de populations dont l'infection congénitale ou post-natale est bien documentée. En raison de la forte prévalence de la toxoplasmose humaine au niveau mondial, tout résultat qu'il soit négatif ou positif est susceptible d'intéresser un large public.

Mots clés : *Toxoplasma*, sommeil, infection chronique, troubles neuropsychiatriques

Abstract

The parasite *Toxoplasma gondii* specificity is to be present in a large number of hosts – among them humans, and to remain in the form of cysts located mainly in the brain. This tropism as regards to the central nervous system and this persistence are associated with potentially severe consequences in humans, well-known in the case of *in utero* contamination following maternal pergravidic toxoplasmic infection, and in immuno-depressed patients. My work is focussed on these two specific contexts giving data useful to individual care for these infections. However it also deals largely with newly described consequences that could increase human toxoplasmosis morbidity and particularly challenge the belief that chronic toxoplasmosis in the immunocompetent patient would be asymptomatic. These data are based on animal behavioral changes and on human seroprevalence studies suggesting a link between toxoplasmosis and a whole range of personality, behavior and mood disorders. The one point these affections have in common is early sleep alteration. Moreover a chemical substratum has been described that also includes elements potentially altering the sleep-wake rhythm, and especially dopamine synthesis by the parasite. The main aim of my research work has been to study the impact of chronic postnatal toxoplasmosis on the sleep-wake rhythm in mice. Setting up an original murine model with CBA/Jrj mice has allowed to make comprehensive electrophysiological recordings over a six-month period. This experiment included a phase of non-steroidal antiinflammatory and antiparasitic treatment with sulfamethoxazole/trimethoprim. The results have shown that chronic *Toxoplasma gondii* infection was associated with increased wake and decreased sleep, persisting on the long term but reversible with antisteroidal treatment. These results demonstrate for the first time the direct behavioral consequences of *Toxoplasma gondii* infection and their potential contribution to easing the dissemination of the parasite thanks to its host's greater activity encouraging its predatory action. The model developed for this work and the original results it has led to open new perspectives for work on mice – aiming especially to explore the impact of parameter changes related to the host, the parasite and the contamination period in relation to birth. Studying the infection consequences at the neuronal and neurochemical levels, and the neurobiological pathways concerned by the change in the olfactive valence of the predator's odor, could contribute to a better understanding of this mechanism. Applications are also intended in human populations whose congenital or postnatal infections are well-documented. Given the high prevalence of human toxoplasmosis worldwide, any result – be it negative or positive, is likely to be of interest to a wide audience.

Keywords : *Toxoplasma*, sleep, chronic infection, neuropsychiatric disorders

Remerciements

Je remercie tout d'abord les membres du jury :

Monsieur le Professeur Hervé Pelloux, qui a bien voulu s'intéresser à mon travail et présider le jury de cette thèse.

Madame la Docteure Anna Bencsik, Monsieur le Professeur Lionel Zenner, merci de me faire l'honneur de juger ce travail.

Madame la Professeure Patricia Franco, merci d'avoir eu la gentillesse de faire partie de ce jury.

Madame la Professeure Martine Wallon, Monsieur le Docteur Hideo Akaoka, qui ont codirigé ce travail. Je vous remercie pour votre encadrement et tout ce que vous m'avez transmis au cours de ce doctorat.

Monsieur le Docteur Jian-Sheng Lin, pour votre accueil dans votre laboratoire, pour votre soutien, vos précieux conseils et votre gentillesse.

Monsieur le Docteur Laurent Seugnet, pour m'avoir accueilli dans votre laboratoire et pour vos conseils.

A mes très chers collègues, biologistes comme techniciens pour leur bienveillance et leurs encouragements,

Maxime, ton soutien et tes cafés m'ont été d'une aide précieuse,

Françoise, pour la gestion administrative exemplaire tout en sourire et en gentillesse,

Magali, pour son inextinguible bonté, ses compétences et pour avoir supporté mes sempiternelles questions.

Mes parents, mon frère qui m'ont toujours soutenu malgré la distance.

Audrey pour son soutien inconditionnel, et ce quelles que soient les embûches,

Alice, nous pourrons enfin aller à la montagne,

Yaya, toxo-free, qui était là toutes les nuits à mes côtés.

Table des matières

| | |
|--|----|
| Abréviations | 10 |
| Liste des figures et tableaux..... | 13 |
| Introduction..... | 16 |
| Rappels sur Toxoplasma gondii et sur l'épidémiologie de la toxoplasmose | 20 |
| 1. Taxonomie..... | 21 |
| 2. Morphologie et biologie..... | 21 |
| Stades parasitaires | 21 |
| Le tachyzoïte..... | 21 |
| Le bradyzoïte | 22 |
| Le sporozoïte | 22 |
| Cycle parasitaire | 23 |
| Modes de contamination | 26 |
| Voie orale | 26 |
| Voie transplacentaire | 27 |
| Voies annexes..... | 27 |
| 3. Distribution géographique et séroprévalence | 28 |
| 4. Différents génotypes | 29 |
| 5. Immunologie | 33 |
| La réponse innée | 33 |
| La réponse acquise | 34 |
| Franchissement des barrières | 36 |
| Mécanismes de persistance | 37 |
| 6. Prévention | 38 |
| La toxoplasmose congénitale | 41 |
| La toxoplasmose congénitale expose à des lésions sévères | 42 |
| Le modèle de prévention à la Française..... | 44 |
| Travail personnel..... | 47 |
| Ce travail a eu des retombées multiples..... | 48 |
| Article I | 50 |
| La toxoplasmose de l'immunodéprimé | 55 |

| | |
|---|-----------|
| Une hétérogénéité des situations | 56 |
| Des conséquences cliniques souvent dramatiques..... | 57 |
| Un traitement rapide essentiel | 57 |
| Place de la biologie..... | 59 |
| Article II | 63 |
| Article III | 69 |
| Article IV | 77 |
| Conséquences « nouvelles » de la toxoplasmose | 86 |
| Modifications comportementales chez l'animal..... | 88 |
| Arguments en faveur d'une modification du fonctionnement cérébral dans la toxoplasmose chronique | 92 |
| Localisation du parasite dans le SNC..... | 93 |
| Modification du métabolisme des neurotransmetteurs..... | 94 |
| Réaction inflammatoire et neurotransmetteurs..... | 100 |
| Réaction inflammatoire et impact sur la transmission synaptique..... | 101 |
| Génomique et protéomique | 103 |
| Etudes des conséquences de l'infection chronique chez l'Homme | 103 |
| Interactions entre toxoplasmose les pathologies neuro-psychiatriques et neuro-dégénératives . | 104 |
| Résumé des données publiées chez l'homme | 105 |
| Schizophrénie | 108 |
| Troubles de l'humeur et dépression | 113 |
| Troubles obsessionnels compulsifs (TOC) | 114 |
| Troubles bipolaires | 115 |
| Autres psychoses..... | 118 |
| Tentatives de suicide et comportement suicidaire | 118 |
| Troubles cognitifs | 120 |
| Troubles du comportement | 120 |
| Pathologies neurodégénératives..... | 124 |
| Intérêt de l'étude du cycle éveil/sommeil dans le contexte de la toxoplasmose chronique..... | 128 |
| Rappel sur le cycle veille/sommeil | 128 |
| Neurotransmetteurs impliqués..... | 129 |
| Régulation de l'éveil | 131 |
| Régulation du sommeil lent et structures impliquées | 137 |
| Régulation et systèmes impliqués dans le sommeil paradoxal..... | 140 |

| | |
|--|------|
| Mécanismes de contrôle du PS | 142 |
| Régulation du cycle éveil/sommeil..... | 143 |
| Modalité de l'étude du cycle veille/sommeil | 145 |
| Aspects théoriques chez la souris | 147 |
| Les états de vigilance - particularités chez l'Homme | 148 |
| Les troubles du sommeil | 150 |
| Classification et définitions | 151 |
| Troubles du sommeil et troubles psychiatriques | 153 |
| Troubles du sommeil et pathologies neurodégénératives..... | 1555 |
| Sommeil et inflammation..... | 1577 |
| Sommeil et infections..... | 1577 |
| Article V | 1622 |
| Discussion et perspectives | 175 |
| Références..... | 184 |

Abréviations

5HT : Sérotonine

AAH : Aromatic Amino acid Hydroxylase

AASM : American Academy of Sleep Medicine

Ad : Adrénaline

ADN : Acide Désoxy-ribo Nucléique

ARAS : Ascending Reticular Activating System

BHM : Barrière Hémato-Méningée

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

COMT : catéchol-O-méthyl-transférase

CPA : Cellules Présentatrices d'Antigènes

DA : Dopamine

DBH : Dopamine- β -hydroxylase

DC : Cellule Dendritique

DDC : DOPA décarboxylase

EEG : électro-encéphalogramme

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EMG : électro-myogramme

EOG : électro-oculogramme

FRB : Formation Réticulée Bulbaire

GABA : acide γ -aminobutyrique

GAD67 : acide glutamique décarboxylase-67

GBP : p65 Guanylate-Binding Proteins

GiA : noyau réticulaire alpha gigantocellulaire

GiV : noyau réticulaire ventral gigantocellulaire

HL : Hypothalamus Latéral

HP : Hypothalamus Postérieur

ICSD : International Classification of Sleep Disorders

iDC : Cellules Dendritiques immatures
IDO : indolamine-2,3-dioxygénase
IFA : Indirect Fluorescent Assay
IFN : Interféron
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
ILC : Innate Lymphoid Cell ou cellule lymphoïde innée
iNOS : nitrite oxyde synthase inductible
IRG : Immunity Related GTPases
KYN : acide kynurénique
QIN : acide quinolinique
LC : Locus Coeruleus
LDT : noyau latérodorsal du tegmentum
LPT : Tegmentum Pontique Latéral
mDC : Cellules Dendritiques matures
MAO : MonoAmine Oxydases
MCH : Melanin Concentrating Hormon
MLST : MultiLocus Sequence Typing
MnPO : noyau préoptique médian
NA : Noradrénaline
NK : Natural Killer
nNOS : neuronal nitric oxide synthase
OR : Odds Ratio
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAMP : Pathogen-Associated Molecular Pattern
PCR : Polymerase Chain Reaction
PGO : pointes Ponto-Géniculo-Occipitales
PPT : noyau pédonculo-pontin
PS : Paradoxical sleep ou sommeil paradoxal

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

SCN : noyau suprachiasmatique

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise

SL : Sommeil Lent

SLD : noyau sublatéro-dorsal ou subcoeruleus

SOREM : Sleep Onset Rapid Eye Movement

SNC : Système nerveux central

SP : Sommeil Paradoxal

T. gondii : *Toxoplasma gondii*

TH : Tyrosine Hydroxylase

TLR : Toll Like Receptor

TM : Tubercules Mammillaires

TNF : Tumor Necrosis Factor

TGF: Transforming Growth Factor

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VLPO : aire préoptique ventro-latéral

vPAG : substance grise péri-aqueductale ventrale

VTA : Aire Tegmentale Ventrale

WB : Western Blot

WK : Waking ou éveil

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*, d'après cdc.gov

Figure 2 : Biologie, infection et réplication des trois formes parasitaires de *Toxoplasma gondii*, d'après Robert-Gangneux et al, *Clin Microbiol Rev* 2012

Figure 3 : Répartition géographiques des différents génotypes de *Toxoplasma gondii*, d'après Shwab et al, *Parasitology* 2013

Figure 4 : Virulence des différents génotypes de *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin, d'après Simon et al, *Parasite* 2019

Figure 5 : Mécanismes immunologiques suivant la reconnaissance de *Toxoplasma gondii*, d'après Sasai et al, *Int Immunol* 2018

Figure 6 : Modulation des voies de signalization cellulaire par *Toxoplasma gondii*, d'après Melo et al, *Trends Parasitol*, 2011

Figure 7 : Récapitulatif des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France du 1^{er} janvier ou 31 décembre 2018 (n = 151) (<http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wp-content/uploads/2020/03/TC-2018-Site-int.pdf>)

Figure 8 : Risques et mesures prophylactiques pour la toxoplasmose dans les différentes situations cliniques de l'immunodéprimé, d'après Dupont et al, *Trends Parasitol* 2020

Figure 9 : Métabolisme de la dopamine

Figure 10 : Dégradation du tryptophane par la voie des kynurénines, d'après Schwarcz et al, *Neuropharmacol* 2017

Figure 11 : Graphique résumant les résultats d'association entre toxoplasmose et pathologies comportementales et neuropsychiatriques, d'après Milne et al, *Trends Parasitol* 2020

Figure 12 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et schizophrénie, d'après Sutherland et al, *Acta Psychiatr Scand* 2015

Figure 13 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et schizophrénie, d'après Monroe et al, *Schizophr Bull* 2015

Figure 14 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et dépression, d'après Wang et al, *Sci Rep* 2014

Figure 15 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et dépression, d'après Nayeri-Chegeni et al, *PLoS ONE* 2019

Figure 16 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et TOC, d'après Nayeri-Chegeni et al, *PLoS Negl Trop Dis* 2019

Figure 17 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après Sutterland et al, *Acta Psychiatr Scand* 2015

Figure 18 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après de Barros et al, *J Affect Disord* 2017

Figure 19 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après Snijders et al, *Transl Psychiatry* 2019

Figure 20 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et tentatives de suicide, d'après Sutterland et al, *Psychol Med* 2019

Figure 21 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et accidents de la route, d'après Sutterland et al, *Psychol Med* 2019

Figure 22 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et accidents de la route, d'après Gohardehi et al, *Exp Parasitol* 2018

Figure 23 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie de Parkinson, d'après Bayani et al, *Acta Trop* 2019

Figure 24 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie de Parkinson, d'après Zhou et al, *Biomed Res Int* 2019

Figure 25 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie d'Alzheimer, d'après Bayani et al, *Acta Trop* 2019

Figure 26 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie d'Alzheimer, d'après Nayeri-Chegeni et al, *Microb Pathog* 2019

Figure 27 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant l'éveil, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017

Figure 28 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant le sommeil lent, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017

Figure 29 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant le sommeil paradoxal, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017

Figure 30 : Régulation du cycle éveil/sommeil, d'après Kilduff et al, *Technical Considerations and Clinical Aspects* 1999

Figure 31 : Métabolisme du tryptophane

Figure 32 : Exemple d'électro-encéphalogrammes chez l'Homme et chez la souris pour les différents états de vigilance, d'après Tesoriero et al, *Brain Res Bull* 2019

Figure 33 : Exemple de spindles et de complexe K, tracé EEG, d'après <https://raphaelvallat.com/spindles.html>

Figure 34 : B. Hypnogramme chez l'Homme et C. pourcentages de temps passé dans chaque état de vigilance chez l'Homme et chez la souris, d'après Tesoriero et al, *Brain Res Bull* 2019

Tableau 1 : Incidence globale et poids de la maladie selon la répartition par région de l'Organisation Mondiale de la santé, Torgerson et al, *Bull World Health Org* 2013.

Introduction

A l'exception de la toxoplasmose congénitale et de la toxoplasmose de l'immunodéprimé, la toxoplasmose humaine est considérée comme une maladie infectieuse bénigne, souvent asymptomatique. Ce constat clinique explique sans doute un manque d'intérêt de la part des pouvoirs publics du monde entier, donc un investissement public et industriel limité pour le développement de moyens préventifs et thérapeutiques contre la toxoplasmose. En pratique, cette disponibilité insuffisante des moyens de lutte se traduit par une prévalence de toxoplasmose très élevée chez l'Homme dans le monde (autour de 30 % en moyenne). Paradoxalement, des tableaux cliniques sévères ordinairement rares, finissent par concerner un nombre important de patients dans l'absolu, à cause de cette forte prévalence. Dans ce travail, nous essayerons de montrer pourquoi les pouvoirs publics et économiques devraient apporter une plus grande aide au monde de la recherche biomédicale pour mieux contrôler la transmission de *Toxoplasma gondii*.

T. gondii est un parasite unicellulaire capable d'infecter une grande variété d'hôtes dans le monde entier, principalement des Mammifères. Le parasitisme est l'une des modalités de coexistence de deux (ou plusieurs) êtres vivants, les autres étant le saprophytisme, le commensalisme, la symbiose ou la vie libre ; ces modalités se différencient essentiellement par les interactions et le degré de dépendance entre les partenaires. Un parasite a pour objectif principal de se multiplier au sein de son hôte et de se transmettre, c'est pourquoi un équilibre entre la virulence parasitaire et les défenses de l'hôte est indispensable, sans quoi la perpétuation à plus long terme de ce partenariat devient problématique. On parle de paix armée, telle que définie par Sergent pour le paludisme. L'interaction entre le parasite et son hôte, loin d'être statique, permet une coévolution des deux partenaires qui aboutit en général à une sélection d'hôtes de plus en plus résistants, face à des parasites de moins en moins pathogènes. La coévolution de *T. gondii* et son adaptation à de nombreux Mammifères hôtes ont permis sa dissémination à une échelle globale, probablement grâce au développement des activités humaines

(chasse, agriculture), à la domestication des chats (les félidés étant les hôtes définitifs), mais également aux migrations humaines et animales. De nos jours, sa prévalence peut aller jusqu'à 90 % pour certaines espèces animales.

La prévalence très élevée de *T. gondii* chez les humains dans le monde est sans commune mesure par rapport à celles des autres parasites microscopiques (*Plasmodium*, Trypanosomes). Elle est le résultat d'un défaut de mesures de prévention (vaccins, examen des viandes contaminées ...) et d'un déficit en traitement efficace sur les formes enkystées du parasite. Cette haute prévalence explique l'existence de plusieurs problèmes cliniques quantitativement non-négligeables chez l'humain, même si la proportion des cas symptomatiques est faible dans l'absolu. C'est en particulier le cas pour (1) des complications graves neurologiques ou ophtalmologiques chez les nouveau-nés présentant une toxoplasmose congénitale, pouvant aller jusqu'à la mort fœtale *in utero* et (2) des atteintes graves/décès chez les populations immunodéprimées, en augmentation dans nos sociétés modernes (HIV, traitements immunosuppresseurs ...). En effet, une immunosuppression peut induire une réactivation de la toxoplasmose, d'une forme chronique bénigne (persistance de kystes dans les tissus nerveux et musculaire de l'hôte) vers une forme clinique grave, via une multiplication parasitaire intense, entraînant souvent des encéphalites sévères.

Il persiste de nombreuses zones d'ombre concernant cette parasitose, tant au plan épidémiologique, diagnostique que dans sa prise en charge. C'est tout un pan du cycle évolutif du parasite qui reste à décrypter, afin de mieux comprendre sa persistance, sa transmission et par là, l'épidémiologie des formes cliniques connues du grand public, telles que la toxoplasmose congénitale et la toxoplasmose de l'immunodéprimé. Des études antérieures ont pu montrer que *T. gondii* se multiplie avec brassage génétique (gamètes – oocytes) chez ses hôtes définitifs (essentiellement les chats domestiques) ou d'une manière clonale ou polyclonale chez ses hôtes intermédiaires (autres Mammifères y compris l'humain). Bien que pouvant se transmettre par différentes voies, d'hôtes intermédiaires en hôtes intermédiaires, ou bien d'hôtes intermédiaires vers les chats et inversement, ces mécanismes

n'expliquent pas à eux seuls la grande réussite de ce parasite. Les oocystes produits par les hôtes définitifs représentent une forme transmissible extrêmement résistante et durable dans l'environnement. L'ingestion de ces oocystes constitue probablement la source de contamination principale chez les humains. Par ailleurs, il a été suggéré que *T. gondii* est capable de favoriser sa transmission d'un hôte source vers une hôte cible en manipulant leurs comportements pour augmenter le nombre et/ou la durée de contacts entre ces hôtes. Des modèles d'étude chez les rongeurs ont mis en évidence plusieurs comportements corroborant cette idée, comme la diminution de la néophobie ou bien la conversion de la peur innée en attraction pour l'urine de chat. Chez les humains, les données sur les changements comportementaux associés à la toxoplasmose restent encore fragmentaires et souvent descriptifs. Des études de séroprévalence ont suggéré une association entre infection chronique et différentes altérations du comportement humain ou de la personnalité impliquées dans des pathologies neurologiques ou psychiatriques, comme la schizophrénie.

L'objectif de cette thèse est d'éclairer les zones d'ombres de nos connaissances sur les différentes formes cliniques de la toxoplasmose, mais également de présenter un modèle animal murin, modèle le plus éthiquement acceptable, permettant d'étudier les effets de l'infection chronique sur le fonctionnement cérébral qui pourraient être impliqués dans la manipulation comportementale de l'hôte.

Nous nous intéresserons dans un premier temps aux aspects cliniques du traitement de la toxoplasmose congénitale, complication infectieuse gravissime d'une grossesse, qui est encore très mal codifiée (Article I). Ensuite, bien que faisant de nombreux ravages, la toxoplasmose de l'immunodéprimé reste mal connue et nous chercherons à en préciser l'épidémiologie, les facteurs de risque, la présentation clinique mais également les moyens de prévention mis en œuvre ainsi que les stratégies diagnostiques à notre disposition (Article II, III, IV). Enfin, un travail expérimental sur l'impact de l'infection chronique sur le fonctionnement cérébral nous permettra de présenter les altérations

quantitatives et qualitatives du cycle éveil/sommeil (Article V), qui ont été démontré comme des index précoces et sensibles pour d'autres perturbations neurologiques et psychiatriques. A l'inverse, ces altérations du cycle éveil/sommeil induites par la toxoplasmose pourraient aussi nous permettre de comprendre l'apparition des symptômes neuro-psychiatriques et comportementaux chez l'humain.

Rappels sur
Toxoplasma gondii
et sur
l'épidémiologie de
la toxoplasmose

1. Taxonomie

Toxoplasma gondii est un protozoaire, c'est-à-dire un protiste hétérotrophe. C'est donc un organisme eucaryote unicellulaire mobile se nourrissant par phagocytose. Parasite intra-cellulaire obligatoire, il appartient au Phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Conoidasidae*, à l'ordre des *Eucoccidioridae*, à la famille des *Sarcocystidae* et enfin à la sous-famille des *Toxoplasmatinae*. Le genre *Toxoplasma* ne contient qu'une espèce, *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux 1908) Nicolle & Manceaux 1909, découverte chez un rongeur, *Cnetodactylus gundi*, par Charles Nicolle et Louis Hubert Manceaux à l'Institut Pasteur de Tunis en 1908. C'est l'agent de la toxoplasmose, affection parasitaire la plus répandue dans le monde, et zoonose d'importance médicale et vétérinaire.

2. Morphologie et biologie

Le parasite peut se présenter sous trois formes distinctes au cours de son cycle évolutif : le tachyzoïte, le bradyzoïte et le sporozoïte.

Stades parasitaires

Le tachyzoïte

On parle également de forme végétative. C'est la forme principale de dissémination et de multiplication dans l'organisme hôte. Mesurant de 6 à 8 μm de long sur 3 à 4 μm , elle a une forme d'arc. Son extrémité antérieure comporte un appareil de pénétration appelé complexe apical. Intra-cellulaire, le tachyzoïte est très fragile et rapidement dégradé dans le milieu extérieur et par les sucs digestifs. Il se développe dans les cellules de tous les animaux à sang chaud, les Vertébrés (Mammifères et Oiseaux compris). Les tachyzoïtes se multiplient par un processus particulier de multiplication asexuée au sein d'une vacuole parasitophore : l'endodyogénie, où deux parasites fils s'individualisent à l'intérieur de la membrane du parasite, qui va éclater pour libérer ainsi les deux parasites fils. C'est

la forme responsable de la transmission materno-fœtale ainsi que de la transmission lors de transfusion sanguine.

Le bradyzoïte

C'est une forme intracellulaire morphologiquement proche de la forme tachyzoïte, mais possédant un métabolisme ralenti. Agrégés dans des kystes possédant une membrane épaisse et résistante (10 à 10⁴ bradyzoïtes par kyste), les bradyzoïtes résultent d'une série de multiplications asexuées successives et ils vont progressivement envahir l'intégralité de la cellule infectée. De forme sphérique ou allongée, au sein des cellules nerveuses, les kystes peuvent mesurer de 10 à 100 µm pour les plus âgés. C'est la forme de résistance du parasite qui lui confère la faculté de persister dans les tissus de l'hôte pendant toute sa vie, mais également de résister aux sucs digestifs, permettant ainsi la contamination par voie orale. Ils ont la particularité de rester infectants à des températures de +4°C jusqu'à trois semaines [1]. Résistants à des températures négatives comprises entre -1°C et -8°C pendant plus d'une semaine, ils sont en général détruits à des températures inférieures [2]. A l'inverse, ils sont détruits à la température de 67°C, la survie à des températures inférieures dépend donc de la durée de cuisson [1]. Les kystes se localisent principalement dans les tissus pauvres en anticorps, comme le système nerveux central (SNC), les muscles ou la rétine. Ils ont longtemps été considérés comme des formes « dormantes » répliquativement parlant, mais il a été montré récemment que les bradyzoïtes présents dans les kystes entretenaient régulièrement des cycles de multiplication [3]. Ils élicitent la réponse immunitaire par la production d'anticorps sécrétés traversant la membrane kystique, et entretenant de fait l'immunité. C'est la forme responsable de la transmission orale et de la transmission par greffe d'organe.

Le sporozoïte

Groupés par quatre au sein de deux sporocystes, eux-mêmes contenus dans un oocyste, il s'agit d'une forme de résistance et de contamination mesurant environ 14 µm sur 9 µm. La paroi de l'oocyste est une structure extrêmement résistante. Ainsi, les oocystes, résultant de la reproduction sexuée du

parasite, peuvent demeurer infestants pendant près de 18 mois dans le sol humide [4]. Ils survivent jusqu'à 54 mois à des températures de +4°C, et 106 jours à -10°C [5]. Ils sont particulièrement imperméables, ce qui explique leur forte résistance aux désinfectants [4], ainsi qu'à l'acide chlorhydrique digestif. Ils sont donc responsables de la contamination des Herbivores mais aussi des Hommes par ingestion d'aliments souillés.

Cycle parasitaire

Le cycle parasitaire de *T. gondii* fonctionne selon un système de prédation naturelle, résultant de deux composantes différentes : la multiplication asexuée qui s'effectue chez l'hôte intermédiaire, et la reproduction sexuée chez l'hôte définitif. Les dynamiques existantes entre ces deux composantes sont extrêmement variables et résultent de facteurs extérieurs, géographiques, climatiques ou liés aux populations des différents hôtes.

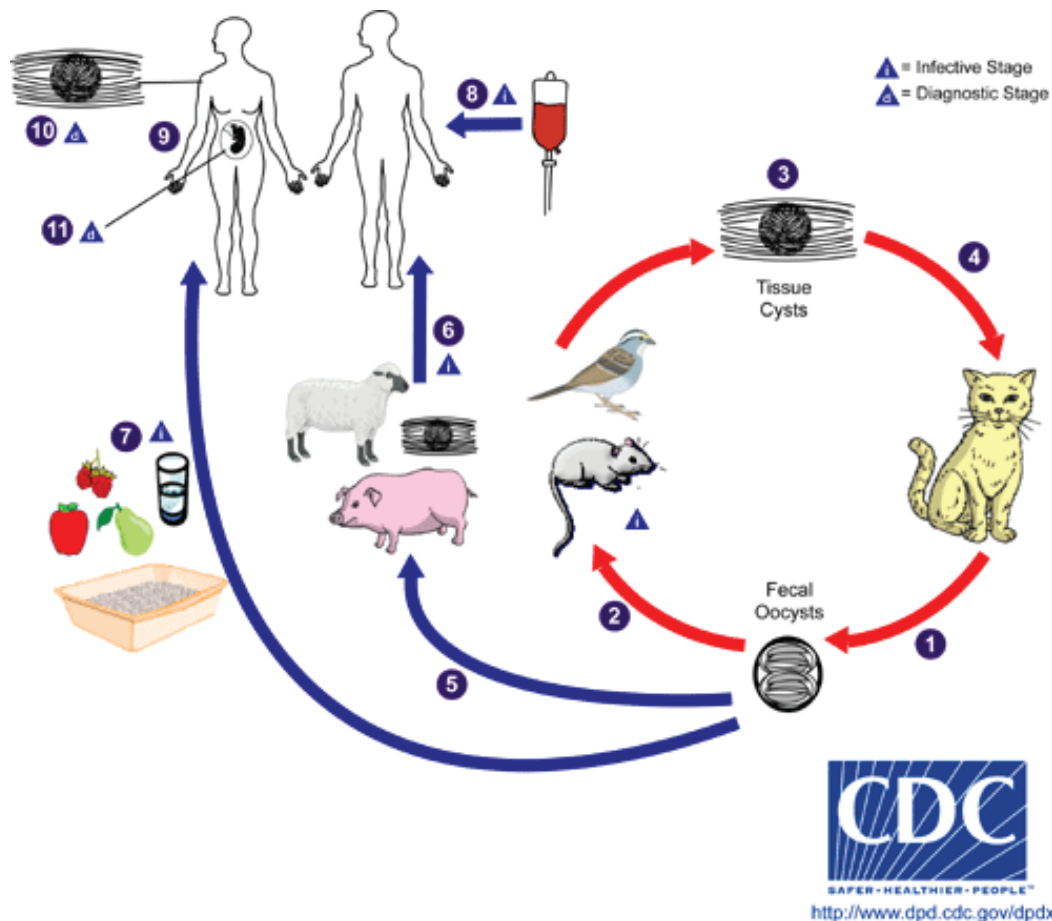


Figure 1 : Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*, d'après cdc.gov

L'hôte définitif, ou plutôt les hôtes définitifs, sont les différents représentants de la famille des Felidae, le chat domestique étant le plus représenté. Ce dernier s'infecte en ingérant des kystes présents dans les muscles de ses proies (en général de petits rongeurs pour les chats). Les sucs digestifs vont permettre la dégradation de la membrane kystique et libérer les formes végétatives qui vont alors pénétrer à l'intérieur des cellules épithéliales de l'intestin grêle. C'est là qu'elles vont se reproduire par multiplication asexuée, caractérisée par le développement de nombreux mérozoïtes au sein de schizontes. On parle alors de schizogonie [6]. Des éléments sexués mâles et femelles vont apparaître dans un deuxième temps, on parle de micro- et de macrogamétocytes. C'est la gamétogonie qui a également lieu au niveau de l'intestin grêle [7]. La gamogonie ou fécondation aboutit à la formation d'un oocyste, qui sera excrété sous une forme non sporulée, dans le milieu extérieur avec les fèces, après destruction de la cellule hôte. L'oocyste nécessitera une phase de maturation de plusieurs jours

pour devenir infestant : c'est la sporogonie qui donnera naissance aux sporozoïtes. Cette excrétion commence généralement trois à sept jours après ingestion, et elle dure jusqu'à trois semaines. On peut retrouver jusqu'à 100 millions d'oocystes dans les selles d'un chat [8].

Chez les hôtes intermédiaires, soit l'ensemble des Vertébrés (dont l'Homme), le parasite ne subit que des phases de multiplication asexuée. Après ingestion d'oocystes (cas chez les Herbivores, les Rongeurs, les Oiseaux et parfois l'Homme), les sporozoïtes sont rapidement libérés et vont envahir les cellules de l'épithélium intestinal. Après développement en tachyzoïtes, ces derniers vont se multiplier par endodyogénie et disséminer par voie lymphatico-sanguine dans tout l'organisme *via* le système des monocytes-macrophages, afin d'infecter différents types cellulaires. Une autre voie d'infection se fait par ingestion de kystes contenus dans la chair d'animaux : c'est la voie privilégiée pour les Carnivores. La rupture des kystes sous l'action des sucs digestifs va permettre la libération des bradyzoïtes. Là encore, ils vont pénétrer les cellules épithéliales pour se différencier en tachyzoïtes pouvant disséminer dans tout l'organisme avant enkystement. Ces kystes vont permettre la poursuite du cycle par prédation. Il est à noter qu'au cours des phases de parasitémie, le passage transplacentaire de tachyzoïtes est possible.

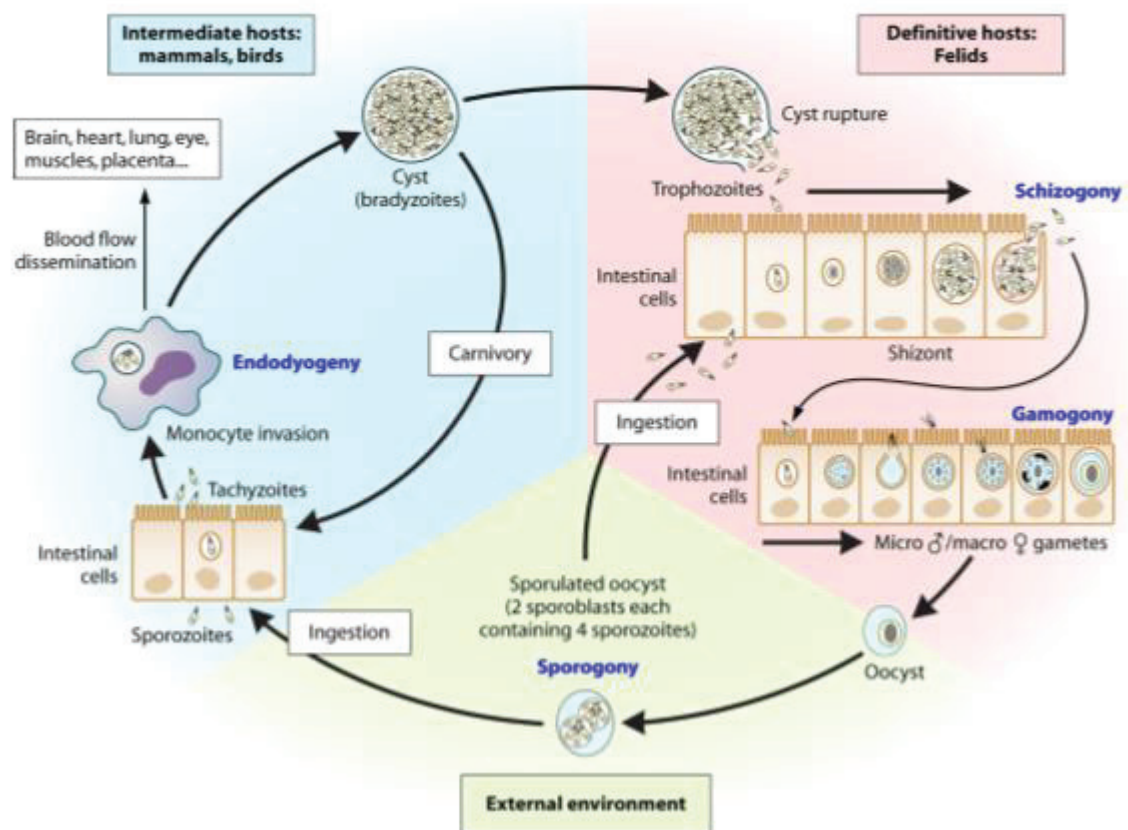


Figure 2 : Biologie, infection et répllication des trois formes parasites de *Toxoplasma gondii*, d'après Robert-Gangneux et al,

Clin Microbiol Rev 2012 [9]

Les différents modes de contamination découlent naturellement de ce cycle parasite.

Modes de contamination

Voie orale

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 20 % des maladies transmises par l'alimentation en Europe sont causées par *T. gondii* [10]) et *T. gondii* est considéré comme la deuxième cause de mortalité liée à la nourriture aux Etats-Unis [11]. En effet, l'ingestion accidentelle de kystes présents dans la viande ou d'oocystes présents sur des aliments, dans de l'eau, ou directement dans les fèces d'un félin, est la voie de contamination prépondérante chez l'Homme. Il n'est pas possible de connaître l'origine de l'infection *a posteriori*. En revanche, la découverte d'une protéine spécifique du stade sporozoïte pourrait permettre de différencier les deux modes d'infection [12].

Voie transplacentaire

Le parasite au stade de tachyzoïte peut contaminer le fœtus par voie transplacentaire. En effet, si la primo-infection a lieu lors d'une grossesse, il est possible que la phase de dissémination puisse conduire à la colonisation du placenta. La contamination fœtale est assurée par passage du parasite du sang de la mère au sang fœtal, en profitant des échanges materno-fœtaux qui ont lieu au niveau du placenta. En fonction de l'âge gestationnel qui conditionne la perméabilité placentaire, les risques de transmission au fœtus sont de 10 % à la fin du premier trimestre, 40 % à la fin du deuxième trimestre et 70 % à la fin du troisième trimestre. Le risque de transmission est inversement proportionnel à la gravité de l'atteinte fœtale. Le risque est ainsi maximal au premier et au deuxième trimestre [13].

Voies annexes

La présence préalable du parasite dans un organe greffé permet sa transmission au receveur de l'organe. La transplantation d'organe solide est donc un mode d'acquisition rare mais potentiellement grave du fait du statut immunitaire du patient receveur.

Il faut également citer la transmission sexuelle qui a récemment été décrite chez le chien, le rat et le mouton [14]–[16], avec présence du parasite dans le sperme. Elle a été évoquée chez l'Homme, mais n'est pas confirmée [17]–[20]. Bien que rare, on peut également citer la transmission accidentelle par transfusion ou par injection, au moment de la phase de parasitémie, dont la durée est mal connue. Il existe une grande variabilité due aux souches de parasite mais aussi à des différences dans la réponse immunitaire. Ainsi, quatorze cas de transmission au laboratoire ont été décrits [21], liés à des accidents d'exposition au sang ou bien à des erreurs de manipulation.

3. Distribution géographique et séroprévalence

La distribution de l'infection est cosmopolite. On estime qu'elle toucherait près d'un tiers de la population mondiale [22]. Sa séroprévalence, estimée par la présence d'anticorps spécifiques dirigés contre le parasite, est extrêmement variable. Elle nécessite donc d'avoir des données locales précises et récentes. Les données disponibles sont souvent biaisées par le fait qu'elles portent préférentiellement sur des femmes enceintes. De plus, les résultats sont souvent extrapolés à l'échelle d'un pays à partir de résultats provenant d'une zone géographique particulière. Quoi qu'il en soit, c'est une parasitose cosmopolite dont la répartition est influencée par les conditions géographiques et climatiques, mais également par l'âge, les habitudes alimentaires et les conditions socio-économiques [23]. Sa séroprévalence varie ainsi de 6,7 % en Corée [24], 12,3 % en Chine [25], 23,9 % au Nigeria [26], 46 % en Tanzanie [27], mais peut atteindre 90 % en Amérique du Sud et en Afrique. En France, la séroprévalence est en diminution régulière depuis une trentaine d'années. Estimée à plus de 50 % au niveau national en 1995, elle n'était plus que de 31,3 % en moyenne au niveau national chez les femmes enceintes françaises d'après l'enquête de périnatalité de 2016 [28], [29]. Cette baisse est à corréliser à une meilleure hygiène et une meilleure sécurité alimentaire, à une modification des habitudes alimentaires mais aussi à une modernisation des systèmes de production agricoles. Il est à noter que l'apparition des nouveaux modes de culture « biologiques » pourrait mener à une réascension de la prévalence.

Concernant la faune sauvage, les taux de séroprévalence sont extrêmement variables pouvant atteindre 100 % chez les félins [9], [22]. Pour les animaux de boucherie, le passage à un élevage intensif a drastiquement réduit la prévalence chez le porc à moins de 5 % [30], alors qu'il était considéré au XX^e siècle comme la source principale d'infection chez l'Homme. Chez la volaille, on retrouve des taux approchant 100 % pour les animaux vivant en plein air. Les herbivores élevés en plein air, tels que les moutons, chèvres et chevaux, ont des taux de séroprévalence qui augmentent avec l'âge et varient de 17 à 89 % pour le mouton [31], et de 4 à 77 % pour les chèvres, par exemple [32]. Chez les bovins, la

séroprévalence varie de 2 à 96 % [33], en revanche, les kystes sont rarement mis en évidence dans les tissus, faisant suggérer une résistance à l'infection ou bien un mécanisme de clairance du parasite. En effet, chez l'animal, le nombre de kystes retrouvés dans les tissus et leur localisation est dépendant de l'espèce infectée.

4. Différents génotypes

L'intérêt croissant pour le typage des microorganismes dans un but épidémiologique a également contribué à améliorer nos connaissances sur la répartition du parasite et sa distribution spatiale. Depuis les années 1990, différentes techniques ont été utilisées : l'analyse isoenzymatique, la technique RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ou bien plus récemment l'analyse des microsatellites ou MLST (MultiLocus Sequence Typing). Initialement, la population parasitaire a été dichotomisée en trois génotypes majeurs, les types I, II et III, stables sur le plan génétique dans le temps et l'espace. Bien que possédant une reproduction sexuée, cette dernière semble jouer un rôle très limité dans la multiplication et l'expansion du parasite. En revanche, de nombreuses études ont également montré l'existence de plusieurs haplogroupes résultant de phénomènes d'échange ou de dérive génétique. Ces différents haplogroupes ne peuvent être considérés comme des génotypes, mais sont toutefois des lignées clonales retrouvées de manière stable dans certaines régions. Des progrès dans le génotypage sont encore nécessaires pour résoudre l'ensemble des lignées de *T. gondii*. Il persiste encore des souches atypiques qui ne peuvent être classées dans aucun haplogroupe. De manière intéressante, ces différentes lignées parasitaires offrent une certaine cohérence dans leur répartition géographique mondiale. L'expansion de ce parasite au niveau mondial semble plutôt récente [34].

De manière schématique [35] :

- En Europe, on observe une prédominance de souches de génotype II (les dernières données retrouvent près de 90 % de génotype II en France pour les souches animales et humaines). En se déplaçant vers le Sud de l'Europe, on observe certaines souches de type III, avec occasionnellement quelques souches atypiques.
- En Amérique du Nord, la répartition est proche de celle retrouvée en Europe, avec une majorité de type II, associée à des souches de type III mais également à l'haplotype 12. Les souches atypiques sont un peu plus représentées qu'en Europe.
- Les Amériques Centrale et du Sud présentent une grande diversité de souches atypiques à fort potentiel recombinant. Le type II est quant à lui très peu représenté, tout comme le type I. On retrouve un polymorphisme particulièrement marqué en Amazonie, dû à des hybridations entre souches anthropisées et sauvages, phénomène qui conduit à une entité clinique particulière, la toxoplasmose amazonienne.
- En Afrique, les génotypes II et III coexistent en association avec certains haplogroupes spécifiquement africains.
- En Asie, les rares données obtenues semblent indiquer une diversité faible, avec la présence de souches de type III associé à un haplogroupe retrouvé sur tout le continent.

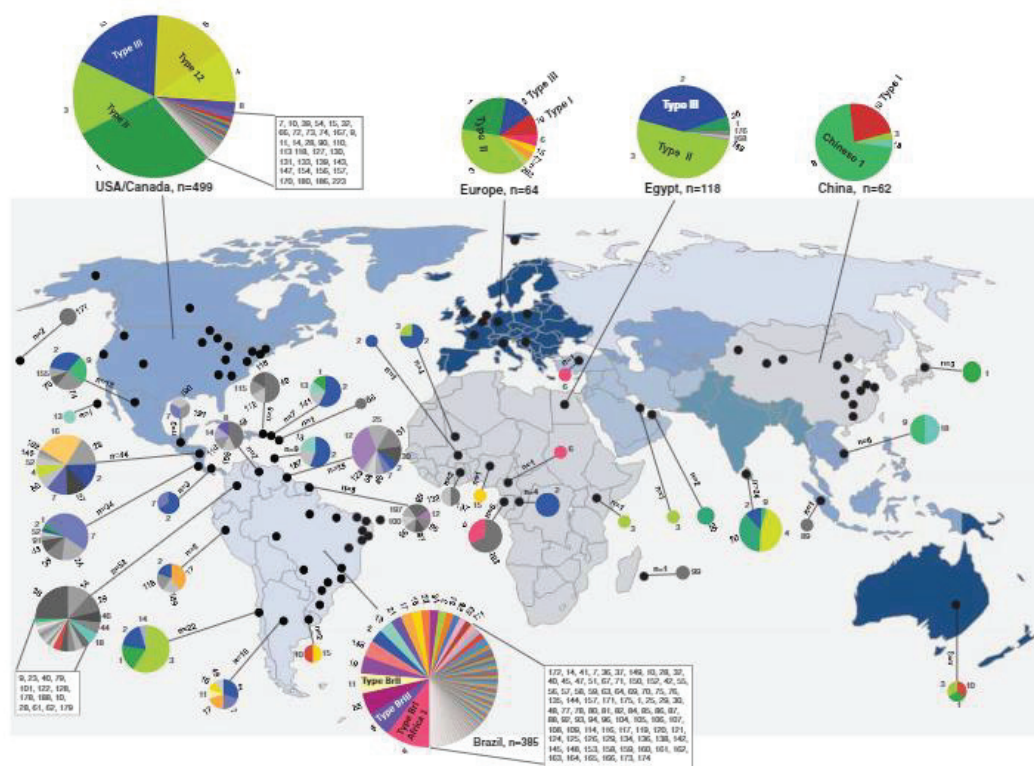


Fig. 1. Geographical distribution of *Toxoplasma gondii* genotypes. Black dots indicate locations from which *T. gondii* isolates were obtained and genotyped using the PCR-RFLP method. The numbers around pie chart edges indicate ToxoDB PCR-RFLP genotypes. In some cases, alternative strain type designations are overlaid on pie charts in bold lettering (also see Table 1 for correlations between nomenclatures). Sizes of pie charts correlate with total number of isolates (n), and colours indicate different genotypes. Two strains (GANGL and WIK) reported from Africa without specific countries of origin were listed in Supplemental Table S1, but not included on this map.

Figure 3 : Répartition géographique des différents génotypes de *Toxoplasma gondii*, d'après Shwab et al, *Parasitology* 2013

[35]

Outre l'intérêt épidémiologique du typage, la corrélation avec la virulence de la souche revêt une importance majeure en parasitologie médicale et vétérinaire. Ainsi, les souches de type I (souche de référence RH, isolée en Amazonie) sont réputées très virulentes, et conduisent à la mort en moins de 10 jours dans un modèle murin d'infection aiguë avec des doses infectantes de l'ordre de moins de 10 tachyzoïtes [36]. A l'inverse, les souches de type II et III sont considérées comme peu virulentes, permettant la survie des souris avec des doses infectantes supérieures à 1000 tachyzoïtes [37]. Concernant les souches hybrides ou atypiques, la virulence est fonction du nombre d'allèles appartenant à chaque génotype dont elles vont avoir hérité : tout le spectre de virulence peut ainsi être balayé, comme représenté ci-dessous.

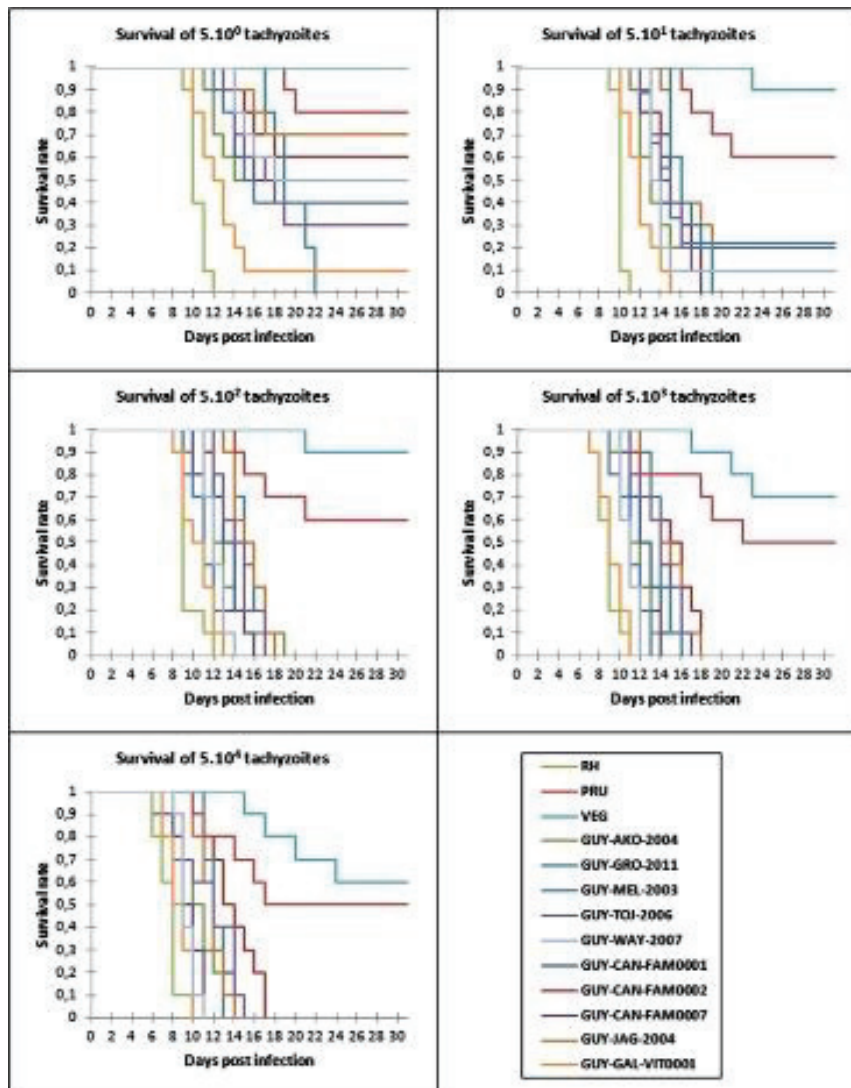


Figure 4 : Virulence des différents génotypes de *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin, d'après Simon et al, *Parasite* 2019

L'expression de cette virulence parasitaire est liée à l'expression de différentes protéines, plus particulièrement des protéines sécrétées jouant un rôle dans le phénomène d'invasion cellulaire par exemple (famille des protéines ROP, SAG...). La susceptibilité de l'hôte va également jouer un rôle important dans l'expression clinique de l'infection, comme cela est démontré pour différentes lignées de souris par exemple. Ainsi la sensibilité ou la résistance à l'infection chronique conduisant à une

encéphalite est sous le contrôle des gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH). Chez la souris, la présence du gène L^d est corrélé à une résistance, et donc la formation d'une faible quantité de kystes dans le cerveau. Chez l'Homme, certains polymorphismes des gènes HLA, comme HLA-DQ1, seraient des facteurs de résistance, alors que HLA-DQ3 serait un facteur de sensibilité [38].

5. Immunologie

La réponse immunitaire de l'hôte intermédiaire joue un rôle essentiel dans le cycle parasitaire de *T. gondii*. L'activation de l'immunité acquise va conditionner la conversion du parasite vers sa forme latente kystique, permettant ainsi l'établissement d'une infection chronique propice à la persistance et à la transmission du parasite.

La réponse innée

En règle générale, l'infection débute au niveau de l'épithélium intestinal du fait de la contamination par voie orale. La reconnaissance du parasite passe alors par la reconnaissance de Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) par des Toll Like Receptors spécifiques (TLR), principalement TLR11 et TLR12 chez la souris. Les composés parasitaires reconnus par ces TLR sont la profiline et la cyclophiline-18, deux protéines sécrétées par le parasite et lui permettant de pénétrer les cellules de l'hôte et d'assurer le recrutement de cellules immunitaires respectivement. Ces deux ligands, par l'intermédiaire d'une cascade moléculaire impliquant MyD88 et CCR5, vont stimuler la production d'interleukine-12 (IL-12). Chez l'Homme, d'autres ligands et d'autres TLRs sont très probablement impliqués dans cette synthèse d'IL-12.

Les cellules lymphoïdes innées (innate lymphoid cells, ILC) sont des effecteurs tissulaires qui se distinguent des lymphocytes B et T par l'absence de récepteur de l'antigène issu de réarrangements géniques. Elles sont classées en trois groupes distincts (ILC1, ILC2 et ILC3) selon les facteurs de transcription qu'elles expriment et selon leurs produits de sécrétion. Au niveau de l'épithélium

intestinal, ce sont les ILC1 qui vont participer principalement à la réponse dirigée contre *T. gondii*. Les ILC1 et les cellules NK qui leur sont apparentées (Natural Killer), sont caractérisées par leur capacité à orienter vers une réponse Th1 par leur production de cytokines, telles que l'interféron- γ (IFN- γ) et le Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α).

La réponse acquise

La réponse acquise va ensuite permettre le recrutement de polynucléaires neutrophiles, de macrophages et de cellules dendritiques immatures (iDC) vers le site de l'inflammation. En effet, les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) que sont les macrophages et les cellules dendritiques matures (mDC) vont synthétiser des chimiokines comme CCL2 et CXCL2, après reconnaissance du parasite, permettant la migration des monocytes et des neutrophiles vers le site de l'infection. Les cellules dendritiques migrent ainsi vers les ganglions lymphatiques en mûrissant. Cette inflammation intestinale provoque également le relargage d'IL-5 et d'IL-18, nécessaires à l'activation des NK.

Bien que les neutrophiles, les macrophages et les iDC sécrètent tous de l'IL-12, les mDC constituent la source la plus importante de cette cytokine, stimulant ainsi la prolifération et l'activation des cellules NK, des lymphocytes T CD₄⁺ et T CD₈⁺, provoquant ainsi une libération massive d'IFN- γ . La phagocytose des parasites par les macrophages provoque également une production massive de produits réactifs de l'oxygène et de l'azote, grâce à la stimulation par l'IFN- γ . Ce dernier stimule également l'indolamine-2,3-dioxygénase (IDO), responsable d'une déplétion en tryptophane, mais également capable de supprimer la croissance du parasite sur des cultures de fibroblastes [39].

La sécrétion de CCL3 et de CCL4 par les entérocytes recrute également des lymphocytes intraépithéliaux. Ces lymphocytes produisent des cytokines anti-inflammatoires, tels que le Transforming Growth Factor- β (TGF- β) et l'IL-10. Ces deux cytokines servent ainsi à limiter les dommages inflammatoires de l'orientation Th1 en limitant l'activité macrophagique. Cette réponse Th2 permet ainsi d'éviter l'emballement du système immunitaire. L'IL-10 contrôle les effets

cytotoxiques de la phase aiguë par un rétro-contrôle négatif sur l'expression des cytokines pro-inflammatoires ainsi que sur l'activité des cellules dendritiques, des cellules T, des NK et des macrophages [40]. La lipoxine A4, quant à elle, est produite par les macrophages et inhibe la migration et l'activation des cellules dendritiques. Elle contrôle les effets cytotoxiques lors de la phase chronique de l'infection [41].

Il existe une voie indépendante des cellules de l'immunité faisant appel aux Immunity Related GTPases (IRG) et aux p65 Guanylate-Binding Proteins (GBP). Ce sont des protéines dont la synthèse est sous la dépendance de l'IFN- γ et qui participent à la réponse anti-toxoplasmique. Les IRG s'accumulent autour de la membrane de la vacuole parasitophore afin de la détruire [42]. Les GBP ont un rôle complémentaire qui n'est pas élucidé, mais elles participent également à cette disruption membranaire [43]. Il semblerait que ce processus soit étroitement régulé par des protéines impliquées dans l'autophagie, ainsi que par des mécanismes d'ubiquitination des membranes [44]–[46].

Un dernier mécanisme semble jouer un rôle fondamental dans la réponse à l'infection par *T. gondii* : il s'agit de l'inflammasome. En effet, un défaut dans cette voie de signalisation conduit à une multiplication incontrôlée du parasite [47]. L'inflammasome, exprimé dans les cellules de la lignée granulocytaire, est un complexe protéique oligomérique constitué de plusieurs protéines : la caspase 1, PYCARD, NALP et la caspase 5. Il se forme à la suite de signaux extra-cellulaires et son activation résulte en une cascade de signalisation conduisant à la production d'IL-1 β et d'IL-18. Ces dernières vont permettre ensuite d'amplifier la production d'IFN- γ .

La production d'anticorps, quant à elle, joue un rôle minime dans la réponse immunitaire dirigée contre *T. gondii*. Les immunoglobulines de type G (IgG) vont caractériser la phase chronique de l'infection. Les anticorps sont dirigés contre les tachyzoïtes et permettent d'éviter une ré-infection en cas de nouveau contact avec le parasite.

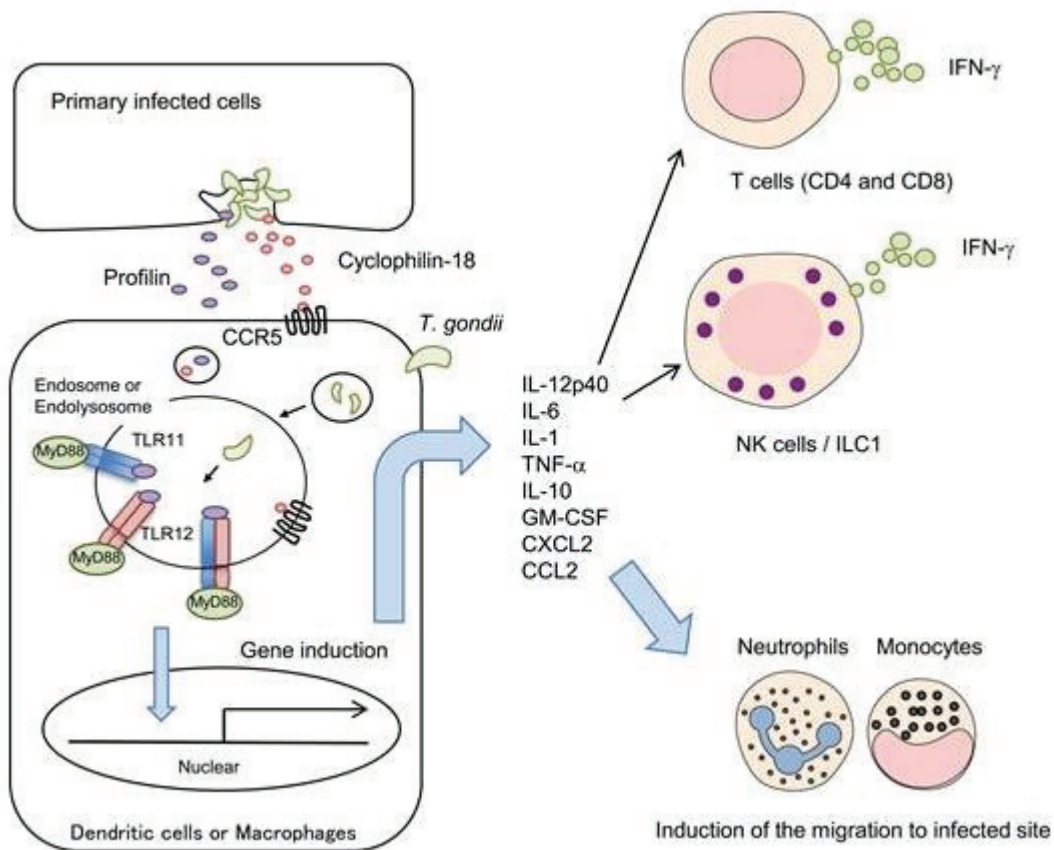


Figure 5 : Mécanismes immunologiques suivant la reconnaissance de *Toxoplasma gondii*, d'après Sasai et al, *Int Immunol* 2018

[48]

Franchissement des barrières

Différentes équipes ont mis au jour plusieurs mécanismes de franchissement des barrières de l'organisme hôte. Il pourrait se faire par un mécanisme d'entrée paracellulaire, similaire à celui que le parasite utilise pour traverser l'épithélium intestinal [49], [50]. Un phénomène de migration transcellulaire a été décrit par Konradt et al. Ainsi, après invasion cellulaire par le tachyzoïte et réplique de celui-ci dans les cellules endothéliales, il y a libération du parasite par explosion des cellules permettant ainsi son passage [51]. Enfin, une troisième voie fait appel à des cellules immunitaires infectées (DC et monocytes) qui vont jouer le rôle de « cheval de Troie » et traverser la barrière hémato-encéphalique [52]–[54]. L'établissement d'une infection chronique du SNC se traduit par la transition vers les formes bradyzoïtes contenues dans des kystes, présents dans les cellules

infectées, sous le contrôle de la réponse immunitaire de l'hôte, principalement l'IFN- γ . Il a été montré que les kystes sont capables de persister de façon prolongée, peut être pas définitive [55], mais contrairement à ce que l'on pensait, ce sont des entités actives, répliquatives, stimulant sans cesse le système immunitaire de l'hôte [3].

Mécanismes de persistance

Pour les souches de type II et III, les tachyzoïtes échappent au système immunitaire en évoluant en bradyzoïtes. Un équilibre s'établit alors entre le parasite et l'hôte, pouvant persister toute la vie sauf en cas d'immunodépression locale ou systémique. L'hôte est donc incapable d'éliminer le parasite, qui persiste sous forme kystique, sous le contrôle de l'IFN- γ et de l'IL-12. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans l'établissement d'une infection latente, mettant en jeu différentes protéines parasitaires. La protéine parasitaire ROP16 (protéine de rhoptrie) interfère avec la signalisation cellulaire de l'hôte. En effet, après pénétration du noyau cellulaire, elle active parmi d'autres cibles, les facteurs de transcription STAT3 et STAT6 par phosphorylation, et permet de diminuer la production d'IL-12. Le polymorphisme de ROP16 retrouvé parmi les souches de type II pourrait être responsable d'un défaut d'activation de cette voie de signalisation, permettant une production précoce d'IL-12 essentiel à la réponse immunitaire. La protéine des granules denses, GRA15, permet l'activation directe de la protéine NF- κ B dont l'activation permet la synthèse d'IL-12. Les parasites de type II ont ainsi des niveaux d'activation de NF- κ B plus élevés que les souches de type I [56]. La protéine ROP5, essentielle à la virulence des souches de type I et III, possède un mode d'action qui n'est pas encore connu. Elle fonctionnerait en association avec ROP18, qui permet la phosphorylation des IRG, empêchant la destruction de la vacuole parasitophore.

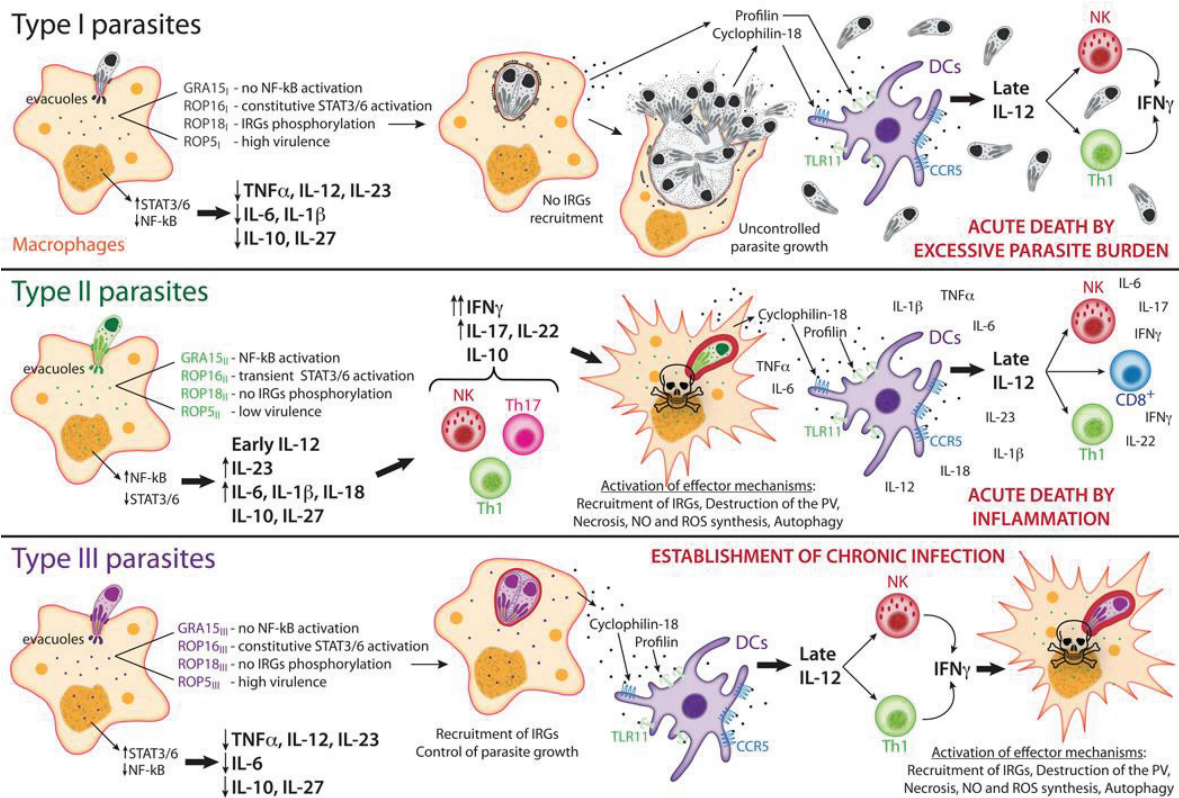


Figure 6 : Modulation des voies de signalisation cellulaire par *Toxoplasma gondii*, d'après Melo et al, *Trends Parasitol*, 2011

[40]

On comprend ainsi aisément que la virulence de *T. gondii* est directement dépendante de ses effecteurs et que cela est conditionné par la modulation des voies de signalisation de l'inflammation de l'hôte. A l'inverse, la réaction inflammatoire va également conditionner la charge parasitaire et l'établissement d'une infection latente sous contrôle de celle-ci. Chez l'immunocompétent, le remaniement permanent des kystes [3] et leur rupture occasionnelle sont à l'origine de l'entretien de la réponse immunitaire humorale persistante.

6. Prévention

Les moyens de prévention consistent principalement en l'information et l'éducation sanitaire des populations à risque non immunisées, femmes enceintes et patients immunodéprimés. Ces mesures ont donc pour objectif d'éviter une primo-infection, et sont conditionnées par les caractéristiques du

cycle parasitaire que nous avons vu précédemment. Ainsi, pour éviter l'infection par les kystes présents dans les muscles des hôtes intermédiaires, il est recommandé de :

- ne consommer aucune viande mal cuite (surtout porc, agneau, gibier) : la viande doit être cuite à 67°C à cœur ou bien avoir été congelée trois jours à -12°C. Il est à noter que la salaison ou le fumage ne détruisent pas les parasites.
- ne pas goûter de viande crue.
- se laver les mains après avoir manipulé de la viande crue.
- laver avec du savon ou un détergent les ustensiles de cuisine et le plan de travail après avoir manipulé de la viande crue.

Les mesures suivantes permettent d'éviter l'infection par les oocystes, excrétés dans le milieu extérieur par l'hôte définitif :

- éviter le contact direct avec le sol, du sable ou la litière du chat ; si cela n'est pas possible, porter des gants, et se laver soigneusement les mains après.
- bien peler ou laver les fruits et les légumes consommés crus.
- laver avec un détergent ou du savon l'ensemble des ustensiles de cuisine, le plan de travail et ses mains après avoir manipulé des aliments souillés par de la terre.
- ne pas boire de l'eau non traitée.
- éviter les fruits de mer.

La prévention passe également par la diminution des taux d'infection des animaux d'élevage. Ainsi, l'élevage intensif avec des mesures adéquates de confinement et d'hygiène, permet l'élevage d'animaux sans risque d'infection, comme c'est le cas aux Pays-Bas, par exemple [57].

De par sa biologie, *T. gondii* a atteint une position unique en parasitologie, mais également au sein du vivant. Il est cosmopolite, réparti sur quasi toute la surface du globe terrestre et il infecte un nombre important d'espèces animales, mais également un nombre d'individus extrêmement important. Il est

présent à la fois dans notre environnement et dans notre alimentation, et possède la capacité d'y persister, faisant de lui une véritable bombe à retardement si l'on considère les conséquences cliniques potentiellement graves que ce parasite entraîne, à la fois en médecine humaine et en médecine vétérinaire.

La toxoplasmose congénitale

Article dans un journal international avec comité de lecture

Teil J, Dupont D, Charpiat B, Corvaisier S, Vial T, Leboucher G, et al.

Treatment of Congenital Toxoplasmosis: Safety of the Sulfadoxine-Pyrimethamine Combination in Children Based on a Method of Causality Assessment.

Pediatr Infect Dis J. 2016;35(6):634-8.

Conférence invitée : VIth International Congress On Congenital Toxoplasmosis, Matera, Italy,
16 septembre 2019

Damien Dupont. Do we have effective treatment? Prevention of congenital toxoplasmosis and of clinical manifestations.

La toxoplasmose congénitale expose à des lésions sévères

La toxoplasmose congénitale résulte de la transmission de *T. gondii*, sous sa forme tachyzoïte à travers le placenta, vers la circulation du fœtus par voie hématogène à l'occasion de la courte phase de parasitémie qui fait suite à une infection maternelle pergravidique. La grande majorité des cas de toxoplasmose congénitale découlent d'une primo-infection au cours de la grossesse. Des contaminations fœtales ont été beaucoup plus rarement décrites à la suite d'infections maternelles survenues peu avant la conception [58], dans un contexte d'immunodépression chez des femmes présentant une infection préconceptionnelle [59] ou de recontamination par des souches virulentes [60]. Le risque de transmission materno-fœtale augmente avec l'augmentation des échanges materno-fœtaux au cours de la grossesse. Il est estimé à 1 % en début de grossesse, et augmente progressivement jusqu'à atteindre 70 % juste avant l'accouchement [61]. Le risque global de transmission, toutes périodes de grossesse confondues est estimé à 25 %. Les infections maternelles survenant pendant le premier et le deuxième trimestre de la grossesse exposent à un risque de lésions sévères, neurologiques particulièrement, étant donné le tropisme de *T. gondii* pour le système nerveux central [62]. Elles sont plus rarement présentes en cas d'infection au troisième trimestre [63]. Elles résultent notamment d'une nécrose parenchymateuse diffuse ou multifocale. Les plus évocatrices sont la ventriculomégalie et l'hydrocéphalie consécutives à un affaissement et à une obstruction de l'aqueduc de Sylvius et/ou du foramen de Monro par des tissus péri-ventriculaires nécrosés [62]. Leur pronostic peut être sévère en raison d'une évolution souvent rapide. Une microcéphalie est possible aussi, par destruction du tissu cérébral. Les lésions parenchymateuses, dont les plus fréquentes sont les calcifications ou nodules hyperéchogènes, sont de meilleur pronostic [64]. Elles sont cependant à prendre en compte parce qu'elles majorent le risque de lésions oculaires [65], [66]. Les plus fréquentes sont les rétinohoroidites, consécutives à la nécrose de la rétine et à une inflammation de la choroïde. L'association d'une hydrocéphalie, de calcifications intra-parenchymateuses et de lésions de rétinohoroidite constitue une triade classique chez le nouveau-né infecté au premier ou au deuxième

trimestre. Une ascite, une hépatosplénomégalie et un retard de croissance intra-utérin sont également observés. Des pertes fœtales sont décrites en cas de contaminations maternelles précoces. Les infections congénitales acquises au cours du troisième trimestre de la grossesse sont le plus souvent asymptomatiques à la naissance, mais comme les autres, peuvent entraîner la survenue de lésions oculaires à type de rétinoblastomes dont les conséquences fonctionnelles peuvent être sévères si elles sont maculaires. Ces lésions peuvent être détectées à la naissance, mais également apparaître bien après. Des cohortes historiques européennes font état de 90 % de lésions oculaires à 18 ans [67], [68]. Des récurrences parfois tardives de ces lésions rétiniques sont fréquentes, et des complications à type de décollement de rétine et de cataractes sont possibles [69], [70].

Les estimations de l'incidence de la toxoplasmose congénitale varient de 0,1 à 0,3 pour mille naissances. Torgerson et Mastroiacovo ont estimé qu'elle était responsable de la perte de 1,20 millions de DALYs (Disability Adjusted Life Years) chaque année [71]. Le poids de la maladie est particulièrement élevé en Amérique du Sud en raison de la plus grande virulence des souches [72], [73].

| Region | Incident Cases (95% CI) | Incidence* (95% CI) | DALYs (95% CI) | DALYs* (95% CI) |
|--------|---------------------------|---------------------|-------------------------------|-----------------|
| AFR D | 26,500 (24,300-30,100) | 2.0 (1.8-2.3) | 171,500 (92,300-294,500) | 13 (6.9-22) |
| AFR E | 37,000 (33,900-41,000) | 2.4 (2.2-2.5) | 235,900 (129,600-379,000) | 15 (8.3-24) |
| AMR A | 2,940 (2360-3540) | 0.6 (0.5-0.8) | 19,700 (14,100-26,700) | 4.2 (3.0-5.7) |
| AMR B | 15,300 (13,100-17,800) | 1.8 (1.5-2.0) | 105,300 (82,500-127,500) | 12 (9.4-15) |
| AMR C | 5077 (4225-6792) | 3.4 (2.5-4.1) | 35,000 (24,400-41,200) | 19 (13-22) |
| EMR B | 8450 (6950-9530) | 2.5 (2.1-2.9) | 53,900 (27,800-84,800) | 17 (8.5-26) |
| EMR D | 26,300 (21,200-31,200) | 2.2 (1.7-2.6) | 164,900 (84,600-277,800) | 14 (6.9-23) |
| EUR A | 2170 (1900-2896) | 0.5 (0.4-0.6) | 13,600 (7,508-23,400) | 2.8 (1.3-4.3) |
| EUR B | 5200 (4500-6090) | 1.5 (1.3-1.7) | 32,200 (17,500-54,700) | 9.2 (5.0-16) |
| EUR C | 4200 (3700-4800) | 1.6 (1.4-1.8) | 26,400 (14,400-42,700) | 10 (5.4-16) |
| SEAR B | 6430 (4240-8600) | 1.3 (0.9-1.7) | 40,300 (18,700-71,800) | 8.1 (3.8-14) |
| SEAR D | 25,400 (20,700-30,700) | 0.8 (0.7-1.0) | 158,300 (85,900-275,400) | 5.1 (2.8-8.9) |
| WPR A | 960 (720-1200) | 0.6 (0.9-1.3) | 5950 (2900-10,100) | 3.9 (1.9-6.6) |
| WPR B | 24,200 (20,500-28,100) | 1.1 (0.9-1.3) | 154,700 (81,200-253,000) | 7.1 (3.7-12) |
| Total | 190,100 (179,300-206,300) | 1.5 (1.4-1.6) | 1,200,000 (760,000-1,900,000) | 9.6 (5.8-15) |

AFR, African Region; AMR, Region of the Americas; CI, confidence interval; DALY, disability-adjusted life year; EMR, Eastern Mediterranean Region; EUR, European Region; SEAR, Southeast Asia Region; WPR, Western Pacific Region. *Per 1000 live births.

Tableau 1 : Incidence globale et poids de la maladie selon la répartition par région de l'Organisation Mondiale de la Santé, Torgerson et al, *Bull World Health Org* 2013 [74]

Le modèle de prévention à la Française

Dans le but de réduire le nombre d'enfants sévèrement atteints, la France s'est dotée d'un programme de prévention de la toxoplasmose congénitale qui n'a pas d'équivalent à ce jour. Il permet à la fois une prévention primaire, secondaire et tertiaire de l'infection. Il prévoit en effet la réalisation d'une sérologie de la toxoplasmose au cours du premier trimestre de sa grossesse chez toute femme ne pouvant prouver son immunité. L'objectif est de rassurer les femmes qui sont immunisées et d'informer celles qui ne le sont pas sur les précautions à prendre pour éviter une infection pergravidique. Ces recommandations découlent directement des modes de contamination et ont été évoquées précédemment. La proportion de femmes à risque augmente régulièrement, d'un 1 % par an. Elle est actuellement de presque 70 % selon les estimations provenant de l'enquête de périnatalité 2016. Le programme de prévention prévoit leur surveillance sérologique mensuelle dans l'objectif de repérer rapidement toute apparition d'IgG qui indiquerait une infection maternelle pergravidique. Ce diagnostic d'infection n'est en effet pas possible sur la seule base de la clinique. En effet, chez l'immunocompétent, l'infection toxoplasmose aiguë n'entraîne que peu de signes cliniques, le plus souvent bénins et non spécifiques, à type d'adénopathies, de fièvre et d'asthénie, et décrits par 20 à 30 % des sujets seulement [75]. La découverte d'une séroconversion permet d'administrer rapidement à la femme enceinte un traitement destiné à prévenir l'infection fœtale. Il repose classiquement sur la spiramycine, un antibiotique de la famille des macrolides, bien toléré et autorisé chez la femme enceinte à toute période de la grossesse. Cette identification précoce et systématique des infections maternelles permet également de procéder au diagnostic anténatal d'une éventuelle infection fœtale qui serait survenue malgré le traitement maternel. Il repose sur la recherche de l'ADN parasitaire dans le liquide amniotique grâce à une amniocentèse. Le résultat de cette analyse moléculaire guide la décision thérapeutique jusqu'à l'accouchement : administration d'une association pyriméthamine – sulfadiazine (ou sulfadoxine) en cas de PCR positive, ou maintien par prudence d'un traitement par spiramycine jusqu'à l'accouchement en cas de PCR négative. Une surveillance

échographique est également réalisée pour rassurer les futurs parents sur l'absence de toute lésion cérébrale sévère qui, après discussion devant un comité d'experts, pourrait amener à décider d'une interruption de grossesse. A la naissance, tout enfant né d'une mère ayant présenté une infection pergravidique bénéficie d'un examen clinique orienté vers la recherche de troubles neurologiques, complété par une échographie transfontanellaire (voire une IRM en cas de doute), et d'un examen du fond d'œil. Un bilan biologique est réalisé qui repose essentiellement sur la recherche chez l'enfant d'une néosynthèse d'IgG, d'IgM et d'IgA qui indiquerait une toxoplasmose congénitale. Des recherches d'ADN parasitaire dans le placenta, et le sang de l'enfant, ou des tests d'exploration de l'immunité cellulaire sont parfois associés. Les enfants qui sont reconnus avant ou après leur naissance comme étant contaminés, bénéficient alors d'un traitement par une association de pyriméthamine et d'un sulfamide pendant une durée de 12 mois. L'objectif est de prévenir la survenue de lésions oculaires à long terme. Les recommandations prévoient qu'une surveillance ophtalmologique soit réalisée sans limite de temps du fait de la possibilité de survenue tardive de rétinoblastomes [76]. D'autres complications peuvent apparaître lors d'un suivi clinique prolongé, telles qu'un retard au développement psychomoteur, une hyperactivité, des troubles du sommeil ou un syndrome des jambes sans repos, selon les observations faites dans le cadre de la cohorte lyonnaise Toxo-Ly.

Ce programme repose de façon importante sur la biologie, et sur l'expertise de laboratoires de référence pour identifier les femmes à risque, reconnaître d'éventuelles infections pergravidiques lors de la première sérologie ou lors des sérologies suivantes, estimer la date de l'infection maternelle pour estimer les risques pour l'enfant, et diagnostiquer une infection congénitale avant ou après la naissance. Des recommandations précises faites à partir d'évaluations régulières sont disponibles [77].

La question des protocoles thérapeutiques est, bien sûr, également essentielle. Des recommandations sont disponibles à destination des obstétriciens et des pédiatres [76]. A défaut d'avoir été évalués contre placebo lors de la mise en place du programme ou depuis, leur impact a été apprécié par plusieurs types d'études épidémiologiques. Il est admis qu'un traitement administré rapidement après

l'infection maternelle réduit le risque de transmission [78]. Des données provenant de la cohorte lyonnaise ont également montré que le diagnostic anténatal des fœtus infectés et leur traitement anténatal rapide et postnatal prolongé réduisent les séquelles à court terme [79]. Les données du programme de surveillance Toxosurv sont également très claires : seuls environ 150 cas de toxoplasmose congénitale sont déclarés par an, et seul un très petit nombre d'entre eux présentent des lésions cérébrales, découvertes *in utero* ou à la naissance (Figure 7).

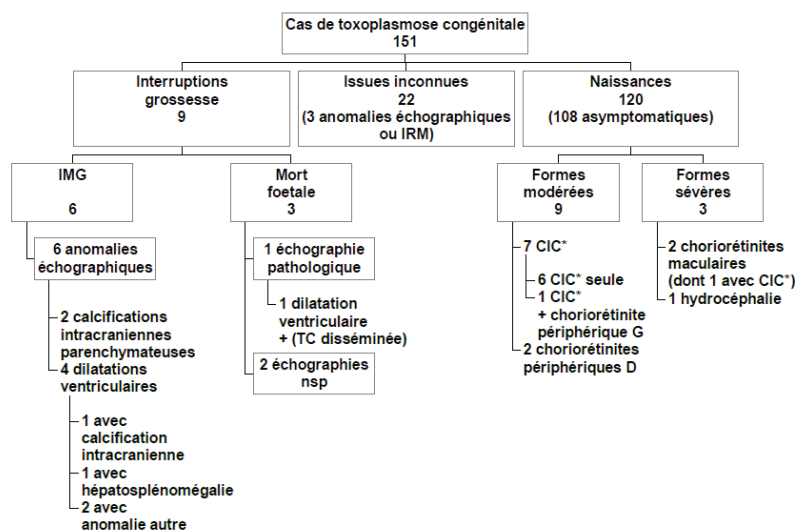


Figure 7 : Récapitulatif des cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués en France du 1^{er} janvier ou 31 décembre 2018 (n = 151) (<http://cnrttoxoplasmose.chu-reims.fr/wp-content/uploads/2020/03/TC-2018-Site-int.pdf>)

La question de l'innocuité du traitement postnatal prolongé était une préoccupation importante des parents et des pédiatres. Ces traitements reposent en effet sur l'association de la pyriméthamine et d'un sulfamide pendant une durée de 12 mois. Selon les protocoles utilisés en France, le sulfamide peut être de la sulfadiazine (qui nécessite une administration quotidienne, en raison de sa demi-vie de 13 heures) ou de la sulfadoxine, dont la demi-vie plus longue (8 jours), permet une administration hebdomadaire. Il s'agit des seuls traitements validés. Ces molécules sont associées à un risque de neutropénie, voire d'agranulocytose, et de lésions cutanées sévères de type Lyell, d'où une inquiétude bien légitime des parents, et le besoin de pouvoir donner aux cliniciens des informations claires sur les

risques encourus et sur la surveillance à mettre en œuvre. Cette question de la tolérance du traitement postnatal a ainsi fait l'objet d'un travail personnel (Article I).

Travail personnel

L'objectif de ce travail était de répondre à la question : quels sont les risques d'un traitement, associant un sulfamide et la pyriméthamine, administré pendant 12 mois, à visée préventive, à tous les nouveaux-nés présentant une toxoplasmose congénitale, dont une très grande majorité présente une forme infra-clinique ? Aucune des études publiées jusqu'alors ne répondait à la question de façon satisfaisante, en terme de nombre d'effets indésirables mesurés, de détails dans le degré d'anomalie observée et de preuve de causalité.

Ce travail a été réalisé au sein d'une cohorte de 65 nouveau-nés (dont 35, soit 53 %, de sexe féminin) consécutifs présentant une toxoplasmose congénitale infra-clinique (à l'exception de calcifications dans un cas) confirmée dans notre service à l'hôpital de la Croix-Rousse, et suivis à notre consultation. Ils ont tous bénéficié d'un traitement constitué d'une association de sulfadiazine (25 mg/kg/toutes les 8 heures) et de pyriméthamine (3 mg/kg tous les trois jours) pendant 8 semaines, puis de 10 mois d'une combinaison de sulfadoxine (25 mg/kg tous les 10 jours) et de pyriméthamine (1,25 mg/kg tous les 10 jours) sous supplémentation par 50 mg d'acide folinique tous les sept jours. Les traitements étaient préparés par la pharmacie de l'hôpital de la Croix Rouse sous la forme de gélules, pour pallier l'absence de formulation pédiatrique en France. Les gélules étaient préparées sous forme d'un sachet pour chaque prise avec un calendrier prévisionnel des prises et un formulaire à tenir à jour par les parents, concernant les jours et horaires effectifs des prises, d'éventuelles erreurs d'administration, la survenue de régurgitations ou vomissements, ou de tout autre évènement clinique. Une numération-formule sanguine était réalisée, avant le début du traitement, puis 15 jours plus tard, puis tous les mois. Les consultations, réalisées tous les deux à trois mois selon l'âge des enfants, permettaient de réaliser un examen clinique, de réajuster la posologie du traitement en fonction du poids et de recueillir tous les évènements cliniques survenus dans l'intervalle de deux consultations. Si nécessaire,

des échanges avaient lieu avec les parents en dehors de toute consultation. L'évaluation a porté sur la numération sanguine, - et notamment sur le taux d'hémoglobine, le volume globulaire moyen, et le taux de plaquettes- et sur d'éventuels évènements cliniques, cutanés plus particulièrement. L'imputabilité a été évaluée selon la méthode française d'évaluation de causalité en pharmacovigilance [80], ce qui était un avantage majeur par rapport aux autres études réalisées sur le sujet.

Neuf enfants ont présenté un moins un évènement clinique indésirable ce qui correspondait à 0,29 cas par patient-année. Il s'agissait surtout de vomissements (n=7), mais aussi de diarrhées (n=4), d'agitation (n=4) ou d'un érythème (n=1). Aucun n'a été attribué au traitement. Au total, sept anomalies hématologiques ont été notées comme possiblement dues au traitement, dont quatre ont amené à l'interrompre. Aucune n'était sévère.

Ce travail a eu des retombées multiples

Il a tout d'abord permis de vérifier la bonne tolérance clinique et biologique de l'association sulfadiazine et pyriméthamine, qui est utilisée pendant les deux premiers mois de traitement, pour vérifier l'absence d'intolérance constitutionnelle aux sulfamides, avant de passer à l'utilisation d'un sulfamide à demi-vie lente pendant 10 mois. Ceci est une information essentielle dans la mesure où ce traitement est proposé de façon systématique à la naissance à tout nouveau-né identifié comme contaminé grâce au programme de dépistage national français. Le fait qu'il s'agisse d'un traitement à visée préventive donné à des enfants qui sont en bonne santé le plus souvent, rendait cette exigence de vérification encore plus forte. En effet, il ne serait pas éthique d'exposer ces enfants à un traitement préventif potentiellement dangereux. La tolérance que nous avons observée est meilleure que celle signalée en cas d'administration de sulfadiazine et de pyriméthamine pendant 12 mois, qui selon McLeod et al. provoquerait une neutropénie réversible dans 50 % des cas [81]. La preuve de cette bonne tolérance permet de rassurer les parents et ainsi d'augmenter la compliance au traitement. Notre préconisation d'une supplémentation très large par une dose de 50 mg d'acide folinique par semaine contribue sans doute à expliquer la bonne tolérance hématologique. En effet, des taux plus

élevés d'atteinte hématologique ont été décrits par des équipes utilisant des suppléments à doses plus faibles. La survenue de neutropénies non sévères incite à maintenir une surveillance hématologique à J3, J15 puis tous les mois, et à respecter les critères d'arrêt de traitement, jugés comme suffisants. Ce travail valide la collaboration avec une pharmacie hospitalière pour la préparation de gélules adaptées au poids de l'enfant et conditionnées pour chaque prise, pour éviter toute erreur ou surdosage. Globalement, ce travail contribue à pouvoir proposer comme modèle le programme français qui a changé de façon significative l'épidémiologie de la toxoplasmose en France. Sa rentabilité a été évaluée favorablement par rapport à un programme néonatal, certes moins coûteux, mais moins susceptible de réduire les séquelles neurologiques et oculaires de la toxoplasmose congénitale [82]. Une étude coût-bénéfice est en cours, dont les premiers résultats semblent valider le fait que le programme de prévention français est rentable et doit être maintenu.

Treatment of Congenital Toxoplasmosis

Safety of the Sulfadoxine–Pyrimethamine Combination in Children Based on a Method of Causality Assessment

Julie Teil, PharmD,* Damien Dupont, PharmD, †‡ Bruno Charpiat, PharmD,* Stéphane Corvaisier, PharmD, § Thierry Vial, MD, ¶ Gilles Leboucher, PharmD,* Martine Wallon, MD, †‡ and François Peyron, MD†

Background: The treatment of newborns and infants with congenital toxoplasmosis is standard practice. Some observational studies have examined safety in newborns, but most of these failed to provide sufficient details for a provisional assessment of causality. The aim of this study was to evaluate the clinical and biological adverse effects of the combination of sulfadoxine–pyrimethamine.

Methods: Sixty-five children treated for 1 year with a combination of sulfadoxine–pyrimethamine (1 dose every 10 days) for congenital toxoplasmosis were followed up to evaluate abnormal hematological values and potential adverse events using a standardized method of causality assessment.

Results: Nine patients (13.8%) presented at least 1 adverse clinical event that was nonspecific, such as diarrhea on the day of drug administration, vomiting and agitation. In 1 patient, erythema appeared at the end of the treatment and resolved within 10 days. None of these events was attributed to the treatment. Six patients (9.2%) developed an adverse hematological event (neutropenia, n = 3; eosinophilia, n = 2 and both anemia and eosinophilia, n = 1) that was considered to be possibly related to the sulfadoxine–pyrimethamine combination. Four treatments were temporarily interrupted, and toxicity was observed after readministration of treatment in 1 case only. However, none of these adverse events was life threatening.

Conclusions: According to our results and previously published data, the combination of sulfadoxine–pyrimethamine seems to be well tolerated. However, the sample size of our study was too small to rule out the risk of less frequent, but nevertheless severe, reactions and, in particular, of hypersensitivity reactions.

Key Words: congenital toxoplasmosis, sulfadoxine–pyrimethamine, safety, side effects

(*Pediatr Infect Dis J* 2016;35:634–638)

Maternal infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy exposes the fetuses to a risk of congenital infection through

transplacental transmission. Congenital toxoplasmosis is a potentially severe infection, the incidence and severity of which depends on the gestational stage at the time of maternal acquisition. The consequences for the fetus range from subclinical to life-threatening manifestations, such as miscarriages, stillbirths and neurological (hydrocephalus, meningoencephalitis and retinochoroiditis) or ocular (chorioretinitis) abnormalities.¹ In France, monthly prenatal screening has been mandatory since 1992. Pregnancy follow-up allows the early detection of severe fetal abnormalities.² To prevent sequelae and/or to reduce long-term lesions, infected infants are traditionally treated with a combination of pyrimethamine and sulfonamides,³ but no consensual treatment regimen exists because no randomized controlled trial showing the significant efficacy of prenatal and postnatal treatment has been conducted. Recent reports found indirect evidence that early prenatal and postnatal treatments reduce the incidence of sequelae.^{2,4,5} Due to monthly screening, infected infants in France are mostly asymptomatic in contrast to those in North or South America.^{6,7} In our settings, treatment comprises a combination of pyrimethamine and sulfadoxine (Fansidar[®]), both of which are long half-life drugs that act synergistically on *T. gondii*. This drug combination can be administered orally and has the advantage of only requiring an intake every week or 10 days. Its possible side effects include bone marrow suppression that is responsible for reversible neutropenia or anemia and acute hypersensitivity skin reactions, such as life-threatening Lyell or Stevens–Johnson syndromes. It is administered concomitantly with folic acid to prevent hematological toxicity. However, information on the safety of the different drug regimens is lacking.⁸ The aim of this study was to evaluate the incidence of the biological and clinical adverse effects of the combination of sulfadoxine–pyrimethamine (Pyr–SDX) in a series of infants with congenital toxoplasmosis monitored in 1 center according to a standardized causality assessment method after having defined normal values for blood cell counts as recommended by the International Society for Pharmacovigilance and the International Society of Pharmacovigilance.⁹

METHODS

Study Design

This was a retrospective study. Neonates with confirmed congenital toxoplasmosis who received at least 1 dose of Pyr–SDX were included in the study and were followed at the parasitology outpatient clinic of the Croix-Rousse University Hospital, Lyon, France. Following a standardized protocol with regular visits every 2–3 months according to their age, children underwent clinical examinations and blood tests, comprising blood cell counts, immunoglobulins levels and measurement of drug concentrations to assess drug intake and pharmacokinetics.^{10,11} All of these laboratory tests were performed in hospital laboratories at the Hospices Civils de Lyon, France. During the period between visits, blood cell counts were performed monthly by various private laboratories.

Accepted for publication August 11, 2015.

From the *Pharmacy, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France; †Hospices Civils de Lyon, Institut de Parasitologie Mycologie Médicale, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France; ‡Integrative Physiology of the Brain Arousal Systems, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028-CNRS UMR 5292, Faculté de Médecine, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France; §Pharmacy, Lyon Sud Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France; and ¶Pharmacovigilance Unit, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

J. Teil, B. Charpiat and S. Corvaisier collected and analyzed the data. J. Teil, D. Dupont and B. Charpiat wrote the manuscript. T. Vial performed the causality assessment. G. Leboucher prepared the drug and performed pharmacy dispensing and counselling. M. Wallon and F. Peyron took care of the patients. All the authors reviewed the manuscript.

The authors have no funding or conflicts of interest to disclose.

Address for correspondence: Damien Dupont, PharmD, Institut de Parasitologie Mycologie Médicale, 103 grande rue de la Croix Rousse, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, F-69000, France. E-mail: damien.dupont@chu-lyon.fr

Copyright © 2016 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0891-3668/16/3506-0634

DOI: 10.1097/INF.0000000000001120

Neonates were given an 8-week course of pyrimethamine (3 mg/kg every 3 days), sulfadiazine (25 mg/kg every 8 hours) and folic acid (50 mg every 7 days orally) until 2 months old followed by a 10-month course of pyrimethamine (1.25 mg/kg every 10 days)/sulfadoxine (25 mg/kg every 10 days; Fansidar®) and folic acid (50 mg every 7 days) and were monitored hematologically twice during the first month and once a month thereafter, as described previously.¹¹ The results were then transmitted to the parasitology department. Capsules adapted to body weight were delivered every 3 months. The pharmacist prepared each dose in individual bags on which the date of administration was written. Parents were given a calendar with the scheduled dates of administration, and they were asked to report the hour and the date of administration on that calendar and bring it back on the subsequent visit.

There was no referral to any Clinical Ethics Committee, but patients were informed that, unless they had any objections, the clinical and biological data might be used for publication. This study did not involve any supplementary invasive gestures other than those usually undertaken in a regular follow-up of congenitally infected children.

Drug Withdrawal

According to the attending physicians, drugs were withheld:

- when the absolute neutrophil count was below 750/mm³,
- when anemia was not tolerated and
- when clinical adverse effects were not tolerated.

Data Collection

Data were collected from medical and pharmacy files in an ACCESS database. Hematological data and information on clinical adverse events and clinical tolerance were extracted from the medical files. Life-threatening adverse events, such as Lyell or Stevens–Johnson syndromes or agranulocytosis, were considered to be severe side effects. Prescriptions (date, dosage and number of capsules prepared and delivered) and administration calendars were extracted from the pharmacy files.

Assessment of Drug Causality

For each patient, blood cell counts, hemoglobin, mean globular volume and platelet counts were regularly monitored during the treatment. The thresholds of each hematological parameter, determined according to data from a reference book,¹² are presented in Table 1. Each adverse event was notified to the pharmacovigilance unit. The evaluation of a causal relationship between drug administration and adverse effects was scored using the French drug reaction assessment method (including the categories “certain,”

“probable,” “possible,” “unlikely” and “unclassifiable”) by a staff of physicians from the pharmacovigilance center and after discussion with the physicians who took care of the patients in cases of disagreement.¹³

RESULTS

Study Population

Sixty-five children were included [30 boys (46.1%) and 35 girls (53.9%)]. Presumed contamination occurred at a median of 27 postconceptional weeks (range 1–40). Maternal treatment was initiated in 44 cases (67.7%). Median pregnancy term was 39 weeks of amenorrhea (range: 32 + 1 day–42). Median birth weight was 3210 g (range: 1440–4260). At birth, no clinical sign of congenital toxoplasmosis was observed in 64 cases (98.5%). Only 1 case with intracerebral calcifications was detected (1.5%). No other comorbidity was observed in 61 cases (94%). We reported ventricular dilatation in 1 case, retina hemorrhage in another case, pneumothorax in a third case and a last case of parietal cephalhaematoma associated with right kidney dilatation. They started Pyr–SDX treatment at a mean of 63.9 days old. The mean duration of treatment was 395.8 days with a median of 406 and a range of 167–581 days, and the total follow-up time was 65.4 patient-years.

Compliance

Although at least 1 calendar was not fully completed or was not returned to the pharmacy for 17 patients (26.1%), the measured drug concentrations confirmed regular drug intake among the whole cohort.

Clinical Tolerance

Among the 65 patients, 9 (13.8%) experienced at least 1 adverse clinical event, such as diarrhea on the day of drug intake (n = 4), vomiting (n = 7) or agitation (n = 4). In 1 patient, erythema was noted at the end of the treatment and resolved within 10 days. These adverse clinical events represented 0.29 cases per patient-years, but none was attributed to the treatment.

Hematological Tolerance

Thirty-seven patients (56.9%) had at least 1 abnormal hematological value leading to a total incidence of 57 biological adverse events. These hematological adverse events represented 0.87 cases per patient-years and their main characteristics are presented in Table 2.

Anemia was found on 1 to 5 occasions during the treatment in 14 patients (21.5%), but only led to the discontinuation of treatment in 1 case, and was normocytic (n = 12) or microcytic (n = 2); no case of macrocytic anemia was noted and no anemia recurred after the reintroduction of treatment.

Neutropenia was observed on 1 to 4 occasions in 21 patients (32.3%) and led to the discontinuation of treatment in 6 cases. In 4 instances (3 patients, 4.6%), neutropenia was considered to be drug related and led systematically to the discontinuation of treatment. In these patients, the neutrophil counts ranged from 510/mm³ to 880/mm³ (grade 3 neutropenia). In 1 patient, grade 3 neutropenia occurred after 33 days of treatment, resolved after drug discontinuation and recurred after re-administration of Pyr–SDX. Subsequent retreatment was well tolerated with no recurrence of neutropenia. Accordingly, this case was rated as possible rather than certain. In 2 other patients who experienced reversible neutropenia, drug readministration was not associated with a recurrence of the disorder.

Thrombocytopenia was observed on 1 occasion in 5 subjects (7.7%). None was attributed to drug exposure after causality assessment and none required the discontinuation of treatment.

TABLE 1. Threshold Values of Hematological Parameters

| | Age | Threshold Values |
|-------------|------------------|--|
| Hemoglobin | Newborn | 14.5 g/dL (at 3 days) 13.5 g/dL (at 7 days) 12.5 g/dL (at 14 days) |
| | 30 days | 10 g/dL |
| | 2 months | 9 g/dL |
| | 3–6 months | 9.5 g/dL |
| | 6 months–2 years | 10.5 g/dL |
| | 2–6 years | 11.5 g/dL |
| Neutrophils | 2 months–1 year | 1000/mm ³ |
| | >1 year | 1500/mm ³ |
| Platelets | | 150.10 ⁹ /L |
| Eosinophils | | 700/mm ³ |

Adapted from Schaison et al.¹²

TABLE 2. Characteristics of Hematological Adverse Events During Sulfadoxine Pyrimethamine Treatment

| | Number of Patients | Time of Event After the First Pyrimethamine Sulfadoxine Intake (Days) | | Duration of Event (Days) | | Number of Events Per Patient | Number of Events Related to Drug After Causality Assessment/Number of Patients with an Adverse Event Attributed to Treatment |
|------------------|--------------------|---|----------|--------------------------|----------|------------------------------|--|
| | | Mean | Interval | Mean | Interval | Mean | |
| Anemia | 14 (20.6%) | 203.5 | 19–470 | 38.9 | 10–113 | 1 | 0 |
| Neutropenia | 21 (30.9%) | 157.3 | 5–385 | 23.8 | 9–62 | 1 | 4/3 patients (4.6%) |
| Thrombocytopenia | 5 (7.3%) | 173.2 | 52–350 | 21.6 | 14–34 | 1 | 0 |
| Eosinophilia | 17 (25%) | 155.8 | 12–442 | 38.1 | 9–79 | 1.5 | 3/3 patients (4.6%) |

For definitions of anemia, neutropenia, thrombocytopenia and eosinophilia please refer Table 1. NA indicates not applicable.

TABLE 3. Adverse Event Considered as Drug-Related Adverse Event Rated as “Possible” and Previous Treatment

| Patient Number | Type of Adverse Event | Value (/mm ³) | Time to Occurrence After the First Intake (Days) | Duration of the Event (Days) | Treatment Discontinuation | Toxicity After Reintroduction of Treatment | Other Treatment Before Pyr-SDX | Adverse Effect During the Initial Treatment |
|----------------|-----------------------|---------------------------|--|--------------------------------------|---------------------------|--|--------------------------------|---|
| 20 | Neutropenia | 673 | 33 | 13 | Yes | Yes | Pyr-SDZ | No |
| | Neutropenia | 880 | 94 | 17 | Yes | No | | |
| 40 | Neutropenia | 700 | 91 | 31 | Yes | No | Pyr-SDZ | No |
| 56 | Neutropenia | 510 | 64 | 26 | Yes | No | Pyr-SDZ | No |
| 27 | Eosinophilia | 1375 | 290 | Not resolved at the end of treatment | No | NA | Pyr-SDZ | No |
| 30 | Eosinophilia | 970 | 127 | 71 | No | NA | None | |
| 58 | Eosinophilia | 910 | 83 | 68 | No | NA | Pyr-SDZ | Eosinophilia |

Hb indicates hemoglobin; MCV, mean cell volume; NA, not applicable.

The eosinophil count was greater than 700/mm³ on 1 to 4 occasions in 17 patients (26.1%) and was considered to be drug related and rated as “possible” in 3 subjects (4.6%), but did not result in the discontinuation of treatment.

Overall, a total of 7 hematological adverse effects in 6 patients (9.2%) were rated as “possibly” drug related (Table 3). None of these was considered to be a severe side effect. Four treatments were temporarily interrupted because of possible drug-related adverse effects.

DISCUSSION

The aim of this study was to evaluate the safety of Pyr-SDX in 65 infants treated for congenital toxoplasmosis. Fifteen clinical adverse events (mostly vomiting) were observed in 9 patients but were not attributed to Pyr-SDX treatment. Only 7 hematological events, mostly neutropenia, observed in 6 children (9.2%) were considered as possibly being related to the Pyr-SDX combination, but none was rated as “certain,” using a standardized method for causality assessment. Thus, our main finding was that clinical and hematological tolerance was satisfactory. Most of the hematological abnormalities observed in our series were not related to Pyr-SDX treatment because they were not observed when treatment was reintroduced. We believe that they were due to other external factors, such as iron deficiency that caused anemia, atopy or parasitic infections that caused eosinophilia and viral infections for example that caused neutropenia. Moreover immune neutropenia can reasonably be excluded as it was transient in our children,^{14,15} although no specific investigation was undertaken. Unfortunately, we were not able to compare our data to a control group. The most

appropriate control group would have been untreated infected children which is unconceivable with respect to ethical considerations.

Other limitations of the study are the consequences of the retrospective design of this study. First, the patient follow-up, which included intake reports and repeated measures of serum concentrations, gave assurance of compliance with treatment and can be regarded as the strong point of this study. However, blood cell count results were not systematically transmitted to parasitologists between outpatient clinic referrals, and such missing data may be a matter of concern when assessing a causal relationship with toxoplasmosis treatment, leading to a risk of underestimation. The quasi-random blood sampling design adopted for pharmacokinetic purposes did not allow an evaluation of the relationship between adverse effects and measured concentrations, because the time lapse between drug intake and blood sampling varied from less than 1 hour to more than 10 days.

All of the other studies using the combination of Pyr-SDX¹⁶⁻¹⁸ failed to provide sufficient details for a differential diagnosis or provisional assessment of a cause-effect association. Furthermore, a comparison between our results and a review of the literature is difficult for several reasons. First, the therapeutic schedules used are different: the length of therapy, dosing and the rhythm of drug intake vary from 1 protocol to another: the length of treatment ranged from 5 months to 2 years and the doses of pyrimethamine varied from 1.25 mg/kg/15 days to 1 mg/kg/day. Second, none of these studies used a standardized method to assess the case-causality relationship between the drug and adverse events: only 3 articles indicated thresholds of parameters regarded as abnormal for hematological adverse events, and all were different from ours. Third, details were not provided regarding the

number of events per subject and the recurrence of events after the resumption of drug therapy was not reported. Moreover, the characteristics of anemia were not reported.

Our 9.2% rate of hematological adverse events was markedly higher than that reported in other studies using the same doses (25 and 1.25 mg/kg) and a similar rhythm of intake of Pyr–SDX.^{16,17} Conversely, Bloom et al,¹⁸ using doses twice as high as ours, reported a 15.8% rate of children with at least 1 occurrence of neutropenia, which was markedly higher than the 4.6% rate observed in our study.

Some clinicians in France and elsewhere use a combination of pyrimethamine with sulfadiazine (Pyr–SDZ) rather than sulfadoxine. The reasons for this might be the unavailability of Pyr–SDX in some countries (eg, in the USA), the preference for a sulfamide with a shorter half-life in the event of an overdose or the fact that higher doses of pyrimethamine are preferable in cases of severe infections even though no studies have demonstrated their added benefit.^{19,20} The doses of pyrimethamine administered when Fansidar® tablets are used are 6 times lower than those in protocols that use Pyr–SDZ. Thus, the studies using Pyr–SDZ provided higher doses and rhythm of intake of pyrimethamine (0.5–1 mg/kg every day or every 3 days vs. 1.25 mg/kg every 10 days in our series). In contrast, a lower hematological tolerance was reported by all authors. Some patients in the studies of Couvreur et al²¹ and Guerina et al²² presented anemia (3.5% and 14.8%, respectively; no characteristics indicated), which might be related to the lower dose of folic acid prescribed. No treatment-related anemia was observed in our study and we observed no macrocytic anemia, which is a sign of folate deficiency possibly because of antitoxoplasmic drugs. With regard to neutropenia, 4 studies reported a higher rate than ours: 58% and 50%, respectively, versus 32.3% of occurrences of neutropenia,^{23,24} whereas Guerina et al²² and Schmidt et al²⁵ reported that 14.9% of 47 children and 12.5% of 48 children, respectively, had an occurrence of neutropenia lower than 500/mm³, rates which were also higher than our rate of 4.6%. McLeod et al²⁶ showed that reversible neutropenia was a primary side effect, which was in keeping with our findings that higher doses led to a greater likelihood of multiple episodes of reversible neutropenia.

These results suggested that the administration of a Pyr–SDZ combination every day would induce more neutropenia than that of Pyr–SDX every 10 days, as observed by Villena et al.¹⁷ However, no study has described the dose/effect and concentration/effect relationships of both drugs.²⁷ Moreover, the intake rhythm (once every 10 days) and capsules adapted to body weight enhance the compliance with treatment. Thus, providing Pyr–SDX in settings where it is not currently available may be of interest because no other treatment regimen has been proven to be more efficacious.

McAuley et al²³ observed 1 case of eosinophilia among 37 children. We noted eosinophilia in 17 subjects on 23 occasions, only 3 of which were attributed to treatment and rated as “possible.” This result must be interpreted with caution because transient eosinophilia could be related to other causes, such as atopy. Cutaneous eruptions have been described in 1 study using Pyr–SDZ.²¹ Among our patients, only 1 child presented a cutaneous erythema at the end of the treatment. Vomiting, diarrhea and agitation are frequent disorders in infants and could not be attributed to treatment without any formal proof because they resolved although therapy was continued.

To date, no severe clinical adverse events have been reported in cohorts of children treated for congenital toxoplasmosis. However, McLeod et al²⁸ recently described the case of a child with congenital toxoplasmosis who developed a severe, potentially fatal hypersensitivity reaction after Pyr–SDZ intake. The reaction was

similar to the “DRESS syndrome” (drug rash with eosinophilia and systemic symptoms syndrome). The risk of Lyell or Stevens–Johnson syndromes cannot be excluded during the use of these molecules for the treatment of congenital toxoplasmosis. In children less than 15 years old who were treated for malaria, Gimnig et al²⁹ estimated that the frequency of serious cutaneous disorders related to the intake of a Pyr–SDX combination was 0.3 cases for 100,000 exposures.

According to our results, Pyr–SDX seems to be well tolerated, which is in keeping with the results of Genuini et al³⁰ who reported that a pyrimethamine overdose in a case of congenital toxoplasmosis with favorable outcome was associated with transient side effects. We did not observe any serious adverse events that could be related to treatment (such as severe neutropenia). Resumption of treatment was well tolerated in all cases and each child completed the full treatment. However, the number of patients was too small to show rare and severe adverse events, such as Lyell or Stevens–Johnson syndromes. Studies reporting data on the safety of congenital toxoplasmosis therapy showed good tolerance of the treatment^{16–18} and thus, we call for the wider availability of Pyr–SDX for use in nonsevere cases at least. Hematological side effects can be prevented by the administration of folic acid, but the risk of severe cutaneous reactions is real and must be kept in mind. It appears imperative, at the present time, to undertake larger randomized controlled trials to compare the efficacy and safety of different postnatal treatment regimens for congenital toxoplasmosis, mainly in asymptomatic children who are treated to prevent the apparition of sequelae, and study the possibility of reducing the length of treatment. For example, in France, the TOSCANE study is aimed at demonstrating the noninferiority of effectiveness of short-term treatment.³¹ Moreover, long-term follow-up is needed to assess the risk of the occurrence of allergies in cases of the subsequent administration of antitoxoplasmic drugs. It has been hypothesized that Pyr–SDZ may be more efficient than Pyr–SDX in vitro³² but no in vivo data are available to support this.

In conclusion, if we consider that both treatment regimens may be equivalent, then safety and the ease of use might be taken into account. Several studies have chosen to use Pyr–SDX,^{33,34} an association that is less constraining than Pyr–SDZ, and our study supports this choice by highlighting the good tolerance of Pyr–SDX.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. François Kieffer for critically reviewing the manuscript, Mrs. Jane Mitchell for reviewing the English and Mrs. Badoil for expert secretarial assistance.

REFERENCES

- Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, et al. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004;113:1567–1572.
- Wallon M, Peyron F, Cornu C, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1223–1231.
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet*. 2004;363:1965–1976.
- Phan L, Kasza K, Jalbrzikowski J, et al.; Toxoplasmosis Study Group. Longitudinal study of new eye lesions in children with toxoplasmosis who were not treated during the first year of life. *Am J Ophthalmol*. 2008;146:375–384.
- Phan L, Kasza K, Jalbrzikowski J, et al.; Toxoplasmosis Study Group. Longitudinal study of new eye lesions in treated congenital toxoplasmosis. *Ophthalmology*. 2008;115:553–559.e8.
- Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, et al.; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (EMSCOT). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2:e277.

7. Delhaes L, Ajzenberg D, Sicot B, et al. Severe congenital toxoplasmosis due to a *Toxoplasma gondii* strain with an atypical genotype: case report and review. *Prenat Diagn*. 2010;30:902–905.
8. Daveluy A, Haramburu F, Bricout H, et al. Eurotox Group panel 2 experts. Review of data related to side effects of drugs used in congenital toxoplasmosis [Unpublished report]. Bordeaux (France): The Eurotox Group; 2005. Available at: <http://eurotox.isped.u-bordeaux2.fr/WWW-PUBLIC/US-EUROTOXO-PublicAccess-Frame2.htm>. Accessed August 5, 2014.
9. Kelly W, Arellano F, Barnes J, et al.; International Society of Pharmacovigilance; International Society of Pharmacovigilance. Guidelines for submitting adverse event reports for publication. *Therapie*. 2009;64:289–294.
10. Astier H, Renard C, Cheminel V, et al. Simultaneous determination of pyrimethamine and sulphadoxine in human plasma by high-performance liquid chromatography after automated liquid-solid extraction. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1997;698:217–223.
11. Corvaisier S, Charpiat B, Mounier C, et al. Population pharmacokinetics of pyrimethamine and sulfadoxine in children treated for congenital toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3794–3800.
12. Schaison G, Baruchel A, Leblanc T. *Hématologie de l'enfant*. Paris, France: Médecine Sciences Publications; 1995.
13. Bégaud B, Evreux JC, Jouglard J, et al. Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France. *Therapie*. 1985;40:111–118.
14. Lakshman R, Finn A. Neutrophil disorders and their management. *J Clin Pathol*. 2001;54:7–19.
15. Maheshwari A. Neutropenia in the newborn. *Curr Opin Hematol*. 2014;21:43–49.
16. Berger R, Stürchler D, Rudin C. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis: detection and treatment of asymptomatic newborns in Basel, Switzerland. *Scand J Infect Dis Suppl*. 1992;84:46–50.
17. Villena I, Aubert D, Leroux B, et al. Pyrimethamine-sulfadoxine treatment of congenital toxoplasmosis: follow-up of 78 cases between 1980 and 1997. Reims Toxoplasmosis Group. *Scand J Infect Dis*. 1998;30:295–300.
18. Bloom MC, Rolland M, Berrebi A, et al. Toxoplasmose foetale. Attitudes nouvelles dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique. *La Médecine Infantile* 1991;3:193–198.
19. McLeod R, Mack D, Foss R, et al. Levels of pyrimethamine in sera and cerebrospinal and ventricular fluids from infants treated for congenital toxoplasmosis. Toxoplasmosis Study Group. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:1040–1048.
20. Peyron F, Wallon M, Kieffer F, et al. Toxoplasmosis. In: Wilson CB, Nizet V, Maldonado Y, Remington JS, Klein JO, eds. *Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn*. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2014.
21. Couvreur J, Nottin N, Desmonts G. Treatment of congenital toxoplasmosis. Clinical and biological results (author's transl). *Ann Pediatr (Paris)*. 1980;27:647–652.
22. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional Toxoplasma Working Group. *N Engl J Med*. 1994;330:1858–1863.
23. McAuley J, Boyer KM, Patel D, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis*. 1994;18:38–72.
24. Kieffer F, Thulliez P, Brézin A, et al. Treatment of subclinical congenital toxoplasmosis by sulfadiazine and pyrimethamine continuously during 1 year: apropos of 46 cases. *Arch Pediatr*. 2002;9:7–13.
25. Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, et al. Treatment of infants with congenital toxoplasmosis: tolerability and plasma concentrations of sulfadiazine and pyrimethamine. *Eur J Pediatr*. 2006;165:19–25.
26. McLeod R, Boyer K, Karrison T, et al. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981–2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1383–1394.
27. Thiébaud R, Bricout H, Di Constanzo S, et al. Eurotox Group panel 2 experts. Systematic review of published studies evaluating postnatal treatment effect [Unpublished report]. Bordeaux (France): The Eurotox Group; 2005. Available at: <http://eurotox.isped.u-bordeaux2.fr/WWW-PUBLIC/US-EUROTOXO-PublicAccess-Frame2.htm>. Accessed August 5, 2014.
28. McLeod R, Khan AR, Noble GA, et al.; Toxoplasmosis Study Group. Severe sulfadiazine hypersensitivity in a child with reactivated congenital toxoplasmic chorioretinitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:270–272.
29. Gimnig JE, MacArthur JR, M'bang'ombe M, et al. Severe cutaneous reactions to sulfadoxine-pyrimethamine and trimethoprim-sulfamethoxazole in Blantyre District, Malawi. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;74:738–743.
30. Genuini M, Freiher C, Girard I, et al. Neonatal intoxication with pyrimethamine: risk due to the absence of pediatric formulation?. *Arch Pediatr*. 2011;18:1084–1086.
31. Wallon M, Kieffer F, Binquet C, et al. Congenital toxoplasmosis: randomised comparison of strategies for retinchoroiditis prevention. *Therapie*. 2011;66:473–480.
32. Mack DG, McLeod R. New micromethod to study the effect of antimicrobial agents on *Toxoplasma gondii*: comparison of sulfadoxine and sulfadiazine individually and in combination with pyrimethamine and study of clindamycin, metronidazole, and cyclosporin A. *Antimicrob Agents Chemother*. 1984;26:26–30.
33. Berrebi A, Assouline C, Bessières MH, et al. Long-term outcome of children with congenital toxoplasmosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203:552.e1–552.e6.
34. Faucher B, Garcia-Meric P, Franck J, et al. Long-term ocular outcome in congenital toxoplasmosis: a prospective cohort of treated children. *J Infect*. 2012;64:104–109.

La toxoplasmose de l'immunodéprimé

Articles dans des journaux internationaux avec comité de lecture

Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart M-P, Garnaud C, Wallon M, Pelloux H. Serology for *Toxoplasma* in Immunocompromised Patients: Still Useful?

Trends Parasitol 2021 Mar;37(3):205-213.

Robert-Gangneux F, Meroni V, Dupont D, Botterel F, Garcia JMA, Brenier-Pinchart MP, et al. Toxoplasmosis in Transplant Recipients, Europe, 2010-2014.

Emerg Infect Dis 2018;24(8):1497-504.

Conrad A, Le Maréchal M, Dupont D, Ducastelle-Leprêtre S, Balsat M, Labussière-Wallet H, et al. A matched case-control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication.

Clin Microbiol Infect 2016;22(7):636-41.

Dans le cadre de ma thèse, je me suis également intéressé à la toxoplasmose de l'immunodéprimé dont les conséquences sévères et la mortalité importante ont été révélées de façon dramatique dans les années 1980 dans le cadre de l'épidémie de VIH, et qui concerne actuellement un nombre croissant de patients, de profils variés.

Une hétérogénéité des situations

Le risque principal dans ce contexte est la réactivation d'une infection toxoplasmique ancienne conduisant à la rupture de kystes déjà présents chez l'hôte, présentant une baisse de l'immunité cellulaire, comme c'est le cas dans l'infection par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH, la toxoplasmose étant considéré comme une infection opportuniste révélatrice du Syndrome d'Immunodéficience Acquise, SIDA), en oncologie [83], [84] ou en hématologie avec l'utilisation de chimiothérapies de plus en plus immunosuppressives, mais également, chez les patients transplantés d'organe solide. Une dernière catégorie de patients à risque de réactivation est constituée par les patients atteints de déficits immunitaires ou traités par biothérapie [85]–[89]. Dans le cas de greffe de cellules souches hématopoïétiques, les patients ayant reçu une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques représentent la catégorie la plus à risque de réactivation d'infection chronique, lors du conditionnement pré-greffe [90]. L'incidence de la maladie varie alors entre 0,5 et 4 % [91], [92]. Les kystes peuvent également être apportés via le greffon, à partir d'un donneur séropositif, à un receveur séronégatif. Le risque de transmission est fonction du type d'organe greffé. Ainsi, les organes les plus à risque sont les transplantations de cœur, et de cœur-poumons du fait du tropisme de *T. gondii* pour le tissu musculaire strié [93]. La toxoplasmose est reconnue comme une complication infectieuse dans le contexte de greffe cardiaque et a ainsi motivé l'utilisation de chimioprophylaxie afin d'en limiter l'incidence.

Il est à noter qu'un patient immunodéprimé est aussi à risque de s'infecter par voie orale, et que les mesures de prévention, vues précédemment, doivent s'appliquer à ces catégories de populations à risque.

Des conséquences cliniques souvent dramatiques

Les manifestations cliniques sont majoritairement des encéphalites ou des abcès cérébraux conduisant à des symptômes à type de fièvre, céphalées, ataxie, hémiparésie, léthargie, confusion, crises tonico-cloniques ou déficit sensori-moteur. Les signes retrouvés le plus fréquemment sont l'hémiparésie et les troubles du langage. L'évolution peut être brutale ou s'étendre sur plusieurs semaines. C'est ce type de présentation clinique qui était retrouvé chez les patients VIH+.

Avec l'augmentation des cas de toxoplasmose chez les patients non VIH, l'infection toxoplasmique est plus souvent disséminée que limitée au SNC [94]. Ainsi, d'autres organes peuvent être touchés [75], soit parce qu'ils hébergeaient des kystes, soit secondairement après dissémination du parasite : on peut observer des atteintes des poumons, des yeux, des reins, du cœur, du foie, etc... Les formes disséminées sont généralement rapidement progressives. La mortalité peut ainsi atteindre 80 % selon le terrain et la forme clinique [95].

Un traitement rapide essentiel

Un traitement rapide est essentiel, au vu des conséquences cliniques. Il repose majoritairement sur des protocoles thérapeutiques mis au point à partir de cohortes de patients VIH+. Ainsi, l'association de deux antimicrobiens est recommandée, et c'est l'association de la pyriméthamine et d'un sulfamide qui est considérée comme le traitement de référence chez les patients VIH+. Les études de non infériorité ont également démontré l'efficacité de l'association pyriméthamine-clindamycine ou du Bactrim® (sulfaméthoxazole-triméthoprim). Les données restent cependant contradictoires quant à leur efficacité dans la prévention des rechutes par rapport à la pyriméthamine associée à un sulfamide

[96], [97]. Il est à noter que l'ensemble de ces molécules possèdent des effets indésirables importants. L'indication d'un traitement est donc dépendante de sa tolérance individuelle, de sa forme galénique et de sa disponibilité, ou de son coût. De plus, les corticoïdes sont parfois utilisés en cas d'œdème cérébral [98]. Les recommandations internationales sont en faveur d'un traitement d'induction d'au moins six semaines [99], jusqu'à amélioration clinique et radiologique. Une prophylaxie secondaire est toujours mise en place ultérieurement jusqu'à ce que les CD₄ soient à un taux supérieur à 200/mm³ et que la charge virale soit indétectable pendant six mois [99].

Dans le cas de patients greffés d'organe solide, les traitements utilisés ne sont pas standardisés, aussi bien en curatif qu'en préventif [100]. Les options thérapeutiques sont similaires à celles des patients VIH+, en insistant sur une instauration le plus précoce possible. Si possible, il est également nécessaire de diminuer l'immunosuppression [101]. Concernant les patients greffés de moelle osseuse, là encore, les options thérapeutiques sont les mêmes que pour les patients VIH+. Une prophylaxie primaire est également mise en place, principalement à base de Bactrim® [102], mais il persiste des interrogations quant à la durée et à la dose recommandée [103], [104]. Ainsi, l'administration de Bactrim® trois fois par semaine est associée à une faible incidence des réactivations toxoplasmiques [105], [106]. En revanche, sa myélotoxicité complique son usage dans un contexte de myélosuppression sévère, où la sortie rapide d'aplasie conditionne le pronostic [107]. De plus, certains cas de réactivation toxoplasmique sous traitement posent question quant à son efficacité par rapport à une administration quotidienne. Une prophylaxie secondaire est également mise en place tant que perdure l'immunosuppression, laquelle doit être diminuée autant que possible [108].

Bien qu'utilisés avec beaucoup de recul, la plupart des traitements ne sont pas codifiés. Il en ressort un besoin urgent de clarification, mais également de standardisation et d'harmonisation selon les populations et leurs facteurs de risque. Ces objectifs de clarification m'ont conduit à participer activement à une enquête du Study Group for Clinical Parasitology de l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases). L'objectif était de faire le point sur les pratiques en

terme de prévention, de diagnostic et de traitement chez les patients greffés en Europe entre 2010-2014. Cela a nécessité de ma part d'interroger sur leurs pratiques les très nombreux transplantateurs du CHU de Lyon, mais également d'identifier tous les cas de toxoplasmose diagnostiqués parmi leurs patients sur la période concernée. Cela a nécessité l'analyse d'un grand volume de données cliniques, et d'un grand nombre de résultats de sérologie et de biologie moléculaire archivés au sein du Système d'Informatique du Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites de Lyon. La collecte des mêmes données dans 46 centres répartis dans 11 pays européens a permis de colliger pour chacun d'eux les informations suivantes : séroprévalence et existence d'un système déclaratif de cas, nombre annuel de transplantations par centre et par pays et protocoles de screening sérologique pré-transplantation, de surveillance des receveurs et de prophylaxie. Ce travail a permis de mettre en exergue la disparité des procédures et donc le besoin de standardiser les modalités de screening, de suivi et de traitement des receveurs. Un des enjeux prioritaires est l'occurrence de cas de toxoplasmose maladie après arrêt de la chimioprophylaxie, ce qui suggère l'intérêt de surveiller le taux de CD₄ pour guider l'arrêt de la chimioprophylaxie.

Place de la biologie

La biologie joue un rôle essentiel que ce soit pour identifier les patients à risque, ou faire un diagnostic le plus rapide possible en cas de symptômes. Dans ce contexte d'immunodépression, il convient de distinguer la primo-infection et la réactivation d'une infection ancienne. Dans le cas d'une réactivation chez un patient infecté chroniquement, une sérologie positive ne pourra jamais à elle seule permettre d'affirmer que la clinique est en rapport avec l'infection toxoplasmique. Il est donc nécessaire d'utiliser des techniques de diagnostic direct sur les tissus ou fluides suspects d'infection pour mettre en évidence le parasite. Sa présence peut s'objectiver par la détection d'ADN parasitaire après amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR) sur tous les tissus et les fluides disponibles [109]–[112]. La cible de cette PCR utilisée depuis 1989 était le gène B1, présent en 35 copies dans le génome parasitaire [113]. Cette dernière a été supplantée récemment par la séquence répétée 200 à 300 fois,

REP-529, permettant ainsi une meilleure sensibilité diagnostique [114], [115]. L'intérêt de la PCR réside principalement dans sa valeur prédictive positive, qui atteint 100 % [9], [116].

Je suis premier auteur d'un article publié dans *Trends in Parasitology* qui avait pour objectif de clarifier les rôles respectifs de la sérologie et de la biologie moléculaire pour la surveillance et le diagnostic chez l'immunodéprimé. Ce travail collaboratif avec les parasitologues du CHU de Grenoble a permis de rappeler que la sérologie possède toujours une place dans l'arsenal diagnostique de la toxoplasmose de l'immunodéprimé. Dans un premier temps, avant la mise en place de l'immunosuppression, elle permet de connaître le statut immunitaire du patient vis-à-vis du parasite et donc de savoir à quels risques il sera exposé. Chez un greffé de cellules souches hématopoïétiques et chez un patient VIH+, une sérologie négative expose surtout le patient à un risque de primo-infection, le mismatch dans le cas de greffe de moelle étant évité le plus possible. Une sérologie positive expose à un risque de réactivation. Pour les greffés d'organe solide, une sérologie positive expose à un risque de réactivation. Dans le cas d'une sérologie négative, le risque dépend du statut sérologique du donneur. Un donneur négatif conduit à un risque de primo-infection, alors qu'un donneur positif expose à un risque de réactivation des kystes présents dans le greffon. La sérologie est donc essentielle pour identifier les mismatches potentiels entre donneur et receveur, et ainsi guider la prise en charge. Par ailleurs, elle peut servir d'indicateur dans le suivi du patient. Ainsi, elle est utilisée en comparaison avec la sérologie avant greffe. En effet, certains auteurs rapportent une réapparition des IgM ou bien une réascension des IgG en cas de réactivation toxoplasmique [117], ce qui permet de mettre en route un screening par PCR, et un traitement si son résultat est positif. Il est ainsi à noter qu'une réascension sérologique n'est pas toujours corrélée à une réactivation clinique. Dans certains cas, les marqueurs sérologiques sont les seuls arguments en faveur d'une infection toxoplasmique [117].

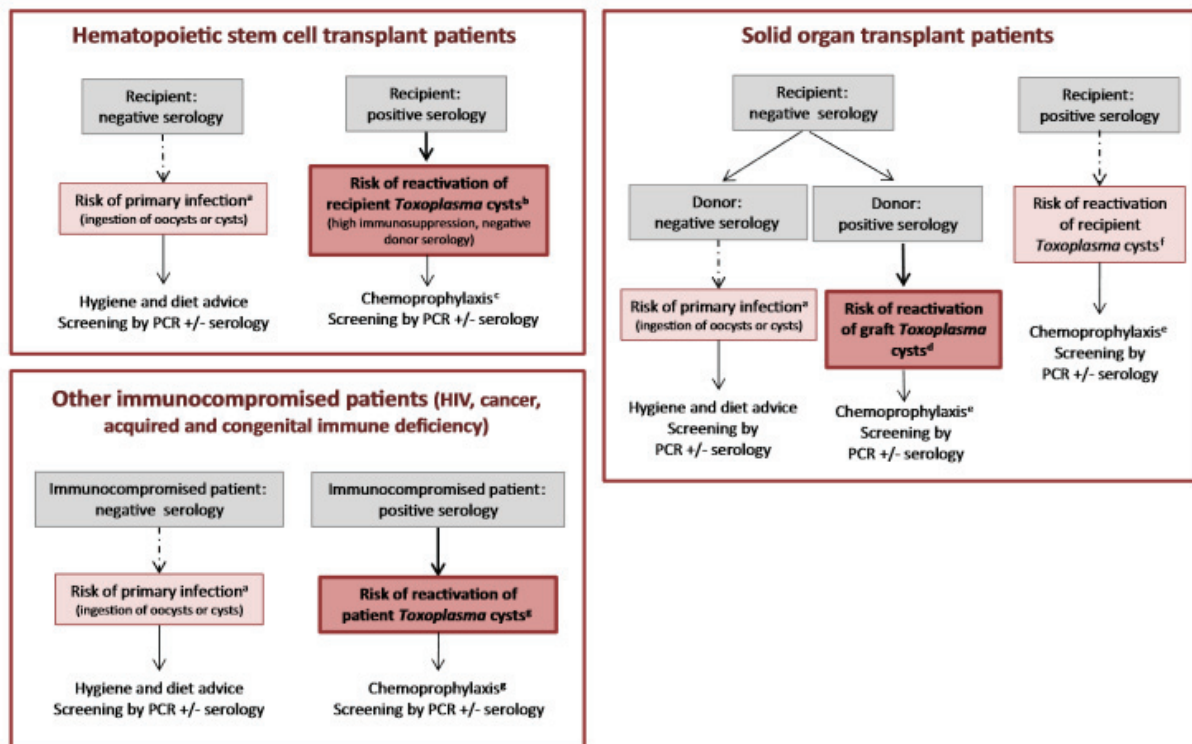


Figure 8 : Risques et mesures prophylactiques pour la toxoplasmose dans les différentes situations cliniques de l'immunodéprimé, d'après Dupont et al, *Trends Parasitol* 2020 [118]

Ceci pose ainsi la base pour des recommandations claires pour le screening des patients immunodéprimés mais également pour leur suivi et leur prise en charge. Par ailleurs, il est admis que les patients d'hématologie, dont le risque de réactivation est majeur, doivent bénéficier d'une surveillance hebdomadaire par PCR sanguine afin de pouvoir précocement mettre en place un traitement préemptif en cas de parasitémie [105]. Cette surveillance est à mettre en balance avec la possibilité d'implémentation d'une chimioprophylaxie.

Au sein du groupe de travail Lyon HEMINF, j'ai participé activement à une étude rétrospective de type cas-témoins chez des patients allogreffés de cellules souches, réalisée en collaboration avec les hématologues et les infectiologues du CHU de Lyon. J'ai contribué à colliger les données de 588 patients et à identifier 23 cas de toxoplasmose, dont 20 toxoplasmose maladie et trois toxoplasmose infection. Une analyse bivariée sur des critères sélectionnés a permis d'identifier certains facteurs de

risque dans le cas d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : l'absence de prophylaxie efficace contre *T. gondii*, une maladie du greffon contre l'hôte de haut grade et l'administration d'antagonistes du TNF α . Ces résultats mettent ainsi l'accent sur la connaissance du statut sérologique du receveur avant conditionnement, et sur la mise en route rapide d'une prophylaxie efficace chez un receveur séropositif.

Le point commun des ces travaux personnels est d'apporter une clarification sur les modalités qui permettraient une meilleure prévention des conséquences de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé.



Original article

A matched case–control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication

A. Conrad^{1,2,3}, M. Le Maréchal⁴, D. Dupont^{3,5,6}, S. Ducastelle-Leprêtre⁷, M. Balsat⁷, H. Labussière-Wallet⁷, F. Barraco⁷, F.-E. Nicolini⁷, X. Thomas⁷, L. Gilis⁷, C. Chidiac^{1,3}, T. Ferry^{1,2,3}, F. Wallet⁸, M. Rabodonirina^{3,5,9}, G. Salles^{3,7}, M. Michallet^{3,7}, F. Ader^{1,2,3,*} on behalf of the Lyon HEMINF study Group

¹ Département de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, France

² Inserm U1111 Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Lyon, France

³ Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

⁴ Université de Lorraine et Paris Descartes, EA 4360 APEMAC, Nancy, France

⁵ Institut de Parasitologie et de Mycologie Médicale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁶ WAKING-Physiologie intégrée du système d'éveil, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon Inserm U1028, CNRS UMR5292, Lyon, France

⁷ Département d'Hématologie, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite, France

⁸ Département d'Anesthésie et de Réanimation du Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon, France

⁹ Emerging Pathogens Laboratory-Fondation Mérieux, CIRI Inserm U1111, CNRS UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 March 2016

Received in revised form

26 April 2016

Accepted 30 April 2016

Available online 10 May 2016

Editor: L. Leibovici

Keywords:

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation
Anti-*Toxoplasma* prophylaxis
Graft failure
Haemophagocytic syndrome
Toxoplasma gondii
Toxoplasmosis
Trimethoprim-sulfamethoxazole

ABSTRACT

Toxoplasmosis (TXP) is a life-threatening complication of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (AHSCT). Little is known about the risk factors and there is no consensus on prophylactic measures. To investigate the risk factors, we conducted a single-centre, retrospective matched case–control study among adults who underwent AHSCT from January 2006 to March 2015 in our hospital. TXP cases were identified from the prospectively maintained hospital's database. The 1:2 control population consisted of the two patients who received an AHSCT immediately before and after each case with similar donor relationship (related, unrelated) but who did not develop TXP. Risk factors were identified by conditional logistic regression. Clinical features and outcome of TXP were examined. Twenty-three (3.9%) cases of TXP (20 diseases, three infections) were identified among 588 AHSCT recipients. Twenty (87%) cases had a positive pre-transplant *Toxoplasma gondii* serology. In comparison with 46 matched control patients, risk factors were the absence of effective anti-*Toxoplasma* prophylaxis (odds ratio (OR) 11.95; 95% CI 3.04–46.88; $p < 0.001$), high-grade (III–IV) acute graft-versus-host-disease (OR 3.1; 95% CI 1.04–9.23; $p 0.042$) and receipt of the tumour necrosis factor- α blocker etanercept (OR 12.02; 95% CI 1.33–108.6; $p 0.027$). Mortality attributable to TXP was 43.5% ($n = 10$). Non-relapse mortality rates during the study period of cases and controls were 69.6% ($n = 16$) and 17.4% ($n = 8$), respectively. Lung involvement was the dominant clinical feature ($n = 14$). Two cases were associated with graft failure, one preceded by haemophagocytic syndrome. Given TXP-related morbidity and attributable mortality, anti-*Toxoplasma* prophylaxis is essential for optimized management of seropositive AHSCT recipients. **A. Conrad, F. Ader, CMI 2016;22:636**

© 2016 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Opportunistic infections are a leading cause of non-relapse mortality after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (AHSCT) [1]. Toxoplasmosis (TXP), caused by *Toxoplasma gondii*, is a severe opportunistic infection with an overall mortality

* Corresponding author. F. Ader, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, 103 Grande Rue de la Croix-Rousse, 69317 Lyon cedex 04, France.

E-mail address: florence.ader@chu-lyon.fr (F. Ader).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.025>

1198-743X/© 2016 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

rate ranging from 22% to 80% after AHSCT [2–5]. In this setting, TXP is defined as *Toxoplasma* infection when the patient is asymptomatic despite a positive blood PCR or as *Toxoplasma* disease in the presence of clinical symptoms with radiological or pathological evidence of organ involvement by *T. gondii* [2]. Incidence of TXP correlates with seroprevalence through reactivation of latent cysts. A prospective study among *T. gondii*-seropositive AHSCT recipients found a 6-month incidence of *Toxoplasma* infection or disease of 16% and 8%, respectively [6]. Besides recipient seropositivity, the major identified risk factor for TXP is cord blood unit transplantation [6,7]. Graft-versus-host-disease (GvHD) and the absence of chemoprophylaxis have been inconsistently associated with TXP [6,8].

In AHSCT recipients, anti-*Toxoplasma* prophylaxis by trimethoprim-sulfamethoxazole is the favoured option, by analogy with the human immunodeficiency virus-infected population [7,9,10]. However, in the absence of controlled studies, uncertainties remain regarding dosing and duration, as well as concerns about myelotoxicity [7,10,11].

We focused on TXP after AHSCT that met the criteria of infection or disease. Using a matched case–control design, we aimed to identify risk factors associated with TXP after AHSCT in a high seroprevalence setting to characterize subsets of patients to be imperatively targeted by prophylactic measures. Secondary objectives were to study the impact of TXP on the outcome of AHSCT recipients and to provide updated reports of TXP clinical presentations.

Patients and Methods

We conducted a retrospective, observational, single-centre matched case–control study among adult AHSCT recipients transplanted at the haematology department of our institution between January 2006 and March 2015. AHSCT recipients diagnosed with TXP were identified by cross-referencing the prospectively maintained databases of the haematology department and the parasitology laboratory and by additional chart reviews. Patients eligible for inclusion were those who matched the criteria previously defined as *Toxoplasma* infection (at least one blood sample positively tested by PCR for *T. gondii*) or *Toxoplasma* disease depending on whether there was evidence of organ involvement or not [2]. *Toxoplasma* disease was further classified into definite (histological or cytological demonstration of tachyzoites in tissue biopsy or bronchoalveolar lavage), probable (detection of *T. gondii* DNA by PCR in a blood sample and/or another sample from the involved organ such as cerebrospinal fluid, bronchoalveolar lavage or bone marrow) or possible disease (suggestive imaging of central nervous system TXP, response to empirical anti-*Toxoplasma* therapy and no other microbiological documentation). Disseminated TXP involved two or more organs. Each case was matched with two controls with similar donor relationship (related or unrelated) and temporal proximity of AHSCT (immediately before and after each identified case). The study was approved by the local ethics committee (Comité d’Ethique, Hospices Civils de Lyon). Because of the retrospective observational nature of the study and the lack of any modification in the patients’ management, the need for informed consent was waived.

Pre-transplant *T. gondii* serology was mandatory for both donors (D+ or D–) and recipients (R+ or R–). The *T. gondii* serostatus of cord blood units was considered negative, regardless of maternal serology. From 2008 to 2015, several assays were used for specific IgG and IgM antibody detection such as the Enzygnost® *Toxoplasmosis* IgG/IgM assay (Siemens, Munich, Germany; cut-off value 4 IU/mL for IgG and determined for each plate for IgM), the AxSYM Toxo IgG/IgM assay (Abbott, Abbott Park, IL, USA; equivocal zone 2–2.9 IU/mL and 0.5–0.6 IU/mL, respectively), and the ARCHITECT

Toxo IgG/IgM assay (Abbott; equivocal zone 1.6–2.9 IU/mL and 0.50–0.59 IU/mL, respectively). All equivocal IgG and IgM results were tested *a posteriori* with the Vidas Toxo IgM assay (Biomérieux, Marcy l’Etoile, France; equivocal zone 4–8 IU/mL) and the Platelia Toxo IgM assay (BioRad, Marnes-la-Coquette, France; equivocal zone 0.8–1.0 IU/mL), respectively.

The PCR analyses for *T. gondii* were performed on whole blood samples or other biological fluids by an in-house, real-time method targeting the repetitive 529-base-pair DNA fragment of *T. gondii* (GenBank AF 487550), as published elsewhere [12]. DNA was extracted from a 200- μ L sample of whole blood or centrifuged pellets using the Qiagen QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Courtabouef, France) according to the manufacturer’s instructions. Real-time PCR was performed on a LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics, Meylan, France) using FRET probes for detection. Results were classified as positive or negative, with a sensitivity level of 0.1 parasite/mL. Genotyping was not performed. With the exception of R+ cord blood unit recipients (screened weekly for 3 months), systematic PCR testing of AHSCT recipients was performed on demand.

With regard to their potential efficacy against *T. gondii*, we classified the prophylactic regimens as effective (trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800 mg thrice weekly), possibly effective (atovaquone 1500 mg daily or pyrimethamine-sulfadoxine 25/500 mg twice-weekly), or ineffective (monthly aerosolized pentamidine or no prophylaxis). According to centre’s policy, prophylaxis was initiated after neutrophil engraftment and sustained over a year.

The primary objective of the study was to determine the risk factors associated with TXP after AHSCT. Patients’ characteristics were collected to perform a bivariate analysis on selected variables: demographics, underlying haematological disease, disease status at AHSCT, characteristics of AHSCT (conditioning regimen, stem cell source), pre-transplant *T. gondii* serostatus, TXP prophylaxis at engraftment, delay in neutrophil engraftment (> 21 days), absolute lymphocyte count at day 30 after AHSCT, grade of acute GvHD (aGvHD), immunosuppressive treatments (calcineurin inhibitors, high-dose corticosteroids (≥ 1 mg/kg/day and ≥ 21 days), tumour necrosis factor- α blocker etanercept and anti-CD25 monoclonal antibody inolimomab, both used for steroid-refractory aGvHD).

Non-relapse mortality and attributable mortality after TXP in the setting of AHSCT were studied. Survival curves were drawn using the Kaplan–Meier method and compared using the log-rank test.

Clinically relevant features affecting target organs (lung, central nervous system, heart, bone marrow, eye) and the severity of the disease (intensive care unit admission, multi-organ failure, graft failure) were detailed. Contribution to graft failure was considered significant when recipients failed to engraft during the course of TXP with no other fatal complication or evidence of disease relapse.

Data were expressed as count (percentage), mean \pm standard deviation or median (interquartile range). Descriptive data were compared using Mann–Whitney *U* test, chi-squared test or the Fisher exact test, where appropriate. Odds ratios (95% CI) were calculated by bivariate analyses using conditional logistic regression. Analyses were based on two-sided *p* values, with statistical significance defined by *p* < 0.05 and conducted with R (version 3.2.1) and the ‘survival’ package.

Results

During the study period, 588 AHSCT were performed among which 334 (56.8%) were *T. gondii* R+. Twenty-three (3.9%) cases of TXP including 20 (3.4%) diseases and 3 (0.5%) infections were matched with 46 controls (Fig. 1). Study population (*n* = 69) differed from the rest of the cohort (*n* = 519) with respect to the

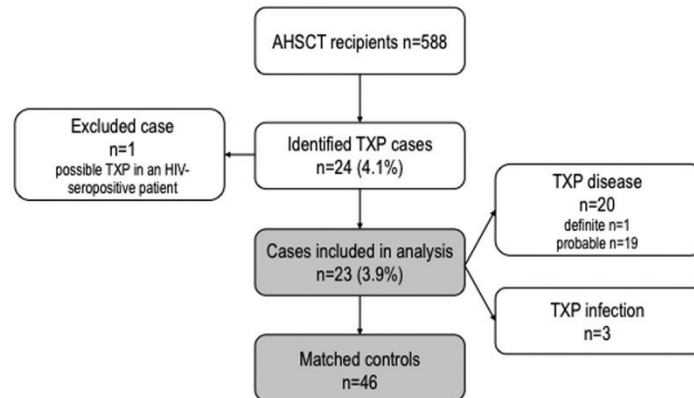


Fig. 1. Flow chart of patients included in the study. Toxoplasmosis (TXP) infection and disease defined according to the European Group for Blood and Marrow Transplantation–Infectious Diseases Working Party [2]. AHST, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation; HIV, human immunodeficiency virus; TXP, toxoplasmosis.

proportion of cord blood unit recipients (36.2% versus 11.6%, $p < 0.001$, data not shown). Cases ($n = 23$) significantly differed from the control population ($n = 46$) with respect to age, sex, advanced disease status and distribution of unrelated donor types, owing to matching criteria (Table 1).

In bivariate analysis, the lack of effective prophylaxis was strongly associated with TXP occurrence (OR 11.95; 95% CI 3.04–46.88; $p < 0.001$), whereas a trend to higher TXP occurrence was observed with possibly effective prophylaxis (OR 6.28; 95% CI 0.75–52.82; $p = 0.091$) (Table 2). The most frequent R/D pre-transplant serostatus pattern was R+/D– ($n = 15$, 65.2% among cases). After carefully assessing the R– cases ($n = 3$), two had a pre-transplant serology slightly below the positivity threshold in addition to being diagnosed with TXP before engraftment (while in sterile confinement), which invalidates a primary infection mechanism. The underlying haematological condition of the third R– case required numerous treatment lines before AHST, hampering antibody detection in the pre-transplantation assessment phase. When examining factors contributing to impaired immune function post-AHST, high-grade aGvHD (III–IV) and the use of etanercept were significantly associated with TXP (OR 3.1; 95% CI 1.04–9.23; $p = 0.042$ and OR 12.02; 95% CI 1.33–108.6; $p = 0.027$, respectively) (Table 2).

Non-relapse mortality rates among TXP cases and control patients over the study period were 69.6% ($n = 16$) and 17.4% ($n = 8$), respectively. Attributable mortality of TXP was 43.5% ($n = 10$). Median follow up of the study population was 12 months (interquartile range 4.2–35.4 months). Probability of overall survival of cases was significantly decreased compared with that of controls (log-rank, $p < 0.001$) (Fig. 2). Overall probability of survival for cases at 1, 3, 6 and 12 months was 83%, 55%, 37% and 35%, respectively.

Among TXP cases, 19 (82.6%) recipients were not on prophylaxis at diagnosis whereas 4 (17.4%) were breakthrough TXP while under trimethoprim-sulfamethoxazole ($n = 3$) or pyrimethamine-sulfadoxine ($n = 1$) (see Supplementary material, Table S1). Systematic *T. gondii* blood PCR monitoring revealed TXP in 9 (39.1%) cases. Median time to TXP onset was 62 (interquartile range 34.5–148.5) days. Two patterns were individualized: (i) early-onset TXP occurring before engraftment for 7 (30.4%) recipients of a mismatched unrelated donor; (ii) late-onset TXP (beyond day 100)

for 9 (39.1%) recipients, among whom five were experiencing concurrent steroid-refractory high-grade aGvHD.

Among patients with TXP disease ($n = 20$), lung involvement was the dominant feature ($n = 14$, 70%), ranging from mild

Table 1
Patient demographic and haematological characteristics

| Characteristic | Cases ($n = 23$) | Controls ($n = 46$) | p-value |
|-------------------------------------|--------------------|-----------------------|---------|
| Age (years), mean (SD) | 51.3 (13.5) | 43.1 (14.3) | 0.016 |
| Male sex | 10 (43.5) | 33 (71.7) | 0.035 |
| Underlying disease | | | |
| Acute leukaemia | 12 (52.2) | 27 (58.7) | 0.606 |
| Myelodysplastic syndrome | 1 (4.3) | 7 (15.2) | 0.253 |
| Myeloproliferative disorder | 4 (17.4) | 3 (6.5) | 0.211 |
| Lymphoproliferative disorder | 2 (8.7) | 3 (6.5) | 1 |
| Multiple myeloma | 4 (17.4) | 5 (10.9) | 0.468 |
| Aplastic anaemia | 0 (0) | 1 (2.2) | 1 |
| Disease status at AHST ^a | | | |
| Early | 9 (39.1) | 25 (54.3) | 0.233 |
| Intermediate | 4 (17.4) | 12 (26.1) | 0.550 |
| Advanced | 10 (43.5) | 9 (19.6) | 0.036 |
| Prior HSCT | 6 (26.1) | 7 (15.2) | 0.276 |
| Donor type | | | |
| Identical sibling | 4 (17.4) | 8 (17.4) | 1 |
| Matched unrelated | 3 (13.0) | 19 (41.3) | 0.027 |
| Mismatched unrelated | 16 (69.6) | 19 (41.3) | 0.029 |
| Stem cell source | | | |
| Bone marrow | 8 (34.8) | 16 (34.8) | 1 |
| Peripheral blood | 5 (21.7) | 15 (32.6) | 0.348 |
| Cord blood unit | 10 (43.5) | 15 (32.6) | 0.376 |
| Conditioning regimen | | | |
| Myeloablative conditioning | 11 (47.8) | 28 (60.9) | 0.303 |
| Anti-thymocyte globulin | 16 (69.6) | 36 (78.3) | 0.429 |
| Total body irradiation | 14 (60.9) | 26 (56.5) | 0.730 |

Data are n (%) of patients, unless otherwise indicated. Variables were compared using Mann–Whitney U -test, χ^2 test or the Fisher exact test, where appropriate. Abbreviations: AHST, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation; HSCT, haematopoietic stem cell transplantation; SD, standard deviation.
^a Disease status at AHST classified in early (any underlying disease in first complete remission, untreated myelodysplastic syndrome of good prognosis, myeloproliferative disorder in chronic phase), intermediate (any underlying disease in at least second complete remission, multiple myeloma not in complete remission, myeloproliferative disorder in accelerated phase) or advanced (refractory or relapsing underlying disease, myeloproliferative disorder in blastic phase, any relapsing malignancy after previous HSCT, second AHST after previous primary graft failure).

Table 2
Bivariate analysis of risk factors

| Variable | Cases (n = 23) | Controls (n = 46) | OR | 95% CI | p-value |
|---|----------------|-------------------|-------|-------------|---------|
| <i>Toxoplasma</i> serostatus ^a | | | | | |
| R+ | 20 (87) | 30 (65.2) | 3.5 | 0.91–13.47 | 0.069 |
| D+ | 5 (21.7) | 12 (26.1) | 0.79 | 0.24–2.57 | 0.695 |
| Combined serostatus | | | | | |
| R-/D- | 3 (13) | 13 (28.3) | | (reference) | |
| R-/D+ | 0 (0) | 3 (6.5) | 0 | 0-∞ | 1 |
| R+/D- | 15 (65.2) | 21 (45.7) | 3.05 | 0.74–12.48 | 0.122 |
| R+/D+ | 5 (21.7) | 9 (19.6) | 2.38 | 0.46–12.43 | 0.304 |
| Anti- <i>Toxoplasma</i> prophylaxis at engraftment ^b | | | | | |
| effective | 3 (13) | 29 (63) | | (reference) | |
| possibly effective | 2 (8.7) | 3 (6.5) | 6.28 | 0.75–52.82 | 0.091 |
| none or ineffective | 18 (78.3) | 14 (30.4) | 11.95 | 3.04–46.88 | <0.001 |
| Delayed engraftment ^c | | | | | |
| Lymphocytopenia ^d | 16 (69.6) | 23 (50) | 2.26 | 0.79–6.47 | 0.129 |
| | 11 (47.8) | 10 (21.7) | 3.57 | 1.2–10 | 0.022 |
| aGvHD ^e | | | | | |
| all grades | 15 (65.2) | 34 (73.9) | 0.67 | 0.23–1.95 | 0.458 |
| grade III-IV | 10 (43.5) | 9 (19.6) | 3.1 | 1.04–9.23 | 0.042 |
| Immunosuppressants ^f | | | | | |
| calcineurin inhibitor | 21 (91.3) | 46 (100) | 0 | 0-∞ | 1 |
| High-dose steroids ^g | 13 (56.5) | 23 (50) | 1.3 | 0.48–3.52 | 0.612 |
| etanercept | 5 (21.7) | 1 (2.2) | 12.02 | 1.33–108.6 | 0.027 |
| inolimomab | 3 (13) | 3 (6.5) | 2.12 | 0.40–11.31 | 0.377 |

Data are n (%) of patients, unless otherwise indicated. Odds ratios were determined by conditional logistic regression.

Abbreviations: aGvHD, acute graft-versus-host-disease; AH SCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation; calcineurin inhibitor; D, donor; R, recipient; SD, standard deviation.

^a Pre-transplant *Toxoplasma gondii* serostatus determined by the presence or not of anti-*Toxoplasma* IgG.

^b Efficacy prophylaxis against *Toxoplasma gondii* classified as effective (trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800 mg thrice-weekly), possibly effective (atovaquone 1500 mg daily or pyrimethamine-sulfadoxine 25/500 mg twice-weekly) or ineffective (pentamidine or no prophylaxis at all).

^c Delayed engraftment defined as neutrophil recovery (≥ 0.5 G/L) occurring later than day +21 post-transplant.

^d Total lymphocyte count ≤ 0.2 G/L on day +30 post-transplant.

^e Highest grade of acute graft-versus-host-disease within 3 months preceding toxoplasmosis diagnosis for cases, within the first semester post-transplant for controls.

^f Immunosuppressive medication in progress or administered within three months preceding toxoplasmosis diagnosis for cases, within the first semester post-transplant for controls.

^g High-dose steroid therapy, i.e. ≥ 1 mg/kg/day and ≥ 21 days.

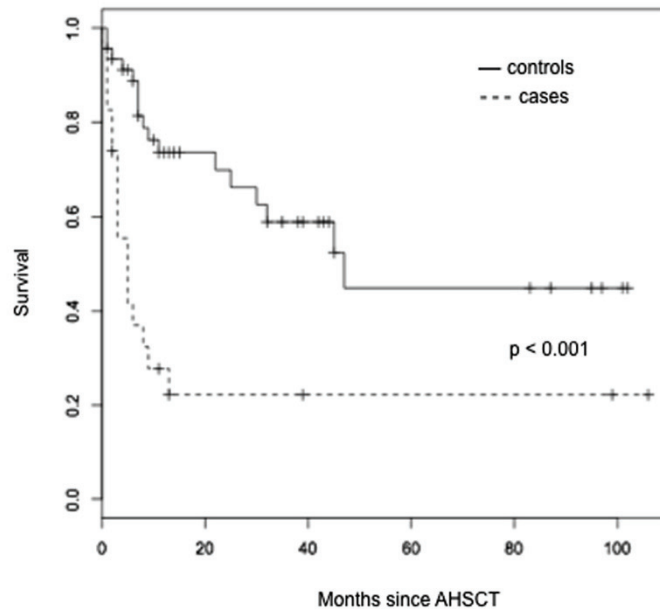


Fig. 2. Overall survival probability of toxoplasmosis cases and control patients. Overall survival probabilities determined by the Kaplan–Meier method and compared by the log-rank test. AH SCT, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation.

interstitial pneumonitis to acute respiratory distress syndrome. Central nervous system involvement ($n = 10$, 50%) was the second clinically relevant manifestation through encephalitis ($n = 6$, 30%) or brain abscesses ($n = 4$, 20%). Two (10%) cases had a unique presentation of TXP-related haemophagocytic syndrome. Neither myocarditis nor retinochoroiditis were recorded. Seven (35%) cases had disseminated disease. Nine (45%) disease cases required admission to the intensive care unit because of respiratory and/or neurological failure(s) leading to death in 8 (88.9%) cases (see Supplementary material, Table S1). Two cases experienced primary graft failure, one being associated with haemophagocytic syndrome.

Discussion

In the present study, although rare, TXP was a devastating complication with an attributable mortality of 43.5% (88.9% when ICU was required), as well as a preventable one. Pre-transplant, *T. gondii* recipient seropositivity (R+) not receiving prophylaxis is the central risk factor for reactivation of TXP after AHST. In a review ($n = 356$) of TXP after AHST, 259 (73%) were R+ and at least 67% of these patients were not on TXP prophylaxis [7]. Consistently, in our series ($n = 23$), 87% were R+, of whom 85% were not on prophylaxis at TXP diagnosis, i.e. received no prophylaxis (especially while in sterile confinement) or ineffective pentamidine because of concerns about adverse effects of trimethoprim-sulfamethoxazole or atovaquone. Consequently, a *Toxoplasma*-risk management strategy is necessary for every R+ by prescribing effective prophylactic drug regimen and/or by adopting a *T. gondii* PCR-driven pre-emptive approach when available.

In the setting of AHST, trimethoprim-sulfamethoxazole prophylactic efficacy is supported by data showing a lower incidence of TXP reactivation when used at least three times a week [6,7,13]. However, limitations are myelosuppression and breakthrough infections. In our series, 30.4% of the patients experienced pre-engraftment TXP. According to Gajurel *et al.*, among R+ developing TXP, 19 (11%) diseases and 13 (32%) infections occurred before day 30 [7]. Hence, prophylaxis should ideally be initiated upon transplantation on condition that it should not compromise engraftment. Long-term exposure to trimethoprim-sulfamethoxazole has been inconsistently associated with haematotoxicity [14,15]. High-dose trimethoprim-sulfamethoxazole (320/1600 mg/day) was shown to delay neutrophil recovery after HSCT [16] and a rather small ($n = 3$) descriptive study reported that trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800 mg/day impaired *in vitro* colony formation of peripheral blood stem cells [17]. However, retrospective studies (160/800 mg or 320/1600 mg thrice weekly) did not evidence significant delay in engraftment compared with no prophylaxis or atovaquone (1500 mg/day) [18,19].

In our series, 17.4% were breakthrough TXP, in accordance with 12% of breakthrough TXP reported by Gajurel *et al.* [7]. Breakthrough TXP might reflect suboptimal dosing of prophylaxis related to inadequate oral absorption, mainly caused by gastrointestinal aGvHD, or drug interruptions because of haematotoxicity and gastrointestinal intolerance [7,19,20].

Pre-emptive strategy based on the detection of asymptomatic *Toxoplasma* infection by serial blood *T. gondii* PCR is the path to prevent disease occurrence and to reduce TXP attributable mortality [4–6,13,21]. Our results have led us to consider *T. gondii* blood PCR monitoring useful in R+ irrespective of stem cell source: (i) before engraftment in the absence of prophylaxis; (ii) on prophylaxis, with impaired absorption or with particular risk factors such as high-grade aGvHD; (iii) following drug

interruption due to intolerance. Furthermore, physicians may consider the rare possibility of false-negative pre-transplant serology in AHST candidates.

The finding that late-onset TXP is associated with etanercept is part of the problematic of steroid-refractory aGvHD requiring immunosuppressive regimen intensification. Tumour necrosis factor- α is essential for the control of *T. gondii* in the central nervous system during *in vivo* primary infection and etanercept treatment has been shown to facilitate experimental *T. gondii* reactivation [22,23].

Finally, respiratory manifestations are prominent features of TXP, as formerly reported [24,25]. In case of haemophagocytic syndrome after AHST, *Toxoplasma* should be considered as an aetiological agent, as previously noted in cases of *Toxoplasma* disseminated diseases [26–28].

Our study has strengths and limitations. The strength is the relatively large case cohort and exhaustive data collection. The control population was selected from patients in concurrent and previous years to minimize bias related to practice shifts and matched with respect to donor relationship. We were unable to match cases using the number of available control subjects from the study period with age, sex and stem cell source variables. We acknowledge the bias due to donor type matching, which may affect the outcome (delay in engraftment and/or aGvHD occurrence) but otherwise benefited the purpose of the study by linking risk factors and TXP outcome. Although our choice of control subjects provides a rational comparator group to evaluate risk factors, some previously reported post-AHST risk factors were not found, probably because of underpowering. We also acknowledge that the risk associated with absence of effective prophylaxis may be over-estimated due to the higher proportion of R+ among cases than among controls. The number of cases was too low to perform accurate multivariate testing. Finally, the retrospective design precluded the collection of all variables of interest (particularly, immune reconstitution data).

In summary, *Toxoplasma*-risk management after AHST in high seroprevalence settings relies on: (i) awareness of R/D serostatus, with a specific focus on R+; (ii) in R+, initiation of a prophylaxis as early as possible. The PCR-driven pre-emptive monitoring in R+ high-risk patients, especially if not on prophylaxis, appears to be crucial but needs to be standardized. Studies are required to evaluate the efficacy and safety of the three times per week trimethoprim-sulfamethoxazole regimen or atovaquone, particularly in the pre-engraftment period after AHST.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge Yonjae Kim, Prof. Martine Wallon and Prof. François Peyron for their assistance to this work.

Appendix A. Supplementary data

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.025>.

Transparency Declaration

All authors declare that they have no conflict of interest.

Authors' Contributions

AC contributed to conception and design of the study, acquisition of the data, interpretation of the data, drafted the manuscript and approved the final version; MLM participated in the design of the study and performed statistical analysis, revision of the paper

for important intellectual content, and approved the final version; DD and MR contributed to acquisition of the parasitological data, revision of the paper for important intellectual content, and approved the final version; SDL, MB, HLW, FB, FEN, XT, LG, CC, TF, FW, GS, MM contributed to acquisition of the data, interpretation of the results, revision of the paper for important intellectual content, and all approved the final version; FA contributed to conception and design of the study, analyses and interpretation of the data, drafted the manuscript and approved the final version. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

No external funding was received for this study.

Lyon HEMINF study group members

F. Ader, E. Bachy, M. Balsat, F. Barraco, N. Benech, A.-L. Bienvenu, G. Billaud, F. Biron, A. Boibieux, C. Chidiac, A. Conrad, S. Ducastelle-Leprêtre, O. Dumitrescu, D. Dupont, V. Escuret, T. Ferry, G. Fossard, E. Frobert, L. Gilis, S. Goutelle, A. Grateau, Y. Guillermin, M. Heiblig, H. Labussière-Wallet, M. Le Maréchal, L. Lebras, B. Lina, G. Lina, P. Mialhes, A.-S. Michallet, M. Michallet, M.-C. Michallet, G. Monneret, F. Morfin-Sherpa, F.-E. Nicolini, T. Perpoint, M. Peyrouse de Montclos, S. Picot, F. Poitevin-Later, A. Quintela, M. Rabodonirina, S. Roux, J. Saison, G. Salles, C. Sarkozy, A. Sénéchal, M. Sobh, X. Thomas, F. Valour, F. Wallet, M. Wallon, E. Wattel.

References

- [1] Malard F, Chevallier P, Guillaume T, Delaunay J, Rialland F, Harousseau J-L, et al. Continuous reduced nonrelapse mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-institution's three decade experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:1217–23.
- [2] Martino R, Maertens J, Bretagne S, Rovira M, Deconinck E, Ullmann AJ, et al. Toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2000;31:1188–95.
- [3] Mele A, Paterson PJ, Prentice HG, Leoni P, Kibbler CC. Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:691–8.
- [4] Meers S, Lagrou K, Theunissen K, Dierickx D, Delforge M, Devos T, et al. Myeloablative conditioning predisposes patients for *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2010;50:1127–34.
- [5] Robert-Gangneux F, Sterkers Y, Yera H, Accoceberry I, Menotti J, Cassaing S, et al. Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients: a 3-year multicenter retrospective study. *J Clin Microbiol* 2015;53:1677–84.
- [6] Martino R, Bretagne S, Einsele H, Maertens J, Ullmann AJ, Parody R, et al. Early detection of *Toxoplasma* infection by molecular monitoring of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood samples after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2005;40:67–78.
- [7] Gajurel K, Dhakal R, Montoya JG. *Toxoplasma* prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations. *Curr Opin Infect Dis* 2015;28:283–92.
- [8] Bautista G, Ramos A, Forés R, Regidor C, Ruiz E, de Laiglesia A, et al. Toxoplasmosis in cord blood transplantation recipients. *Transpl Infect Dis* 2012;14:496–501.
- [9] Antinori A, Murri R, Ammassari A, De Luca A, Linzalone A, Cingolani A, et al. Aerosolized pentamidine, cotrimoxazole and dapsone-pyrimethamine for primary prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia and toxoplasmic encephalitis. *AIDS* 1995;9:1343–50.
- [10] Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1143–238.
- [11] Derouin F, Pelloux H. ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:1089–101.
- [12] Reischl U, Bretagne S, Krüger D, Ernault P, Costa J-M. Comparison of two DNA targets for the diagnosis of toxoplasmosis by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *BMC Infect Dis* 2003;3:7.
- [13] Bretagne S, Costa JM, Foulet F, Jabot-Lestang L, Baud-Camus F, Cordonnier C. Prospective study of toxoplasma reactivation by polymerase chain reaction in allogeneic stem-cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2000;2:127–32.
- [14] Stern A, Green H, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Prophylaxis for *Pneumocystis pneumonia* (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;10:CD005590.
- [15] Ioannidis JP, Cappelleri JC, Skolnik PR, Lau J, Sacks HS. A meta-analysis of the relative efficacy and toxicity of *Pneumocystis carinii* prophylactic regimens. *Arch Intern Med* 1996;156:177–88.
- [16] Lew MA, Kehoe K, Ritz J, Antman KH, Nadler L, Kalish LA, et al. Ciprofloxacin versus trimethoprim/sulfamethoxazole for prophylaxis of bacterial infections in bone marrow transplant recipients: a randomized, controlled trial. *J Clin Oncol* 1995;13:239–50.
- [17] Fuchs M, Scheid C, Schulz A, Diehl V, Söhngen D. Trimethoprim/sulfamethoxazole prophylaxis impairs function of mobilised autologous peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:815–6.
- [18] Fontanet A, Chalandon Y, Roosnek E, Mohty B, Passweg JR. Cotrimoxazole myelotoxicity in hematopoietic SCT recipients: time for reappraisal. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1272–3.
- [19] Mendorf A, Klyuchnikov E, Langebrake C, Rohde H, Ayuk F, Regier M, et al. Atovaquone for prophylaxis of toxoplasmosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol* 2015;134:146–54.
- [20] Colby C, McAfee S, Sackstein R, Finkelstein D, Fishman J, Spitzer T. A prospective randomized trial comparing the toxicity and safety of atovaquone with trimethoprim/sulfamethoxazole as *Pneumocystis carinii* pneumonia prophylaxis following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:897–902.
- [21] Fricker-Hidalgo H, Bulabois C-E, Brenier-Pinchart M-P, Hamidfar R, Garban F, Brion J-P, et al. Diagnosis of toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation: results of DNA detection and serological techniques. *Clin Infect Dis* 2009;48:e9–15.
- [22] Schlüter D, Kwok L-Y, Lütjen S, Soltke S, Hoffmann S, Körner H, et al. Both lymphotxin- α and TNF are crucial for control of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system. *J Immunol* 2003;170:6172–82.
- [23] El-Sayed NM, Ismail KA, Badawy AF, Elhasanein KF. *In vivo* effect of anti-TNF agent (etanercept) in reactivation of latent toxoplasmosis. *J Parasit Dis* 2015;1–7.
- [24] Sing A, Leitritz L, Roggenkamp A, Kolb H-J, Szabados A, Fingerle V, et al. Pulmonary toxoplasmosis in bone marrow transplant recipients: report of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1999;29:429–33.
- [25] Delhaes L, Mraz J-C, Fréalle E, Durand-Joly I, Magro L, Aizenberg D, et al. Severe pulmonary toxoplasmosis after allo-SCT in two patients: from *Toxoplasma* genotyping to clinical management. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:580–3.
- [26] Schmidt M, Sonneviller R, Schnell D, Bigé N, Hamidfar R, Mongardon N, et al. Clinical features and outcomes in patients with disseminated toxoplasmosis admitted to intensive care: a multicenter study. *Clin Infect Dis* 2013;57:1535–41.
- [27] Duband S, Cornillon J, Tavernier E, Dumollard J-M, Guyotat D, Péoc'h M. Toxoplasmosis with hemophagocytic syndrome after bone marrow transplantation: diagnosis at autopsy. *Transpl Infect Dis* 2008;10:372–4.
- [28] Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A, Khamashta MA, Bosch X. Adult haemophagocytic syndrome. *Lancet* 2014;383:1503–16.

Toxoplasmosis in Transplant Recipients, Europe, 2010–2014

Florence Robert-Gangneux,¹ Valeria Meroni,¹ Damien Dupont, Françoise Botterel, José M. Aguado Garcia,² Marie-Pierre Brenier-Pinchart, Isabelle Accoceberry, Hamdi Akan,² Isabella Abbate, Katia Boggian, Fabrizio Bruschi,² Jordi Carratalà,² Miruna David,² Lubos Drgona,² Olgica Djurković-Djaković, Maria Carmen Farinas, Francesca Genco, Effrossyni Gkrania-Klotsas,² Andreas H. Groll,² Edward Guy, Cédric Hirzel, Nina Khanna, Özgür Kurt,¹ Lia Monica Junie,¹ Tiziana Lazzarotto, Oscar Len,² Nicolas J. Mueller, Patricia Munoz,² Zoi Dorothea Pana,² Emmanuel Roilides,² Tijana Stajner, Christian van Delden, Isabelle Villena,¹ Hervé Pelloux,¹ Oriol Manuel²

Transplantation activity is increasing, leading to a growing number of patients at risk for toxoplasmosis. We reviewed toxoplasmosis prevention practices, prevalence, and outcomes for hematopoietic stem cell transplant (HSCT) and solid organ transplant (SOT; heart, kidney, or liver) patients in Europe. We collected electronic data on the transplant population and prevention guidelines/regulations and clinical data on toxoplasmosis cases diagnosed during 2010–2014. Serologic pretransplant screening of allo-hematopoietic stem cell donors was performed in 80% of countries, screening of organ donors in 100%. SOT

recipients were systematically screened in 6 countries. Targeted anti-*Toxoplasma* chemoprophylaxis was heterogeneous. A total of 87 toxoplasmosis cases were recorded (58 allo-HSCTs, 29 SOTs). The 6-month survival rate was lower among *Toxoplasma*-seropositive recipients and among allo-hematopoietic stem cell and liver recipients. Chemoprophylaxis improved outcomes for SOT recipients. Toxoplasmosis remains associated with high mortality rates among transplant recipients. Guidelines are urgently needed to standardize prophylactic regimens and optimize patient management.

Author affiliations: Université Rennes, Rennes, France (F. Robert-Gangneux); Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes (F. Robert-Gangneux); European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Basel, Switzerland (V. Meroni, J.M. Aguado Garcia, F. Bruschi, J. Carratalà, M. David, L. Drgona, E. Gkrania-Klotsas, A.H. Groll, Ö. Kurt, L.M. Junie, O. Len, P. Munoz, Z.D. Pana, E. Roilides, I. Villena, H. Pelloux, O. Manuel); University of Pavia, Pavia, Italy (V. Meroni, F. Genco); Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France (D. Dupont); Université Claude Bernard Lyon, Lyon (D. Dupont); Centre Hospitalier Universitaire Henri Mondor, Creteil, France (F. Botterel); University Hospital 12 de Octubre Universidad Complutense, Madrid, Spain (J.M. Aguado Garcia, H. Akan); Centre Hospitalier Universitaire Grenoble-Alpes, Grenoble, France (M.-P. Brenier-Pinchart); Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France (I. Accoceberry); Ankara University Cebeci Hospital, Ankara, Turkey (H. Akan); Lazzaro Spallanzani National Institute for Infectious Diseases, Rome, Italy (I. Abbate); St. Gallen Cantonal Hospital, St. Gallen, Switzerland (K. Boggian); Pisa University, Pisa, Italy (F. Bruschi); Bellvitge University Hospital-IDIBELL University of Barcelona, Barcelona, Spain (J. Carratalà); Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK (M. David); Comenius University, Bratislava, Slovakia (L. Drgona); National Cancer Institute, Bratislava (L. Drgona); University of Belgrade, Belgrade, Serbia (O. Djurković-Djaković, T. Stajner); Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Santander, Spain (M.C. Farinas); University of Cantabria, Santander (M.C. Farinas);

Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK (E. Gkrania-Klotsas); University Children's Hospital Münster, Münster, Germany (A.H. Groll); Singleton Hospital, Swansea, Wales, UK (E. Guy); Bern University Hospital, Bern, Switzerland (C. Hirzel); University of Bern, Bern (C. Hirzel); Universitätsspital, Basel (N. Khanna); Acibadem Mehmet Ali Aydinlar, Istanbul, Turkey (Ö. Kurt); University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hatieganu, Cluj Napoca, Romania (L.M. Junie); St. Orsola-Malpighi General Hospital, Bologna, Italy (T. Lazzarotto); University of Bologna, Bologna (T. Lazzarotto); Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona (O. Len); Zurich University Hospital, Zurich, Switzerland (N.J. Mueller); University of Zurich, Zurich (N.J. Mueller); Hospital General Gregorio Marañon, Madrid, Spain (P. Munoz); Hippokraton Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece (Z.D. Pana, E. Roilides); University Hospitals Geneva, Geneva, Switzerland (C. van Delden); Centre Hospitalier Universitaire de Reims, Reims, France (I. Villena); University Hospital, Lausanne, Switzerland (O. Manuel); University of Lausanne, Lausanne (O. Manuel)

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2408.180045>

¹These authors are members of the Study Group for Clinical Parasitology of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

²These authors are members of the Study Group for Infections in Compromised Hosts of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Toxoplasmosis is a zoonosis that infects humans and other warm-blooded animals worldwide; prevalence and clinical severity vary by geographic area (1). After primary infection, the parasite persists lifelong within dormant tissue cysts. Transmission to humans mainly occurs by ingestion of food or water contaminated with oocysts from feces of infected felids or undercooked meat containing cysts (2). Although largely asymptomatic in adults, toxoplasmosis is a life-threatening opportunistic infection in immunocompromised patients of all ages. Similar to *Pneumocystis* pneumonia, toxoplasmosis has become more frequently diagnosed for patients receiving immunosuppressive therapy than for patients with HIV infection (3,4). The growing number of grafts makes transplant patients a population at increasing risk. In transplant recipients (solid organ transplant [SOT] or hematopoietic stem cell transplant [HSCT]), disease can result from reactivation of past latent infection or from primary infection acquired through contaminated food or through a transplanted organ containing latent cysts (5). In contrast to incidence among HIV-infected patients, the incidence of toxoplasmosis among transplant recipients is poorly documented; published studies reporting patient series are scarce (6–8), and the literature consists mostly of case reports (2,9–12).

The risk for reactivation of chronic infection varies according to the immunosuppressive protocol and therefore according to the type of graft (13); risk is highest for seropositive allo-HSCT recipients receiving a seronegative graft. Among SOT recipients, the risk of a seronegative recipient (R–) acquiring infection from a seropositive donor (D+) organ (D+/R–) depends on the organ type; risk is highest for heart transplant recipients. Prevention measures rely on pretransplant serologic screening of donor, recipient, or both and on chemoprophylaxis; however, guidelines and regulations differ largely among countries. Regarding chemoprophylaxis, a multicenter study in France revealed variable practices in terms of regimen and duration of treatment (4). Some experts have proposed a tight clinical and molecular follow-up protocol for HSCT patients, aiming at early diagnosis of *Toxoplasma* reactivation to improve survival rates (14–16), but the cost:benefit ratio of this strategy is still under debate. We reviewed prevention practices implemented in European countries and evaluated the burden of toxoplasmosis among HSCT and SOT recipients.

Methods

Participating Centers

We recruited applicants through 2 study groups of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID); the European Study Group on Clinical Parasitology and the European Study Group on Immunocompromised Hosts) and through the Spanish

Transplantation Infection Study Group, the Italian Society of Clinical Microbiology Infections and Transplant Working Group, and the Swiss Transplant Cohort Study. For each country, a local coordinator was identified and was in charge of contacting investigators from transplantation or infectious diseases units from representative centers.

Data Collection

Participants were invited to answer a detailed questionnaire adapted to the type of graft and designed to collect the following information: *Toxoplasma* seroprevalence in the country (documented by articles or recent surveys); implementation of a case reporting system for toxoplasmosis in transplant recipients; annual number of transplant procedures for each organ type in the participating center and in the whole country; pretransplant serologic screening policy for recipients and donors; implementation of recipient monitoring after transplantation and methods used (PCR, serology); and chemoprophylaxis regimen and duration according to organ type (if cotrimoxazole was given primarily for preventing *Pneumocystis* pneumonia, this use was recorded) and according to the recipient serologic results (primary or secondary prophylaxis, whether chemoprophylaxis was given to seronegative recipients, seropositive recipients, or both). When official national guidelines were lacking, to obtain representative data, we collected information about local practices in several transplant centers whenever possible.

As a second step, we sent an electronic case reporting form to all voluntary participating centers, which retrospectively recorded the number of cases of toxoplasmosis diagnosed per center over a 5-year period (2010–2014). The form collected the following information: patient age and sex; date of transplantation and type of graft; *Toxoplasma* serologic status of recipient and donor; date of toxoplasmosis diagnosis; site of infection (cerebral, ocular, disseminated); tools contributing to diagnosis (serology, molecular diagnosis, pathology, direct examination, imaging); chemoprophylaxis type, date of initiation, and duration; patient survival at 2 and 6 months; and date of death, if applicable. From each center and for each organ type, we also collected the mean patient age and the mean percentage of the whole transplant patient population surviving at 2 months and at 6 months. The number of cases and clinical data were retrieved from hospital medical or laboratory databases or from local or national databases, if existing. Participants were invited to send only aggregated data generated automatically by the database. The study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital of Rennes, France (approval no. 15.12).

Statistical Analyses

Descriptive statistics are expressed as frequency (percentage) or mean \pm SE. Comparison of qualitative data between

groups was based on exact χ^2 tests for equal proportions or Fisher exact tests if single table values were <5 ; quantitative data were compared by using analysis of variance or *t*-test (nonparametric test). We computed data by using SAS software version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Results

Participating Centers, Transplantation Activity, and Case Notification

Overall, 46 centers from 11 countries (1–10 centers/country) participated in the survey; countries represented were France, Germany, Greece, Italy, Romania, Serbia, Slovakia, Spain, Switzerland, Turkey, and the United Kingdom (online Technical Appendix, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/24/8/18-0045-Techapp1.pdf>). Responses indicated that 5 countries (Switzerland, Slovakia, Turkey, Greece and the United Kingdom) report toxoplasmosis cases in a national database.

During 2010–2014, the mean annual number (range) of allo-HSCT procedures reported per country was 1,016 (13–1,900) and of auto-HSCT was 1,524 (14–3,078) (online Technical Appendix). Regarding SOT recipients, the mean annual number (range) of transplantations was 155 (10–420) for heart, 1,286 (55–3,074) for kidney, and 622 (35–1,241) for liver. The cumulative annual transplant activity among the responding centers reached a total of 1,089 allo-HSCT and 1,168 auto-HSCT (26 centers) and, for SOT, 394 heart (26 centers), 2,566 kidney (35 centers), and 1,455 liver (26 centers) transplants.

Pretransplant Serologic Screening for Toxoplasmosis

Although serologic screening of HSCT donors is not mandatory, all responding countries reported that they were performing this screening. Screening of allo-HSCT recipients was performed in all countries except Slovakia (mandatory in 4 countries), whereas screening of auto-HSCT recipients was performed regularly (4 countries), inconstantly (5 countries), or not at all (1 country). Overall, of 26 responding centers, 24 centers screened allo-HSCT and 17 screened auto-HSCT recipients for *Toxoplasma* antibodies before transplantation.

Serologic screening of solid organ donors (heart, kidney, or liver) was performed in all countries, although screening was reportedly mandatory in only 7 countries (France, Greece, Italy, Romania, Slovakia, Switzerland, and Turkey). At most centers, SOT recipients were screened (24/26 liver, 31/35 kidney, and 25/26 heart).

Anti-*Toxoplasma* Chemoprophylaxis Practices and Follow-up

Virtually all allo-HSCT recipients received cotrimoxazole chemoprophylaxis, whether primarily targeting *Pneumocystis* or *Toxoplasma*. At the 24 responding centers,

cotrimoxazole was usually prescribed for ≥ 6 months despite the lack of official guidelines at 11 (46%) centers. The preferred regimen at 60% of centers was 960 mg 3 times a week but ranged from 480 mg 2 times a week to 1,920 mg 3 times a week. Auto-HSCT patients at 73% of centers received cotrimoxazole, administered mostly for 3 or 6 months. Serologic follow-up was reported by 2 allo-HSCT centers and PCR-based follow-up by 4.

For heart transplant recipients, 24 (92%) of 26 centers stated that they gave cotrimoxazole prophylaxis (3 months to lifelong), and 10 (43%) of 23 centers implemented serologic follow-up for *Toxoplasma* 2 and 4 times per year, particularly in cases of serologic mismatch (D+/R–). The most frequently prescribed regimen was 960 mg of cotrimoxazole 3 times a week or 480 mg daily. Although anti-*Pneumocystis* prophylaxis was implemented at 29 (83%) of 35 kidney and 17 (65%) of 26 liver transplant centers for 3–12 months, specific recommendations regarding toxoplasmosis chemoprophylaxis in this population were reported by only 4 countries (France, Greece, Spain, Turkey). The most frequently used regimen was cotrimoxazole at 480 mg daily (50% of kidney and 40% of liver transplant centers). Serologic monitoring of D+/R– patients was reportedly performed at 6 kidney and 5 liver transplant centers.

Incidence and Clinical Presentation of Toxoplasmosis

Overall, during the 5-year study period, 87 cases of *Toxoplasma* infection in transplant patients (58 HSCT, 29 SOT) were reported from 15 centers in 8 countries (online Technical Appendix). Severe manifestations (cerebral toxoplasmosis, disseminated toxoplasmosis, pulmonary toxoplasmosis) were more frequently observed (42 [48%] patients) than were mild manifestations (ocular toxoplasmosis, fever; 14 [16%] patients). A total of 31 (36%) patients had no apparent clinical signs. Asymptomatic episodes occurred mainly among HSCT recipients (81%) and were diagnosed mostly on the basis of a positive PCR (84%). Symptomatic HSCT recipients most often had disseminated (10/33, 30%) or cerebral (11/33, 33%) toxoplasmosis; these cases accounted for 60% of all cases of disseminated and 85% of cerebral toxoplasmosis (Table 1).

For the 87 reported cases, PCR was the most helpful diagnostic tool (77 [89%] cases), followed by imaging (32 [37%] cases) and serology (28 [32%] cases) (Table 1). PCR was reportedly positive for 100% of patients with cerebral and 90% with pulmonary toxoplasmosis (Table 1).

Pretransplantation *Toxoplasma* serologic test results for donor and recipient were available for 70 of the 87 patients (46 HSCT and 24 SOT). Toxoplasmosis occurred in the main groups at risk: in 35 (76%) of 46 D–/R+ HSCT recipients and 11 (46%) of 24 D+/R– SOT recipients (Table 2). Overall, 35 patients (18 HSCT and 17 SOT recipients) received chemoprophylaxis (Table 3). Only 4 (36%) of 11

RESEARCH

Table 1. Characteristics of 87 transplant patients with toxoplasmosis, according to clinical presentation, Europe, 2010–2014*

| Variables | Clinical type | | | | | | p value |
|-------------------------------------|---------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|---------|
| | Cerebral | Ocular | Disseminated | Pulmonary | Fever alone | No signs | |
| No. (%) patients | 13 (15) | 4 (5) | 19 (22) | 10 (11) | 10 (11) | 31 (36) | |
| Patient age, y, mean ± SE | 37.0 ± 7.7 | 60.7 ± 0.8 | 47.8 ± 5.6 | 53.1 ± 4.8 | 35.5 ± 4.4 | 46.4 ± 4.2 | <0.0001 |
| Time graft/diagnosis, wk, mean ± SE | 123 ± 151 | 313 ± 175 | 163 ± 124 | 19 ± 11 | 73 ± 43 | 99 ± 51 | <0.05 |
| Diagnosis by, no. (%) | | | | | | | |
| PCR | 13 (100) | 3 (75) | 17 (89) | 9 (90) | 9 (90) | 26 (84) | <0.001 |
| Serology | 3 (23) | 3 (75) | 9 (47) | 2 (20) | 5 (50) | 5 (16) | 0.2278 |
| Imaging | 12 (92) | 3 (75) | 8 (42) | 7 (70) | 0 | 2 (6) | <0.01 |
| Microscopy | 1 (8) | 0 | 6 (32) | 1 (10) | 0 | 0 | <0.01 |
| Graft type, no. (%) | | | | | | | <0.05 |
| Liver, n = 8 | 1 (8) | 1 (25) | 3 (16) | 2 (20) | 0 | 1 (3) | |
| Kidney, n = 9 | 1 (8) | 1 (25) | 1 (5) | 2 (20) | 3 (30) | 1 (3)† | |
| Heart, n = 12 | 0 | 1 (25) | 5 (26) | 0 | 2 (20) | 4 (13)‡ | |
| Allo-HSC, n = 58 | 11 (85) | 1 (25) | 10 (53) | 6 (60) | 5 (50) | 25 (81)§ | |
| No. with mismatch, n = 11 | 0 | 1 (25) | 5 (26) | 1 (10) | 4 (40) | 0 | <0.05 |
| Survival, no. (%) | | | | | | | |
| 2 mo | 5 (38) | 4 (100) | 13 (68) | 5 (50) | 10 (100) | 24 (77) | <0.0001 |
| 6 mo | 2 (15) | 4 (100) | 10 (53) | 5 (50) | 7 (70) | 18 (58) | <0.001 |

*HSC, hematopoietic stem cell.

†This patient was receiving chemoprophylaxis.

‡1 patient was receiving chemoprophylaxis.

§11 patients were receiving chemoprophylaxis.

D+/R– SOT recipients received chemoprophylaxis, but for all of them toxoplasmosis occurred after discontinuation of prophylaxis (data not shown). Overall, toxoplasmosis was diagnosed after the end of prophylaxis for 17 recipients (9 HSCT and 8 SOT). For 9 HSCT and 5 SOT recipients, toxoplasmosis occurred during chemoprophylaxis (Table 3). Of these, 13 (93%) were asymptomatic: 1 kidney, 1 heart, and 11 HSC transplant recipients (Table 1). The proportion of mismatched cases (D+/R–) did not differ according to organ type (Table 4).

The mean time between transplantation and toxoplasmosis diagnosis was shorter among patients with pulmonary toxoplasmosis ($p < 0.05$) (Table 1) than among patients with other types of disease manifestation. For seropositive recipients, the mean time to toxoplasmosis onset was short (<4 months after transplantation) compared with that for seronegative recipients (>4 years) (Table 2). Furthermore, the time to disease onset after transplantation was shorter among HSCT patients than SOT recipients ($p < 0.0001$) (Table 4). The incidence of toxoplasmosis differed among the responding countries but seemed to not be linked to the seroprevalence in the country (online Technical Appendix).

Risk Factors for Death

Survival rates differed significantly between HSCT and SOT recipients ($p < 0.001$) (Table 5). The 2-month survival rate was significantly poorer for patients with cerebral (38%) or pulmonary (50%) toxoplasmosis ($p < 0.001$) (Table 1). Survival rates were also poorer for seropositive patients ($p < 0.05$ at 2 months and $p < 0.001$ at 6 months) (Table 5), mainly consisting of HSCT patients (Table 2). Of note, the percentage of asymptomatic patients who survived 6 months (58%) was similar to that of patients with pulmonary (50%) or disseminated (53%) toxoplasmosis (Table 1). A lower percentage of HSCT and liver transplant recipients survived at 2 and 6 months after diagnosis; deep site-associated toxoplasmosis was diagnosed for only half of them (Table 4). The survival rates for HSCT (38%) and liver transplant (50%) recipients with toxoplasmosis were significantly lower than those for the general HSC (84%) and liver transplant (75%) populations ($p < 0.05$) (Table 4).

Transplant recipients in whom toxoplasmosis developed were less likely to survive if they were not receiving chemoprophylaxis before or at onset of disease ($p < 0.05$ at 2 months and $p < 0.01$ at 6 months after disease onset) (Table

Table 2. Characteristics of transplant donors and recipients at transplantation, according to *Toxoplasma* serologic status, Europe, 2010–2014*

| Serologic status of donor/recipient† | Prophylaxis, no. (%) | Graft type, no. | | | | Survived 6 mo, no. (%) | Wks between diagnosis and graft, mean ± SE |
|--------------------------------------|----------------------|-----------------|--------|-------|-----|------------------------|--|
| | | Liver | Kidney | Heart | HSC | | |
| Positive/positive, n = 9‡ | 5 (56) | 2 | 0 | 1 | 6 | 3 (33) | 21 ± 9 |
| Positive/negative, n = 11§ | 4 (36) | 3 | 4 | 4 | 0 | 9 (82) | 309 ± 275 |
| Negative/positive, n = 36¶ | 12 (33) | 0 | 0 | 1 | 35 | 12 (33) | 15 ± 3 |
| Negative/negative, n = 14 | 9 (64) | 2 | 2 | 5 | 5 | 11 (79) | 123 ± 31 |
| p value | 0.1975 | NA | NA | NA | NA | <0.01 (0.0029) | <0.05 |

*HSC, hematopoietic stem cell; NA, not applicable.

†Missing data for 17 patients.

‡2 liver transplant recipients died.

§Group in which solid organ transplant patients are most at risk for toxoplasmosis.

¶Group in which HSC transplant patients are most at risk for toxoplasmosis.

Table 3. Toxoplasmosis occurrence and outcomes for HSCT and SOT patients, according to prophylaxis, Europe, 2010–2014*

| Characteristic | HSCT, no. (%), n = 58† | SOT, no. (%), n = 29‡ | p value |
|-------------------------------------|------------------------|-----------------------|---------|
| Seropositive before transplantation | 41/46 (89)§ | 4/24 (17)¶ | <0.0001 |
| Diagnosis during chemoprophylaxis | 9/50 (18) | 5/28 (18) | NS |
| Diagnosis after chemoprophylaxis | 9/50 (18) | 8/28 (29) | NS |
| 2-mo survival rate | | | |
| With prophylaxis | 13/18 (72) | 17/17 (100) | <0.05 |
| Without prophylaxis | 18/32 (56) | 9/11 (82) | 0.1657 |
| 6-mo survival rate | | | |
| With prophylaxis | 9/18 (50) | 17/17 (100) | 0.01 |
| Without prophylaxis | 9/32 (28) | 7/11 (64)# | 0.0679 |

*HSCT, hematopoietic stem cell transplant; NS, not significant; SOT, solid organ transplant.

†Prophylaxis data missing for 8 patients.

‡Prophylaxis data missing for 1 patient; incomplete information regarding dates of onset and/or stop of cotrimoxazole for 4 patients.

§Serology data missing data for 4 patients.

¶Serology data missing data for 4 patients.

#p<0.05 between SOT with or without chemoprophylaxis.

5); this finding was particularly common among SOT recipients ($p<0.05$) (Table 3). However, despite chemoprophylaxis, the outcome remained poorer for HSCT patients than for SOT patients (Tables 3, 5).

Discussion

We provide an overview of practices used to prevent toxoplasmosis in transplant patients in Europe. Despite the well-recognized risk linked to either endogenous reactivation or to transplantation of a cyst-containing organ, prevention policies seem heterogeneous among countries. Serologic screening of solid organ or hematopoietic stem cell donors for *Toxoplasma*, although not mandatory in all countries, seems to be general practice, probably as a result of recommendations of national societies of transplantation, and is mandatory when organs are exchanged between countries. Similarly, pretransplant serologic

screening of recipients, although also not mandatory in all countries, was reportedly performed by nearly all responding centers. However, for 17 cases, the serologic status of the recipient or donor was not available in medical charts. Management practices regarding chemoprophylaxis based on donor and recipient serologic results vary substantially, particularly for kidney and liver transplant patients. Indeed, only 35 (50%) of 70 recipients had received chemoprophylaxis, although it was indicated either because of *Toxoplasma* mismatch (SOT) or seropositivity (HSCT). Only 4 (36%) of 11 SOT patients with D+/R– serologic results had received chemoprophylaxis. These 4 patients were all alive 6 months after transplantation. However, our study did not address long-term survival, which at 5 years after transplantation was reportedly poorer for D+/R– than for D–/R– heart transplant recipients (17). In that study, Chehraz-Raffle et al. (17) did not record the duration of

Table 4. Characteristics of transplant patients with toxoplasmosis, according to graft type and comparison to overall graft population, Europe, 2010–2014*

| Characteristics | Allo-HSC | | Kidney | | Liver | | Heart | | p value |
|---|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|---------|
| | Case-patients | All TP | Case-patients | All TP | Case-patients | All TP | Case-patients | All TP | |
| Patients, no. | 58 | 4,108 | 9 | 6,507 | 8 | 2,983 | 12 | 998 | NA |
| Age, y, mean \pm SE | 46.8 \pm 5.3 | 50.7 | 44.6 \pm 5.9 | 50.9 | 55.1 \pm 1.5 | 51.6 | 44.4 \pm 6.4 | 47.5 | NA |
| Female sex, % | 43 | 38 | 44 | 63 | 38 | 30 | 17 | 22 | NA |
| Male sex, % | 57 | 62 | 56 | 37 | 62 | 70 | 83 | 78 | NA |
| Mean time diagnosis/graft, wk, mean \pm SE | 20.6 \pm 4.6 | NA | 198 \pm 68 | ND | 152 \pm 144 | ND | 441 \pm 155 | ND | <0.0001 |
| Mean time diagnosis/death, d, mean \pm SE | 47 \pm 18 | NA | 33 | ND | 38 \pm 17 | ND | NA | ND | 0.8595 |
| Mismatched serologic results (D+/R–), no. (%) | 0 | NA | 4 (33) | NA | 3 (38) | NA | 4 (33) | NA | 0.8923 |
| 2-mo survival, no. (%) | 36 (62) | ND | 8 (89) | ND | 5 (63) | ND | 12 (100) | ND | <0.05 |
| Deep site involvement | 12 (43) | ND | 3 (60) | ND | 4 (57) | ND | 6 (100) | ND | 0.0513 |
| Fever only | 5 (100) | ND | 3 (100) | ND | 0 | ND | 2 (100) | ND | 1 |
| No clinical signs | 18 (72) | ND | 1 (100) | ND | 1 (100) | ND | 4 (100) | ND | 0.1407 |
| 6-mo survival, %† | 38 | 84‡ | 89 | 72 | 50 | 75§ | 100 | 60 | <0.0001 |
| Deep site involvement | 25 | NA | 60 | NA | 28 | NA | 100 | NA | <0.01 |
| Fever only | 40 | NA | 100 | NA | 0 | NA | 100 | NA | 0.2083 |

*D+, donor positive; NA, not applicable; ND, not determined; NS, not significant; R–, recipient negative; TP, transplant patients.

†The survival rate for the general TP population was calculated at a time similar to the mean time of diagnosis of toxoplasmosis after graft in case-patients.

‡p<0.01 compared with case-patients.

§p<0.05 compared with case-patients.

RESEARCH

Table 5. Survival among transplant patients with toxoplasmosis, according to patients' characteristics, Europe, 2010–2014

| Characteristic | 2-mo survival | | 6-mo survival | |
|----------------------------|-------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| | No. patients/no. survived (%) | p value* | No. patients/no. survived (%) | p value* |
| All patients | 61/87 (70) | Not applicable | 46/87 (53) | Not applicable |
| Chemoprophylaxis | | | | |
| Yes | 30/35 (86) | <0.05 | 26/35 (74) | <0.01 |
| No | 27/43 (63) | | 16/43 (37) | |
| Recipient serologic status | | | | |
| Positive | 27/45 (60) | <0.05 | 15/45 (33) | <0.001 |
| Negative | 22/25 (88) | | 20/25 (80) | |
| Type of graft | | | | |
| Hematopoietic stem cell | 36/58 (62) | <0.05 | 22/58 (38) | <0.001 |
| Solid organ | 25/29 (86) | | 24/29 (83) | |

*Exact χ^2 test.

chemoprophylaxis, a parameter that could be of greater interest. Similarly, only 18 HSCT patients received chemoprophylaxis, although 45 were known to be seropositive (Table 3). Our study also did not address long-term disabilities resulting from toxoplasmosis.

Even with this limited number of cases reported by the participating centers, our study provides some helpful insights and useful data. From a diagnosis point of view, our findings confirm that PCR has become an essential microbiological tool for investigating active infection, as already emphasized in previous studies (18,19). Indeed, we can confirm that 9 (10.3%) of the 87 cases of toxoplasmosis were diagnosed by PCR in patients with fever only; thus, earlier treatment could be commenced before more serious complications developed; these patients were mostly HSCT recipients. PCRs on blood from 26 patients with no obvious clinical signs were also positive. This finding is consistent with previously reported findings for allo-HSCT patients in centers where routine monitoring by PCR of blood is conducted for several months after transplantation (14–16,20,21). Martino et al. (22) concluded that clinical toxoplasmosis evolved in about one third of these patients and that early treatment increased survival rates. In our study, survival rates were poor among patients who were asymptomatic at the time of diagnosis (58%) (Table 1), probably because as allo-HSCT patients they were at high risk for death from other causes. Our study did not record what treatment decisions were taken as a direct result of PCR results, and so a more detailed future study of treatment regimens and how quickly they were initiated may provide further valuable insights into factors affecting mortality rates in this clinical group.

Not surprisingly, among the 87 patients, the proportion with disseminated and pulmonary toxoplasmosis was high; this clinical picture is known to be frequent among transplant patients (4,23,24). The high frequency (100%) of positive PCR results among patients with cerebral toxoplasmosis differs from previous estimates of sensitivity in this clinical setting (2), suggesting high circulating parasite loads, late diagnoses, or both, which could account for the

unusually high mortality rate (85%) among patients with cerebral toxoplasmosis in this study. Another explanation is that diagnostic sensitivity of molecular diagnosis has been mainly evaluated in HIV-infected patients, a patient population that differs from transplant recipients and experiences more severe disease with rapid dissemination of the parasites. On the other hand, ocular toxoplasmosis, a mild form of the disease, occurred mostly after the first year after transplantation, when immune suppressive therapy is usually reduced, thus explaining the 100% survival rate, probably resulting from confinement of parasites in the ocular compartment (25).

In HSCT patients, *Toxoplasma* reactivation predominantly occurred within several months (20.6 ± 4.6 weeks) after engraftment, which might suggest that chemoprophylaxis was stopped too early. Indeed, toxoplasmosis was diagnosed for 9 HSCT patients after chemoprophylaxis was stopped (Table 3); this finding is consistent with the policy at 9 centers of discontinuing chemoprophylaxis at 6 months. These data support the practice of monitoring CD4+ T-cell counts to guide chemoprophylaxis discontinuation, as suggested by others (13). However, toxoplasmosis was also diagnosed during chemoprophylaxis for 9 additional HSCT and 5 SOT patients, which might be related to inadequate regimens of cotrimoxazole or poor observance. A recent systematic review (13) reported that breakthrough toxoplasmosis in HSCT patients was observed when cotrimoxazole was given only 2 times per week at a dosage of 960 mg (57% of cases) or 480 mg daily (18%).

A major finding of this study is the observation that life-threatening toxoplasmosis can occur in HSCT and SOT patients after chemoprophylaxis is stopped. However, in SOT patients, the rather late occurrence after transplant (>3 years) and the high survival rates suggest that infection acquired long after transplantation is usually mild and the source is probably contaminated food. Conversely, life-threatening early infection was associated with a high mortality rate and was mostly observed in liver transplant patients, suggesting that serologic results might not have been taken into account to guide chemoprophylaxis.

Overall, prognosis of *Toxoplasma* infection was good for SOT patients; the all-cause mortality rate of 17% was similar to that reported from Spain (13.6%), where 17 of 22 patients had a primary-acquired infection (6). Higher prevalence and severity of disease was confirmed among HSCT patients; survival rate was only 38% at 6 months, similar to mean survival rates recently reported (13). We assume that death was attributable to toxoplasmosis in deceased HSCT and liver transplant patients because their 6-month survival rate was significantly poorer than that of their counterparts without toxoplasmosis ($p < 0.01$). A similar effect of toxoplasmosis on survival of HSCT patients has been recently demonstrated in a case-control study (26). However, whether chemoprophylaxis positively influences outcome remains unclear. Indeed, overall survival rates were better among patients who received cotrimoxazole than among those who received no treatment; but when considering HSCT and SOT patients separately, survival rates remained significantly better for SOT patients only. This finding raises the question of the effectiveness of prophylaxis, in terms of regimen and duration.

This study has several limitations. First, we used aggregated data, so individual analyses or modifications of the analysis plan were not possible after data collection. Therefore, individual data such as immunosuppressive regimen, graft versus host disease, or simultaneous infections were not recorded, and multivariate analyses to further explore mortality rates were not possible. The number of participating centers per country varied, and for some countries (particularly Germany and Turkey), these centers accounted for a small proportion of the transplantation activity in the whole country (online Technical Appendix); thus, we cannot be sure that the data collected were representative for the whole country. The absence of correlation between seroprevalence and the number of cases reported among countries may be attributed to several confounding factors, such as 1) good management of prevention in countries where seroprevalence is high, 2) lack of awareness and possible underdiagnosis of *Toxoplasma*-associated risk in countries where seroprevalence or transplantation activity is low, 3) underreporting because of lack of follow-up, 4) overdiagnosis because of systematic screening (asymptomatic cases), or 5) migration of patients from eastern Europe (higher seroprevalence) to western Europe for transplantation (27).

Overall, this study confirms that toxoplasmosis in transplant recipients is a clinical problem throughout Europe, regardless of local seroprevalence. This finding suggests that substantial health gains may be achieved by the development and adoption of common prevention guidelines based on best practice. Whether chemoprophylaxis duration should be extended and for what duration remains to be determined. Nevertheless, our results suggest that to

prevent late onset of toxoplasmosis, cotrimoxazole should be given for ≥ 6 months. In case of drug intolerance, low dosage, or discontinuation, follow-up by regular PCR of blood could help guide preemptive treatment. In SOT patients with *Toxoplasma* mismatch (D+/R-), cotrimoxazole prophylaxis should be given for ≥ 1 year. Last, recommendations associated with hygiene, similar to those provided to seronegative pregnant women to avoid contamination, should be extended to all seronegative transplant patients.

Acknowledgments

We thank Emmanuel Oger and Frédéric Balusson for their assistance with data processing. We also thank the Spanish Transplantation Infection Study Group from the Spanish Network for Research in Infectious Diseases; the Swiss Transplant Cohort Study; and the many practitioners from transplantation units, microbiology laboratories, and infectious diseases units who participated in data collection: Eric Levesque, Marie Matignon, Christine Robin, Aude Boignard, Marie-Noëlle Hilleret, Bénédicte Janbon, Anne Thiebaut-Bertrand, Pascale Boissonnat, Anne Conrad, Sophie Ducastelle-Leprêtre, Claire Pouteil-Noble, Méja Rabodonirina, Sylvie Radenne, Ana Roussoulières, Gilles Salles, Laurent Sebbag, Martine Wallon, Frédérique Foudrinier, Christophe Camus, Bernard Lelong, Tony Marchand, Cécile Vigneau, Nunzia Decembrino, Angela di Matteo, Alessandra Sensini, Luscalov Dan, Luscalov Simona, Lubomír Beňa, Ivana Dedinská, Zuzana Žilinská, Eva Goncalvesová, František Ondriska, Arancha Bermudez, Manuel Cobo-Belaustegui, Carlota Gudiol, Núria Sabé, Erden Atilla, Ayse Çiftçioglu, Bilgi Baca, and Tonguc Utku Yilmaz.

This work was supported by a grant (P307-09) from ESCMID and involved the ESCMID Study Group on Clinical Parasitology and the ESCMID Study Group on Immunocompromised Hosts.

About the Author

Dr. Robert-Gangneux is professor of parasitology at the University of Rennes and a medical biologist at the University Hospital of Rennes. She is a member of the French National Reference Center for Toxoplasmosis and leader of the *Toxoplasma* Group of the ESCMID Study Group on Clinical Parasitology.

References

1. Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013;91:501–8. <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.12.111732>
2. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25:264–96. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
3. Roux A, Canet E, Valade S, Gangneux-Robert F, Hamane S, Lafabrie A, et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with or without AIDS, France. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1490–7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2009.131668>

RESEARCH

4. Robert-Gangneux F, Sterkers Y, Yera H, Accoceberry I, Menotti J, Cassaing S, et al. Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients: a 3-year multicenter retrospective study. *J Clin Microbiol*. 2015;53:1677–84. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.03282-14>
5. Derouin F, Pelloux H; ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14:1089–101. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02091.x>
6. Fernández-Sabé N, Cervera C, Fariñas MC, Bodro M, Muñoz P, Gurguí M, et al. Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: a matched case-control study. *Clin Infect Dis*. 2012;54:355–61. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir806>
7. Desoubreux G, Cabanne É, Franck-Martel C, Gombert M, Gyan E, Lissandre S, et al. Pulmonary toxoplasmosis in immunocompromised patients with interstitial pneumonia: a single-centre prospective study assessing PCR-based diagnosis. *J Clin Pathol*. 2016;69:726–30. <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2015-203385>
8. Sumi M, Aosai F, Norose K, Takeda W, Kirihara T, Sato K, et al. Acute exacerbation of *Toxoplasma gondii* infection after hematopoietic stem cell transplantation: five case reports among 279 recipients. *Int J Hematol*. 2013;98:214–22. <http://dx.doi.org/10.1007/s12185-013-1379-8>
9. Stajner T, Vasiljević Z, Vujić D, Marković M, Ristić G, Mičić D, et al. Atypical strain of *Toxoplasma gondii* causing fatal reactivation after hematopoietic stem cell transplantation in a patient with an underlying immunological deficiency. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2686–90. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01077-13>
10. Vaughan LB, Wenzel RP. Disseminated toxoplasmosis presenting as septic shock five weeks after renal transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2013;15:E20–4. <http://dx.doi.org/10.1111/tid.12044>
11. Baliu C, Sanclemente G, Cardona M, Castel MA, Perez-Villa F, Moreno A, et al. Toxoplasmic encephalitis associated with meningitis in a heart transplant recipient. *Transpl Infect Dis*. 2014;16:631–3. <http://dx.doi.org/10.1111/tid.12242>
12. Rand AJ, Buck AB, Love PB, Prose NS, Selim MA. Cutaneous acquired toxoplasmosis in a child: a case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol*. 2015;37:305–10. <http://dx.doi.org/10.1097/DAD.0000000000000072>
13. Gajurel K, Dhakal R, Montoya JG. *Toxoplasma* prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations. *Curr Opin Infect Dis*. 2015;28:283–92. <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0000000000000169>
14. Martino R, Bretagne S, Einsele H, Maertens J, Ullmann AJ, Parody R, et al.; Infectious Disease Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Early detection of *Toxoplasma* infection by molecular monitoring of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood samples after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2005;40:67–78. <http://dx.doi.org/10.1086/426447>
15. Fricker-Hidalgo H, Bulabois CE, Brenier-Pinchart MP, Hamidfar R, Garban F, Brion JP, et al. Diagnosis of toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation: results of DNA detection and serological techniques. *Clin Infect Dis*. 2009;48:e9–15. <http://dx.doi.org/10.1086/595709>
16. Edvinsson B, Lundquist J, Ljungman P, Ringdén O, Evengård B. A prospective study of diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection after bone marrow transplantation. *APMIS*. 2008;116:345–51. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2008.00871.x>
17. Chehrazhi-Raffle A, Luu M, Yu Z, Liou F, Kittleson M, Hamilton M, et al. *Toxoplasma gondii* serology and outcomes after heart transplantation: contention in the literature. *Transplant Proc*. 2015;47:1949–53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2015.06.022>
18. Robert-Gangneux F, Belaz S. Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2016;29:330–9. <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0000000000000275>
19. Miyagi T, Itonaga H, Aosai F, Taguchi J, Norose K, Mochizuki K, et al. Successful treatment of toxoplasmic encephalitis diagnosed early by polymerase chain reaction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: two case reports and review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2015;17:593–8. <http://dx.doi.org/10.1111/tid.12401>
20. Bretagne S, Costa JM, Foulet F, Jabot-Lestang L, Baud-Camus F, Cordonnier C. Prospective study of *Toxoplasma* reactivation by polymerase chain reaction in allogeneic stem-cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2000;2:127–32. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3062.2000.020305.x>
21. Meers S, Lagrou K, Theunissen K, Dierickx D, Delforge M, Devos T, et al. Myeloablative conditioning predisposes patients for *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2010;50:1127–34. <http://dx.doi.org/10.1086/651266>
22. Martino R, Maertens J, Bretagne S, Rovira M, Deconinck E, Ullmann AJ, et al. Toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1188–95. <http://dx.doi.org/10.1086/317471>
23. Fricker-Hidalgo H, Brion JP, Durand M, Chavanon O, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Disseminated toxoplasmosis with pulmonary involvement after heart transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2005;7:38–40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3062.2005.00086.x>
24. Patrat-Delon S, Gangneux JP, Lavoué S, Lelou B, Guiguen C, le Tulzo Y, et al. Correlation of parasite load determined by quantitative PCR to clinical outcome in a heart transplant patient with disseminated toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2010;48:2541–5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00252-10>
25. Talabani H, Mergery T, Yera H, Delair E, Brézin AP, Langsley G, et al. Factors of occurrence of ocular toxoplasmosis. A review. *Parasite*. 2010;17:177–82. <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2010173177>
26. Conrad A, Le Maréchal M, Dupont D, Ducastelle-Leprêtre S, Balsat M, Labussière-Wallet H, et al.; Lyon HEMINF Study Group. A matched case-control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:636–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.025>
27. Decembrino N, Comelli A, Genco F, Vitullo A, Recupero S, Zecca M, et al. Toxoplasmosis disease in paediatric hematopoietic stem cell transplantation: do not forget it still exists. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52:1326–9. <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2017.117>

Address for correspondence: Florence Robert-Gangneux, Université Rennes 1, Faculté de Médecine, 2 Ave Prof Léon Bernard, F-35000 Rennes, France; email: florence.robert-gangneux@univ-rennes1.fr

Opinion

Serology for *Toxoplasma* in
Immunocompromised Patients: Still Useful?

Damien Dupont^{1,2,*}, Hélène Fricker-Hidalgo,^{3,4} Marie-Pierre Brenier-Pinchart,^{3,4} Cécile Gamaud,^{3,5}
Martine Wallon,^{1,2,6} and Hervé Pelloux^{3,4,6}

Toxoplasmosis represents one of the most common comorbidity factors in solid organ or hematopoietic stem cell transplant recipients as well as in other immunocompromised patients. In the past decades, availability and performance of molecular tools for the diagnosis or the exclusion of toxoplasmosis in these patients have greatly improved. However, if accurately used, serology remains a complementary and essential diagnostic tool for physicians and medical parasitologists for the prevention and management of toxoplasmosis in immunocompromised patients as well. It is required for determination of the immunological status of patients against *Toxoplasma*. It also helps diagnose and monitor complex cases of opportunistic *Toxoplasma* infection in immunocompromised patients. New perspectives are available to further enhance their yield and ease of use.

Toxoplasmosis, One of the Most Frequent Human Parasitic Infections

Toxoplasmosis is a widespread zoonosis caused by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan parasite. Transmission in humans can result from the ingestion of **oocysts** (see [Glossary](#)) shed by infected felids and of cysts from undercooked meat of infected animals. After ingestion, both forms of the parasite transform into rapidly multiplying **tachyzoites** able to cause the death of all nucleated cells, leading to the dissemination of the parasite throughout the host's tissues. Subsequent development of cell-mediated immunity leads the parasite into entering a chronic phase whereby it forms quiescent tissue cysts with **bradyzoite** stages preferentially located in the central nervous system, the eyes, the heart, and the skeletal muscles, that persist for the life of the host [1]. This persistence permits transmission through stem cells and by solid organ transplantation [2]. In immunocompetent individuals, **primary infection** is mostly asymptomatic or accompanied by mild, nonspecific and self-limited signs and the chronic phase produces no or limited morbidity [3]. In the case of primary infection, serology allows the recognition of three sequences: appearance of IgM, appearance and rise of IgG, and stabilization of IgG with possible persistence of IgM [3]. However, **reactivation** is characterized by two sequences: an increase of IgG titers, followed by their stabilization. IgG antibodies persist lifelong at residual titers and witness the risk of reactivation in case of immunosuppression [3,4]. Estimates of *T. gondii*-specific IgG seroprevalence vary from less than 10% to approximately 80% worldwide, according to climatic factors and food habits, and increase with age [5].

Toxoplasmosis, a Severe Opportunistic Infection in Immunocompromised Patients

Immunocompromised patients are at risk for severe forms of toxoplasmosis as a consequence of several mechanisms (Figure 1). The first is the reactivation of tissue cysts containing parasites in

Highlights

Toxoplasmosis is a life threatening opportunistic infection in immunocompromised patients.

PCR allows detection of *T. gondii* DNA but does not inform about the serological status of the patient nor about a chronic infection.

Serology is the only tool that allows identification, among immunocompromised patients, of those who are at risk of potential *Toxoplasma* reactivation. A simple serologic screening of SOT donors and recipients can identify the risk of mismatch (D+/R-) and allow prevention of high morbidity and mortality.

Screening of donor and allo-HSCT recipients allows graduation of the risk of reactivation of chronic infection, which is the highest for seropositive allo-HSCT recipients receiving a seronegative graft (D-/R+).

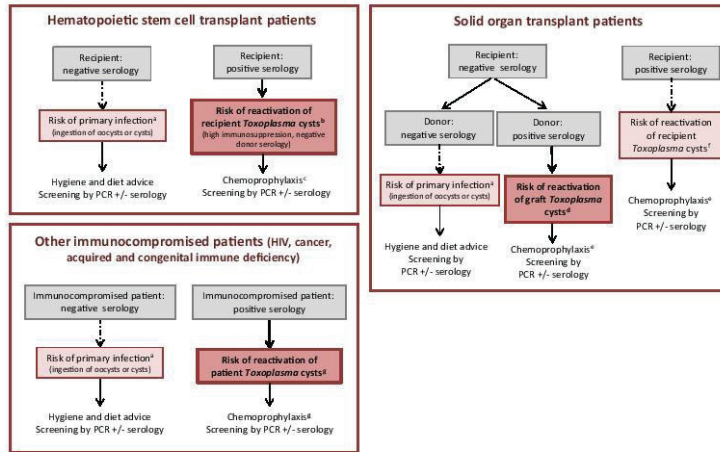
PCR should best be combined with serology for the follow-up of immunocompromised patients at risk for clinical *T. gondii* reactivation.

¹Institut des Agents Infectieux, Service de Parasitologie Mycologie M edecale, Hôpital de la Croix-Rouss e, Hospices Civils de Lyon, Lyon, 69004, France

²Physiologie intégrée du système d'éveil, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028-CNRS UMR 5292, Faculté de Médecine, Université Claude Bernard Lyon 1, Bron, 69500, France

³Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, 38000, France





⁴Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB), INSERM U1209-CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble, 38000, France

⁵Université Grenoble Alpes, CNRS, CHU Grenoble Alpes, Grenoble INP, TIMC-IMAG, Grenoble, 38000, France

⁶These authors contributed equally to this work

*Correspondence: damien.dupont@chu-lyon.fr (D. Dupont).

Trends in Parasitology

Figure 1. Risks and Prophylactic Measures of Toxoplasmosis in Different Types of Immunocompromised Patients. The intensity of the red color and the thickness of the arrows increase with the risk of toxoplasmosis. Same risk as in the general population, depending on the incidence in the country⁶. High risk in allo-hematopoietic stem cell transplant (HSCT) and low risk in auto-HSCT⁶. Chemoprophylaxis by trimethoprim-sulfamethoxazole is recommended after engraftment to allo-HSCT patients and exceptionally to auto-HSCT patients⁶. High risk in heart and heart-lung transplant. Low risk in kidney, liver, pancreas, and intestine transplant. No risk in eye, bone, and artery transplant⁶. Chemoprophylaxis by trimethoprim-sulfamethoxazole is recommended during the post-transplant period for seronegative recipients receiving heart, lung, kidney (exceptionally liver, pancreas, intestine) from seropositive donors and for seropositive recipients⁶. Low risk in heart, heart-lung, kidney, liver, pancreas, and intestine transplant. No risk in eye, bone, and artery transplant⁶. High risk and chemoprophylaxis by trimethoprim-sulfamethoxazole in HIV patients with CD4 <200/mm³ and in patients with severe immunosuppression⁶.

seropositive individuals who suffer from a severe defect in cell-mediated immunity, in a variety of clinical contexts.

- (i) Hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients are specifically exposed to the risk of reactivation of pre-existing cysts and to their hematogenous dissemination, due to their intensive pretransplant conditioning [6–8]. The risk is maximal between 1 and 3 months after initiation of immunosuppressive regimen, with an incidence ranging from 0.5% to 2–4% according to local seroprevalence data [9,10]. The risk is higher in allogeneic HSCT recipients than in autologous-HSCT patients. In allo-HSCT recipients, cord blood transplant, donor's seronegativity, and lack of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis were identified as risk factors for *T. gondii* reactivation [7,11,12].
- (ii) Among solid organ transplant (SOT) patients, the risk of toxoplasmic reactivation is highest in heart transplant recipients, due to the preferred location of *T. gondii* in muscles, including cardiac muscle [3,6].
- (iii) Cancer patients are also exposed to a risk of reactivating a latent/chronic infection as a result of deficient cellular immunity or antineoplastic drugs [13]. Toxoplasmosis has commonly been reported in hematologic malignancies in particular lymphoproliferative disorders [14–16] and solid tumors [17], with severe consequences and high mortality rates in untreated patients versus those who were managed accordingly.
- (iv) HIV-compromised patients are also at high risk of recrudescence of latent/chronic *T. gondii* infection, due to aberrations in the T lymphocyte function, causing depletion of CD4 T cells,

impaired cytotoxic T lymphocyte activity and production of interleukin (IL)-12 and IFN- γ , and decreased expression of CD154 in response to *T. gondii*. In the absence of antiretroviral treatment and effective prophylaxis, recrudescence is estimated to occur in 30% of *T. gondii*-seropositive AIDS patients with a CD4 count <100 cells/ μ l [18].

- (v) Other acquired immunity defects, including common variable immunodeficiency [19], as well as the administration of biologic response modifiers [20–23], can lead to the reactivation of previous infection with severe clinical manifestations.

Clinical signs most frequently associated with toxoplasmosis in non-HIV immunocompromised are encephalitis [24,25], myocarditis [26], pneumonitis [27], or disseminated forms of infection [28,29], depending on the immune status of the host. Central nervous system remains the most common cause of focal brain lesions among HIV compromised patients and a determinant of poor prognosis, even in the highly active antiretroviral therapy (HAART) era [25].

Organ-derived infection from a *T. gondii* positive donor to a negative recipient represent a second cause for severe toxoplasmosis (Figure 1), with the highest risk of *Toxoplasma* transmission for heart transplant recipients as for the risk of reactivation [3,6]. Transmission through other organ types, such as kidney and liver, is much rarer [30,31], as reported previously [4].

Third, *T. gondii* negative immunocompromised patients are under the same threats of acquiring a primary infection as immunocompetent individuals via the same risk factors [32,33] (Figure 1), with a risk of severe pulmonary and neurological consequences [3].

Preventing, recognizing, and monitoring reactivations and primary *T. gondii* infections represent many challenges in a variety of contexts for the clinicians and pathologists [34]. Biology features play a major part in addition to individual clinical monitoring and radiological expertise.

PCR Contributes to Asserting *T. gondii* Reactivation

The development of molecular tools for the detection of *T. gondii* DNA and their use in immunocompromised patients over the past decades have improved prevention and diagnosis in many aspects. Indeed, PCR-based diagnostic strategies have been validated in several major indications, the best performances being reported for quantitative RT-PCR targeting the 529 bp repeat region [35–37].

To briefly review the literature, the main advantages of PCR are based on its high predictive positive value [34], of major interest to assert a *T. gondii* reactivation in the context of a positive PCR test. Most data come from HIV-positive patients. Interesting performances of RT-PCR were reported in this indication when performed on cerebrospinal fluid (CSF), broncho-alveolar lavage fluid (BALF), or peripheral blood, according to clinical manifestations [38–40]. Sensitivity ranges from 12% to 100% for CSF and from 15% to 80% for blood, with specificity and positive predictive value reaching up to 100% [4,41]. However, a reactivation cannot be formally excluded based on a negative RT-PCR result [42]. The same respective advantages and limits of PCR for confirming or excluding a reactivation were shown in transplant patients, despite a lower number of reports. PCR was positive in 89% of patients with post-transplant toxoplasmosis, notably positive for 100% of patients with cerebral and 90% with pulmonary toxoplasmosis [43,44]. Particularly in hematological patients, PCR is effective for the detection of parasitemia in the context of clinical signs [45] and active surveillance of *Toxoplasma*-positive HSCT patients for any reactivation is recommended via weekly PCR testing to allow prompt treatment and increase chances of survival [44–47].

Glossary

Avidity: avidity reflects the strength of binding of IgG antibodies to a *Toxoplasma* antigen. It increases with time, due to the maturation of the hypervariable regions of the antibodies. IgG avidity testing is an interesting tool to distinguish between a recent and a past infection when both *Toxoplasma gondii*-specific IgG and IgM are detected in a serum sample. Indeed, a high avidity result indicates a past infection, dating from more than 3 to 5 months according to the assay.

Bradyzoite: the latent stage of *T. gondii*, responsible for the persistence of the parasite in the human body. It results from the evolution of the tachyzoite stage. Bradyzoites are grouped into intracellular cysts, which persist lifelong in various tissues, including the central nervous system, the eyes, and the muscles. Bradyzoites can reactivate into tachyzoites, especially in case of immunosuppression.

Oocyst: the resistant form of *T. gondii* found in the environment. It results from the sexual reproduction of the parasite in fields. Oocysts contained sporozoites, one of the infective stages of the parasite, that further evolve into tachyzoites.

Primary infection: toxoplasmosis primary infection corresponds to the first contact with *T. gondii*. Contamination can also occur by ingestion of: (i) oocysts through contaminated hands or insufficiently washed raw vegetables and fruits, or (ii) cysts contained in undercooked or raw contaminated meat. Primary infection is mostly asymptomatic, especially in immunocompetent patients. In other cases, nonspecific symptoms, such as fever, asthenia, and lymphadenopathies, or more seriously chorioretinitis, can be observed. In immunocompromised patients, it usually results from transmission of cysts contained in the graft following solid organ transplantation. Toxoplasmosis primary infection in immunocompromised patients can be prevented by hygiene and diet measures, or chemoprophylaxis.

Reactivation: toxoplasmosis in immunocompromised patients most often results from reactivation of a past infection, via cysts. Toxoplasmosis reactivation is responsible from severe clinical forms, such as cerebral, ocular, and pulmonary ones. Disseminated

PCR-Based Diagnosis and Surveillance Strategies Have Intrinsic and Extrinsic Limitations

Recently, systematic monitoring allowing pre-emptive strategies was encouraged [7,43,48]. However, positive PCR in asymptomatic patients (e.g., *Toxoplasma* infection) is reported in up to 66% of positive PCRs in hematological patients [11,34,48,49]. There is a debate on their clinical predictive value and on how to manage them. Positive PCR at a distance of a proven clinical episode might also raise questions.

To date, in the absence of a syndrome-based approach, the molecular diagnosis of toxoplasmosis remains the result of a targeted diagnostic approach performed in specialized laboratories. Moreover, the *T. gondii* molecular approach by PCR is performed on a wide array of samples (e.g., whole blood, CSF, BALF, aqueous humor, biopsy, etc.) according to the clinical presentation of toxoplasmosis. This phenomenon leads to an important heterogeneity in the preanalytic and analytic steps of molecular diagnosis due to in-house protocols (e.g., DNA extraction from whole blood or from buffy-coat, preprocessing just before DNA extraction with or without centrifugation, etc.) that may explain the difference of PCR performances reported in literature.

Serology Has Several Unique Advantages

Antibody detection offers several clear advantages (Box 1) that allow compensating for the intrinsic limits of PCR and contributing to the management of immunocompromised patients in two ways.

In terms of prevention, serology brings several benefits when performed at the time of the diagnosis of immunosuppression, before and at the time of transplantation, and/or during the period of immunosuppression, according to clinical situations.

In the context of HSCT, serological tests among future candidates are required to identify those who are IgG positive and need to benefit from PCR-based surveillance due to their high risk of *T. gondii* reactivation (Figure 1). In a survey based on 45 centers from 11 European countries, screening of allo-HSCT recipients was reported to be performed in 24 of 26 responding centers in all countries except Slovakia [44] and 17 of the 24 responding centers reported also screening auto-HSCT recipients despite their lower risk of reactivation [44]. Interestingly all 45 centers reported screening HSCT donors although not mandatory.

Serological testing plays a key role in the context of SOT, to identify mismatched donors and recipients and the high-risk combination of a negative recipient and a positive donor. Recognizing the mismatch is of major importance in the context of heart transplantation but also warranted for other SOTs (Figure 1), to guide management according to the serological status of both donor and recipient, the type of graft, and the length of immunosuppression [50]. *T. gondii* serological testing of future recipients and donors is part of standard worldwide recommendations [50–53]. According to the Organ Procurement and Transplantation Network policy, determination of *T. gondii*-specific IgG titers is the only test required to determine the immunity status. The

toxoplasmosis is also commonly described in this population.

Toxoplasmosis reactivation and its consequences can be prevented by chemoprophylaxis.

Tachyzoite: the replicative stage of the parasite *T. gondii*, capable of infecting any type of nucleated cell and responsible for the dissemination and the clinical manifestations of the disease.

Box 1. Serology as an Asset

Serological tools play an essential role in the management of toxoplasmosis in immunocompromised patients. A positive serological test allows the identification of patients who are at risk for a clinical reactivation and likely severe consequences, as in the context of bone marrow transplant, solid organ transplant, or AIDS. It is also essential in identifying a donor–recipient serological mismatch in the context of solid organ transplantation and for preventing disseminated toxoplasmosis in the recipient. Because of this valuable contribution to the management of patients, serology should not be relegated behind molecular biology but remains a first-line test to fill in specific complementary diagnostic and preventive purposes.

assessment of *T. gondii*-specific IgM titers is necessary to diagnose a recent infection. If the IgM and IgG results are positive, measuring IgG avidity can be a help to distinguish between the acute toxoplasmosis and chronic infection with persistent IgM.

In the aforementioned survey, SOT recipients were screened at most centers and donors were reported to be systematically tested in 11 European countries studied, although serologic screening of donors was not mandatory in all countries [44].

There is also a clear benefit in including testing for anti-*T. gondii* IgM and IgG following the diagnosis of HIV infection¹. Positive anti-*T. gondii* IgG will indicate a latent infection and a risk of reactivation, allowing checking of compliance with HAART and offering an antitoxoplasmosis prophylaxis if CD4 counts are below 100/μl [54].

People living with HIV/AIDS and transplant patients that are negative for anti-*Toxoplasma* IgG [32,33] can be educated on how to minimize the risk of primary infection through adequate hand, food, and kitchen hygiene and proper meat cooking [55]. Individual recommendation regarding potential professional exposures or risk associated with travelling to high endemic areas [56–58] should also be included when appropriate. Regular biannual or annual retesting for IgG and IgM is also recommended to detect any change in serological status, likely to be life-threatening in the mid and long term. Knowledge of a seronegative status also helps maintain awareness and orient towards a possible primary toxoplasmosis infection if signs such as fever and lymphadenopathies occur and should lead to the prescription of required confirmatory testing for specific anti-*T. gondii* IgM and IgG antibodies.

Besides contributing to preventing severe clinical situations, serology is also helpful for the management of patients presenting clinical or radiological signs suspected of active toxoplasmosis. Knowledge of a previous positive IgG should serve as a strong incentive to search for diagnostic evidence and/or introduce anti-*T. gondii* treatment.

Serology Optimizes the Use of PCR for the Follow-up and Diagnosis of Patients at Risk

If toxoplasmosis follow-up of immunocompromised patients is mainly based on PCR, serology remains a complementary and interesting tool as well. In a European multicentric study on toxoplasmosis in recipients, PCR was found to be the most helpful diagnostic tool in 77 cases (89%), but serology allowed the diagnosis of toxoplasmosis in 28 cases out of 87 reported cases (32%) [44].

During the follow-up by PCR and serological tests of 70 allo-HSCT recipients at risk for toxoplasmosis, detection of anti-*T. gondii* IgM was the only biological marker in two out of four patients who exhibited acute or reactivated toxoplasmosis [48]. Increased IgG titers and/or a reappearance of IgM can also orient towards serological reactivation and prompt performing *T. gondii* PCR to detect parasitemia and discussing pre-emptive treatment prescription in order to avoid the development of *T. gondii* disease. In AIDS patients, high IgG anti-*T. gondii* titers and a positive PCR detection of *T. gondii* DNA in blood samples were significantly associated with cerebral toxoplasmosis [59].

Although PCR was found to contribute better than serology to the diagnosis of atypical retinochoroiditis in HIV and not HIV immunocompromised patients [60,61], immunoblotting applied to paired aqueous humor–serum samples can help in recognizing an intraocular synthesis of IgG and IgA [36,62,63], which sustains the recommendation to use both molecular and serological approaches [64]. Furthermore, Meira *et al.* proposed the use of immunoblotting to maximize the sensitivity of the diagnostic work-up on CSF for cerebral toxoplasmosis [65].

Serology Has Several Practical Advantages

Besides its technical performances, serology has the advantages of being cheap and not requiring sophisticated technical facilities, which is particularly relevant in settings where medical resources are scarcer (these are often located in areas of high *T. gondii* prevalence [5]) and of high frequency of HIV co-infections [66]. It can be automatized for large-scale testing or performed on filter paper.

Serological Diagnosis Has Limitations and Pitfalls That Should Not Be Overlooked

A large variety of assays are available on the market for the detection of specific anti-*Toxoplasma* IgG and IgM. They rely on different types of antigens and principles, including enzyme-linked immunosorbence, chemiluminescence, hemagglutination, indirect fluorescence, immunosorbent agglutination, and immunoblotting. Their performances are highly variable due to the absence of standardization that forbids comparing tests results across assays.

Attention should also be paid to the possibility for *T. gondii* specific IgM and low avidity IgG to persist in the chronic phase of infection, which might make it difficult to distinguish between acute and chronic infection [67]. Passive transfer of IgG in the context of blood transfusion might distort IgG test results and lead to the wrong conclusion of a past infection [68]. Conversely, IgG test levels can drop below cut-off values in the long term, with the risk of the wrong conclusion of the absence of infection and overlooking the risk of reactivation. An impaired antibody response in the context of immunosuppression also modifies the antibody kinetics and increases the proportion of low or doubtful IgG titers and their decrease below detectable levels.

Good Practice Rules Are Required to Maximize the Yield of Serology

Good practice rules need to be strictly followed, regardless of the techniques used. First, subsequent tests for a given patient need to be performed at the same laboratory, using the same test, in order to be able to compare test results and identify any significant increase in IgG titers. Second, all tests should be performed by biologists trained to recognize nonspecific or persistent IgM [69] or passive transfer of IgG [68] and knowledgeable of additional tests to be performed in case of doubtful IgG titers (e.g., LDBIO-TOXO II IgG immunoblot, Lyon, France) [70]. A close collaboration between laboratory specialists and clinicians is key in order to help interpret atypical serological tests results and make decisions on their significance.

Promising New Serological Tests Are to Be Expected

Following the current trend for modernization of tools for the molecular diagnosis of infections, new tests and approaches have recently been developed in order to increase the robustness, performances, and friendliness of antibody detection [71]. They include rapid individual finger prick tests [72] and tests to be performed on oral fluid in order to reduce blood spooliation [73,74]. Plasmonic gold chip tests have also been developed on blood and saliva, which yield almost perfect performances in terms of sensibility and specificity, at very low costs [67,75].

Serology Is Also a Valuable Tool for Epidemiological Surveillance and Research

These new tests will be useful for the routine management of patients at risk, but also help in performing seroprevalence surveys to document the fast changing epidemiology of *T. gondii* infection worldwide [5], which results from the industrialization of food production chains and increasing urbanization. Such changes are likely to impact the management of patients, if fewer are at risk of reactivation and a large number exposed to a risk of primary infection. New strategies will have to be defined, especially since the number of immunocompromised patients is likely to further increase in the future as a consequence of the growing use of immunosuppressive

therapies, including biological response modifiers, and to larger indications for stem cells and solid organ transplantations in regards to age of candidates, profiles of donors, and type of organs.

Serological surveys are also a valuable exploratory tool to investigate the association between toxoplasmosis and a large range of newly hypothesized consequences of toxoplasmosis [39,76–79]. We might, for example, mention the potential link between toxoplasmosis and cancer.

Concluding Remarks

Toxoplasma reactivation or primary infection in the immunocompromised affects a wide variety of patients and, without treatment, may have extremely serious consequences. New indications for transplantation, and the use of biotherapies, further increase the number of patients requiring specific monitoring to diagnose toxoplasmosis. Reactivation of *Toxoplasma* cysts present in the seropositive patient or in the transplanted organ is more frequent than primary infections. These situations represent major challenges for both the physician and the medical parasitologist since the clinical presentation of toxoplasmosis is not specific.

Serology has historically proved a great help thanks to its ability to identify the immune status of patients. The rapid development of molecular biology has generated much interest with its use for blood or many other samples and its indication is now fully endorsed in several situations, with the potential risk of overriding serology despite its numerous assets. We wish to highlight the importance of using serological tools as a complement to PCR for their great value at lower cost, while abiding by best practice rules and working towards the development of simple and even better performing tests (see Outstanding Questions).

Acknowledgments

Hervé Pelloux is member of the European Study Group for Clinical Parasitology of the European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Resources

https://optn.transplant.hrsa.gov/media/1200/optn_policies.pdf#nameddest=Policy_02
www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2017-05/dir108/argumentaire_toxoplasme_id.pdf

References

1. Wohlfert, E.A. *et al.* (2017) Brains and brawn: *Toxoplasma* infections of the central nervous system and skeletal muscle. *Trends Parasitol.* 33, 519–531
2. Fricker-Hidalgo, H. *et al.* (2005) Disseminated toxoplasmosis with pulmonary involvement after heart transplantation. *Transpl. Infect. Dis.* 7, 38–40
3. Montoya, J.G. and Liesenfeld, O. (2004) Toxoplasmosis. *Lancet* 363, 1965–1976
4. Robert-Gangneux, F. and Dardé, M.-L. (2012) Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 264–296
5. Pappas, G. *et al.* (2009) Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 39, 1385–1394
6. Chehrizi-Riaffe, A. *et al.* (2015) *Toxoplasma gondii* Serology and Outcomes After Heart Transplantation: Contention in the Literature. *Transplant. Proc.* 47, 1949–1953
7. Meers, S. *et al.* (2010) Myeloablative conditioning predisposes patients for *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic stem cell transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 50, 1127–1134
8. Decembrino, N. *et al.* (2017) Toxoplasmosis disease in paediatric hematopoietic stem cell transplantation: do not forget it still exists. *Bone Marrow Transplant.* 52, 1326–1329
9. Pacoud, O. *et al.* (2020) Features of *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in a high seroprevalence setting. *Bone Marrow Transplant.* 55, 93–99
10. Martino, R. *et al.* (2000) Toxoplasmosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 31, 1188–1194
11. Martino, R. *et al.* (2005) Early Detection of *Toxoplasma* Infection by Molecular Monitoring of *Toxoplasma gondii* in Peripheral Blood Samples after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 40, 67–78
12. Robin, C. *et al.* (2019) Toxoplasmosis as an Early Complication of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 25, 2510–2513
13. Bajnok, J. *et al.* (2019) High frequency of infection of lung cancer patients with the parasite *Toxoplasma gondii*. *ERJ Open Res.* 5, 00143–2018
14. Herold, M.A. *et al.* (2009) Disseminated toxoplasmosis in a patient with non-Hodgkin lymphoma. *Infection* 37, 551–554
15. Xu, J. *et al.* (2018) Disseminated cerebral toxoplasmosis in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Neurosci.* 50, 127–128
16. Scerra, S. *et al.* (2013) Disseminated toxoplasmosis in non-allografted patients with hematologic malignancies: report of two cases and literature review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 32, 1259–1268
17. Israelski, D.M. and Remington, J.S. (1993) Toxoplasmosis in patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* 17, S423–S435

Outstanding Questions

Is it worth performing both serological and molecular tests to diagnose toxoplasmosis in immunocompromised patients?

Can serology for toxoplasmosis be interpreted even in presence of dysimmunity?

Should specific cut-offs be used for IgG testing in immunocompromised patients in order to increase sensitivity?

What is the value of a serologic rebound in an immunocompromised patient?

Are infections due to oocysts or cysts more prone to reactivation?

How can you distinguish a primary infection from a reactivation on a single serum sample?

How can serology be used as an effective prognosis marker of toxoplasmosis?

18. Abgrall, S. *et al.* (2001) Incidence and risk factors for toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus-infected patients before and during the highly active antiretroviral therapy era. *Clin. Infect. Dis.* 33, 1747–1755
19. Karanovic, D. *et al.* (2019) Disseminated and congenital toxoplasmosis in a mother and child with activated PI3-kinase δ syndrome type 2 (APDS2): case report and a literature review of *Toxoplasma* infections in primary immunodeficiencies. *Front. Immunol.* 10, 77
20. Pulvarthi, S. *et al.* (2015) Cerebral toxoplasmosis in a patient on methotrexate and infliximab for rheumatoid arthritis. *Intern. Med. Tokyo Jpn.* 54, 1433–1436
21. Enriquez-Maruanda, A. *et al.* (2017) Cerebral toxoplasmosis in an MS patient receiving Fingolimod. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 18, 106–108
22. Gharani, A.A. *et al.* (2018) Acute *Toxoplasma* dissemination with encephalitis in the era of biological therapies. *Open Forum Infect. Dis.* 5, ofy259
23. Lee, E.B. *et al.* (2020) Cerebral toxoplasmosis after rituximab for pemphigus vulgaris. *JAAD Case Rep.* 6, 37–41
24. Kollu, V. *et al.* (2018) *Toxoplasma* encephalitis following tandem autologous hematopoietic stem cell transplantation: a case report and review of the literature. *Case Rep. Infect. Dis.* 2018, 1–3
25. Perera-Chiccola, V.L. *et al.* (2009) *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients. *Future Microbiol.* 4, 1369–1379
26. Winters, L. and Schoen, F. (2001) Pathology of cardiac transplantation. In *Cardiovascular Pathology* (3rd edn) (Silver, M.D. *et al.*, eds), p. 742. WB Saunders
27. Sumi, M. *et al.* (2016) Clinical characteristics and computed tomography findings of pulmonary toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Int. J. Hematol.* 104, 729–740
28. Taleno, T. *et al.* (2017) Disseminated toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation showing unusual magnetic resonance images. *Transpl. Infect. Dis.* 19, 28474756
29. Botterel, F. *et al.* (2002) Disseminated toxoplasmosis, resulting from infection of allograft, after orthotopic liver transplantation: usefulness of quantitative PCR. *J. Clin. Microbiol.* 40, 1648–1650
30. Campbell, A.L. *et al.* (2006) First case of toxoplasmosis following small bowel transplantation and systematic review of tissue-invasive toxoplasmosis following noncardiac solid organ transplantation. *Transplantation* 81, 408–417
31. Mayes, J.T. *et al.* (1995) Transmission of *Toxoplasma gondii* infection by liver transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 21, 511–515
32. Martina, M-N. *et al.* (2011) *Toxoplasma gondii* primary infection in renal transplant recipients. Two case reports and literature review. *Transpl. Int.* 24, e6–e12
33. Osthoff, M. *et al.* (2013) Disseminated toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation in a seronegative recipient. *Transpl. Infect. Dis.* 15, E14–E19
34. Robert-Gangneux, F. *et al.* (2015) Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients: a 3-year multicenter retrospective study. *J. Clin. Microbiol.* 53, 1677–1684
35. Stærkers, Y. *et al.* (2010) Multicentric comparative analytical performance study for molecular detection of low amounts of *Toxoplasma gondii* from simulated specimens. *J. Clin. Microbiol.* 48, 3216–3222
36. Sleeples, L.R. *et al.* (2016) Real-time PCR using the 529 bp repeat element for the diagnosis of atypical ocular toxoplasmosis. *Br. J. Ophthalmol.* 100, 200–203
37. Belaz, S. *et al.* (2015) A 10-year retrospective comparison of two target sequences, REP-529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR. *J. Clin. Microbiol.* 53, 1294–1300
38. Petersen, E. *et al.* (2006) Diagnosis of pulmonary infection with *Toxoplasma gondii* in immunocompromised HIV-positive patients by real-time PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 25, 401–404
39. Bretagne, S. *et al.* (1995) Quantitative competitive PCR with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of toxoplasmosis in AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1662–1664
40. Vidal, J.E. *et al.* (2004) PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.* 42, 4768–4768
41. Vidal, J.E. (2019) HIV-related cerebral toxoplasmosis revisited: current concepts and controversies of an old disease. *J. Int. Assoc. Provid. AIDS Care* 18, 2325958219867315
42. Peloux, H. *et al.* (1997) A multicentre prospective study for the polymerase chain reaction detection of *Toxoplasma gondii* DNA in blood samples from 186 AIDS patients with suspected toxoplasmic encephalitis. *Bio-Toxo Study Group. AIDS Lond. Engl.* 11, 1888–1890
43. La Hoz, R.M. *et al.* (2019) Tissue and blood protozoa including toxoplasmosis, Chagas disease, leishmaniasis, *Babesia*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, and *Nægleria* in solid organ transplant recipients—guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin. Transpl.* 33, e13546
44. Robert-Gangneux, F. *et al.* (2018) Toxoplasmosis in transplant recipients, Europe, 2010–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 24, 1497–1504
45. Isa, F. *et al.* (2016) Implementation of molecular surveillance after a cluster of fatal toxoplasmosis at 2 neighboring transplant centers. *Clin. Infect. Dis.* 63, 565–568
46. Gajural, K. *et al.* (2015) *Toxoplasma* prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 28, 283–292
47. Miyagi, T. *et al.* (2015) Successful treatment of toxoplasmic encephalitis diagnosed early by polymerase chain reaction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: two case reports and review of the literature. *Transpl. Infect. Dis.* 17, 593–598
48. Fricker-Hidalgo, H. *et al.* (2009) Diagnosis of toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation: results of DNA detection and serological techniques. *Clin. Infect. Dis.* 48, e9–e15
49. Adurthi, S. *et al.* (2008) Acute toxoplasmosis in nonstem cell transplant patients with hematological malignancies: a study from a regional cancer institute in South India. *Hematol. Oncol.* 26, 229–233
50. Dard, C. *et al.* (2018) Management of toxoplasmosis in transplant recipients: an update. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 16, 447–460
51. Darouin, F. *et al.* (2008) Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin. Microbiol. Infect.* 14, 1089–1101
52. Mainis, M. *et al.* (2019) Screening of donor and candidate prior to solid organ transplantation—guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin. Transpl.* 33, e13548
53. Dykewicz, C.A. *et al.* (2001) Summary of the guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* 33, 139–144
54. Kaplan, J.E. *et al.* (2009) Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm. Rep.* 58, 1–207; quiz CE1–4
55. Jones, J.L. and Dubey, J.P. (2012) Foodborne toxoplasmosis. *Clin. Infect. Dis.* 55, 845–851
56. Gachet, B. *et al.* (2018) Acute toxoplasmosis in an immunocompetent traveler to Senegal. *J. Travel Med.* 25, 30247670
57. Henao-Martinez, A.F. *et al.* (2018) Symptomatic acute toxoplasmosis in returning travelers. *Open Forum Infect. Dis.* 5, ofy058
58. Sepúlveda-Arias, J.C. *et al.* (2014) Toxoplasmosis as a travel risk. *Travel Med. Infect. Dis.* 12, 592–601
59. Vidal, J.E. *et al.* (2011) Importance of high IgG anti-*Toxoplasma gondii* titers and PCR detection of *T. gondii* DNA in peripheral blood samples for the diagnosis of AIDS-related cerebral toxoplasmosis: a case-control study. *Braz. J. Infect. Dis.* 15, 366–369
60. de Boer, J.H. *et al.* (1998) Serologic and polymerase chain reaction analysis of intraocular fluids in the diagnosis of infectious uveitis. *Am J. Ophthalmol.* 121, 650–658
61. Danise, A. *et al.* (1997) Use of polymerase chain reaction assays of aqueous humor in the differential diagnosis of retinitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.* 24, 1100–1106
62. Talabani, H. *et al.* (2009) Contributions of immunoblotting, real-time PCR, and the Goldmann-Witmer coefficient to diagnosis of atypical toxoplasmic retinochoroiditis. *J. Clin. Microbiol.* 47, 2131–2135

63. Greigert, V. *et al.* (2019) When biology supports clinical diagnosis: review of techniques to diagnose ocular toxoplasmosis. *Br. J. Ophthalmol.* 103, 1008–1012
64. Fekkar, A. *et al.* (2008) 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.* 46, 1965–1967
65. Meira, C.S. *et al.* (2008) Use of the serum reactivity against *Toxoplasma gondii* excreted-secreted antigens in cerebral toxoplasmosis diagnosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Med. Microbiol.* 57, 845–850
66. Wang, Z-D. *et al.* (2017) Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV* 4, e177–e188
67. Villard, C. *et al.* (2016) Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 84, 22–33
68. Pelloux, H. *et al.* (1999) Intravenous immunoglobulin therapy: confounding effects on serological screening for toxoplasmosis during pregnancy. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3423–3424
69. Dao, A. *et al.* (2003) Unspecific reactivity of IgM directed against the low-molecular-weight antigen of *Toxoplasma gondii*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 22, 418–421
70. Douet, T. *et al.* (2019) Performance of seven commercial automated assays for the detection of low levels of anti-*Toxoplasma* IgG in French immunocompromised patients. *Parasite* 26, 51
71. Dard, C. *et al.* (2016) Relevance of and new developments in serology for toxoplasmosis. *Trends Parasitol.* 32, 492–506
72. Lykins, J. *et al.* (2018) Rapid, inexpensive, fingerstick, whole-blood, sensitive, specific, point-of-care test for anti-*Toxoplasma* antibodies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12, e0006536
73. Macre, M. de S. *et al.* (2019) Saliva collection and detection of anti-*T. gondii* antibodies of low-income school-age children as a learning strategy on hygiene, prevention and transmission of toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 61, e48
74. Chapey, E. *et al.* (2015) Use of IgG in oral fluid to monitor infants with suspected congenital toxoplasmosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 22, 398–403
75. Li, X. *et al.* (2019) Plasmonic gold chips for the diagnosis of *Toxoplasma gondii*, CMV, and rubella infections using saliva with serum detection precision. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 38, 883–890
76. Kalantari, N. *et al.* (2018) Association between *Toxoplasma gondii* exposure and paediatrics haematological malignancies: a case-control study. *Epidemiol. Infect.* 146, 1896–1902
77. Hashiguchi, J. *et al.* (2018) Re-infection of *Toxoplasma gondii* after HSCT presenting lymphadenopathy resembling recurrence of lymphoma. *Transpl. Infect. Dis.* 20, e12892
78. Jung, B-K. *et al.* (2016) High *Toxoplasma gondii* seropositivity among brain tumor patients in Korea. *Korean J. Parasitol.* 54, 201–204
79. Snopkova, S. *et al.* (2013) Acute toxoplasmosis—etiological factor for development of Hodgkin's lymphoma? *Scand. J. Infect. Dis.* 45, 953–956

Conséquences « nouvelles » de la toxoplasmose

Article dans un journal international avec comité de lecture

Dupont D, Lin JS, Peyron F, Akaoka H, Wallon M.

Sleep/wake cycle alterations induced by chronic *Toxoplasma gondii* infection in the mouse.
CNS Neurosci Ther. 2021 Aug;27(8):895-907.

La toxoplasmose chronique, établie par la persistance de kystes dans les tissus de l'hôte, après primo-infection, a longtemps été considérée comme bénigne chez l'immunocompétent. Elle fait suite à une phase aiguë qui est asymptomatique dans 90 % des cas [75]. Dans les 10 % restants, l'infection est le plus souvent bénigne, souvent confondue avec une mononucléose infectieuse car elle entraîne un syndrome mononucléosique sur la numération formule sanguine. Les signes cliniques principaux sont une altération de l'état général, une fièvre et des adénopathies cervicales pouvant persister plusieurs semaines. Très rarement, on rapporte des cas de myocardite, de polymyosite, de pneumopathie, d'hépatite ou d'encéphalite, mais ceux-ci sont probablement liés à des souches d'un génotype particulier. En effet, comme mentionné précédemment, certaines souches atypiques ainsi que les souches de type I sont particulièrement virulentes et sont capables de conduire au décès [119]. De plus, ces souches sont capables d'induire des lésions de rétinocoroïdite, dans le cadre d'une infection aiguë [120]. Il s'agit de lésions focales avec une forte réaction inflammatoire du vitré.

Après cette phase aiguë et l'enkystement du parasite, l'infection est considérée comme n'ayant aucun effet sur l'hôte. Or une littérature abondante depuis quelques années amène à revoir ce dogme et à envisager que la toxoplasmose chronique puisse avoir chez l'Homme des conséquences jusque là insoupçonnées. Ces conséquences seraient d'ordre comportemental ou neuropsychiatrique. Cette question suscite actuellement un grand débat et une littérature abondante.

Nous présenterons successivement : 1) les modifications du comportement observées chez l'animal, 2) la littérature abondante concernant les arguments anatomiques et biochimiques pouvant soutenir ces modifications, 3) les nombreuses publications que les deux points précédents ont généré chez l'Homme, dont nous soulignerons les limites, puis 4) les raisons qui nous ont amenés à faire le choix de l'étude du rythme veille/sommeil pour une meilleure compréhension des conséquences de la toxoplasmose chronique, grâce à un modèle murin de toxoplasmose chronique, et enfin 5) nos travaux et les avancées qu'ils ont permis.

Modifications comportementales chez l'animal

La plupart des études ont porté sur le rat et la souris qui sont de bons modèles car leur SNC et leur système immunitaire sont très semblables, structurellement et neurochimiquement parlant, à celui de l'Homme. Il s'agit également de proies classiques du chat, ce qui en fait des candidats de choix dans la recherche d'une modification de comportement induite par l'infection par *T. gondii* dans le but de faciliter la survie du parasite par une prédation facilitée des proies contaminées. Barber et Dingemans suggèrent ainsi que le parasitisme pourrait jouer un rôle important dans la détermination des comportements animaux. La personnalité animale serait donc influencée par deux facteurs [121]. La transmission d'un parasite dépendant du comportement de l'hôte assure une sélection de ces comportements à risque. Dans un deuxième temps, le parasite peut induire des modifications comportementales évolutives dans certains contextes endémiques. C'est ce que formule Dawkins avec son concept de phénotype étendu : le comportement d'un animal va tendre à faire perdurer les gènes à l'origine de ce comportement, que ces gènes appartiennent ou non à l'animal en question [122]. C'est ce concept qui est à la base de la théorie de la manipulation par *T. gondii* : le comportement altéré de l'hôte intermédiaire tendrait donc à faire perdurer les gènes du parasite, ce qui se décline dans notre cas à augmenter les possibilités de prédation des hôtes intermédiaires par les hôtes définitifs, les Felidae. Ceci serait rendu possible par des altérations directes des capacités physiques, ou bien par des altérations des perceptions sensorielles [123]. Alors que de véritables études de prédation ne sont pas réalisables du fait de considérations éthiques, il faut garder à l'esprit qu'aucune des modifications comportementales observées chez les animaux n'a fait la preuve de son impact sur la transmission du parasite de manière scientifique. Ce phénomène a également été décrit pour plusieurs espèces parasitaires.

L'un des comportements fondateurs de la théorie de la manipulation fut la découverte chez le rongeur infecté de la diminution de son aversion innée pour l'odeur de l'urine du chat, et sa transformation en attraction [124]. Cette attraction semble particulièrement spécifique des félins, puisque cette

différence entre infectés et non infectés ne s'exprime pas pour d'autres animaux non prédateurs, ou d'autres prédateurs qui ne sont pas hôte définitif pour le parasite [124]–[128]. Une étude réalisée chez le chimpanzé, a pu reproduire cette attraction pour l'urine de léopard qui est spécifiquement le seul prédateur du chimpanzé. De manière frappante, il n'y avait pas de différence significative entre chimpanzé infectés et non infectés, lorsqu'ils étaient mis en présence d'une odeur d'urine d'autres hôtes définitifs potentiels qui ne sont pas rencontrés dans leur écosystème (tigre ou lion) [129]. De plus, les rongeurs infectés semblent privilégier l'odeur de félins sauvages (guépards ou pumas), plutôt que celle de félins domestiques dans un test à choix double [130]. En revanche, une étude chez la souris a conclu à une attraction non spécifique, valable pour tous les prédateurs, sans spécificité pour les félins [131], alors qu'une autre étude sur deux lignées de souris ne retrouve aucune différence significative entre infectés et non infectés [132]. Ceci laisse à penser que les modifications observées sont dépendantes des modèles de rongeurs utilisés. Les modifications semblent également dépendre de la force du stimulus, en suivant une relation en U inversé, les modifications sont donc observées pour des doses intermédiaires [133]. Dans le même ordre d'idée, il a été montré que cette attraction était dépendante de la souche de *T. gondii* infectante. Ainsi, la souche de référence Prugniaud (type II) entraînait une augmentation de l'attraction pour l'urine de chat à deux et sept mois post infection, alors que celle-ci n'était présente qu'à deux mois avec la souche ME49, également de type II [126]. Cette « attraction fatale », puisqu'elle conduit directement dans les griffes de leur prédateur, est pourtant retrouvée pour les souches de type I, II et III par d'autres auteurs [134]. De plus, l'effet persiste dans le temps, même après clairance du parasite comme cela a été confirmé par des techniques de biologie moléculaire sur le cerveau [134]. Enfin, l'effet serait indépendant de la charge parasitaire ou de l'état d'inflammation. Cette dernière conclusion a par ailleurs été mise à mal par les conclusions d'une autre équipe qui retrouvaient une corrélation entre la charge parasitaire, l'inflammation et les effets observés sur le comportement [131]. Enfin, le traitement de rats par des anti-toxoplasmiques (pyriméthamine-dapsone par exemple), 14 jours après leur infection, entraînait

la suppression des modifications observées chez les animaux infectés [125], [135]. Dans le même ordre d'idée, un traitement par d'autres molécules ayant montré une activité anti-parasitaire (telles que l'halopéridol ou l'acide valproïque) conduisait à une diminution du nombre de kystes cérébraux mais également à une diminution de l'attraction pour l'odeur du prédateur [125], [136]. Un mécanisme pour cette altération comportementale a été proposé en 2014. Une modulation épigénétique conduirait à l'hypométhylation du promoteur du gène de l'arginine-vasopressine au niveau de l'amygdale, impliquée dans les phénomènes émotionnels comme l'attraction sexuelle, la peur ou l'anxiété. Ceci conduirait donc à une hyper-expression de ce peptide et à l'augmentation de l'activité des neurones vasopressinergiques en réponse à l'exposition à l'odeur d'urine de félin [137].

Bien qu'intéressant d'un point de vue strictement théorique, on peut penser que ces modifications comportementales ne peuvent à elles seules expliquer la grande distribution et la forte prévalence de la toxoplasmose.

D'autres modifications comportementales rapportées dans la littérature fournissent des éléments complémentaires. Les premières études des années 1980 sur des souris infectées par *T. gondii* rapportent principalement une augmentation de l'activité associée à une baisse de réponse à un nouveau stimulus [138], [139]. Plusieurs études ont confirmé ces résultats chez des souris infectées congénitalement et en post natal : elles étaient plus actives que les contrôles, mais surtout elles avaient tendance à rester préférentiellement dans les zones les moins exposées [131], [140], [141]. En revanche, certaines équipes travaillant sur des modèles murins ont mis en évidence une diminution générale de l'activité associée à une augmentation des temps de réaction [142], [143]. Gatkowska a confirmé également ces résultats de diminution de l'activité exploratoire associée à une diminution du « grooming » et une réduction du temps passé dans les zones exposées [144]. Ces modifications de l'activité chez les souris semblent ainsi liées à des différences d'interaction entre l'animal et son environnement, ainsi qu'avec les stimuli nouveaux qu'il rencontre. Des enregistrements vidéos de la démarche des souris ont également mis en évidence des modifications de la locomotion [145], [146].

Des études sur le rat retrouvent également une augmentation de l'impulsivité [147], une diminution de l'agressivité associée à une augmentation des comportements sociaux [145] ou à une augmentation de l'aversion pour l'effort, semblant suggérer que les mécanismes sont plus complexes qu'une simple diminution de la peur [147]. A l'inverse, l'équipe de Vyas n'avait observé aucune autre modification comportementale que l'attraction pour l'urine, que ce soit au niveau de la néophobie, des processus mémoire et d'apprentissage ou bien encore de l'anxiété [128]. Chez les souris, l'augmentation de l'anxiété semble être quasi constante [142], [148], [149], à l'exception de deux études qui retrouvaient une diminution ou une absence d'effet [131], [150]. Par ailleurs, la mémoire spatiale peut être impactée, de même que la sensibilité olfactive [148] ou la reconnaissance sociale à court terme [149].

Dès 1978, Piekarski rapportait que rats et souris infectés par *T. gondii* présentaient une diminution significative de leur capacité d'apprentissage, particulièrement importante chez les souris [151], [152], ce qui, associé à une mémoire à court terme altérée [153], conduit à une capacité altérée à reconnaître un stimulus nouveau : on parle de diminution de la néophilie, responsable probablement d'une augmentation de la prise de risque et donc de la prédation [148], [154], [155].

Bien que moins affectés physiquement par la présence du parasite, - comme l'indiquent des charges parasitaires cérébrales plus faibles-, les modèles d'infection chez le rat révèlent en général moins de différences comportementales. Les rats infectés exhibaient néanmoins des capacités mémorielles d'apprentissage diminuées à l'épreuve du Morris Water Maze [156], ainsi qu'une anxiété diminuée et une augmentation des comportements sociaux [157], [158]. Ce déficit mémoriel a par la suite été confirmé à l'aide de test de conditionnement à la peur. Ce test conduisait à une immobilisation réduite des rats infectés face à un stimulus, indicateur d'une altération de la capacité à consolider les phénomènes de peur [159]. Normalement, un rat est capable d'apprendre de ses peurs : ainsi, mis en présence d'un collier porté par un chat, ils présentent la même aversion pour un collier identique mais qui n'a pas été porté par un chat. Un rat infecté présente des processus mémoriels de la peur ne lui permettant pas de reconnaître le collier comme associé au chat [133]. Les réactions de rats sauvages

ou de lignées de rats de laboratoire, face à des nouveaux stimuli furent testées, ainsi que leur propension à être capturé dans des pièges. Les rats, animaux néophobes par nature, à l'inverse des souris, exprimaient une altération des phénomènes de peur conditionnée, une diminution significative de la néophobie après infection, traduite par une augmentation de leur capture dans des pièges [160]–[162], et ce, sans altération du comportement social ou reproducteur. Ce qui est extrêmement intéressant était que cette diminution de néophobie, associée à une hyperactivité, ne se retrouve donc pas chez les animaux contrôles sains, mais ne se retrouvait pas non plus chez les rats infectés par d'autres micro-organismes (parasite, bactérie ou virus) qui ne nécessitaient pas de deuxième hôte pour accomplir leur cycle [160]. En effet, pour ces derniers, augmenter la fréquence de capture, et donc par extension la prédation, est synonyme d'échec dans l'accomplissement de sa multiplication. Le siège de ces processus de peur et de prise de décision est l'amygdale, ce qui tendrait à penser que cette structure est une cible potentielle pour le parasite.

De la disparité de ces résultats, il ressort que les modifications comportementales observées semblent dépendre de plusieurs facteurs, dont la nature de l'hôte, la nature de la souche de *T. gondii*, mais également l'âge, le sexe ou bien encore la voie d'infection [163], [164]. Ainsi, des différences sont rapportées entre souches de type II et souches de type III : l'activité, l'aversion pour l'urine de chat et la mémoire à long terme sont plus fortement diminuées avec des souches de type III [163].

Ces descriptions de comportement chez l'animal amènent à rechercher les arguments qui pourraient les expliquer.

Arguments en faveur d'une modification du fonctionnement cérébral dans la toxoplasmose chronique

Ces arguments sont de trois ordres : un tropisme de *T. gondii* pour le SNC, des modifications de la neurotransmission et les effets délétères de l'inflammation chronique.

Localisation du parasite dans le SNC

Comme nous l'avons vu, la forme tachyzoïte de *T. gondii* possède un tropisme pour certains tissus, dont le tissu nerveux, et plus particulièrement le SNC.

La question du tropisme préférentiel de *T. gondii* pour certaines zones cérébrales est centrale mais encore non complètement résolue. Une première étude en 2007 sur des rats avait montré une densité importante de kystes dans l'amygdale, bien que ceux-ci soient retrouvés dans l'ensemble des structures cérébrales [128]. La même année, une autre équipe démontra un tropisme particulier pour le cortex préfrontal, le nucleus accumbens et l'hypothalamus chez des rats infectés par la souche RH, de type I [157]. Une autre étude, réalisée sur coupes de cerveaux de souris, constatait une répartition aléatoire des kystes, mais avec là encore, une densité plus importante de kystes dans certaines régions comme le bulbe olfactif, l'hippocampe ou l'amygdale. En revanche, d'autres structures semblaient être moins densément infectées, comme le cervelet, les noyaux du pont ou le putamen caudé [165]. L'utilisation d'un marquage bioluminescent spécifique du stade bradyzoïte a permis de mettre en évidence une luminescence plus importante au niveau du cortex, du colliculus, du cervelet et du bulbe olfactif chez la souris [166]. Un marquage histologique a mis en évidence une diminution du nombre de kystes avec le temps, mais a également montré leur persistance marquée dans certaines structures comme l'hypothalamus, l'amygdale, le bulbe olfactif, le cervelet et le tronc cérébral [127]. Une autre étude retrouvait une densité plus importante de kystes dans l'hippocampe, l'hypothalamus latéral, la zona incerta, et le cortex somato-senseur [146]. Chez le rat, le tropisme était variable selon la souche de *T. gondii* utilisée, mais restait marqué pour les hémisphères cérébraux, le ganglion basal, le cervelet, le cortex, le tronc cérébral et le thalamus. Les auteurs rapportent par ailleurs que l'hypothalamus et l'hippocampe semblaient moins touchés [167]. Enfin, une étude récente objective plutôt un tropisme pour le cortex et le striatum [142]. Il est intéressant de constater que plusieurs structures sont retrouvées de façon concordante dans ces différentes études. C'est le cas du cortex, de l'amygdale, de l'hippocampe et du bulbe olfactif par exemple, le cortex semblant être le plus touché [159], [168]. A

noter qu'au contraire, de nombreuses études utilisant le même genre de marquage ne retrouvent pas de tropisme particulier, avec une variabilité très grande entre les individus, sans toutefois que les localisations ne semblent dépendantes du hasard [144], [156], [162]. Enfin, une étude sur cerveaux humains après autopsie qui reposait sur la PCR, *a priori* plus sensible que la microscopie, n'a pas retrouvé de distribution particulière des kystes [169]. Il est à noter que bien que la distribution soit aléatoire, la localisation dans les structures cérébrales jouerait bien un rôle dans l'apparition des modifications comportementales évoquées précédemment chez les rats [170].

Une autre question essentielle est celle du **type cellulaire infecté**, en raison d'effets particuliers possibles sur la transmission des influx nerveux, par altération directe de la cellule ou par le biais des effecteurs sécrétés par le parasite. Il est actuellement admis que le neurone est la cible principale du parasite [171], [172], du fait de la non-expression des molécules du CMH I qui empêcherait la reconnaissance des neurones infectés par les lymphocytes T CD₈ [168]. Les astrocytes et les cellules gliales sont également infectées, comme l'attestent la description d'antigènes parasitaires dans leur cytoplasme [127], mais avec la possibilité de se débarrasser du parasite par l'intermédiaire de GTPases dépendant de l'IFN- γ [173]. Le parasite injecterait des protéines effectrices dans de nombreuses cellules nerveuses sans pour autant toutes les infecter [171].

Certaines observations sont également en faveur d'une altération physique du SNC. Ainsi une infection chronique par *T. gondii* entraîne une dilatation ventriculaire associée à une diminution du poids du cerveau dans sa globalité qui est corrélée avec les anomalies du comportement spatial chez la souris et le rat [174].

Modification du métabolisme des neurotransmetteurs

La neurotransmission peut également être modifiée par le parasite au niveau de la synthèse, du catabolisme des différents neurotransmetteurs ou bien de l'expression des différents récepteurs synaptiques impliqués dans les circuits neuronaux. Les données disponibles concernent plus

particulièrement les modifications du métabolisme de la dopamine, du glutamate, du GABA, de la sérotonine (5HT), de l'adrénaline et de la noradrénaline.

Les catécholamines se divisent en trois neurotransmetteurs : l'adrénaline ou épinéphrine (Ad), la noradrénaline ou norépinéphrine (NA) et la dopamine (DA).

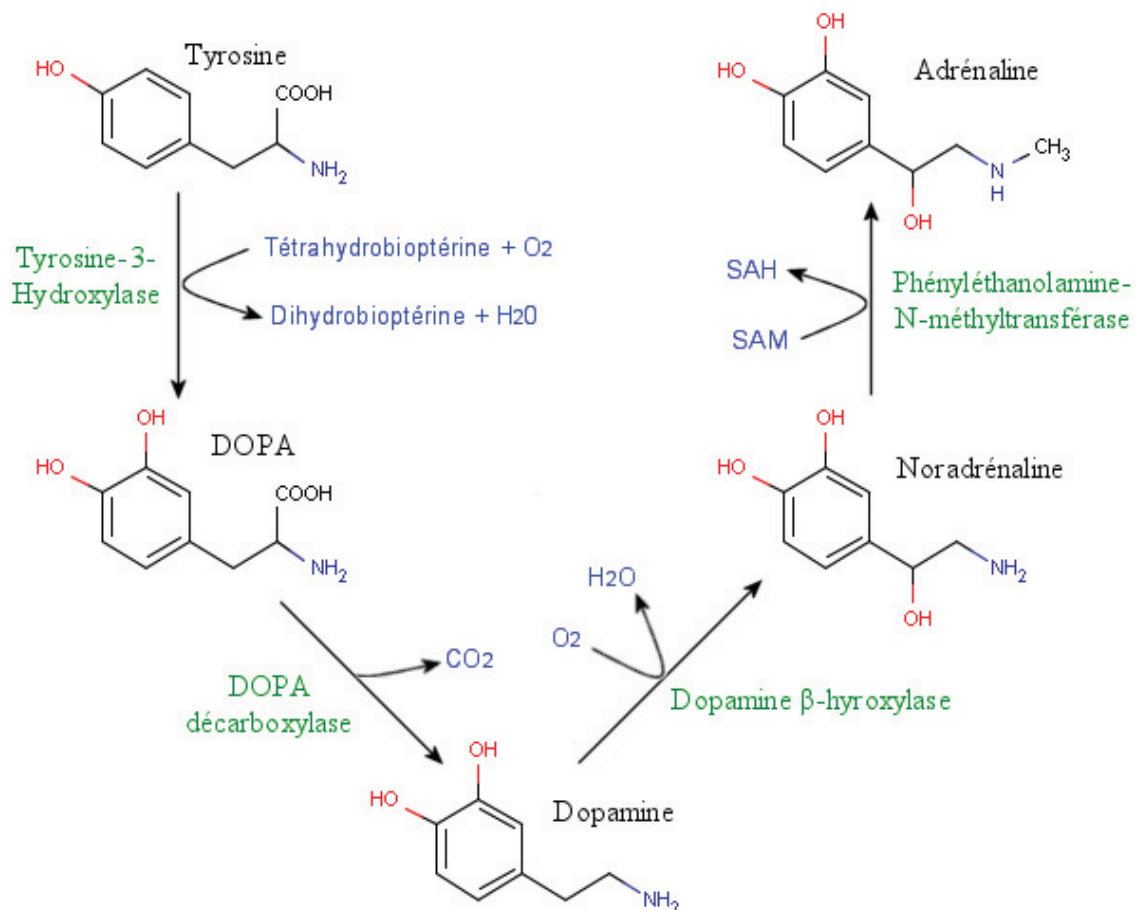


Figure 9 : Métabolisme de la dopamine

Elles sont caractérisées par un noyau catéchol, soit un noyau benzène avec deux groupements hydroxyles substitués adjacents. Elles sont toutes synthétisées à partir d'un précurseur commun, la L-Tyrosine. Acide aminé fourni par l'alimentation, il est capté par les neurones catécholaminergiques. La première étape de la synthèse est l'hydroxylation de la tyrosine en L-DOPA par la Tyrosine Hydroxylase (TH) : c'est l'étape limitante (du fait de son activité enzymatique faible), et elle est sujette à un

rétrocontrôle négatif par les produits de synthèse terminaux que sont l'Ad et la NA [175]. La stimulation des neurones augmente l'activité de la TH, après sa phosphorylation par des protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique. La deuxième étape est la décarboxylation de la L-DOPA en DA, par la DDC, enzyme non spécifique des neurones catécholaminergiques. Ensuite, la DA peut subir une nouvelle étape d'hydroxylation par la DBH, pour donner la NA. Enfin, cette dernière sera transformée en Ad par la phényléthanolamine N-méthyl transférase. Les étapes de la synthèse des catécholamines se déroulent dans des structures cellulaires différentes. Ainsi la tyrosine est transformée en L-DOPA puis en DA, dans le neurone, avant d'être stockée dans des granules, où elle peut être transformée en NA sous l'influence de la DBH.

Les catécholamines présentes dans la fente synaptique sont majoritairement recaptées par les neurones et les cellules gliales [176]. Elles sont ensuite dégradées par des enzymes spécifiques, les monoamines oxydases (MAO) mitochondriales [177], et les catéchol-O-méthyl-transférases (COMT) situées dans la fente synaptique et dans le cytoplasme des cellules [178]. La DA est désaminée par les MAO, puis oxydée par l'aldéhyde déshydrogénase pour donner l'acide dihydroxyphénylacétique. De son côté, la COMT transforme la DA en 3-méthoxytyramine, et le DOPAC en acide homovanillique. L'action de la COMT sur l'Ad et la NA conduit respectivement à la métanéphrine et à la normétanéphrine. Ces deux métabolites sont transformés en acide vanillyl-mandélique sous l'action de la MAO.

Les modifications de la **transmission dopaminergique** sont celles qui ont le plus interpellé. La DA est impliquée dans le contrôle moteur, l'attention, le plaisir et la motivation, le sommeil, la mémoire et la cognition. Plusieurs équipes ont ainsi retrouvé des taux de DA augmentés que ce soit chez des souris infectées chroniquement [142], [179], dans un modèle d'infection pré-conceptionnelle chez le nouveau-né à 14 et 63 jours de vie [180], ou encore dans certaines régions cérébrales en cas d'infection aiguë [181]. Ces résultats ont été confirmés *in vitro* dans des modèles d'infection cellulaires [182], [183]. La DA stimulerait également la croissance parasitaire et augmenterait donc la destruction cellulaire

[184]. Ces observations initiales furent étayées par la découverte de la présence dans le génome parasitaire, de deux copies d'un gène ayant une forte homologie pour la TH, enzyme clé de la synthèse de la DA. Ces gènes baptisés AAH1 et AAH2 (aromatic amino acid hydroxylase) possèdent une activité phénylalanine hydroxylase mais également TH avec une affinité plus forte et donc un biais vers la synthèse de L-DOPA [185]. L'expression de AAH1 est constitutive, alors que celle de AAH2, protéine sécrétée [186] serait inductible et exprimée principalement lors du stade bradyzoïte. Ce concept a malheureusement été battu en brèche par des études de délétion du gène AAH2, mettant en évidence l'absence d'impact de cette délétion sur la croissance parasitaire, mais aussi sur les concentrations en DA dans le cerveau, que ce soit *in vivo* ou *in vitro* [187]. Parallèlement, la délétion de AAH2 ne modifie pas les altérations comportementales observées [155], [188], ni les phénomènes inflammatoires [188]. Ceci tendrait à faire penser que les altérations dopaminergiques sont plus subtiles et ne peuvent s'observer qu'à un niveau local dans certaines zones spécifiques. Quoi qu'il en soit, les différences observées sont possiblement dues à des différences dans la conception expérimentale des études [189].

Concernant la localisation des enzymes impliquées dans le métabolisme de la DA, les études rapportent une colocalisation de la TH et de la DA au sein des kystes [183]. Elles indiquent également une coordination spatiale au sein de la vésicule parasitophore et dans le cytoplasme des cellules dopaminergiques, entre la TH parasitaire et la DOPA décarboxylase (DDC) de l'hôte. Cette dernière enzyme est responsable de la transformation de la L-DOPA en DA, et permet donc au parasite de participer à la synthèse de DA [190]. Par ailleurs, l'activité TH endogène de l'hôte ne serait pas augmentée, de même que le transport de la DA. C'est donc bien la composante parasitaire qui participerait à l'augmentation de DA dans le cerveau.

Le rôle des enzymes catabolisant la dégradation de la DA a également été étudié. Ainsi, les métabolites de la DA, mais pas le taux de DA, sont augmentés principalement dans le cortex cérébral [159]. Il existe un rétrocontrôle négatif sur l'expression génique des récepteurs D1 à la DA mais également des MAO,

qui dégradent la DA [182], ainsi que sur l'expression de la DBH participant ainsi à l'augmentation concomitante de la DA [145].

L'effet probable de la DA sur les altérations comportementales a été confirmé par l'utilisation d'un inhibiteur de la recapture de la DA dans un modèle murin. Les données expérimentales montrent une altération comportementale chez les souris traitées, soulignant ainsi l'implication du système dopaminergique [191]. De façon similaire, le traitement expérimental de souris infectées par des médicaments anti-psychotiques connus pour être des antagonistes dopaminergiques tels que l'halopéridol permet de diminuer les altérations comportementales observées chez les souris avant traitement [136]. Ces effets pourraient être dus aux propriétés anti-dopaminergiques de ces molécules, mais il se peut que ces molécules possèdent également un certain degré d'activité anti-parasitaire directe [192].

L'un des mécanismes proposés à l'heure actuelle consisterait en l'altération de l'expression des micro-ARN132, petits ARN non-codants permettant de réguler l'expression génique. Ainsi, les trois génogroupes parasitaires exercent un rétrocontrôle positif sur les micro-ARN132 en phase aiguë, et un rétrocontrôle négatif en phase chronique [182], [193]. Bien que les modifications observées ne soient pas identiques selon les structures cérébrales, selon le sexe ou selon la phase de l'infection, une analyse transcriptomique poussée montre que la voie significativement impactée par ces modifications correspond à la voie de transduction du signal dopaminergique (récepteurs D1, DARPP-32) [182].

Le glutamate est un acide aminé, neurotransmetteur excitateur. Plusieurs arguments existent en faveur d'un effet de *T. gondii* sur la transmission glutamatergique à la phase chronique de l'infection. En effet, des taux extracellulaires élevés ont été mis en évidence dans le cerveau antérieur [194], attribués à une diminution de la recapture par les transporteurs astrocytaires du glutamate (GLT-1). La présence d'auto-anticorps dirigés contre les récepteurs glutamatergiques NMDAR a également été

décrite, responsable d'une diminution de la transmission glutamatergique et des taux de récepteurs NMDA dans le cortex et l'hippocampe [148]. Ces anticorps qui sont spécifiques de la phase de conversion en kystes, semblent être au moins partiellement responsables des altérations comportementales observées [195]. En effet, le blocage des récepteurs NMDAR de l'amygdale entraîne une absence de peur innée pour le chat chez des rongeurs non parasités, sur le modèle de ce qui est observé chez les rongeurs infectés [196]. Un traitement antitoxoplasmique à base de sulfadiazine serait capable de partiellement corriger la sous-expression des récepteurs NMDAR [197].

Le **GABA** est un neurotransmetteur inhibiteur qui joue un rôle majeur dans la prévention des crises comitiales. Dans un modèle murin d'infection avec une souche de type II, Brooks a pu observer que la survenue de crises comitiales spontanées étaient concomitantes d'une altération de la répartition cellulaire de l'acide glutamique décarboxylase-67 (GAD67), une enzyme clé catalysant la synthèse du GABA [198]. L'IFN- γ , cytokine clé de la réponse immunitaire au parasite, régule par ailleurs la transmission GABAergique contrôlant ainsi le comportement social chez la souris. On peut supposer que l'altération de GAD67 par le parasite peut donc être responsable de la modification des comportements sociaux de la souris, ceux-ci ne pouvant être régulés correctement par l'intermédiaire de l'IFN- γ .

La sérotonine est impliquée dans les mécanismes de l'humeur, notamment dans la régulation des comportements, l'humeur, l'anxiété ou encore l'apprentissage. Elle serait également impliquée dans la motivation et la prise de décision. Des taux anormalement bas sont retrouvés dans les cas de dépression. Elle est considérée comme antagoniste à la DA. En phase aiguë d'une infection à *T. gondii*, les taux de 5HT semblent augmenter, particulièrement chez l'homme [181], mais des taux réduits sont retrouvés à la phase chronique [142], [199]. Ces modifications pourraient être spécifiques de certaines régions cérébrales, comme par exemple l'amygdale [159]. Tout comme la 5HT, les taux de NA sont diminués en réponse à l'infection parasitaire [142], [145], [159], [179], alors que ceux de l'Ad augmentent [142].

Réaction inflammatoire et neurotransmetteurs

Comme nous l'avons vu, la réaction inflammatoire de l'hôte contre le parasite est basée principalement sur l'IFN- γ . Le mécanisme principal par lequel l'IFN- γ s'oppose à la croissance parasitaire est l'activation de l'IDO [39], permettant la dégradation du tryptophane, qui est un acide aminé essentiel pour le parasite. L'IDO peut également être stimulée par la nitrite oxyde synthase inductible (iNOS) [200]. C'est donc un mécanisme de privation des nutriments pour le parasite.

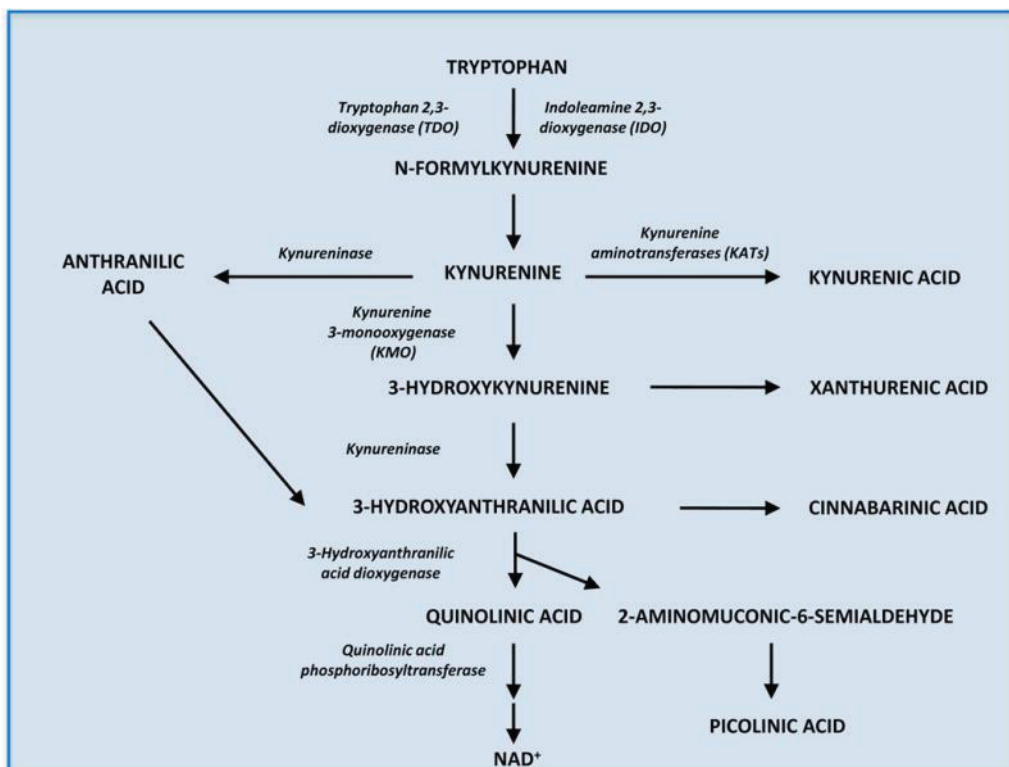


Figure 10 : Dégradation du tryptophane par la voie des kynurénines, d'après Schwarcz et al, *Neuropharmacol* 2017 [201]

Parallèlement, le tryptophane étant le précurseur de la 5HT et de la mélatonine, l'activation de cette cascade résulte en la diminution de la quantité de ces molécules présentes dans l'organisme hôte, ce qui concorde avec ce qui a été discuté plus haut. De plus, l'infection par *T. gondii* stimule fortement la voie des kynurénines *via* l'activation de la microglie et des astrocytes [202], conduisant à une augmentation significative des taux d'acide kynurénique (KYN) et d'acide quinolinique (QIN) [203],

[204]. Le KYN joue un rôle d'antagoniste aux récepteurs NMDAR, alors que le QIN est excitotoxique (agonistes des NMDAR) et inducteur de stress oxydatif. Le stress oxydatif, justement, joue un rôle important dans la réponse à l'infection parasitaire par l'intermédiaire des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote [205]. L'infection est par ailleurs corrélée avec l'augmentation significative des marqueurs de stress oxydatif [206].

Réaction inflammatoire et impact sur la transmission synaptique

La transmission synaptique peut être touchée *via* différents mécanismes, dont principalement l'infection par le parasite, mais aussi la réaction inflammatoire de l'hôte. Il est constaté assez rapidement après l'infection (environ sept à 10 jours) une activation gliale suivie d'un recrutement massif de lymphocytes T et de monocytes, permettant de maintenir un niveau d'inflammation basal [168]. On retrouve également une forte composante inflammatoire périvasculaire, particulièrement au niveau leptoméningé, associée à une activation microgliale [174], comme cela se voit également chez les patients schizophrènes [207]. L'infection parasitaire cause également des dommages tissulaires, une démyélinisation (avec décompaction et dégénérescence de la myéline) et une augmentation de l'apoptose neuronale [168], [208]. Il est intéressant de constater que ces dommages sont faits avant même la formation des kystes [142]. Cette neurodégénérescence est médiée par les cellules gliales, CX3CL1 et le complément. Elle touche préférentiellement les neurones GABAergiques et glutamatergiques du cortex préfrontal [209], mais également les neurones sensoriels olfactifs [148]. Ces phénomènes d'apoptose ont été confirmés par un modèle de réactivation toxoplasmique, dans lequel l'activation microgliale dans le cortex et l'hippocampe participait activement à l'apoptose neuronale [142], [210]. La même équipe a co-cultivé des cellules de neuroblastome avec des cellules de la microglie et des tachyzoïtes de *T. gondii*, provoquant ainsi une augmentation significative de l'apoptose neuronale [210]. Ces dommages neuronaux sont également associés à une dégénérescence neuronale, à type de rétraction dendritique, constatée dans les neurones de l'amygdale basolatérale chez le rat [211], de dilatation dendritique [212], de diminution de la densité axonale [147] et de

démyélinisation. Ces phénomènes se traduisent donc par une diminution des synapses, une modification de la plasticité synaptique et une altération de l'activation neuronale particulièrement dans le cortex profond, l'hippocampe ou l'amygdale, conduisant à une altération de la connectivité entre les structures cérébrales, et particulièrement celles impliquées dans les interactions sociales [149], [213]. Cette diminution de connectivité est traduite par une diminution de l'expression pré- et post-synaptique de la synaptophysine et de la PSD95, qui ont un rôle dans l'activité des vésicules et dans la libération des neurotransmetteurs, et également un rôle dans l'assemblage des récepteurs post-synaptiques et dans la régulation de la plasticité synaptique, respectivement [213]. Étrangement, on constate également une altération morphologique des neurones non infectés (sous la forme d'une diminution de la complexité dendritique), phénomène lié probablement à l'injection d'effecteurs protéiques dans les neurones.

L'ensemble de cette activation cellulaire va conduire à l'activation de la voie NFκB, stimulant l'expression de cytokines pro-inflammatoires [142]. Ces phénomènes inflammatoires vont avoir un effet direct, entraînant une dysfonction de la microcirculation, une augmentation de la perméabilité de la BHM et une diminution de l'angiogénèse [214]. Il est intéressant de noter que ces mécanismes sont globaux mais qu'en regardant spécifiquement certaines structures cérébrales, on constate des différences. Ainsi, l'activation neuronale est altérée au niveau des zones limbiques du cerveau qui sont impliquées dans les comportements de défense (hypothalamus ventro-médial), alors qu'elle est significativement augmentée dans les zones limbiques qui sont impliquées dans l'attraction sexuelle (amygdale) [215], le tout en réponse à un stimulus particulier chez le rat : l'urine de chat.

Ajoutons qu'une étude réalisée chez des rats a également montré une diminution significative des neurones sous-muqueux entériques. Au niveau du colon proximal des rats infectés, l'infection par *T. gondii* entraînait donc une mort neuronale ainsi que des dommages à la muqueuse colique associés à une hypertrophie de la sous-muqueuse compensatoire [216].

Génomique et protéomique

Comme nous l'avons vu, *T. gondii* est capable de modifications épigénétiques conduisant à l'hypo ou l'hyperméthylation de certains gènes [137]. Ainsi, une analyse poussée du méthylome et du transcriptome de cultures de cellules rétiniennes par une souche de type I, a identifié de nombreux gènes surexprimés/hypométhylés ou réprimés/hyperméthylés, et plus particulièrement certains gènes de la voie de transduction du signal dopaminergique médiée par l'AMPc [217].

L'étude du transcriptome de cellules cérébrales issues de cerveaux infectés révèle la surexpression de plus de 930 gènes, majoritairement impliqués dans la réponse inflammatoire et l'activation cellulaire en réponse à l'infection. En revanche, on observe également la répression de 12 gènes impliqués dans les fonctions neuronales, corroborant l'hypothèse d'altération de la transmission synaptique. Ce sont par exemple des GTPases impliquées dans la transduction cellulaire ou des protéines de transport vésiculaire [218]. Une autre étude réalisée sur cellules de neuroépithéliome humain, comprenant des cellules infectées *versus* non infectées, a objectivé une nouvelle fois des disparités entre souches de parasite. Ainsi, le type I entraîne des altérations dans l'expression des récepteurs de la DA, de la glutamine, de la 5-HT et de deux neuropeptides (PROK2 et TAC1), le type III augmente le niveau d'expression de la TDO de la voie des kynurénines alors que le type II n'a aucun effet [219].

Les études de protéomique, quant à elles, retrouvent une augmentation des protéines impliquées dans les processus inflammatoires (CRP, IL-1 β , IFN- γ , PAI1, TIMP1 et VCAM1) [208].

Etudes des conséquences de l'infection chronique chez l'Homme

Très tôt déjà, des études ont rapporté une forte prévalence de la toxoplasmose chez les patients atteints de troubles psychiatriques, 52 % de prévalence versus 25 % chez les contrôles [220]. De la

même façon, dans une série de 114 cas de toxoplasmose, il était observé une fréquence importante de troubles psychiatriques (24 sur 114) [221].

Interactions entre toxoplasmose les pathologies neuro-psychiatriques et neuro-dégénératives

Plusieurs données de la littérature ont sous-tendu la possibilité d'une interaction. A noter par exemple l'importance des altérations du système dopaminergique liées à l'infection et le fait que ces altérations sont également retrouvées dans différentes pathologies humaines, dont la maladie de Parkinson [222], la maladie d'Alzheimer [223], le syndrome de Tourette [224] ou la schizophrénie [225]. L'altération des miARN132, mécanisme impliqué dans la modification de la neurotransmission par *T. gondii*, semble également jouer un rôle dans l'étiopathogénie des troubles neurologiques, tels que la schizophrénie, la dépression, et les maladies de Parkinson et d'Alzheimer [226]. Si l'on s'intéresse aux modifications de la transmission glutamatergique, la présence d'auto-anticorps dirigés contre les récepteurs NMDAR est responsable de la dysfonction glutamatergique observée dans les cas de schizophrénie [227]. De même, l'association auto-anticorps et infection par *T. gondii* est corrélée à des altérations cognitives plus marquées chez les patients schizophrènes. La diminution du tonus inhibiteur GABAergique est constatée dans la dépression majeure et l'épilepsie [228], [229], alors qu'un phénotype dépressif est également retrouvé dans les infections chroniques par *T. gondii* [199]. La sérotonine, dont les taux sont diminués dans l'infection par *T. gondii*, joue un rôle majeur dans la genèse de la dépression [230]. L'augmentation des métabolites KYN et QIN de la voie des kynurénines, voie stimulée par l'IFN- γ en réponse à l'infection, est associée avec la schizophrénie, la dépression et certaines pathologies neurodégénératives [231], [232]. Similairement, les transcrits du gène de la TDO, enzyme clé de la voie des kynurénines, sont augmentés dans la toxoplasmose chronique, comme observé dans le cerveau de patients schizophrènes [219], [233]. La plupart des cytokines pro-inflammatoires retrouvées dans l'infection toxoplasmique sont également retrouvées en quantités élevées dans le sérum, le LCR, mais également le cerveau de patients schizophrènes [208]. De la même façon, le stress oxydatif mis en

route en réponse à l'infection toxoplasmique semble jouer un rôle dans les troubles neuropsychiatriques [206]. Il est à noter, que les troubles comportementaux observés chez des souris infectées en post-natal, sont semblables à ceux observés chez des souris ayant reçu du MK801 (servant de modèle de la schizophrénie) [151].

Par ailleurs, les modifications épigénétiques à type d'hypométhylation observées dans la toxoplasmose chronique [137] sont des mécanismes retrouvés également dans les cas de schizophrénie [234].

Toutes ces observations soulignent des liens potentiels entre ces troubles et la toxoplasmose, sans pour autant présager de leur causalité ou de leur temporalité.

Résumé des données publiées chez l'Homme

C'est l'association avec les troubles psychiatriques qui a été la plus étudiée. Un lien a aussi été recherché avec des pathologies neurologiques ou neurodégénératives, et également avec des troubles du comportement ou de la personnalité.

Avant de présenter les conclusions des principales études, il est important de souligner qu'il s'agissait essentiellement d'enquêtes de séroprévalence réalisées auprès de patients et de sujets considérés comme sains. Or, ces études sont caractérisées par des limitations intrinsèques qui tiennent à la difficulté de déterminer le temps écoulé depuis l'infection en cas de sérologie positive en IgG, même si des IgM sont également détectées. La possibilité pour les IgM anti-toxoplasmiques d'être dépistées pendant plusieurs années est en effet bien connue. [235]. Ces études de séroprévalence ne permettent donc pas d'établir clairement la date de l'infection par rapport au début des troubles étudiés, ni si l'infection a eu lieu avant ou après la naissance. Or, il est probable que certaines étapes de la maturation cérébrale sont associées à une plus grande vulnérabilité et qu'une infection pré-natale puisse atteindre un individu différemment d'une infection acquise pendant l'enfance, l'adolescence ou plus tard dans la vie de l'hôte [236]. Par ailleurs, l'origine géographique de la population étudiée

est très variable selon les études, impliquant ainsi un grand degré de variabilité en terme de virulence des souches de *T. gondii*, mais également de séroprévalence [237]. De plus, l'hétérogénéité des tests utilisés et la variabilité de leurs performances analytiques influencent incontestablement les taux de prévalence et donc l'évaluation de l'association entre la séropositivité et la pathologie étudiée.

Par ailleurs, la classification en « malade » ou « non malade » repose sur des caractéristiques cliniques particulièrement complexes en psychiatrie, pouvant correspondre à plusieurs entités ou dimensions intriquées. Plusieurs systèmes de classification existent en psychiatrie dont *l'International Classification of Diseases ; Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, dont les habitudes d'utilisation varient en fonction des pays. De plus, les études sont souvent très hétérogènes en ce qui concerne la population d'étude et les méthodes d'évaluation. Elles manquent également souvent de puissance, et de validité du fait notamment de l'absence de prise en compte de facteurs de confusion potentiels tels le sexe, l'âge ou l'existence de pathologies psychiatriques sous-jacentes. Le manque d'information concernant les habitudes alimentaires ou bien les traitements habituels constitue un autre biais important. Ainsi, il a été montré que les psychotropes avaient une activité anti-parasitaire propre. Leweke, dès 2004, pensait que la diminution du taux d'anticorps anti-*T. gondii* était due à une inhibition de la réplication parasitaire par ces molécules [238]. Il a été montré que certaines molécules inhibaient la croissance parasitaire sur culture cellulaire de fibroblastes. Les molécules les plus actives étaient l'halopéridol et l'acide valproïque, ce dernier démontrant une synergie avec l'halopéridol, la rispéridone et le triméthoprime. En revanche, la rispéridone et la fluphénazine n'ont montré aucune activité anti-parasitaire [192]. Une autre étude réalisée également avec une souche de type I, montrait un effet de la fluphénazine, de la thioridazine et de la trifluoroperazine. A l'inverse, l'halopéridol et la clozapine n'avaient aucun effet [239]. Face à ces résultats divergents, une équipe française a démontré un impact de ces molécules, particulièrement l'acide valproïque, chez les patients atteints de troubles bipolaires. Ces derniers ont en effet plus d'épisodes dépressifs s'ils sont traités avec un médicament n'ayant pas d'activité anti-parasitaire [240]. L'étude sur une cohorte de 250 patients schizophrènes,

dont près des trois quarts étaient également *T. gondii*+, retrouve un effet des médicaments psychotropes à activité anti-*T. gondii*. Ces derniers sont donc associés à une diminution des symptômes dépressifs et de la CRP [241]. D'autres équipes ont voulu également tester l'effet de molécules antitoxoplasmiques connues sur les troubles psychiatriques. Au moins quatre études contrôlées randomisées ont été conduites sans retrouver le moindre effet, avec l'azythromycine [242], le triméthoprime [243], l'artémisinine [244] ou l'artheméter [245]. Malheureusement, les résultats de ces études sont sujets à caution, car, soit les molécules utilisées ne sont pas actives sur les kystes, soit elles étaient utilisées à des doses trop faibles [246].

D'autres biais pourraient être dus aux fondements de l'éthique, au consentement. Ainsi, dans le cas d'études faisant intervenir des patients *T. gondii*+ et particulièrement dans le cas de patients schizophrènes *T. gondii*+, ils seraient moins enclins à signer le consentement à la recherche, car plus suspicieux, comme le laissent penser les études sur les modifications de la personnalité humaine. Dans le même ordre d'idée, on peut légitimement penser que les patients schizophrènes et séropositifs seront plus difficiles à inclure dans les études car, comme nous l'avons vu, ils présentent une symptomatologie plus sévère.

Enfin, il est possible que l'infection par *T. gondii* ne soit pas suffisante par elle-même pour causer la pathologie étudiée. Différentes pathologies, considérées longtemps comme génétiques, ont depuis été reclassées car les études sur la génomique humaine ne permettaient pas d'expliquer leur survenue. Ainsi de nombreuses maladies sont maintenant considérées comme plurifactorielles, faisant à la fois intervenir des facteurs génétiques mais également des facteurs environnementaux, socio-économiques etc... [247], [248]. L'essor de l'étude des microbiotes, intestinaux en particulier, met en évidence un dialogue entre le tractus digestif et le cerveau, influant ainsi sur les capacités cognitives et comportementales des individus. Faisant écho à la surestimation du rôle des facteurs génétiques [249], l'un des facteurs les moins bien connus dans le développement de troubles neurologiques ou neuropsychiatriques, est sans aucun doute l'étiologie infectieuse. Très tôt, un lien entre infection du

SNC et altération du fonctionnement cérébral était suspecté. Menninger avait déjà théorisé en 1994, une étiologie virale au développement des encéphalites et de la schizophrénie [250]. Plusieurs études ont confirmé par la suite l'implication de différents virus ou bactéries : VIH avec la psychose [251], bornavirus et désordre schizo-affectif/manie [252], leptospirose et psychose [253] ou streptocoque et trouble obsessionnel compulsif [254].

Schizophrénie

La schizophrénie est une psychose caractérisée par une division de la personnalité et une perte de contact avec la réalité. Plusieurs arguments épidémiologiques ont été mis en avant pour évoquer un lien entre toxoplasmose et schizophrénie, dont un âge semblable de début des signes cliniques. On constate de plus une prédominance masculine dans les deux pathologies, ainsi qu'une corrélation géographique lorsque l'on compare les taux de prévalence des deux affections. Ainsi, par exemple, en Papouasie-Nouvelle-Guinée où il n'y a que très peu de félins, la prévalence de la toxoplasmose est de l'ordre de 2 %, et la prévalence de la schizophrénie la plus basse du monde [255]. Cependant, l'inverse n'est pas vrai dans les régions de plus forte prévalence. L'argument le plus solide est d'ordre anatomique et provient de la mise en évidence par IRM chez les patients schizophrènes infectés par *T. gondii* de différences de morphologie cérébrale et plus particulièrement d'une diminution de la densité de matière grise dans certaines zones [256]. Cette observation est mise en avant pour évoquer un possible rôle de *T. gondii* dans la genèse de la schizophrénie.

L'ensemble des études sur la schizophrénie est résumé dans l'annexe 1. La plupart sont des études cas-témoins rétrospectives basées sur des analyses sérologiques, et sont donc exposées à toutes les difficultés mentionnées précédemment. A noter toutefois, une étude portant sur une cohorte de femmes enceintes danoises, bien conduite sur le plan méthodologique, qui retrouvait une association entre schizophrénie et infection, mais sans atteindre la significativité [257]. Peu d'études concluent à l'absence d'association entre schizophrénie et toxoplasmose chronique [236], [258]–[260]. Celles qui évoquent une association positive rapportent des OR allant de 1,9 à 4,7 [261]–[267]. Plusieurs méta-

analyses ont été publiées sur le sujet, et ont conclu à une association entre toxoplasmose et schizophrénie avec des OR allant jusqu'à 2,73 [268]–[270], soit bien supérieurs à ceux décrits pour les autres facteurs, génétiques ou environnementaux, dans le rôle est évoqué dans la genèse de la maladie [271].

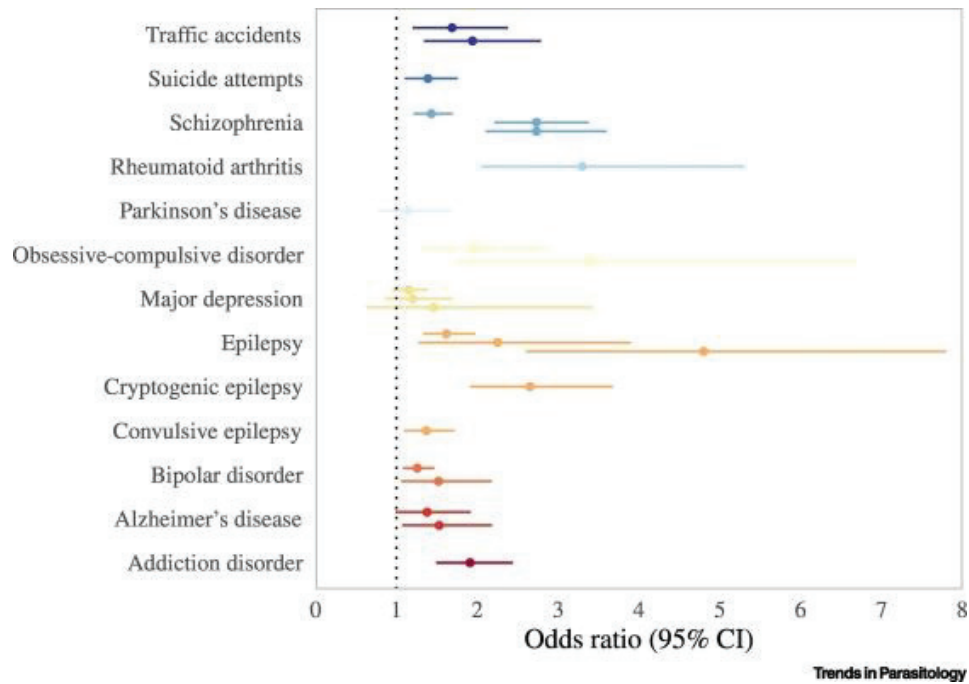


Figure 11 : Graphique résumant les résultats d'association entre toxoplasmose et pathologies comportementales et neuropsychiatriques, d'après Milne et al, *Trends Parasitol* 2020 [272]

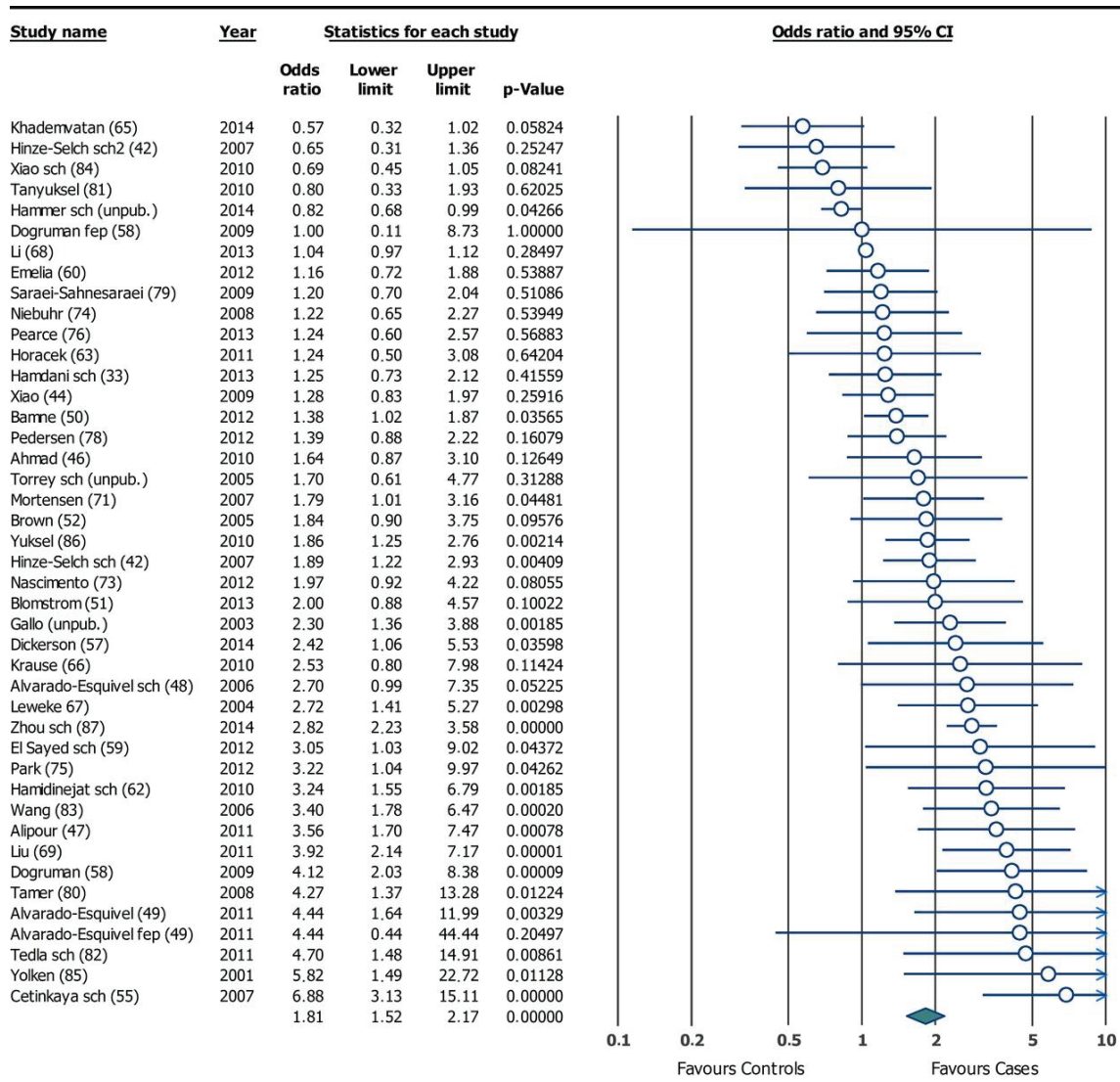
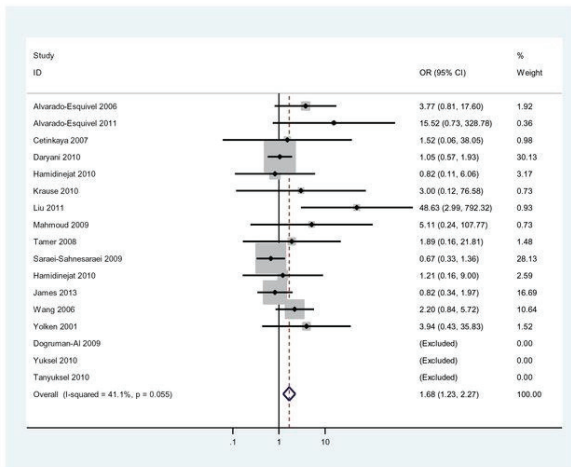
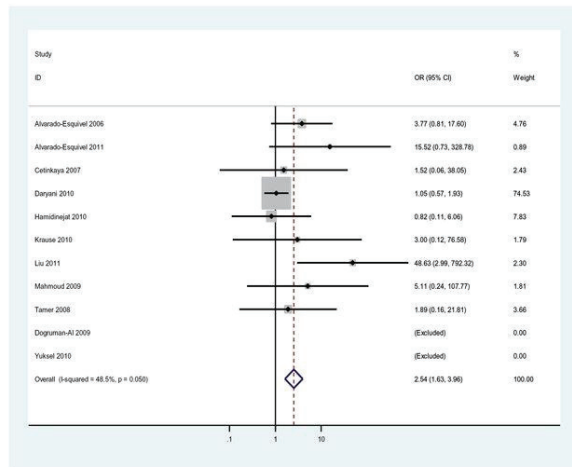


Figure 12 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et schizophrénie, d'après Sutterland et al, *Acta Psychiatr Scand* 2015

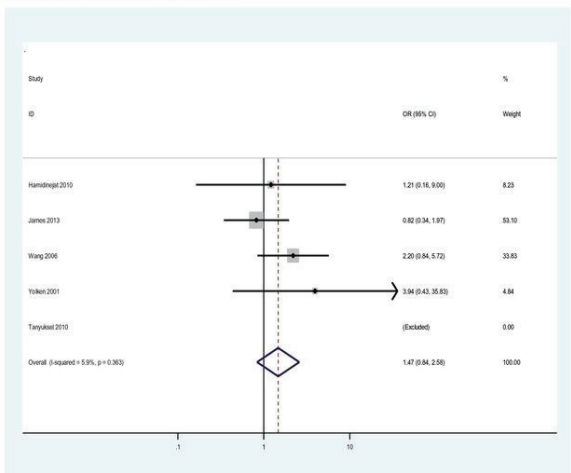
2a. All studies



2b. Chronic Schizophrenia



2c. First-Episode Psychosis



2d. Funnel Plot for All Studies

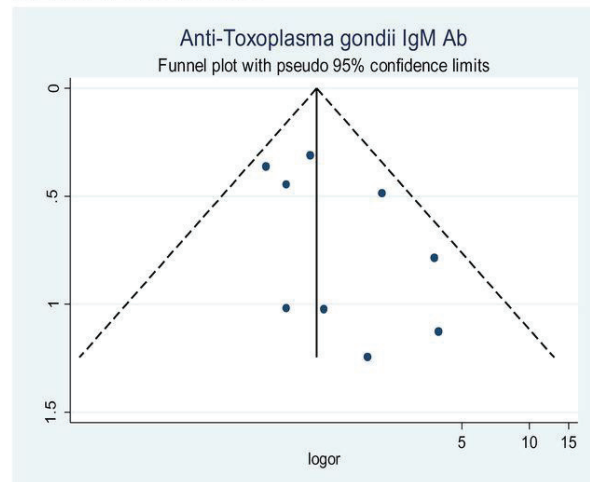


Figure 13 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et schizophrénie, d’après Monroe et al, *Schizophr Bull* 2015 [269]

Au-delà d’une simple association statistique, d’autres études ont mis en évidence certaines caractéristiques spécifiques de la schizophrénie chez des sujets atteints de toxoplasmose chronique. Ainsi, une étude rapporte que les patients schizophrènes et séropositifs présentent un début de la maladie plus précoce que les patients schizophrènes séronégatifs [273]. Flegr retrouve un début de deux à trois ans plus précoce chez les hommes *T. gondii*+ que chez les femmes infectées [274]. De plus, les patients schizophrènes infectés chroniquement par le parasite présenteraient une symptomatologie plus sévère que les contrôles, que ce soit chez des jeunes à haut risque [275] ou dans une population générale de schizophrènes [273]. L’infection par *T. gondii* est associée à une symptomatologie hallucinatoire marquée, avec alogie et symptômes extra-pyramidaux [241], mais

également avec un nombre plus grand de symptômes [260]. Des scores cliniques élevés, - cognitifs principalement - ont été rapportés comme étant plus spécifiquement associés à une infection toxoplasmique [241], [265]. La comparaison des scores de patients infectés *versus* non infectés a révélé chez les patients *T. gondii*+ des scores plus bas pour l'échelle de symptômes négatifs, mais plus élevés pour les symptômes positifs ou pour l'excitation [265]. Des hospitalisations plus longues et une évolution moins favorable de la maladie ont également été rapportées [273]. Sur un échantillon de 94 patients, ceux qui étaient séropositifs pour *T. gondii* avaient 15 fois plus de risques de présenter une forme continue de la maladie, et de nécessiter un traitement par électrochocs [276]. Certains auteurs ne rapportent cette symptomatologie plus sévère que dans la population masculine [277].

L'analyse du lien entre titres d'anticorps et schizophrénie a conduit certains auteurs à suggérer que les patients schizophrènes auraient des titres plus élevés que les contrôles séropositifs [268], [277], [278], alors que d'autres retrouvent une relation inversement proportionnelle entre titre en anticorps et sévérité des symptômes [273]. Des anticorps anti-*T. gondii* ont été retrouvés jusqu'à trois ans avant le début des symptômes cliniques [266], [268], mais il semble toutefois que leur apparition soit associée à la survenue de la symptomatologie. En effet Yolken et al. retrouvent un risque d'exposition au parasite 2,44 fois plus grand chez les patients ayant une histoire de la maladie récente, de moins de deux ans. A l'inverse, il n'y a pas d'association pour les patients présentant une histoire de la maladie plus ancienne [255]. Une enquête prospective par questionnaire sur 277 patients schizophrènes et de 214 contrôles sains a permis de suspecter, une différence dans le mode de contamination entre les deux groupes : les patients schizophrènes se contamineraient via l'ingestion de viande alors que chez les contrôles la contamination serait liée à la présence d'un chat [278]. Ceci semble toutefois en contradiction avec ce que l'on retrouve classiquement dans la littérature, puisque la présence de chats entre la naissance et 13 ans, est considérée comme un facteur de risque de schizophrénie [279].

Troubles de l'humeur et dépression

Plusieurs études rétrospectives ont conclu à l'absence d'association entre toxoplasmose et dépression, dans des populations de taille variable, constituées d'adultes bien portants, de femmes enceintes ou des populations particulières, telles que les latino-américains [258], [280]–[284]. C'était notamment le cas dans une étude portant sur 5 000 sujets suivis pendant 11 années [285]. En revanche, des associations statistiquement significatives avec certains troubles de l'humeur ont été décrites dans certaines populations et pour certains troubles de l'humeur comme le syndrome dysphorique prémenstruel [286], la dépression prénatale [287], les troubles mixtes, associant anxiété et dépression avec un OR de 7 ($CI_{95} = 2.83-17.67$) [288], les troubles anxieux généralisés ou les symptômes dépressifs [283], [289], [290].

Des études ont suggéré une association possible entre la séro-intensité et l'anxiété généralisée, les troubles paniques [291], la dépression [278], ou les troubles dysphoriques et l'anhédonie [292]. Une étude danoise suggère un impact de l'infection chronique sur la sévérité des symptômes dépressifs [204]. Une étude écologique réalisée dans 88 pays dont 29 pays européens retrouvait une association entre les taux de toxoplasmose et d'anxiété ($p=0,02$) rapportés dans les pays Européens alors qu'il n'y en avait pas pour la dépression [274]. En 2020, cette même équipe retrouve un OR de 1,48 ($CI_{95} = 1,17-1,86$) pour les troubles anxieux, parmi plus de 6 000 sujets ayant répondu à un questionnaire en ligne [267]. Enfin, trois méta-analyses n'ont retrouvé aucune association entre dépression et séropositivité [268], [293], [294] (Figure 11, Annexe 2).

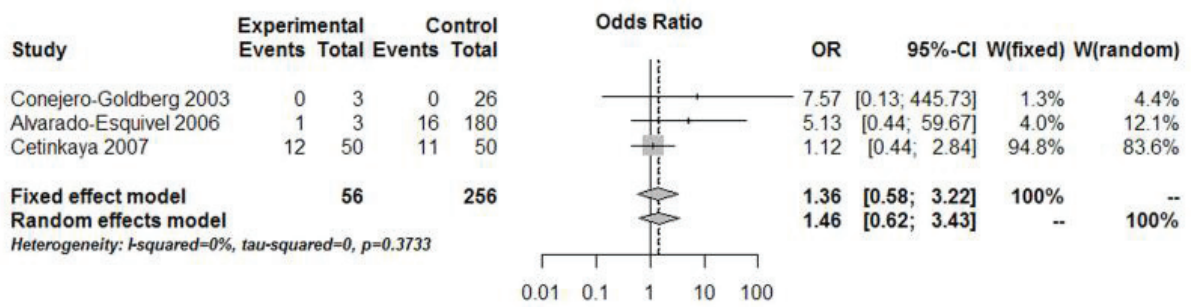


Figure 14 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et dépression, d'après Wang et al, *Sci Rep* 2014 [294]

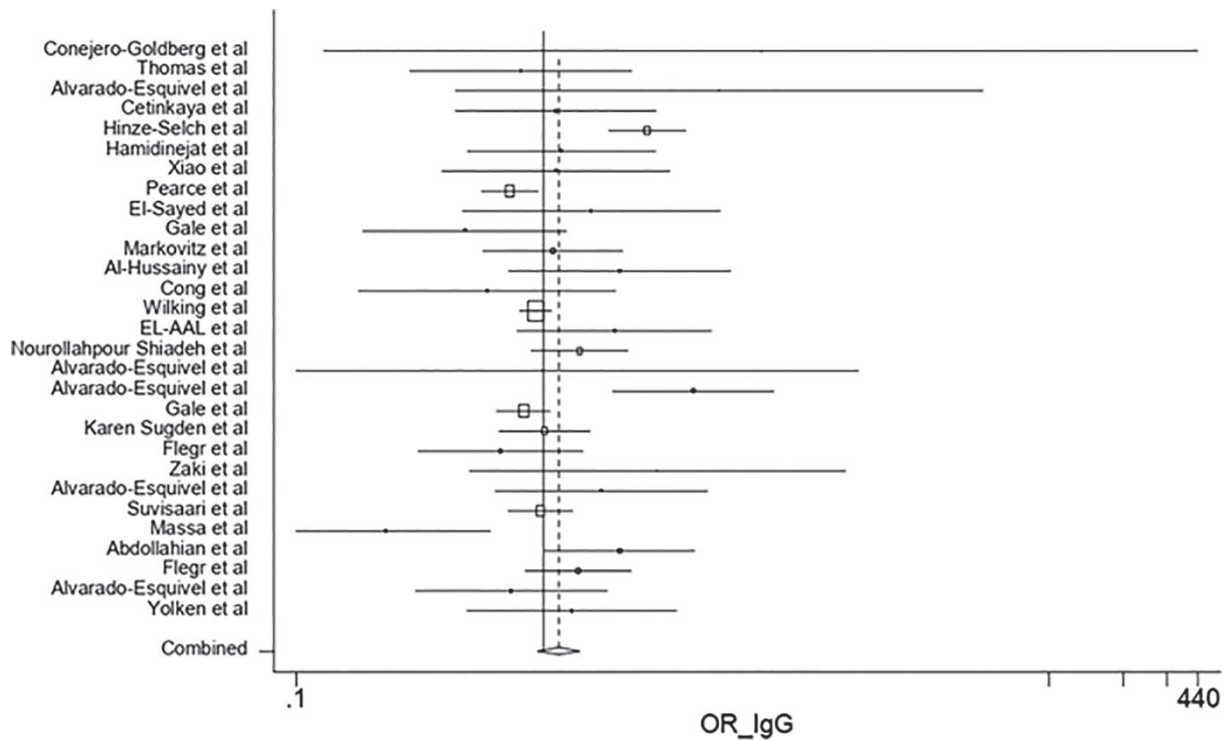


Figure 15 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et dépression, d'après Nayeri-Chegeni et al, *PLoS ONE* 2019 [293]

Troubles obsessionnels compulsifs (TOC)

Bien que des personnes présentant des rituels de lavage, de propreté ou de vérification ne semblent pas être à risque de contracter une zoonose comme la toxoplasmose, l'association entre les TOC et

l'infection toxoplasmique a également été investiguée. Les résultats sont contradictoires [295]–[297]. Une étude écologique retrouvait une association forte entre la fréquence rapportée des TOC et la prévalence de la toxoplasmose, plus particulièrement en Europe [274]. Cette même équipe retrouve un OR de 1,86 (CI₉₅ = 1,28-2,66) à partir de plus de 6 000 réponses à un questionnaire en ligne [267]. Enfin, deux méta-analyses incluant respectivement 12 et 50 études, pour un total de près de 10 000 et 12 000 sujets, retrouvent bien cette association entre TOC et séropositivité, avec un OR de 1,96 (CI₉₅ = 1,32-2,90) [298] et 3,4 respectivement (CI₉₅ = 1,73-6,68) [268] (Figure 11, Annexe 3).

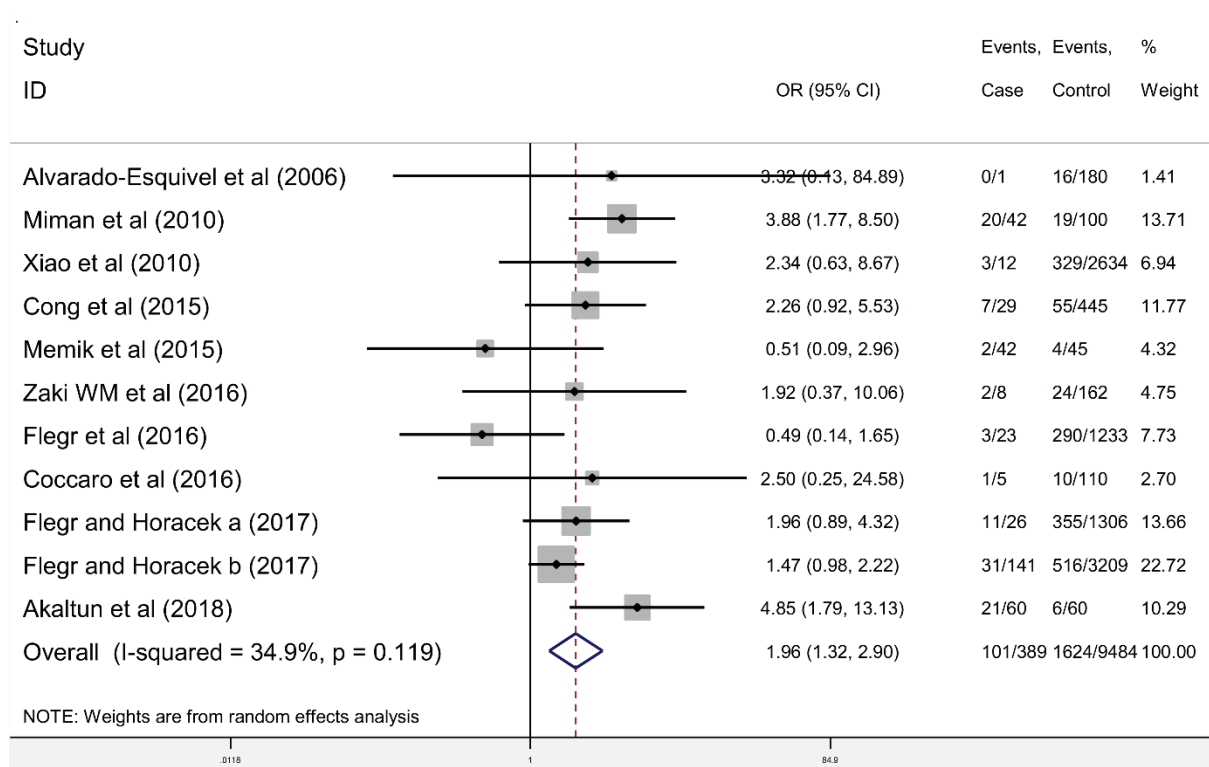


Figure 16 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et TOC, d'après Nayeri-Chegeni et al,

PLoS Negl Trop Dis 2019 [298]

Troubles bipolaires

Le trouble bipolaire alterne des épisodes maniaques ou hypomaniaques (agitation, élévation de l'humeur, idées de grandeur) et des épisodes dépressifs avec des moments de rémission. Son association avec la toxoplasmose a été investiguée à partir d'études de séroprévalence, principalement

rétrospectives, ou cas-témoins (Annexe 4). L'une des premières remonte à 1980 et retrouvait, parmi 270 sujets dont 50 malades, une séroprévalence de 66 % chez des malades avec des taux d'anticorps significativement plus élevés que les contrôles [299]. Plusieurs études ont par la suite rapporté des OR, allant de 1,52 jusqu'à 3 [206], [261], [262], [280], [300]. Une méta-analyse, incluant 50 études, soit 12 000 malades et 71 000 contrôles, concluait, après contrôle des biais, à une association significative entre troubles bipolaires et toxoplasmose (OR = 1,52, CI₉₅ = 1,06-2,18) ; p = 0.002 [268]. Une autre qui n'incluait que huit études objectivait une association avec un OR de 1,26 (CI₉₅ = 1,08-1,47). [301]. D'autres études ne rapportaient qu'une association très spécifique, portant uniquement sur un sous-type particulier de la maladie [302], la présence d'IgM anti-*T. gondii* et de manies, ou la présence d'IgG dans un contexte de troubles psychotiques à début récent [303]. Une étude réalisée en 2020 auprès de 760 patients, 144 proches au premier degré et 132 contrôles sains a été intégrée à une méta-analyse incluant 13 articles supplémentaires, pour un total de de près de 7 500 sujets. Les auteurs ne retrouvaient une association entre toxoplasmose et troubles bipolaires qu'en supprimant trois études aberrantes. En revanche, cette association semblait être particulièrement significative pour certaines tranches d'âge, plus particulièrement en dessous de 40 ans [304]. D'autres études ne retrouvaient aucun lien significatif, après comparaison de la prévalence de la toxoplasmose dans 88 pays dont 29 européens avec celle de différentes pathologies [274], après l'analyse de 6 000 réponses à un questionnaire en ligne [267] ou dans une méta-analyse portant sur 23 études (Figure 11) [305].

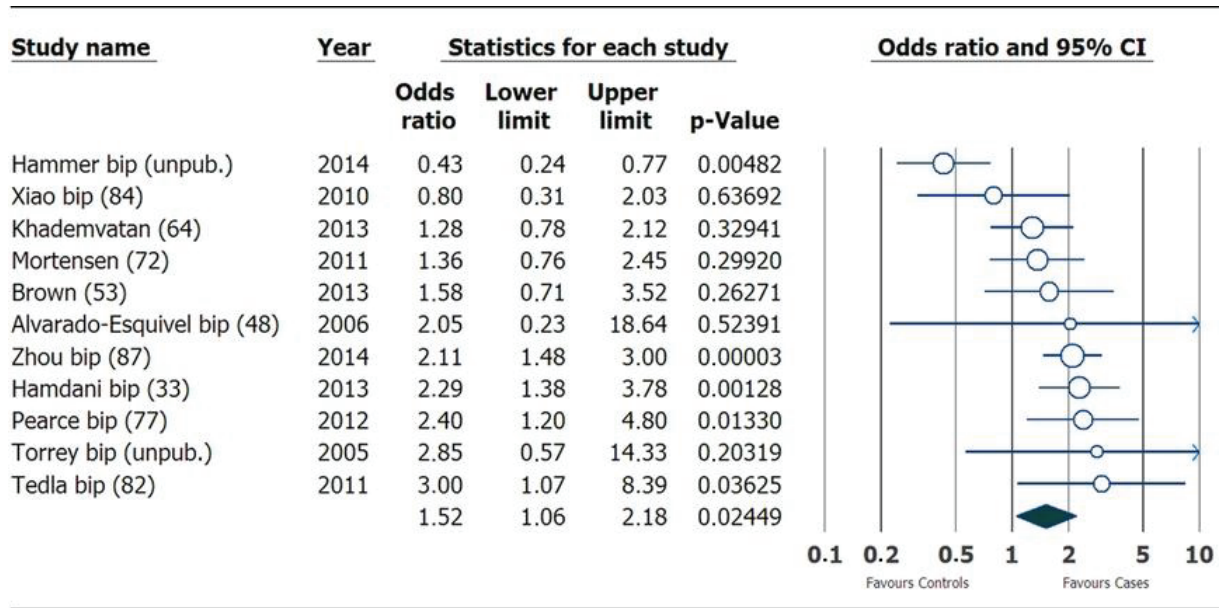


Figure 17 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après Sutterland et al, *Acta Psychiatr Scand* 2015 [268]

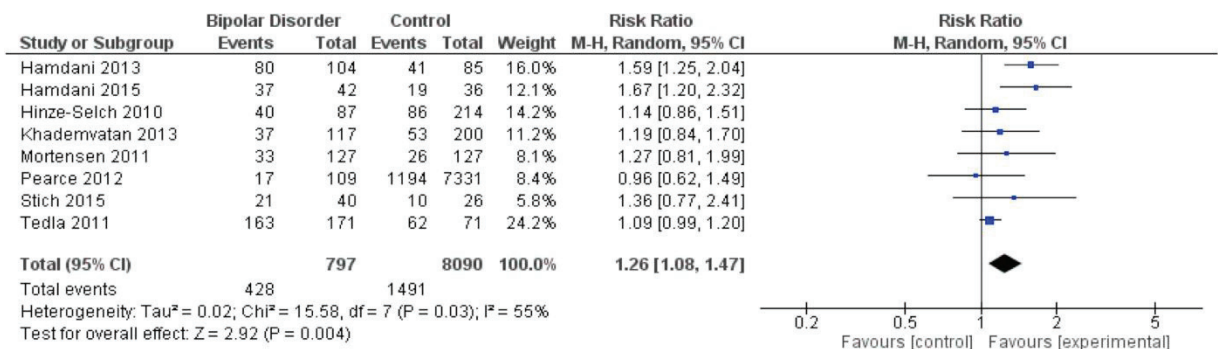


Figure 18 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après de Barros et al, *J Affect Disord* 2017

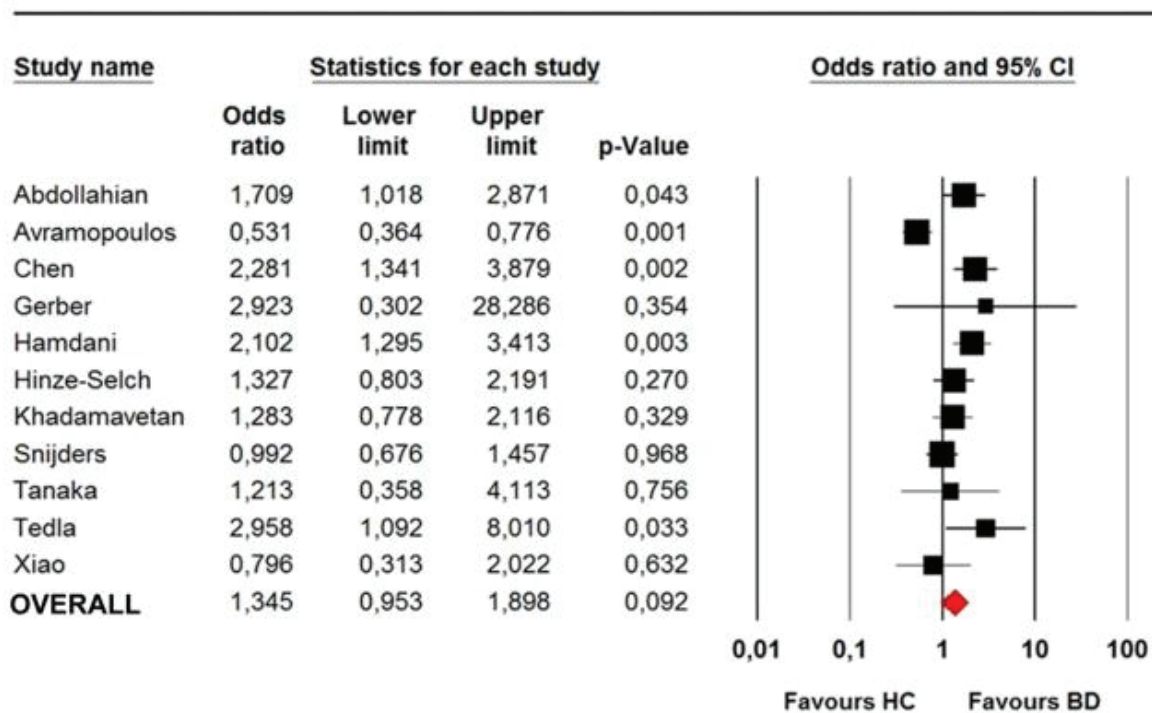


Figure 19 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et troubles bipolaires, d'après Snijders et al, *Transl Psychiatry* 2019 [304]

Autres psychoses

Le développement de troubles chez l'enfant selon le statut sérologique de la mère pendant la grossesse a été étudié dans deux études, qui ont révélé un risque de psychose affective avec un OR de 5,24 (CI₉₅ = 1,67-16,5) [306], de psychose non affective [307] ou de trouble de la personnalité [308].

Tentatives de suicide et comportement suicidaire

Une étude écologique portant sur 20 pays européens a conclu à une corrélation entre les taux de suicide et la prévalence de la toxoplasmose [309], mais une autre étude portant sur 88 pays dont 29 européens concluait à une association négative significative, plus particulièrement dans les pays non européens [274]. Plusieurs études de séroprévalence ont fourni des résultats contradictoires dans la population générale [310], dans une population adolescente [311], ou chez des patients présentant des troubles chroniques de l'humeur [312]. Une étude de séroprévalence auprès de 155 patients ayant

fait une tentative de suicide, et de 135 contrôles sains concluait à une association significative entre infection et tentative de suicide, et rapportait des scores psychiatriques plus élevés chez les infectés ayant fait une tentative de suicide que chez les non infectés ayant également fait une tentative [313]. Une méta-analyse publiée en 2019 retrouve, après ajustement, une association significative entre séropositivité et tentative de suicide, association encore plus significative après exclusion des patients schizophrènes (Annexe 5). D'après cette étude, la fraction attribuable à *T. gondii* dans le passage à l'acte suicidaire, représenterait près de 10 % [314].

Toxoplasmosis and Suicide Attempts

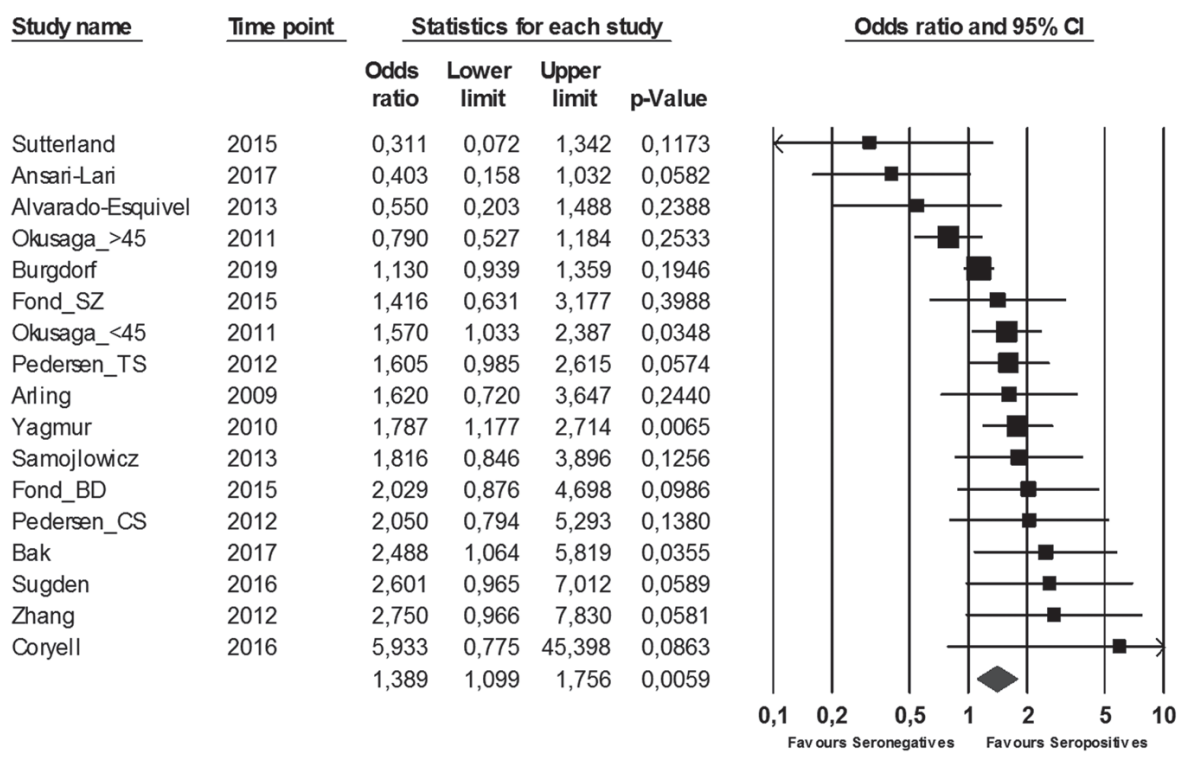


Figure 20 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et tentatives de suicide, d'après Sutterland et al, *Psychol Med* 2019 [314]

Troubles cognitifs

La toxoplasmose chronique participerait aussi au déclin cognitif selon les conclusions de deux études comprenant plus de 1 000 participants [315] et une cohorte de patients VIH+, particulièrement si le taux de CD₄ est élevé [316].

Troubles du comportement

Des troubles du comportement ont été décrits chez l'Homme, et présentés comme pouvant être le pendant de ceux observés chez l'animal, selon l'argument qu'il est peu probable que le parasite puisse éliciter des modifications de manière sélective selon son hôte, certains auteurs allant jusqu'à penser qu'ils pourraient altérer la personnalité humaine agrégée au niveau d'une population [317]. On a ainsi décrit une « attraction » pour l'odeur d'urine de chat chez 34 étudiants séropositifs pour *T. gondii*, qui qualifiaient l'odeur de l'urine de chat comme plus plaisante ($p < 0.005$) que les contrôles masculins non infectés [318]. Une autre étude retrouvait les mêmes résultats mais chez des femmes [319], [320]. Une enquête réalisée chez 290 donneurs de sang a conclu à une diminution significative de la néophilie chez les donneurs *T. gondii*+ [321]. De manière similaire, une diminution du trait de personnalité portant sur la recherche de nouveauté a été observée dans un échantillon de 857 militaires, et ce, en corrélation inverse avec le titre d'anticorps anti-*T. gondii* [322]. Un retard mental et une diminution du quotient intellectuel ont été décrits dans les années 1970 dans des cohortes de nouveau-nés atteints de toxoplasmose congénitale par rapport à des enfants sains [323], [324], mais également chez des adultes ayant une toxoplasmose postnatale [322].

L'étude de l'impact de l'infection toxoplasmique sur le **temps de réaction chez l'Homme** a fourni des résultats contradictoires selon les tests utilisés [325], [326], [327]. Une étude comparant la réponse à un événement avec ou sans récompense dans deux groupes de 14 individus séropositifs ou séronégatifs a conclu chez ceux qui étaient séropositifs à une diminution significative de l'amélioration du temps de réponse en présence de récompense, amenant les auteurs à suggérer qu'ils répondraient

moins bien à la récompense, en raison d'une moindre sensibilité aux modulations du système dopaminergique qui sont mises en œuvre dans ces processus [328].

Une association positive entre séropositivité à *T. gondii* et agressivité ou impulsivité a été rapportée dans plusieurs populations [329], dont des adultes présentant ou non des troubles psychiatriques violents [292], [330], [331]. Au contraire, une étude de 2003 réalisée sur une sous-population de 857 militaires objectivait une impulsivité diminuée chez les patients *T. gondii*+ [322].

L'association entre toxoplasmose et impulsivité a fait l'objet de plusieurs études avec des résultats contradictoires. Une méta-analyse regroupant huit études concluait à une association entre impulsivité et agressivité, avec la séropositivité pour *T. gondii* [332]. A noter toutefois qu'il s'agissait d'études de petite taille, qui contrôlaient imparfaitement l'ensemble des biais possibles.

Une augmentation de la **prise de risque**, - qui serait le pendant de la néophobie et de l'anxiété diminuées chez le rongeur - , a également été rapportée chez des étudiants et des professionnels, notamment dans le cadre de l'entrepreneuriat et de la finance, ou après analyse des données de prévalence et de performances mondiales des entreprises (Global Entrepreneurship Monitor)[333]. A l'inverse, une petite étude cas-contrôle réalisée sur 79 étudiants ne retrouvait pas d'association entre séropositivité et prise de risque financier [334]. La présence d'ADN parasitaire dans les coupes de cerveaux lors d'autopsie a été décrite comme associée à un comportement à risque ayant conduit à la mort [169]. En revanche, une autre étude rétrospective sur 837 adultes n'objectivait pas d'association entre *T. gondii* et le développement de comportements violents [258].

Ce lien entre prise de risque et infection latente a également été investigué pour sa contribution à la **survenue d'accidents de la route** (Annexe 6). Une méta-analyse, publiée en 2018, a conclu à une association significative entre séropositivité pour *T. gondii* et accidents de la route avec un OR de 1,94 (CI₉₅ = 1,34-2,79) [335]. Une étude rétrospective danoise portant sur près de 82 000 individus concluait à une très faible association entre accidents de la route et séropositivité avec un OR de 1,11 (CI₉₅ =

1,00-1,23) [310]. Une seconde méta-analyse confirme cette association avec un OR de l'ordre de 1,69 (CI₉₅ = 1,20-2,38), l'association étant d'autant plus significative que les titres en anticorps sont élevés [314]. D'après cette étude, la fraction attribuable à *T. gondii* dans les accidents représenterait environ 17 %.

Toxoplasmosis and Traffic Accidents

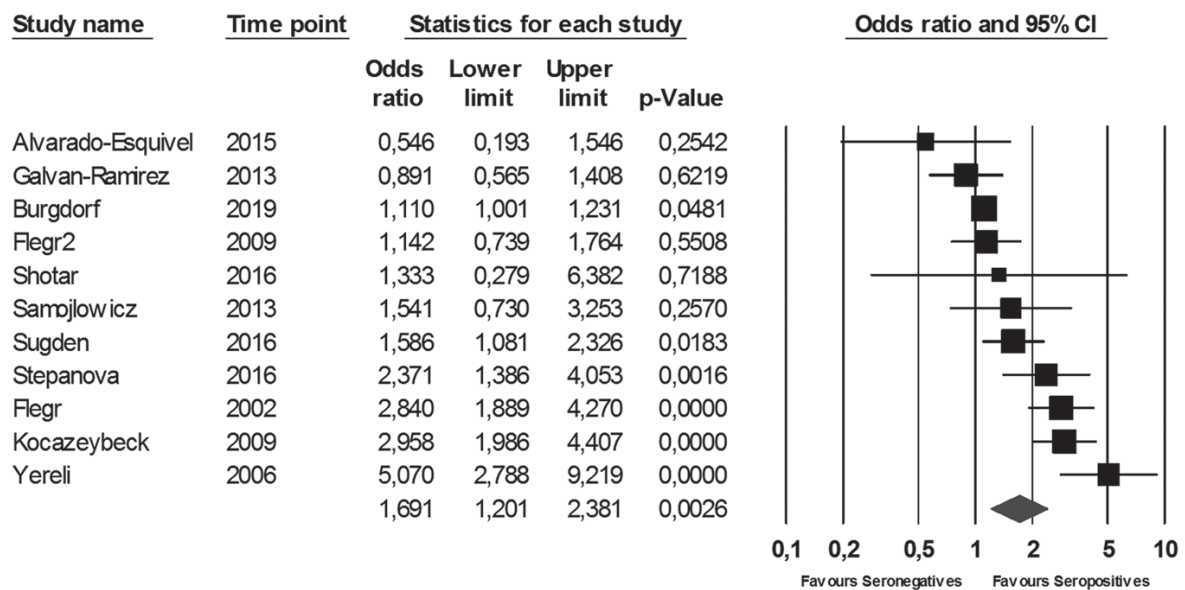


Figure 21 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et accidents de la route, d'après Sutterland et al, *Psychol Med* 2019 [314]

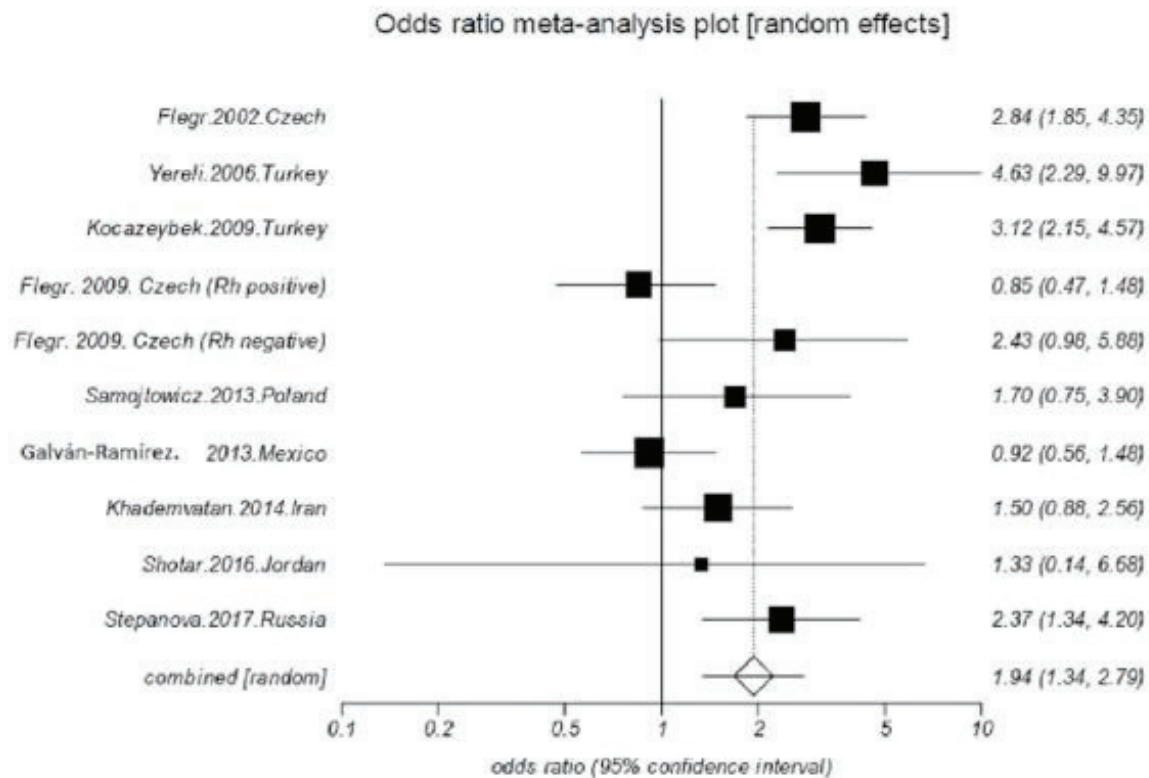


Figure 22 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et accidents de la route, d'après Gohardehi et al, *Exp Parasitol* 2018 [335]

D'autres modifications ont été rapportées au **niveau de la cognition et de la personnalité**. Des études réalisées chez des personnes âgées non démentes ont ainsi suggéré une association entre toxoplasmose latente et déficit mémoriel [336], [337], touchant plus particulièrement la mémoire de travail [338]. Une étude cas-contrôle incluant plus de 400 sujets, dont des cas présentant des troubles bipolaires ou une schizophrénie, s'est intéressée à l'impact de *T. gondii* sur la cognition, mais également à celui des *Herpesviridae*. Elle retrouve un effet cumulatif de *T. gondii* avec l'infection par des *Herpesviridae* sur les troubles mémoriels [339].

Flegr et ses collègues ont également comparé, par questionnaires, les profils de **personnalité** de sujets identifiés ensuite comme ayant une sérologie positive ou négative. Les mâles dont la sérologie était positive exprimaient un « superego » diminué et une « protension » augmentée, et étaient plus suspicieux, jaloux et dogmatiques [340]. Une corrélation entre l'intensité du changement et le titre en

anticorps laissait supposer aux auteurs que le changement de personnalité était la conséquence de l'infection et non l'inverse. Les femmes infectées présentaient, à l'inverse, des scores de « superego » et d'« affectothymie » augmentés par rapport aux contrôles, correspondant ainsi à des personnalités cordiales, portées sur le self control et le relationnel, tout en respectant les règles et possédant également une forte conscienciosité [341]. L'effet de l'infection serait donc genre-dépendant, ce qui supposerait un effet protecteur des oestrogènes [342]. L'hypothèse de cette équipe serait que ces changements induits tendraient à pousser les mâles à rencontrer les prédateurs, alors que les femelles auraient tendance à rester au foyer pour procréer, favorisant ainsi la transmission du parasite de manière verticale, comme c'est le cas chez les rongeurs. Au final, ces études suggèrent que l'infection chronique par le parasite pourrait bien exercer une influence sur le comportement humain, mais ces modifications, ainsi que leurs mécanismes d'acquisition, doivent encore être élucidés.

Pathologies neurodégénératives

La maladie de Parkinson

A l'exception d'une étude de séroprévalence portant sur 92 individus qui retrouvait une différence significative entre infectés (42 %) et non-infectés (22 %) [343], les enquêtes et méta-analyses publiées depuis, concluaient à l'absence d'association entre statut infectieux et Maladie de Parkinson [344]–[348] (Figure 11, Annexe 7).

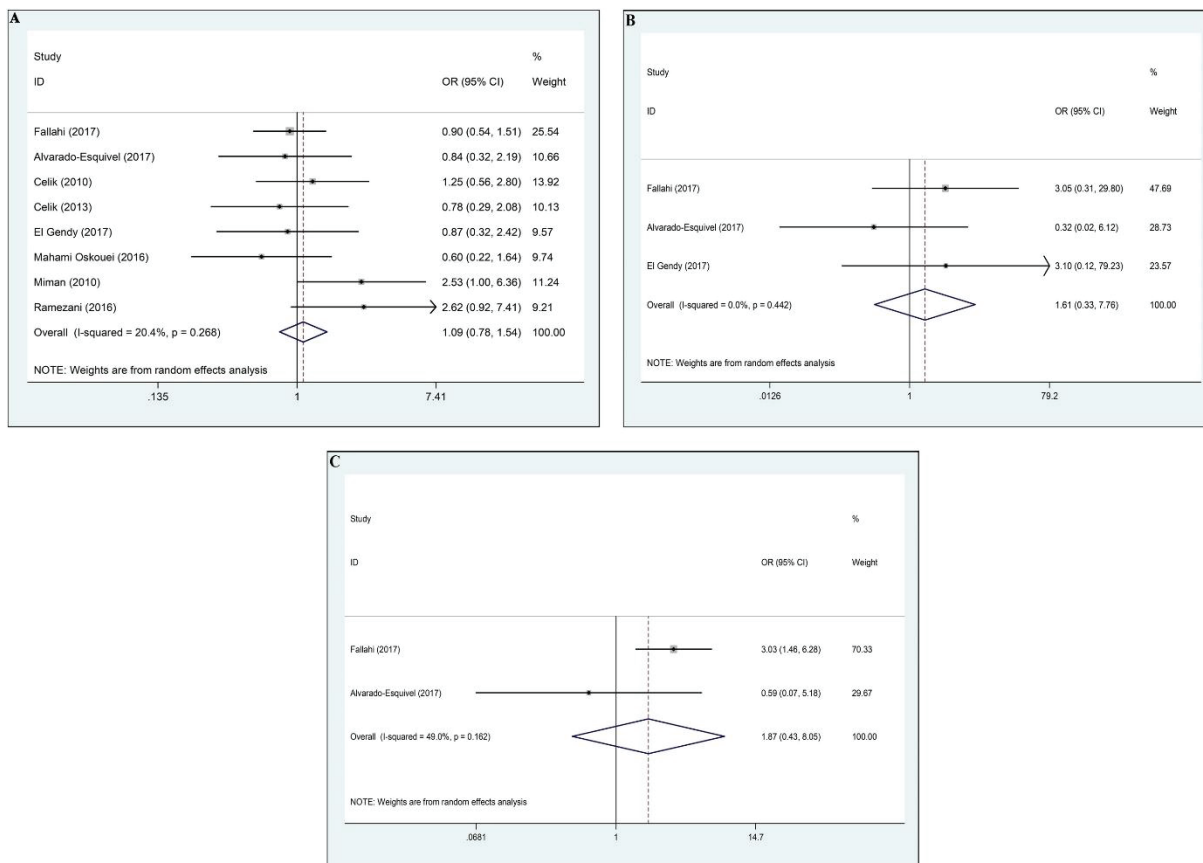


Figure 23 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie de Parkinson, d'après Bayani et al, *Acta Trop* 2019 [345]

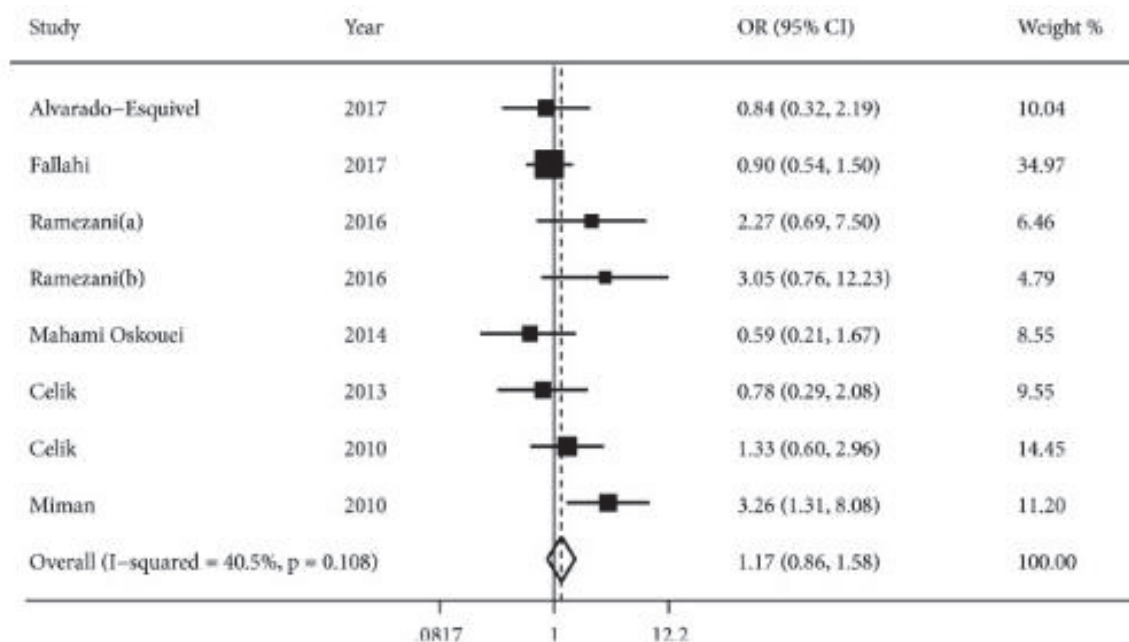


Figure 24 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie de Parkinson, d'après Zhou et al, *Biomed Res Int* 2019 [348]

La maladie d'Alzheimer

Une étude rétrospective réalisée en Afrique sur 1 662 individus, dont 100 étaient atteints de démence, n'a pas retrouvé d'association. En revanche, deux méta-analyses récentes retrouvaient une association entre maladie d'Alzheimer et infection à *T. gondii*. La première, sur 11 études, objectivait une association avec un OR de 1,38 (CI₉₅ 0,99-1,92) [345], alors que la deuxième, reprenant huit études pour un total de 3 200 individus, suggérait également une association (OR = 1,53 CI₉₅ 1,07-2,18), mais avec un risque de biais de publication important, car les résultats en faveur de cette association provenaient majoritairement de seulement trois études [349] (Figure 11, Annexe 8).

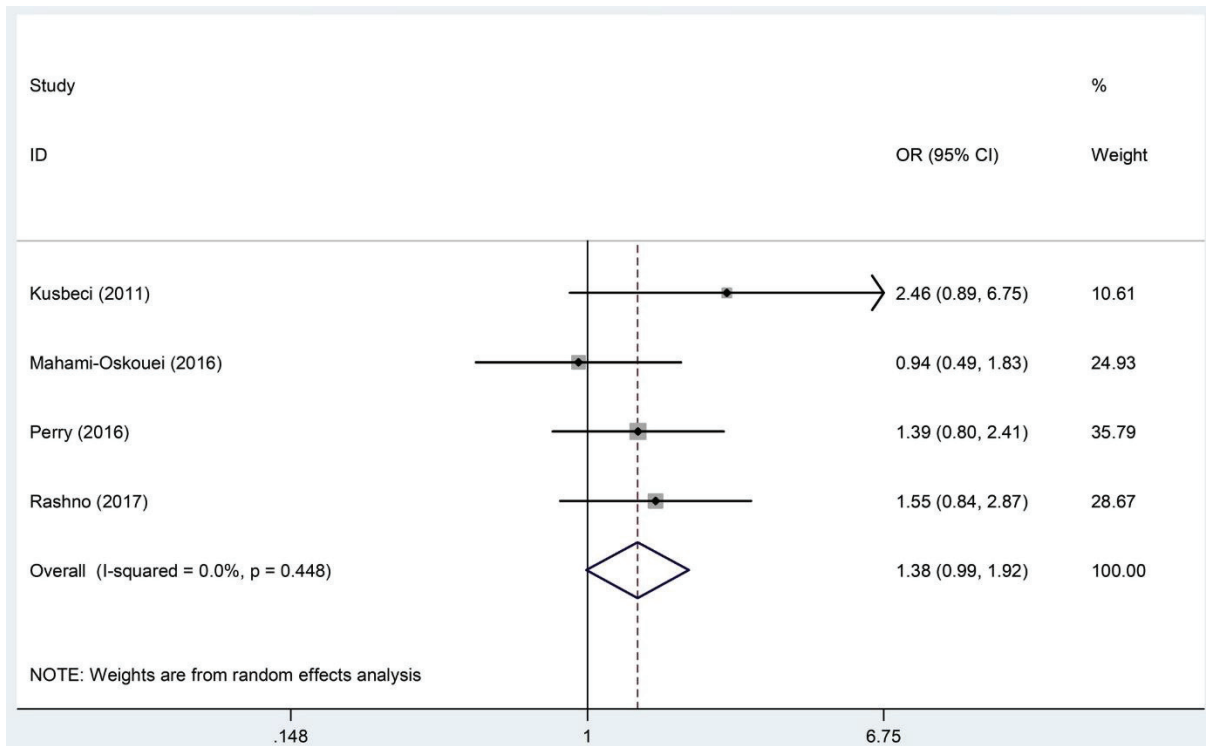


Figure 25 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie d'Alzheimer, d'après Bayani et al, *Acta Trop* 2019 [345]

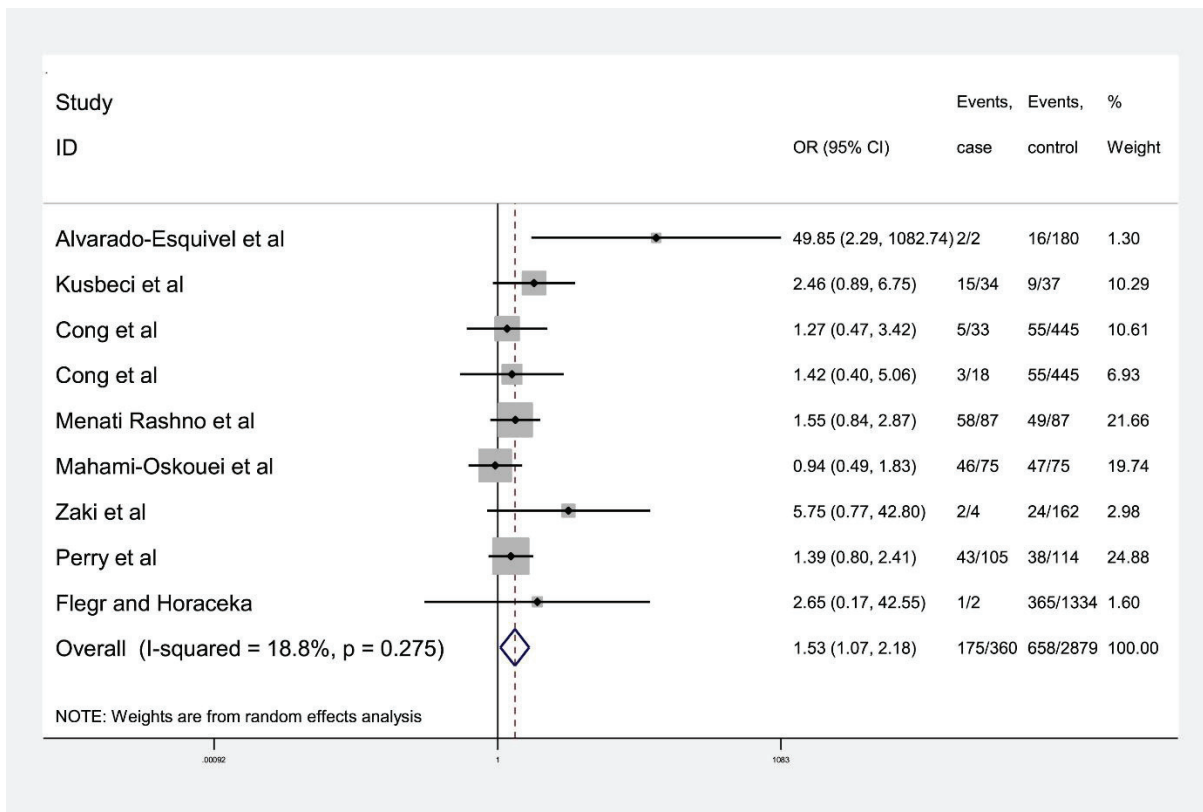


Figure 26 : Diagramme résumant les associations entre toxoplasmose et maladie d'Alzheimer, d'après Nayeri-Chegeni et al, *Microb Pathog* 2019 [349]

En conclusion, il semble donc urgent de conduire des études prospectives portant sur un nombre suffisant de sujets bien caractérisés pour ce qui concerne la toxoplasmose et les affections suspectées.

L'ensemble des pathologies évoquées précédemment étant associé à des troubles du sommeil, nous avons fait le choix de nous intéresser au cycle veille sommeil dans un modèle murin de toxoplasmose chronique, pour mieux appréhender de façon globale l'impact de l'infection toxoplasmique sur le fonctionnement cérébral.

Intérêt de l'étude du cycle éveil/sommeil dans le contexte de la toxoplasmose chronique

Le choix d'étudier le rythme veille sommeil repose sur plusieurs arguments. Le premier est constitué par un ensemble d'observations cliniques non publiées à ce jour laissant penser que les patients *T. gondii+*, qu'ils soient atteints de toxoplasmose congénitale ou infectés à l'âge adulte, sont susceptibles de développer des troubles du sommeil. Par ailleurs, le tropisme du parasite pour le SNC lui permet ainsi de se localiser au niveau de régions cérébrales qui sont également des centres du sommeil. Enfin, il est admis que le sommeil constitue un index très sensible des altérations du fonctionnement cérébral. En effet, les troubles du sommeil précèdent fréquemment le développement des symptômes caractéristiques retrouvés dans les pathologies neurodégénératives.

Rappel sur le cycle veille/sommeil

Le sommeil est défini comme l'état physiologique périodique de l'organisme (notamment du SNC), pendant lequel la vigilance est suspendue et la réactivité aux stimulations diminuée. Il s'agit d'un besoin fondamental pour toute espèce vivante, particulièrement important pour la cognition, le système immunitaire, et la santé en général. On distingue le sommeil lent (SL), profond et réparateur, et le sommeil paradoxal (SP), caractérisé par le rêve [350]. L'éveil (WK pour Waking) est caractérisé par tout un spectre d'activités et de comportements, associés à une activité motrice volontaire intense, ainsi qu'à une forte sensibilité aux différents stimuli, qu'ils soient externes ou internes. Le cycle éveil/sommeil est sous le contrôle de différents systèmes cérébraux et implique de nombreux neurotransmetteurs et neuromodulateurs, eux-mêmes sous contrôle du rythme circadien et de l'homéostasie.

Neurotransmetteurs impliqués

Le système adrénérgique

Les neurones adrénérgiques sont situés au niveau du bulbe et se subdivisent en deux groupes [351], qui se trouvent au niveau ventro-latéral de la formation réticulée bulbaire et se projettent vers les centres spinaux, le locus coeruleus (LC) et l'hypothalamus (Groupe C1), ou se trouvent au niveau du noyau du faisceau solitaire et se projettent vers le noyau para-giganto-cellulaire latéral du bulbe (groupe C2).

Le système noradrénérgique

Les neurones noradrénérgiques sont subdivisés en sept sous-groupes situés dans le tronc cérébral supérieur [351], [352]. Le LC est la principale source de NA et il se projette à travers tout le SNC. Sa partie rostrale se projette ainsi vers le néocortex, le système limbique et l'hypothalamus. Elle joue un rôle important dans l'attention, l'éveil et le rythme circadien. A l'inverse, sa partie caudale se projette vers le cervelet et la moelle épinière, participant au système nerveux végétatif. Les neurones noradrénérgiques du LC provoquent l'activation corticale de l'éveil, mais ils sont également fortement stimulés en cas de stress, mais aussi de stimuli extérieurs (nouveau, menace, récompense) [353]. Les études ont bien montré que l'utilisation d'agonistes noradrénérgiques promouvait l'éveil [354], de même que la photo-activation du LC [355]. De même, l'administration de médicaments inhibant la libération de NA, la photo-inhibition du LC, ou bien une lésion du LC, entraînent tous une diminution de l'éveil et favorisent la transition vers le sommeil lent [355], [356].

Le système dopaminérgique

Les neurones dopaminérgiques participent activement aux mécanismes d'éveil [357]. Il existe sept groupes de neurones dopaminérgiques, issus pour moitié du diencephale, et pour l'autre part du mésencéphale [352]. L'ensemble de ces neurones mésencéphaliques individualise deux voies principales ascendantes [358] : la voie nigrostriée, issue de la substance noire compacte qui se projette sur le striatum dorsal, et la voie méso-cortico-limbique issue de l'aire tegmentale ventrale (VTA),

innervant le nucleus accumbens, le tubercule olfactif, le septum et l'amygdale. Les neurones des groupes diencephaliques, quant à eux, se projettent vers la zona incerta, l'hypothalamus, le LC, le noyau réticulé, la moelle épinière et l'hypophyse. Il existe de plus, un petit groupe de neurones dopaminergiques situé au niveau de la substance grise périaqueducatale ventrale.

Le système histaminergique

Les neurones histaminergiques sont situés uniquement au niveau de l'hypothalamus postérieur, dans ce que l'on appelle les tubercules mammillaires (TM) [359]. Les TM sont innervés par l'aire pré-optique du thalamus, le subiculum, le tegmentum dorsal et le cortex préfrontal. Les neurones histaminergiques se projettent sur le cortex, le thalamus et les autres centres promoteurs de l'éveil, comme le LC ou les noyaux péribrachiaux cholinergiques [360]. Comme démontré par l'utilisation d'antagonistes H1 ou de souris Histamine ou H1-R Knock Out, conduisant à une diminution de l'éveil, les neurones histaminergiques participent à la phase de WK [361]. Des études récentes suggèrent que la libération concomitante de GABA, à partir de ces mêmes neurones, pourrait agir de manière synergique sur l'activation corticale [362].

Le système sérotoninergique

Les neurones sérotoninergiques sont subdivisés en neuf sous-groupes situés au niveau de la medulla oblongata et du mésencéphale [352]. La majorité de ces sous-groupes est localisée au niveau de la zone médiane du tronc cérébral, on parle alors des noyaux du raphé, appartenant à la formation réticulée. La majeure partie de la 5HT du cerveau provient des noyaux du raphé dorsal et médian. Ils reçoivent des projections de nombreuses régions cérébrales, et se projettent vers la substance noire compacte, l'amygdale, l'aire pré-optique latérale, le nucleus accumbens, le thalamus, l'hypothalamus, le bulbe olfactif, le septum mais également le cortex insulaire et le cortex préfrontal [363], [364]. Ces neurones sérotoninergiques du raphé dorsal sont excités par les neurones orexinergiques et histaminergiques de l'hypothalamus et par les neurones adrénergiques. Les premières études chez le chat ont démontré que la 5HT avait un rôle promoteur du sommeil. En effet, des lésions du raphé ou

une déplétion de 5HT induisent une insomnie [365]. En revanche, il apparaît récemment que le rôle de la 5HT dans le cycle éveil/sommeil ne serait pas aussi évident et pourrait promouvoir l'éveil. Ainsi, l'activité des neurones sérotoninergiques est intense pendant l'éveil et tend à diminuer pendant le SL jusqu'à disparaître lors du SP [366], [367]. Dans le même ordre d'idée, la photo-activation des neurones sérotoninergiques augmente significativement la quantité d'éveil et fragmente le SL [368]. Certains auteurs ont donc émis l'hypothèse que l'activation sérotoninergique pendant la phase d'éveil serait une préparation à l'entrée en SL, par la stimulation de facteurs hypnogènes dans certaines zones spécifiques du cerveau [369], [370], comme par exemple la région pré-optique. Par ailleurs, ces différentes substances hypnogéniques sont capables d'exercer un rétrocontrôle négatif sur les neurones sérotoninergiques, qui en association avec la substance P, nécessaire pour supprimer l'activité de tonus musculaire, vont pouvoir participer au « sleep switch-on » cérébral, permettant la transition vers le sommeil [370].

L'ensemble de ces connexions entre neurones n'est pas encore totalement élucidé, mais il est à noter que les neurones sérotoninergiques sont également impliqués dans l'humeur.

Régulation de l'éveil

Moruzzi et Magoun ont démontré en 1949 que la stimulation de la formation réticulée du mésencéphale entraînait un état d'activation corticale caractéristique d'un état d'éveil [371]. Longtemps considéré comme l'unique système activateur ascendant, il a été montré récemment que l'éveil dépendait de différents systèmes neurochimiques. Au niveau de la région paramédiane du cerveau, l'ARAS (Ascending Reticular Activating System) se subdivise en deux voies, toutes deux nécessaires à un éveil normal :

- La voie dorsale se projette au niveau des noyaux médian et intralaminaire du thalamus, après activation de deux noyaux, les noyaux pédonculopontin (PPT) et latérodorsal du tegmentum (LDT), situés au niveau de la jonction ponto-mésencéphalique. Ces noyaux thalamiques vont

ensuite se projeter vers le cortex cérébral (système thalamique diffus). Cette voie est nécessaire pour l'établissement de la conscience.

- La voie ventrale va innervier l'hypothalamus, le télencéphale basal et le cortex cérébral [372], [373], via des projections de neurones monoaminergiques : neurones noradrénergiques du LC, neurones dopaminergiques de la substance grise péri-aqueducatale ventrale (vPAG), neurones sérotoninergiques des noyaux dorsaux et médians du raphé et neurones histaminergiques des TM.

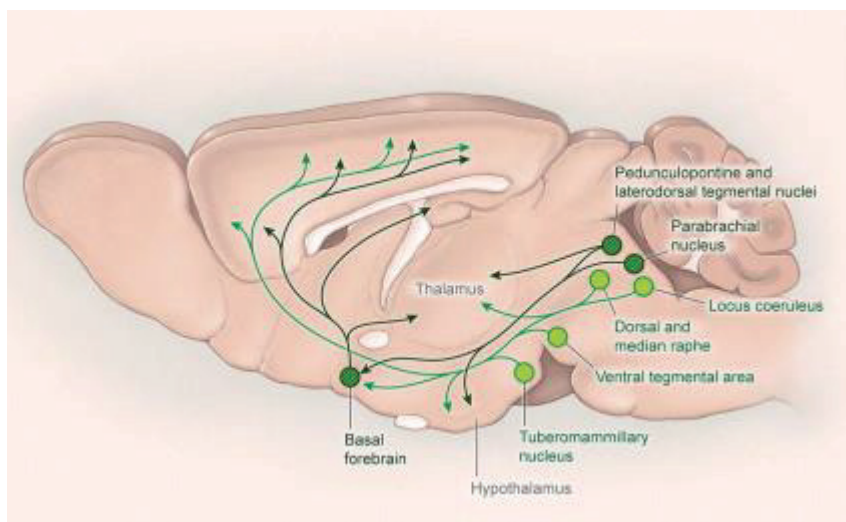


Figure 27 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant l'éveil, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017 [374]

Le télencéphale basal et le tronc cérébral supérieur

Les neurones cholinergiques centraux sont regroupés au sein du télencéphale basal et de la formation réticulée pontique, faisant ainsi partie de l'ARAS. Ils s'étendent du septum médian jusqu'à la substance innommée de Reichert, en se projetant vers le cortex cérébral, l'amygdale, et l'hippocampe [375]. Au sein de cet ensemble, on retrouve également des neurones GABAergiques qui se projettent vers l'hippocampe et les neurones cholinergiques, formant ainsi des sous-circuits à l'intérieur du télencéphale basal et modulant l'activité des neurones cholinergiques voisins [376]. On retrouve également des neurones glutamatergiques, et d'autres neurones sécrétant de l'aspartate ou de la

galanine. La stimulation du télencéphale basal induit une activation corticale caractéristique de l'éveil, mais également d'autres fonctions corticales comme l'attention ou la mémoire. Il joue un rôle essentiel dans l'éveil, comme démontré par la lésion de cette zone, qui provoque l'apparition d'ondes lentes voire d'un coma [377], [378]. L'enregistrement des neurones cholinergiques a montré que ces derniers étaient actifs pendant l'éveil [379], mais la manipulation sélective des neurones cholinergiques semble avoir des effets plus modérés sur le cycle éveil/sommeil. Ainsi, l'inhibition ou la lésion sélective de ces neurones, entraînent l'apparition d'ondes lentes et diminuent le nombre de phases d'éveil, sans pour autant réduire la durée totale d'éveil [378], [380]. L'activation chimio-génétique, à l'opposé, supprime les ondes lentes de SL, mais n'a que peu d'effet sur la durée d'éveil [381]. Le télencéphale joue donc un rôle dans l'activation corticale globale grâce à deux voies : une inhibition du noyau réticulé thalamique et une désinhibition des neurones thalamiques intra-laminaires [377]. En revanche, il n'est pas tout à fait clair que ces neurones cholinergiques soient essentiels à la genèse des états d'éveil.

A l'inverse, les neurones GABAergiques du télencéphale basal participent à la genèse des états d'éveil. Leur stimulation augmente significativement la durée d'éveil, alors que leur inhibition augmente la durée de SL [381]. Ils stimulent donc l'activation corticale par inhibition des interneurons inhibiteurs et pourraient également avoir d'autres effets, en se projetant vers les noyaux centraux du thalamus ou d'autres structures sous-corticales. Il est important de garder à l'esprit que les neurones GABAergiques sont très hétérogènes d'un point de vue anatomique et fonctionnel. On observe donc des réponses différentes en fonction de la stimulation spécifique d'un sous-type de neurones [382]. Les neurones glutamatergiques semblent donc stimuler l'activation corticale, malgré des résultats contradictoires [381], [382].

Le noyau tegmental pédonculo-pontin et le noyau latéro-dorsal de Castaldi

Ces deux noyaux sont situés à la jonction entre la formation réticulée mésencéphalique et pontique. Ce système, constitué de neurones cholinergiques, est impliqué dans la désynchronisation corticale de l'éveil mais aussi du SP [383]. Ces neurones se projettent principalement sur le thalamus, le

téleencéphale basal et, dans une moindre mesure, sur l'hypothalamus postérieur et l'aire préoptique latérale [384]–[392]. Ils n'innervent que très peu le cortex. L'acétylcholine contribuerait donc à l'activation corticale de deux façons : une action muscarinique inhibant les neurones réticulés du thalamus [393], et une action nicotinique excitant les neurones thalamocorticaux [394]. Comme pour les neurones cholinergiques du téleencéphale basal, le rôle de ces neurones du PPT/LDT reste flou dans la genèse de l'éveil, bien qu'ils aient une action corticale excitatrice. Le PPT/LDT contient également des neurones glutamatergiques et GABAergiques qui s'associent pour une activité dans les hautes fréquences [383]. L'activation des neurones glutamatergiques augmente significativement la durée d'éveil alors que la fonction des neurones GABAergiques est encore inconnue.

La formation réticulée

Elle correspond à une série de noyaux interconnectés, situés le long du tronc cérébral. Ces neurones bulbo-ponto-mésencéphaliques (noyaux inférieurs dans le bulbe, tegmentum central dans le pont et tegmentum dorsal dans le mésencéphale) dessinent la voie réticulo-thalamo-corticale. Ces noyaux n'ont pas de projection directe sur le cortex, mais se projettent densément sur les noyaux du thalamus. Elle contient majoritairement des neurones à aspartate ou glutamate ayant un effet excitateur rapide [395].

Le noyau parabrachial

Il joue un rôle important dans l'éveil car une lésion de cette région induit un état végétatif irréversible [396]. Les neurones glutamatergiques présents dans ce noyau sont essentiels à la genèse de l'éveil, si l'on considère qu'ils innervent densément le téleencéphale basal. Ainsi, une lésion de cette zone ou bien une délétion du gène codant pour le transporteur du glutamate entraînent une diminution de l'éveil [378], [397].

L'hypothalamus

C'est en 1916, que le baron Von Economo a été le premier à attribuer à l'hypothalamus un rôle majeur dans la régulation du cycle éveil/sommeil [398]. L'infection de l'hypothalamus à la suite d'une

encéphalite virale "léthargique" conduisait en effet à un état de somnolence majeure dans la majorité des cas, une infime partie des patients étant insomniaques. C'est l'autopsie qui permit de confirmer que la lésion de l'hypothalamus postérieur (HP) entraînait une hypersomnie, alors que la lésion de l'hypothalamus antérieur induisait une insomnie. L'HP jouerait donc un rôle prépondérant dans la genèse de l'éveil. Cette hypothèse a été confirmée par la suite, en montrant que la lésion électrolytique de l'HP induit une hypersomnie [399]. A l'opposé, une stimulation électrique ou pharmacologique entraîne une activation corticale [360], [400]. En outre, l'injection de muscimol dans l'HP (agoniste GABAergique), produit une hypersomnie majeure chez le chat [401]. Précédemment, nous avons vu que l'HP, avec les TM, constitue l'unique zone de production d'histamine du SNC. Ces neurones histaminergiques sont innervés par la formation réticulée mésencéphalique et le tegmentum mésopontique. Ils présentent une activité tonique pendant l'éveil, qui tend à diminuer au cours du SL, pour disparaître pendant le SP [402].

L'hypothalamus latéral (HL), quant à lui, héberge deux autres types de neurones : les neurones orexinergiques et les neurones sécrétant le neuropeptide MCH (melanin concentrating hormon). Répartis dans tout l'HL, les neurones orexinergiques sont essentiels pour la régulation de l'éveil et du SP. L'orexine est un neurotransmetteur exciteur, participant à la genèse des états d'éveil en agissant sur la plupart des régions citées ci-dessus, ainsi que sur le cortex et le noyau médian du thalamus [403]. C'est pourquoi, l'injection intracérébro-ventriculaire d'orexine chez le rat induit un éveil [404]. De la même façon, la photo-activation des neurones orexinergiques [405] ou leur activation par le système DREADD [406], produit un éveil exacerbé et supprime le SP. On comprend alors aisément pourquoi la dysfonction des neurones orexinergiques est à l'origine de la narcolepsie, caractérisée par des interruptions du maintien de l'éveil [407]. Ce rôle est confirmé par un modèle de souris perdant leurs neurones orexinergiques, qui ne sont pas capables de maintenir des phases d'éveil de durée normale [408]. Les neurones orexinergiques peuvent également sécréter du glutamate et un peptide inhibiteur, la dynorphine. La co-sécrétion de glutamate participe à l'excitation des neurones cibles de l'orexine. A

l'heure actuelle, les projections de ces neurones sont nombreuses et il reste encore à définir quelles sont celles qui permettent de maintenir l'état d'éveil.

Il existe également deux populations de neurones GABAergiques qui sont suspectés de promouvoir l'éveil. La première se situe au niveau du HL et se projette vers le noyau réticulé thalamique [409]. La deuxième, elle aussi localisée dans le HL, se projette vers une région promouvant le sommeil, l'aire préoptique ventrolatérale, mais également vers le LC et les TM [410].

Le système thalamo-cortical

Ce n'est pas une structure véritablement responsable de l'éveil, mais elle joue plutôt un rôle de relais des systèmes d'éveil cholinergique et non cholinergique de la formation réticulée [395]. Appartenant au diencephale, le thalamus est situé de part et d'autre du troisième ventricule. Il est entrecoupé par la lame médullaire interne qui le divise en noyau médial, latéral et antérieur. Chacun des noyaux thalamiques est subdivisé en différents sous-noyaux, en fonction de leur localisation et de leurs afférences/efférences notamment corticales, striatales et cérébelleuses. On distingue ainsi : le noyau antérieur (antérodorsal, antéroventral, antéromédial), le noyau ventral antérieur, le noyau ventral latéral (antérieur, postérieur, médian), le noyau ventral postérieur (médial, latéral, inférieur), le noyau latéral dorsal, le noyau latéral postérieur, le noyau dorsomédian (magnocellulaire, parvocellulaire, paralaminaire), le pulvinar (postérieur, latéral, médian, inférieur), les noyaux intralaminaires (rostraux : paracentral, central latéral, centro-médian, et caudaux : parafasciculaire, centro-médian), les noyaux médians (paratenial, paraventriculaire, reuniens), les noyaux postérieurs (supragéniculé, limitans, postérieur), les corps géniculés médian et latéral et le noyau réticulaire. Cette structure se divise en trois systèmes : un système thalamique spécifique qui sert à relayer les informations sensorielles vers le cortex ; un système thalamique non spécifique se projetant vers l'ensemble du cortex et constitué de noyaux intra-laminaires [411] ; le système réticulé thalamique, composé de neurones GABAergiques se projetant aux niveaux des noyaux intra-laminaires. Ceux-ci constituent un relais conduisant à l'activation corticale. Ils utilisent des acides aminés excitateurs, aspartate et

glutamate, comme neurotransmetteurs [391]. Ils sont activés par les neurones cholinergiques du PPT/LDT [386]. Ils reçoivent des afférences GABAergiques provenant du système réticulé thalamique, des afférences de type Asp/Glu excitatrices de la formation réticulée mésencéphalique, mais aussi des afférences noradrénergiques et sérotoninergiques en provenance du LC et des noyaux du raphé dorsal respectivement.

Régulation du sommeil lent et structures impliquées

Le SL a longtemps été considéré comme un phénomène passif, résultant de l'inactivation des systèmes d'éveil. Nous allons voir qu'il n'en est rien. De manière physiologique, des périodes prolongées d'éveil sont suivies de longues périodes de SL, qui sont induites par des substances appelées somnogènes. D'après Krueger et al, les plus importantes sont l'adénosine, la prostaglandine D2 et certaines cytokines, comme l'interleukine-1 et le TNF α [412].

L'adénosine est sécrétée majoritairement par les astrocytes qui vont également assurer sa régulation grâce à une adénosine kinase [413], [414]. L'adénosine est sécrétée de manière prolongée pendant les phases d'éveil dans le télencéphale basal, le cortex et l'hippocampe, avant de diminuer lors du sommeil. Son action peut être directement inhibitrice sur les neurones promouvant l'éveil, ou bien activatrice des neurones promouvant le sommeil [415], [416]. Ainsi, l'utilisation d'agonistes ou d'inhibiteurs de la dégradation de l'adénosine augmentent le SL [417], alors que l'utilisation d'antagonistes, comme la caféine, promeuvent l'éveil ou induisent une diminution de la fatigue liée à la privation de sommeil [418], [419].

Les somnogènes participent également à ce qui est appelé sommeil local, c'est-à-dire l'augmentation focalisée d'ondes lentes corticales [420].

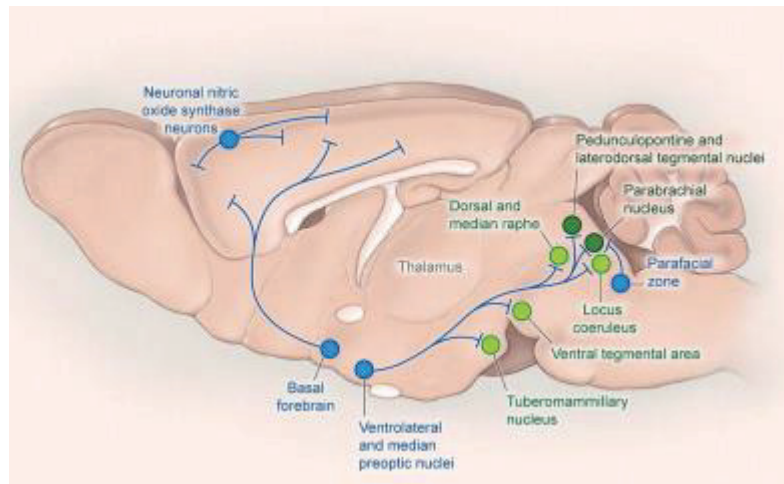


Figure 28 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant le sommeil lent, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017 [374]

L'aire préoptique

L'implication de cette zone dans la genèse du SL est basée sur les considérations anatomopathologiques de Von Economo [398]. Il fut donc le premier à proposer que l'aire pré-optique, située dans l'hypothalamus antérieur, était un centre inducteur de sommeil. Ceci fut confirmé en 1968, par la lésion de l'hypothalamus antérieur entraînant une insomnie [421]. Il est maintenant établi que ce sont l'aire préoptique ventro-latérale (VLPO) et le noyau préoptique médian (MnPO) qui sont à l'origine de la genèse des états de SL [422], [423], leur lésion produisant des diminutions drastiques de SL [424]. Les neurones qui les composent, sont de type GABAergiques principalement. Ils se projettent et inhibent les différents centres impliqués dans l'éveil : le télencéphale basal, les TM, le LDT/PPT, le raphé dorsal, le noyau parabrachial, le LC ou l'hypothalamus latéral orexinergique [425], [426]. Des études immunohistochimiques ont montré que le VLPO et le MnPO recevaient des afférences des centres activateurs de l'éveil [427], la plupart des neurotransmetteurs impliqués dans l'éveil possédant un effet inhibiteur sur les neurones du VLPO [362]. Il est à noter qu'une partie des neurones du VLPO est activée par l'adénosine, participant à la genèse du SL, alors qu'une autre proportion de la population neuronale est insensible à l'adénosine, mais est en revanche inhibée par les

neurotransmetteurs impliqués dans l'éveil. Ceci indique donc une consolidation du SL par cette deuxième population, une fois que les systèmes de l'éveil sont à l'arrêt [428].

De plus, le VLPO et le MnPO sont impliqués dans la réponse à la privation de sommeil, par une augmentation de leur activation [423].

Le télencéphale basal

Bien que considéré comme un centre de l'éveil, le télencéphale basal contient également des neurones actifs pendant le SL [429]. Ce sont des neurones GABAergiques, innervant le cortex par inhibition directe des neurones corticaux [430]. Certains d'entre eux sécrètent également de la somatostatine, capable d'inhiber directement les neurones cholinergiques du télencéphale basal.

La zone parafaciale du tronc cérébral

Cette zone contient des neurones GABAergiques et glycinergiques qui seraient à l'origine de la genèse du SL par inhibition des centres de l'éveil. Leur lésion ou l'inhibition de la transmission GABAergique est responsable d'une augmentation de la durée d'éveil [431].

Le cortex

Certains neurones corticaux sont particulièrement actifs durant le SL : c'est le cas des neurones produisant la nNOS (neuronal nitric oxide synthase). Leur expression étant corrélée avec la quantité de SL et l'apparition des ondes lentes, on pense qu'ils sont à l'origine de la synchronisation des ondes lentes corticales grâce à des projections corticales [432]. L'apparition du SL serait donc le résultat de l'inhibition des systèmes exécutifs de l'éveil par les neurones GABAergiques du VLPO, du télencéphale et du tronc cérébral, mais aussi de la désinhibition de l'oscillateur constitué par le noyau réticulé thalamique. La pérennisation du SL est permise par l'inhibition des systèmes d'éveil, qui, par ricochet diminue le rétrocontrôle qu'ils opèrent sur les neurones du VLPO, promoteur du SL.

Régulation et systèmes impliqués dans le sommeil paradoxal

Décrit pour la première fois il y a 60 ans [433], [434], le SP est assuré par des structures localisées dans le pont cérébral inférieur [434], [435]. En effet, à l'aide de transections, il a été montré que la survenue périodique de phases de SP, caractérisé par une atonie et l'existence de mouvements oculaires latéraux, persiste en l'absence des structures rostrales du pont [436].

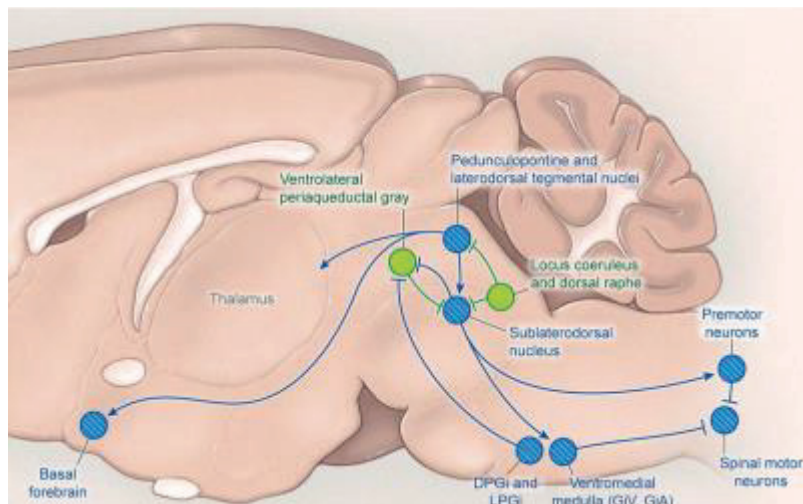


Figure 29 : Schéma résumant les voies neuronales promouvant le sommeil paradoxal, d'après Scammel et al, *Neuron* 2017 [374]

Le noyau tegmental pédonculo-pontin et le noyau latéro-dorsal de Castaldi

Longtemps considérés comme des éléments fondamentaux dans la genèse du SP, le PPT/LDT assure plutôt un rôle modulateur. Les neurones impliqués sont majoritairement cholinergiques, avec une activité principale en amont des transitions vers le SP ou le WK, d'où une promotion de la transition du SL vers le SP après photostimulation [437]. Une autre population neuronale du PPT/LDT est composée de neurones glutamatergiques [383], [438], activés pendant le SP, mais aussi le WK. Les neurones GABAergiques sont, quant à eux, activés pendant le SP.

Le subcoeruleus ou noyau sublatéro-dorsal (SLD)

Equivalent au péri-locus coeruleus alpha chez l'Homme, les neurones glutamatergiques du SLD sont activés lors du SP [439], et leur activation pharmacologique produit l'instauration d'une phase de SP [440]. Une lésion de cette zone entraîne un état semblable au SP, mais sans atonie musculaire, alors que la lésion du SLD et des zones adjacentes diminue la quantité de SP [441], [442]. Ceci confirme l'implication du SLD dans l'atonie musculaire et dans la genèse du SP, en collaboration avec d'autres structures voisines. Ainsi, les neurones du SLD sont activés par les neurones cholinergiques du PPT/LDT, bien que cette innervation ne soit pas essentielle à la genèse du PS. Par ailleurs, le mécanisme permettant la génération de l'atonie musculaire n'est pas encore bien compris : les neurones du SLD pourraient exciter directement les neurones médullaires, inhibant ainsi les neurones spinaux moteurs [443], soit ils inhiberaient directement les interneurons spinaux, inhibant par la même occasion l'activité des neurones moteurs [442].

Les neurones du pont et la substance grise péri-aqueductale

Plusieurs populations de neurones sont à l'origine de l'inhibition du SP pendant l'éveil. On peut citer les neurones monoaminergiques du pont et du raphé dorsal par exemple, très actifs pendant l'éveil et silencieux pendant le SP. Ils se projettent sur le SLD et inhibent les neurones actifs pendant le SP. De même, les autres monoamines, NA et 5HT inhibent également les noyaux du PPT/LDT [444].

Les noyaux de la vPAG et du tegmentum pontique latéral (LPT) sont également impliqués dans la suppression du SP. Leur lésion ou inactivation induit une augmentation de SP, liée à leurs projections GABAergiques vers le SLD [445].

La formation réticulée

La formation réticulée médullaire contient deux populations de neurones glycinergiques et probablement GABAergiques, fondamentaux pour la genèse de l'atonie du SP. Elles sont localisées dans les noyaux réticulaire ventral gigantocellulaire (GiV) et réticulaire alpha gigantocellulaire (GiA). Ces neurones activés pendant le SP, se projettent vers les motoneurons crâniens et spinaux [440],

[446]. Ils reçoivent en outre des afférences en provenance du SLD. La transmission glutamatergique serait à l'origine de l'atonie musculaire, ayant pour origine le GiV et les afférences venant du SLD [447], [448]. D'autres neurones médullaires sont impliqués dans la genèse du SP, par inhibition des neurones s'opposant à l'installation du SP, tels que ceux du LC, du raphé dorsal, du vPAG et du LPT. Ils sont localisés dans les noyaux réticulaires paragigantocellulaire dorsal et paragigantocellulaire latéral. Ces neurones GABAergiques se projettent sur les noyaux du vPAG et du LPT, pour inhiber leur transmission monoaminergique [449], afin de prolonger le SP ou déclencher la transition vers le SP [450].

Hypothalamus

Plusieurs régions hypothalamiques participent à la génération du PS.

La première est située près du VLPO et comprend des neurones GABAergiques, qui s'activent pendant le SP [451], innervant le raphé dorsal, le LC mais aussi le vPAG et le LPT. Ces neurones participent à la genèse du SP, en inhibant les centres supprimeurs du SP. Le deuxième groupe est réparti dans l'HL et l'HP. Il comprend des neurones sécrétant de la MCH. Leur rôle reste encore mal connu, malgré la démonstration d'une activité maximale pendant le SP, et d'une augmentation de la durée du SP après leur activation [452], [453]. De plus, des neurones orexinergiques situés dans l'HL participent également à ces processus en supprimant le SP [406]. Ils se projettent vers les centres supprimeurs du SP comme le LC, le raphé dorsal, le vPAG et le LPT. Actifs pendant l'éveil, ces neurones orexinergiques permettent l'abolition du SP pendant les phases d'éveil.

Mécanismes de contrôle du PS

En 1975, Hobson et McCarley ont proposé un modèle de fonctionnement d' « interaction réciproque » entre les neurones cholinergiques du pont et les neurones monoaminergiques du tronc cérébral, promouvant ou s'opposant au SP respectivement [454]. Actuellement, les dernières études montrent que la transmission glutamatergique issue du SLD serait le composant principal de la genèse du SP, en association avec les neurones cholinergiques et monoaminergiques, jouant un rôle régulateur. Une boucle d'inhibition réciproque existe donc entre le SLD et le vPAG/LPT, à l'origine de la suppression du

SP [442], [450]. Ce système est sous-tendu par des interactions avec le système cholinergique et de la MCH, qui l'orientent vers le SP, alors que les monoamines et l'orexine l'orientent vers l'éveil.

Régulation du cycle éveil/sommeil

La transition entre ces différents états est sous le contrôle de deux processus opposés : un processus homéostatique et un processus circadien. Le premier augmente avec l'éveil et décroît lors des phases de sommeil. Le deuxième est basé sur l'activité rythmique issue du noyau suprachiasmatique (SCN), localisé dans l'hypothalamus, centre de l'horloge biologique interne, processus spécifique des Mammifères. Leurs effets sont paradoxalement opposés, le processus homéostatique tend vers le sommeil alors que l'horloge circadienne promeut l'éveil. Le rythme circadien est constamment proche de 24 heures, indépendamment des stimuli extérieurs.

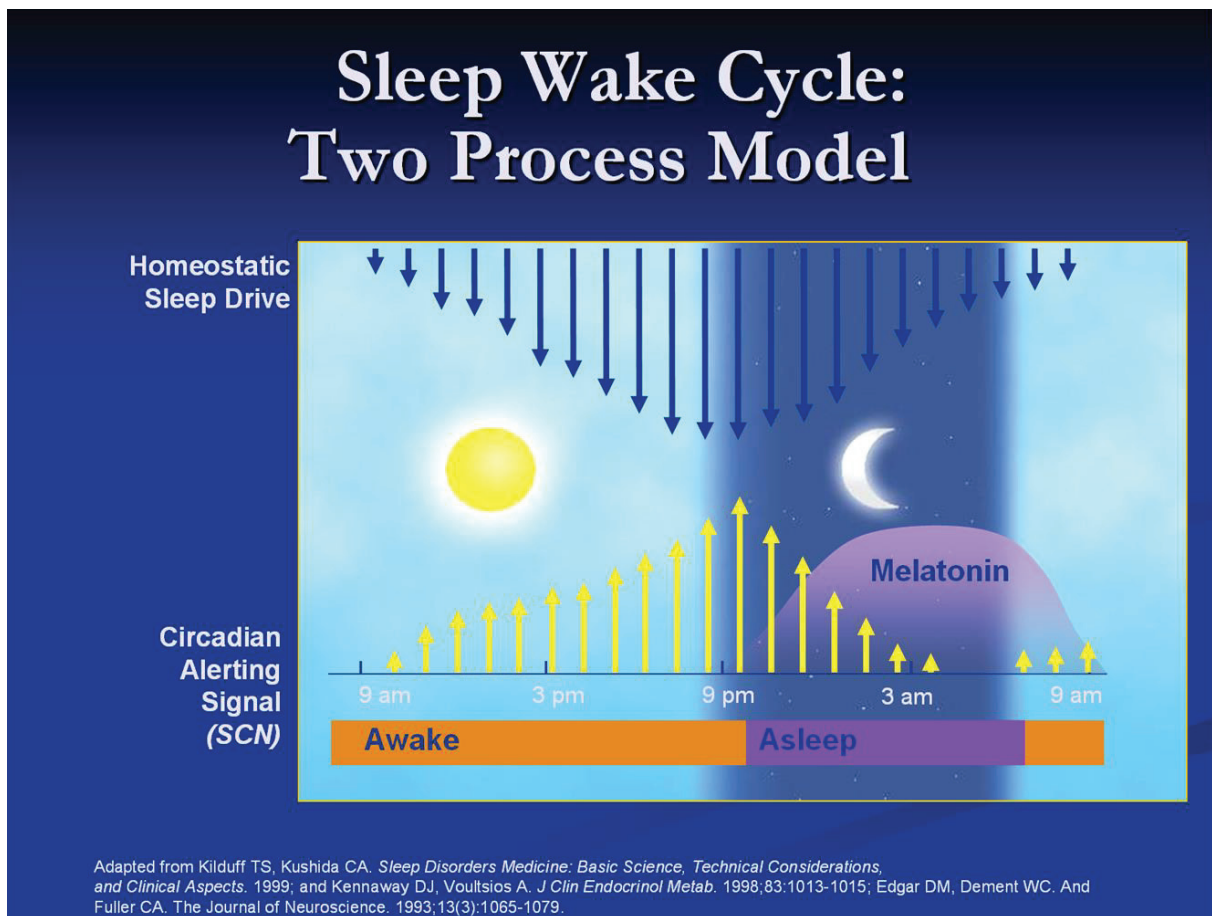


Figure 14 : Régulation du cycle éveil/sommeil

Situé dans l'hypothalamus ventral, le SCN est composé de neurones très hétérogènes, majoritairement GABAergiques, formant un réseau complexe à l'origine du rythme oscillatoire entretenu par le SCN. Mal connu, le SCN n'en demeure pas un moins un régulateur majeur des autres régions cérébrales, grâce à ses nombreuses connexions anatomiques et ses sécrétions variées (GABA, calrétine, neurotensine, angiotensine II, metenképhaline, etc...), à l'origine de la synchronisation avec le cycle jour-nuit. L'activité de ces neurones est sous-tendue par des phénomènes de transcription, traduction et modifications post-traductionnelles cycliques de certains gènes [455].

La lumière joue un rôle majeur dans la synchronisation de l'horloge circadienne avec le cycle jour-nuit, par l'intermédiaire des cellules ganglionnaires à mélanopsine, se projetant directement vers le SCN.

La mélatonine joue également un rôle important dans la synchronisation avec le cycle jour-nuit. C'est une hormone synthétisée par la glande pinéale à partir de tryptophane, tout comme la 5HT.

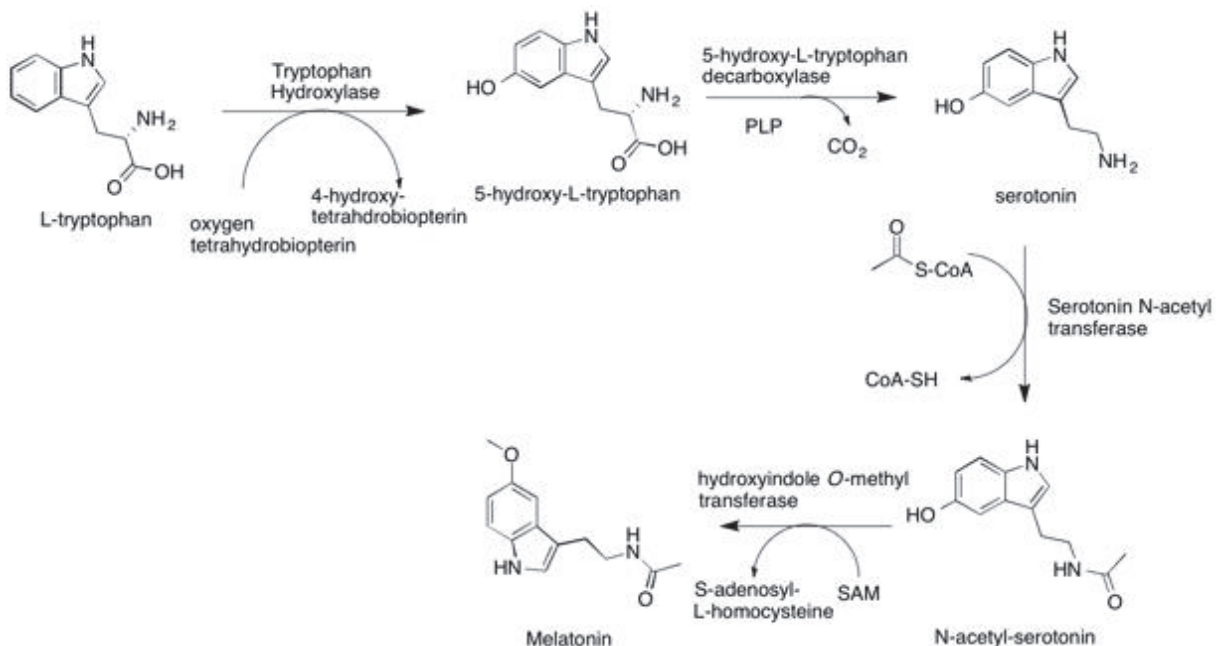


Figure 15 : Métabolisme du tryptophane

Elle est sécrétée la nuit, et ses mécanismes de régulation sont encore mal connus. Les effets circadiens de la mélatonine sont opposés à ceux de la lumière, et cette dernière inhibe d'ailleurs la sécrétion de la mélatonine chez des patients exposés à la lumière pendant la nuit. Contrairement à ce qui est convenu, la mélatonine n'a que peu d'effets promoteurs de sommeil, elle est plutôt un chronorégulateur, régulant la transition vers une phase de sommeil [456].

Modalité de l'étude du cycle veille/sommeil

La caractérisation des états de vigilance est souvent réalisée par des mesures électrophysiologiques permettant leur classification. En effet, s'il est simple de distinguer les états d'éveil et de sommeil sur la base des activités cognitive et motrice, il est plus difficile de distinguer le sommeil lent et le sommeil paradoxal.

L'étude du rythme éveil/sommeil repose sur la caractérisation des différents états de vigilance définis par les caractéristiques polygraphiques de différentes électrodes :

- L'électro-encéphalogramme (EEG) cortical permet de mettre en évidence les ondes lentes de type δ (fréquences comprises entre 0,5 et 4 Hz), les ondes θ (fréquences comprises entre 6 et 10 Hz) et les ondes α , β , et γ .
- L'électro-oculogramme (EOG) permet de mettre en évidence les mouvements oculaires.
- L'électro-myogramme (EMG) permet de mettre en évidence le tonus musculaire au niveau de la nuque.

Il est à noter que l'EEG est à considérer uniquement comme un marqueur d'un état de vigilance et n'est pas toujours corrélé parfaitement à celui-ci. C'est un enregistrement d'une mesure électrique convertie en signal, dont l'origine n'est pas parfaitement élucidée.

L'actigraphie peut également être utilisée, mais elle ne permet pas d'identifier l'architecture du sommeil en détail [457]. Cette architecture est parfaitement représentée par l'hypnogramme,

diagramme permettant de visualiser les différentes phases de sommeil et de veille pour une espèce donnée.

Eveil (ou waking, WK)

Sur le plan comportemental, l'éveil est caractérisé par tout un spectre d'activités et de comportements, associés à une activité motrice volontaire intense ainsi qu'à une forte sensibilité aux différents stimuli, qu'ils soient externes ou internes. Durant ces phases d'éveil, l'EEG retrouve une activité corticale désynchronisée, de haute fréquence mais de basse amplitude, associée à une activité synchronisée de l'hippocampe. Parallèlement, l'EOG retrouve une activité oculaire intense et l'EMG montre une activité musculaire très variable.

Le sommeil lent ou Slow Wave Sleep (SWS) ou NREM (Non Rapid Eye Movement) sleep

Le sommeil se traduit par le début de la perte de conscience et dans les stades les plus profonds une insensibilité majeure aux stimuli. L'EEG est caractérisé par une activité corticale de haute intensité mais de basse fréquence (ondes δ). Selon les espèces, on peut également observer des « sharp wave ripples » [458] ou bien encore des « spindles » [459]. L'activité oculaire se réduit, avec disparition des mouvements rapides. L'activité musculaire est également diminuée tout en conservant une certaine tonicité. D'autres processus physiologiques normaux sont également diminués, comme le rythme cardiaque et la température corporelle. En règle général, le SL fait suite à de longues périodes d'éveil constituant ainsi un cycle éveil/sommeil.

Le sommeil paradoxal ou REM (Rapid Eye Movement) sleep

Découvert en 1959 par Michel Jouvet lors de ses travaux sur un modèle de chat, le sommeil paradoxal fut appelé ainsi par une activité corticale identique à celle retrouvée lors des phases d'éveil mais associé à une atonie musculaire [436]. Chez l'Homme, l'EEG montre donc aussi une activité corticale de haute fréquence mais de basse amplitude associée à de petites quantités d'ondes δ . Chez les rongeurs au contraire, l'EEG cortical montre une intense activité θ provenant de l'hippocampe dorsal. Dans les conditions physiologiques, cet état de vigilance particulier fait suite à une phase de SL. C'est

le siège de l'activité onirique, permise par l'atonie musculaire, qui empêche ainsi le passage à l'acte. D'autres processus physiologiques sont également abolis pendant le SP, tel que la transpiration, la pilo-érection, les frissons. La température cérébrale augmente, témoin d'une intense activité, alors que les rythmes cardiaques et respiratoires deviennent irréguliers [460]. On constate également de manière phasique des spasmes musculaires au niveau des orteils, des membres, ou bien de la queue et des moustaches chez les animaux [461].

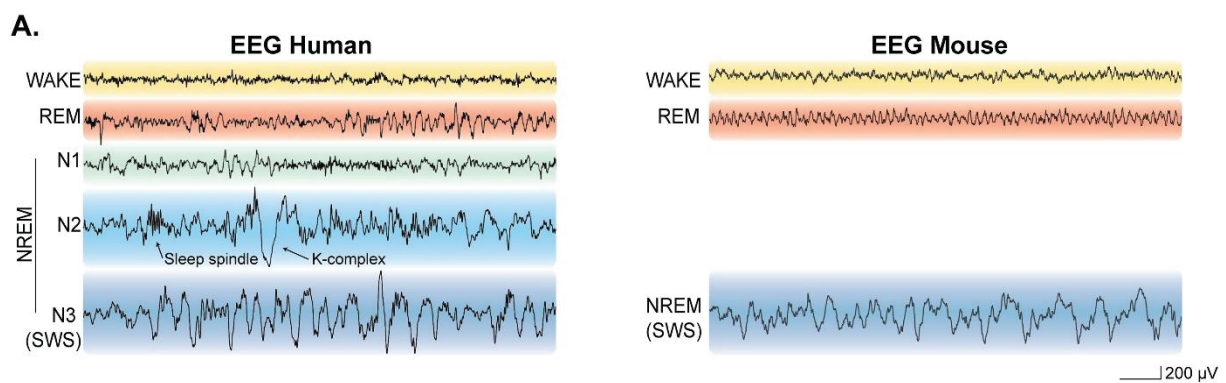


Figure 10 : Exemple d'électro-encéphalogrammes chez l'Homme et chez la souris pour les différents états de vigilance, d'après Tesoriero et al, *Brain Res Bull* 2019 [462]

Aspects théoriques chez la souris

Chaque lignée de souris possède un cycle éveil/sommeil avec ses caractéristiques propres, car celui-ci est dépendant de facteurs génétiques qui sont fortement conservés au sein d'une même lignée [463]. En revanche, toutes les souris sont des animaux nocturnes avec un cycle polyphasique, comportant une période majeure de sommeil durant la journée. En s'intéressant aux différents paramètres, on constate des différences dans la durée totale d'éveil, le début et la durée de la période principale de sommeil [464], la fragmentation du SL et la fréquence des ondes θ [465]. La lignée de souris la plus utilisée pour l'étude du sommeil est la souris C57/Bl6. Les souris femelles sont en général exclues, afin de s'affranchir de possibles variations dues au cycle hormonal. Une des particularités de cette lignée est qu'elle ne synthétise pas de mélatonine [466], une hormone clé libérée par le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus, et impliquée dans l'horloge circadienne. Le cycle éveil/sommeil

peut également varier au cours de la vie de ces rongeurs. L'âge affectant la quantité de mélatonine sécrétée, il est donc important de ne pas utiliser de souris C57/Bl6 pour l'étude de l'impact du vieillissement sur le sommeil.

Les états de vigilance - particularités chez l'Homme

Chez l'Homme, l'éveil est caractérisé par des ondes de faible amplitude et de haute fréquence, situées entre 14 et 30 Hz (ondes β), reflétant l'activité motrice et cognitive de l'individu. On peut également distinguer, à l'intérieur de l'éveil, des phases d'éveil actif, cognitif ou calme.

Le SL est précédé d'une phase de somnolence, caractérisée par des ondes de fréquence comprise entre 8 et 12 Hz (ondes α). Avec l'apparition progressive du SL, ces ondes vont augmenter en amplitude, alors que leur fréquence va diminuer.

D'après la classification de Rechtschaffen et Klaes [467], le sommeil se décompose en sept états : le WK, le SL 1, 2, 3 et 4, le SP et les périodes de mouvements nocturnes.

- Le premier stade, SL1, correspond à la perte progressive de la conscience, avec des ondes oscillant à des fréquences comprises entre 4 et 7 Hz (ondes θ). Ce stade correspond à la transition entre WK et SL. Un taux élevé de SL1 est en faveur d'une fragmentation importante du sommeil.
- Le SL2 est caractérisé par l'apparition de spindles d'origine corticale, oscillant entre 12 et 17 Hz. Ces spindles sont toujours précédées par une activité propre à l'EEG humain : le complexe K. Ce sont des ondes lentes d'environ 0,8 Hz, essentielles à la synchronisation du SL.

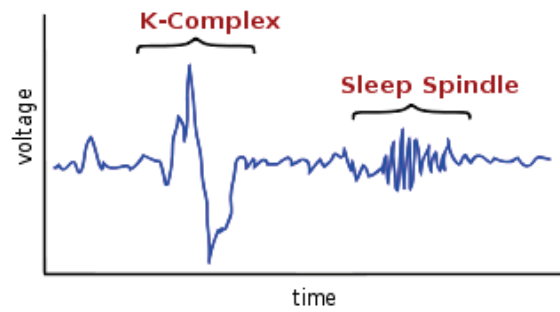


Figure 11 : Exemple de spindles et de complexe K, tracé EEG, d'après <https://raphaelvallat.com/spindles.html>

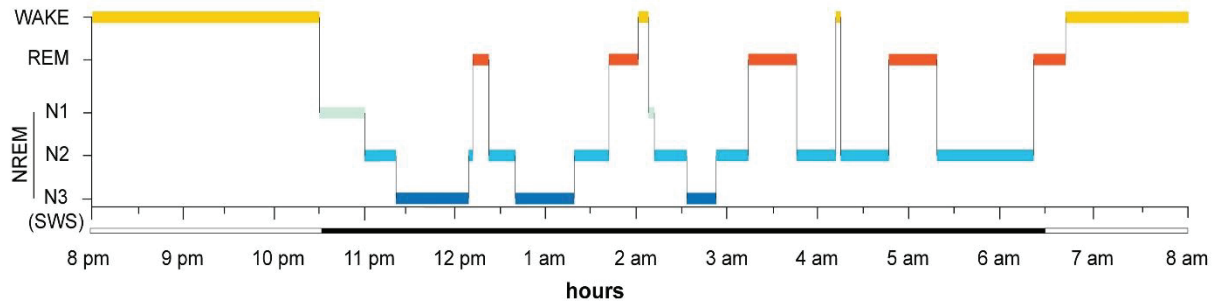
- Le SL3 est défini par l'apparition d'ondes lentes de voltage plus important, ondes δ représentant 20 à 50 % d'une période donnée.
- Le SL4, quant lui, correspond à une phase où 50 % de l'activité est constituée par ces ondes δ .
- Le SP correspond, comme décrit précédemment, à une activité corticale de haute fréquence et de faible intensité, comme durant l'éveil, mais cette fois associé à une atonie musculaire et des mouvements oculaires rapides (REM). Décrit chez l'Homme par Aserinsky, il comporte également des phénomènes phasiques associés à des contractions musculaires et des érections péniennes [468]. On peut également voir apparaître des pointes Ponto-Géniculo-Occipitales (PGO), de manière isolée ou par bouffées sporadiques.

Récemment, l'American Academy of Sleep Medicine (AASM) a publié une nouvelle classification qui n'est pas tout à fait concordante avec celle de Rechtschaffen. Les modifications sont cependant mineures : il n'y a plus que trois stades de SL, et le SP est dénommé R.

L'éveil représente chez l'Homme près des deux tiers du cycle, alors que le sommeil compte pour un tiers. Ceci représente en moyenne 7h30 de sommeil pour un adulte. Alors que le SL2 représente environ 50 % du sommeil total, un quart est constitué de SL3 et SL4, et le dernier quart au SP. Le SL1 ne représente en général qu'une petite portion du sommeil total. Il est important de constater qu'une nuit de sommeil est constituée d'une alternance cyclique de phases de SL et de SP. Chaque phase dure approximativement 90 à 120 minutes [469]. Chez l'Homme également, les cycles du sommeil se

modifient au cours de la vie de l'individu. Ainsi, la part du SP diminue de 50 % du sommeil total chez l'enfant pour atteindre 25 % chez l'adulte.

B.



C.

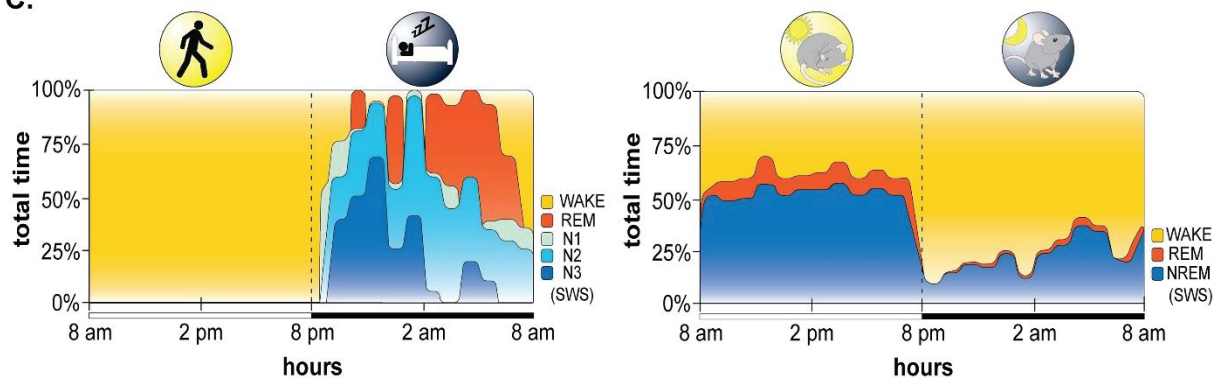


Figure 12 : B. Hypnogramme chez l'Homme et C. pourcentages de temps passé dans chaque état de vigilance chez l'Homme et chez la souris, d'après Tesoriero et al, *Brain Res Bull* 2019 [462]

L'ensemble de ces phases sont étroitement intriquées et finement régulées par les différents systèmes cérébraux que nous avons passés en revue.

Les troubles du sommeil

Les troubles du sommeil constituent un ensemble de pathologies très diverses qui touchent près de 30 % de la population générale, mais dont seulement 20 % sont correctement pris en charge. L'AASM a publié en 2014 l'International Classification of Sleep Disorders (ICSD-3) comprenant sept catégories distinctes [470] :

- les insomnies
- les troubles du sommeil en relation avec un trouble respiratoire
- les hypersomnies d'origine centrale
- les troubles du rythme circadien du sommeil
- les parasomnies
- les troubles des mouvements liés au sommeil
- les autres troubles

Une dichotomie simplificatrice distingue les dyssomnies, caractérisées par des anomalies de la quantité ou de la qualité du sommeil ou de ses cycles, et les parasomnies, englobant les événements comportementaux ou physiologiques anormaux survenant au cours du sommeil, mais n'impliquant pas les mécanismes de sommeil. Les troubles du sommeil sont une cause de trouble de la mémoire et de la concentration, avec toutes les conséquences que cela peut entraîner, tant au plan professionnel, qu'au plan personnel. Ils sont reconnus comme des facteurs de risque de surmortalité routière ainsi que d'augmentation des accidents de travail, et représentent donc un réel coût, pour l'entreprise et en santé publique.

Classification et définitions

Les insomnies

Certaines sont caractérisées par des difficultés d'endormissement, d'autres par des réveils nocturnes ou par une sensation de sommeil non récupérateur. Leur prévalence dans la population générale varie de 4 à 11 % [471]. Elles peuvent être ponctuelles, mais près de 85 % durent au minimum un an [472]. Les facteurs déclenchants sont très variés, allant de facteurs cognitifs ou somatiques internes, jusqu'à des facteurs extérieurs, comme des modifications de l'hygiène de vie, la lumière, la température, l'utilisation tardive d'écrans ou la pratique tardive du sport, le stress, ou la prise de substances médicamenteuses ou psychoactives. De manière intéressante, il faut noter que près de la moitié des cas d'insomnies sont liés à des pathologies chroniques.

Les hypersomnies

Elles se caractérisent par un besoin excessif de sommeil et des épisodes de somnolence excessive durant la journée, malgré une durée de sommeil normale ou élevée. Leur prévalence est extrêmement variable du fait de difficultés dans l'évaluation de l'hypersomnie dans les études publiées. Les hypersomnies peuvent être d'origine centrale, liée à un trouble du rythme circadien, à un trouble respiratoire ou à une autre cause de trouble du sommeil nocturne.

Les troubles du sommeil en relation avec un trouble respiratoire

Ils comprennent principalement les différents syndromes d'apnée du sommeil, centrale ou obstructive. Ils se retrouvent chez 2 à 4 % de la population générale. Avec un sex ratio en faveur de l'homme, ils se manifestent par des interruptions répétées et incontrôlées de la respiration pendant le sommeil, caractérisées par des obstructions itératives des voies aériennes supérieures et entraînant des micro-réveils. Ils entraînent une fragmentation du sommeil avec somnolence diurne. Favorisés par le surpoids, ils sont corrélés au diabète et aux syndromes métaboliques, et donnent lieu à des complications vasculaires fréquentes.

Le syndrome des jambes sans repos

Trouble des mouvements liés au sommeil, le syndrome des jambes sans repos (ou maladie de Willis-Ekbom) se caractérise par le besoin impérieux de bouger les membres inférieurs, associé ou non à des sensations désagréables dans les membres inférieurs. Ils se manifestent avant l'endormissement et le perturbent, pouvant même conduire à une fragmentation du sommeil. Sa prévalence est estimée à 10 % [473], et il serait lié à un excès de dopamine [474].

Les parasomnies

Les parasomnies de l'éveil lors d'une période de SL comprennent les éveils confusionnels, les terreurs nocturnes ou le somnambulisme. Leur prévalence est de l'ordre de 2 %, avec un pic pendant l'enfance [475], [476]. Les parasomnies du SP incluent les troubles du comportement en sommeil paradoxal, les paralysies du sommeil isolées ou récurrentes et les cauchemars. On pense que les parasomnies

peuvent avoir une composante génétique, mais elles sont le plus souvent favorisées par des éléments extérieurs, qui vont perturber l'architecture normale du sommeil.

Troubles du sommeil et troubles psychiatriques

De nombreuses études ont montré une association entre troubles mentaux et insomnie. Trente à 60 % des personnes souffrant de troubles mentaux rapportent des insomnies [472], [477]. Des patients souffrant d'insomnie au long cours, encourent quatre à huit fois plus de risque de développer un trouble mental que la population générale [478], alors que jusqu'à 80 % des patients présentant une dépression sévère, sont atteints d'insomnie chronique [472]. Une méta-analyse sur 18 articles rapporte un risque de démence augmenté significativement, pour les patients atteints d'insomnie ou de trouble respiratoire du sommeil [479].

Dépression

Il existe une relation inversement proportionnelle entre la sévérité de la dépression et la quantité suffisante de sommeil [480]. Ainsi, parmi une population de 88 patients adultes atteints de dépression majeure, plus de 90 % souffraient d'insomnies. Une méta-analyse incluant plus de 570 000 participants atteints de différents troubles mentaux retrouvait une prévalence de plus 36 % de troubles ventilatoires du sommeil [481]. Les altérations du cycle éveil/sommeil observées sont une diminution de la durée de sommeil, associée à une latence d'endormissement plus longue [482].

Troubles bipolaires

Il a été montré que les troubles du sommeil retrouvés chez les patients bipolaires pouvaient être retrouvés durant toutes les phases de la pathologie, et même entre les épisodes pathologiques [483], [484]. Les principaux troubles documentés pendant les périodes de dépression incluent les insomnies, les éveils nocturnes, les hypersomnies ainsi qu'une latence d'endormissement plus longue [480], [485]. A l'opposé, pendant les épisodes maniaques, une rupture de l'équilibre du rythme circadien est associée fréquemment à des insomnies [486]. Entre 70 et 99 % des patients souffrant de troubles bipolaires ont également des troubles du sommeil pendant la phase maniaque [487]. Ceux-ci seraient

liés à un chronotype particulier (routine quotidienne instable, difficulté à ralentir l'activité en phase nocturne) pouvant dérégler l'horloge circadienne et participer ainsi à l'apparition des troubles du sommeil. Parallèlement, les troubles respiratoires du sommeil sont retrouvés avec une prévalence de 25 % chez les patients bipolaires [481].

Comportement suicidaire

Le comportement suicidaire est souvent lié à des causes psychologiques tel que le désespoir, accompagné de solitude ou d'isolement social, mais également à un trouble mental tel que la dépression, le trouble bipolaire, la schizophrénie, l'alcoolisme ou l'abus de substances. D'autres facteurs externes peuvent également intervenir (stress, etc...). Une méta-analyse de 39 études regroupant plus de 147 000 patients, a permis d'associer significativement troubles du sommeil et risque augmenté d'idées suicidaires, de tentatives de suicides ou de suicides, avec un risque relatif allant de 1,95 à 2,95 [488]. Une étude de cohorte entre 2000 et 2013, incluant près de 500 000 patients, retrouvait un taux de risque suicidaire 3,5 fois plus important chez les patients souffrant d'insomnies, que dans la population sans insomnie. Ce risque montait jusqu'à quatre fois plus chez les femmes et était 18 fois supérieur chez les patients atteints de troubles mentaux et d'insomnies par rapport aux patients avec troubles mentaux uniquement [478]. De façon similaire, une étude réalisée chez 381 vétérans américains a montré que les troubles du sommeil étaient associés, après ajustement, à une diminution de la durée de vie et à un délai raccourci avant tentative de suicide [489]. Cette association avec l'ensemble des troubles du sommeil a été rapportée dans une autre étude, bien qu'après ajustement, seule l'insomnie soit significativement associée [490]. L'association est d'autant plus forte si l'on regarde une population de patients atteints de troubles mentaux : une méta-analyse regroupant 19 articles a montré que les patients souffrant de troubles du sommeil étaient significativement plus à risque de comportement suicidaire (OR = 1.99 CI₉₅ 1,72-2,30). L'OR atteint 2,5 (CI₉₅ 1,91-3,43) pour les patients atteints de choc post-traumatique, trois pour ceux atteints de dépression (CI₉₅ 2,07-4,48), pour aller jusqu'à 12 chez les patients schizophrènes (CI₉₅ 1,40-114,44)

[491]. Cette association était significative pour les insomnies, les parasomnies et les troubles ventilatoires [491]. Chez les patients bipolaires, on retrouve une prévalence de l'insomnie de 45 % chez ceux ayant fait une tentative de suicide vs seulement 25 % chez ceux n'en ayant pas fait [492]. Concernant la dépression, quel que soit son niveau de gravité, il a été retrouvé une association entre tendances suicidaires et altération du SL, ainsi qu'éveils nocturnes [493].

Schizophrénie

Les troubles du sommeil sont très fréquents dans cette population, allant de 44 à 80 % selon les études [494], [495], et influant grandement sur la qualité de vie de ces patients [494]. Les insomnies sont retrouvées majoritairement, suivies par les syndromes d'apnée obstructive du sommeil avec une prévalence de 15 % [481], par les syndromes des jambes sans repos et les troubles du rythme circadien [495].

Troubles du sommeil et pathologies neurodégénératives

Touchant plus d'un million de personnes en France, les maladies neurodégénératives provoquent une détérioration du fonctionnement des neurones, pouvant conduire à la mort cellulaire. On parle de neurodégénérescence. Les troubles induits sont variés et peuvent être d'ordre cognitivo-comportemental, sensoriel et moteur. Les troubles du sommeil sont fréquents dans ces pathologies chroniques. Ils peuvent être causés par les premiers symptômes de la maladie ou bien résulter de lésions des centres régulateurs du sommeil. La dégénérescence fonctionnelle du SCN entraîne des troubles du rythme circadien impactant la fonction cognitive et exacerbant la symptomatologie de la maladie neurodégénérative. De plus, des altérations de la transmission neuronale sont fréquentes (au niveau orexinergique), ainsi que des modifications de la sécrétion mélatoninergique [496]. Il est à noter que les troubles du sommeil sont des signes cliniques précurseurs pouvant apparaître plusieurs années avant la déclaration de la maladie [497], [498]. Certains algorithmes diagnostiques les prennent d'ailleurs en compte.

La maladie de Parkinson

Selon les études, jusqu'à 80 % des patients atteints de la maladie de Parkinson sont également touchés par des troubles du sommeil [499], principalement à type d'insomnies [500]. Les malades parkinsoniens peuvent être touchés par des troubles du sommeil tels que l'insomnie, citée précédemment, mais également le syndrome des jambes sans repos ou des troubles du comportement du SP [501], [502]. On retrouve également des troubles de l'éveil à type d'hypersomnies ou d'attaques narcoleptiques [503], [504].

Autres synucléionopathies

Les autres synucléionopathies font également le lit des troubles du sommeil. Dans le cas de la démence à corps de Lewy, on retrouve principalement des troubles du comportement du SP. De la même façon, dans l'atrophie multi-systématisée, on observe des troubles du comportement du SP, des insomnies et des troubles ventilatoires du sommeil. Ceci est particulièrement intéressant, car une étude rapporte que 80 % des patients présentant des troubles du comportement du SP évoluent à terme vers des synucléionopathies [505].

La maladie d'Alzheimer

Cause la plus fréquente de démence chez l'être humain, les troubles du sommeil associés sont une diminution du SL et du SP, avec potentiellement des éveils nocturnes. On retrouve également des troubles du rythme circadien, ainsi que des troubles ventilatoires dans 25 à 50 % des cas. Ces troubles ventilatoires sont par ailleurs associés à un risque accru de développer la maladie [506].

La maladie de Creutzfeld-Jakob

Egalement appelée encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible, elle est due à l'accumulation dans le cerveau d'une protéine de conformation spatiale anormale, le prion. Une étude sur des patients asymptomatiques porteurs d'une mutation de PRNP a montré des troubles de l'activité de l'EEG [507]. Chez les patients symptomatiques, tous avaient des troubles du sommeil, les anomalies retrouvées étaient une perte des spindles et une absence de SP [508]. On constate également une

baisse de l'efficacité du sommeil, due à une diminution du SL et du SP, associée à des éveils nocturnes. Des troubles ventilatoires sont également rapportés, mais également une diminution de l'atonie caractéristique du SP, pouvant conduire à des troubles du comportement du SP. Dans cette maladie, les troubles du sommeil sont considérés comme des symptômes précoces de la maladie [509].

Il reste toutefois important de noter que ces troubles semblent être plurifactoriels : les lésions et altérations fonctionnelles cérébrales sont à associer aux traitements médicamenteux, mais également à la personnalité potentiellement pathologique sous-jacente et à tout ce qu'elle implique en terme d'hygiène de vie [477].

Sommeil et inflammation

L'inflammation est également considérée comme ayant un rôle dans la dysrégulation du sommeil. Sommeil et réponse immunitaire sont intimement liés. Les troubles du sommeil altèrent l'immunité et un processus infectieux est capable d'altérer le cycle éveil/sommeil. Ceci est corroboré par la présence de cytokines inflammatoires dans le SNC, dont l'interleukine-1 β , l'IL-6, le TNF- α , et l'IFN- γ [510]. Ces cytokines, ainsi que leurs récepteurs sont exprimés dans les neurones, les astrocytes et la microglie [511], dans les régions impliquées dans le cycle éveil/sommeil. Ainsi les interactions neuronales habituelles sont altérées par la réponse immunitaire, résultant en une augmentation et une fragmentation du SL, alors que le SP est quasi absent : on parle de « sickness behaviour » [512].

Sommeil et infections

Ce syndrome de « sickness behaviour » est caractéristique des infections aiguës, associant fièvre, douleurs et altération de l'état général. Plusieurs études se sont intéressées à l'effet sur le sommeil d'infections bactériennes, fongiques ou virales et ont montré une augmentation du SL, associée ou non à une baisse du SP [513]–[517]. L'injection de composants de la paroi bactérienne, que ce soit des bactéries à Gram positif ou négatif, objective également cette augmentation de SL et cette diminution de SP [518], aussi bien dans un modèle murin que chez l'Homme. Sur le même modèle, l'injection

systémique de TNF α ou d'IL-1 β , impliqués dans la reconnaissance des pathogènes, ont un effet réversible d'augmentation du SL [412]. D'autres études, s'intéressant à d'autres cytokines, tendent à corroborer l'hypothèse que l'inflammation et ses médiateurs entraînent une augmentation de la durée de sommeil : la somnolence bien connue des malades au fond de leur lit.

La lésion de certains centres particuliers peut, par ses effets stéréotaxiques, induire des troubles du sommeil. On retrouve dans la littérature douze cas d'encéphalite limbique entraînant dans 30 % des cas, des troubles ventilatoires du sommeil ou des syndromes des jambes sans repos [519], des lésions médullaires post-méningitiques à pneumocoque conduisant à des troubles du rythme respiratoire [520], ou bien une rhombencéphalite à *Listeria* qui a entraîné une apnée centrale par lésion du pont et de la formation réticulée [521]. En revanche, en ce qui concerne les infections chroniques, les effets sont moins marqués. En 2008, une étude portant sur 43 cas de méningite tuberculeuse, confirme une altération du cycle éveil/sommeil. Les auteurs rapportent une augmentation de la durée de sommeil la journée et une diminution de celle-ci la nuit, associée à des phases plus fréquentes et prolongées la nuit [522]. Concernant les infections virales chroniques, plusieurs équipes ont publié des résultats qui vont dans le même sens, en étudiant les altérations dues à l'infection du SNC par un herpes virus, à savoir une augmentation du SL et du SP pendant la nuit, avant un retour à la normale après une dizaine de jour [523]. L'infection par un autre herpes virus murin a montré une augmentation significative de la fatigue et du sommeil associée à une qualité de sommeil diminuée [524].

Troubles du sommeil et VIH

Dans le cas d'infection par le VIH mal ou non traitée, il est possible que le virus infecte le SNC, ayant pour réservoir principal les cellules de la microglie [525], [526]. Les complications résultant de cette infection chronique du SNC sont dénommées Désordres Cognitifs Associés à l'infection VIH, et peuvent aller jusqu'à la démence. Comme nous l'avons vu avec les pathologies neurodégénératives, les troubles du sommeil y sont fréquemment associés, retrouvés à tous les stades de la maladie et pouvant précéder le diagnostic. Une association significative avec le degré d'immunosuppression est par

ailleurs retrouvée [527]. Ainsi, une méta-analyse comprenant plus de 9 000 patients a retrouvé une prévalence de 58 % de troubles du sommeil [528], cette prévalence allant jusqu'à plus de 80 % d'insomnies dans une étude de 2018 [529]. Ce qui se dégage majoritairement de la littérature, est une diminution du sommeil, associé à une latence d'endormissement plus longue, une fragmentation du sommeil avec altération des phases de SL et de SP [530]. Une seule étude montre, quant à elle, une augmentation de la durée de SL [531].

La trypanosomiase africaine humaine ou maladie du sommeil

Infection parasitaire due au protozoaire flagellé *Trypanosoma brucei*, elle est transmise par la piqûre d'une mouche, la glossine dans les forêts d'Afrique tropicale. Maladie mortelle en l'absence de traitement, elle évolue en deux phases, une première phase lymphatico-sanguine qui sera suivie, après passage de la BHM, d'une phase méningo-encéphalitique. Après un délai variable, les signes cliniques de cette deuxième phase comportent des troubles sensitifs, moteurs, psychiques (à type de troubles du comportement, de l'humeur, hallucinations), métaboliques, et surtout des troubles du sommeil qui ont donné son nom à la maladie [532]. La présence d'une glycoprotéine de surface variable permet la persistance du parasite par échappement à la réponse immunitaire, mais stimule également la production excessive et prolongée de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β et TNF α) [533]. Les altérations du sommeil sont observées dans toutes les phases de la maladie et tendent à s'aggraver avec la progression de celle-ci. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, dès le XIX^{ème} siècle, on rapportait que les malades présentaient de nombreuses phases de sommeil désynchronisées et de courte durée tout au long du cycle nyctéméral [534]. Les études polysomnographiques qui ont suivies, ont confirmé que la maladie du sommeil ne procédait pas d'une hypersomnie, mais plutôt d'une fragmentation du sommeil, avec une somnolence diurne et une insomnie nocturne, associée à une altération de la structure normale du sommeil du fait de l'existence de SOREM (Sleep Onset Rapid Eye Movement). Les SOREM sont des épisodes de SP, précédés par des périodes de WK au lieu d'une période de SL. Cette présentation clinique se rapproche de celle de la narcolepsie, pathologie résultant

d'un défaut de production d'orexine. Une équipe a ainsi montré que les taux d'orexine dans le liquide céphalo-rachidien de patients atteints de la maladie du sommeil, étaient supérieurs à ceux de patients narcoleptiques, tout en restant inférieurs à la normale [535]. Ceci a été confirmé par la suite dans un modèle murin de trypanosomiase africaine testant l'implication de l'HL (sécrétant l'orexine et la MCH) dans la genèse des troubles du sommeil [536]. D'autres études chez l'animal ont établi une stimulation de la production de NO suite à l'infection parasitaire, mais son rôle reste encore mal compris [537].

L'ensemble de ces altérations résulte probablement de phénomènes complexes intriqués. L'infection de zones particulières, siège de neurones sécrétant un neurotransmetteur particulier, les cascades inflammatoires résultant de l'infection sont autant de mécanismes à élucider. Les mécanismes moléculaires et cellulaires régulant les altérations du cycle éveil/sommeil sont autant de pistes à explorer pour améliorer la compréhension des troubles du sommeil, autant dans les pathologies mentales qu'infectieuses.

L'ensemble des observations mentionnées souligne l'importance d'étudier les effets de cette infection chronique sur le comportement de l'hôte. Par ailleurs, l'altération du cycle éveil/sommeil impacte fortement la vigilance, l'attention et la conscience de soi, qui, à leur tour, influent sur le comportement. Ceci pourrait constituer une des cibles pour la manipulation comportementale de l'hôte par le parasite. Par ailleurs, la coexistence de troubles du sommeil et de nombreuses pathologies neurodégénératives ou neuropsychiatriques nous laisse penser que la toxoplasmose chronique pourrait constituer le chaînon manquant entre ces pathologies et les troubles du sommeil associés qui sont parfois présents avant l'apparition des signes cliniques.

C'est ce qui nous a conduit à élaborer un modèle murin expérimental permettant l'étude de la phase chronique de l'infection, tant au point de vue du cycle éveil/sommeil que du comportement. Nous avons ainsi examiné les altérations quantitatives et qualitatives de la régulation du cycle éveil/sommeil par le biais de la durée et du nombre d'occurrence de chaque état de vigilance (éveil, sommeil lent et

sommeil paradoxal) ainsi que par les caractéristiques spectrales des tracés EEG de chaque état de vigilance.



Received: 29 January 2021 | Revised: 21 March 2021 | Accepted: 24 March 2021

DOI: 10.1111/cns.13650

ORIGINAL ARTICLE

CNS Neuroscience & Therapeutics WILEY

Chronic *Toxoplasma gondii* infection and sleep-wake alterations in mice

Damien Dupont^{1,2} | Jian-Sheng Lin² | François Peyron¹ | Hideo Akaoka² | Martine Wallon^{1,2}

¹Institut des Agents Infectieux, Parasitologie Mycologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²Physiologie intégrée du système d'éveil, Faculté de Médecine, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028-CNRS UMR 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

Correspondence

Damien Dupont, Institut des Agents Infectieux, Parasitologie Mycologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, F-69004, France.
Email: damien.dupont@chu-lyon.fr

Abstract

Aim: *Toxoplasma gondii* (*Tg*) is an intracellular parasite infecting more than a third of the human population. Yet, the impact of *Tg* infection on sleep, a highly sensitive index of brain functions, remains unknown. We designed an experimental mouse model of chronic *Tg* infection to assess the effects on sleep-wake states.

Methods: Mice were infected using cysts of the type II Prugnnaud strain. We performed chronic sleep-wake recordings and monitoring as well as EEG power spectral density analysis in order to assess the quantitative and qualitative changes of sleep-wake states. Pharmacological approach was combined to evaluate the direct impact of the infection and inflammation caused by *Tg*.

Results: Infected mouse exhibited chronic sleep-wake alterations over months, characterized by a marked increase (>20%) in time spent awake and in cortical EEG θ power density of all sleep-wake states. Meanwhile, slow-wave sleep decreased significantly. These effects were alleviated by an anti-inflammatory treatment using corticosteroid dexamethasone.

Conclusion: We demonstrated for the first time the direct consequences of *Tg* infection on sleep-wake states. The persistently increased wakefulness and reduced sleep fit with the parasite's strategy to enhance dissemination through host predation and are of significance in understanding the neurodegenerative and neuropsychiatric disorders reported in infected patients.

KEYWORDS

infection, neuropsychiatric disorders, sleep, *Toxoplasma*, wakefulness

1 | INTRODUCTION

Toxoplasma gondii (*Tg*) is a remarkably successful obligate intracellular protozoan parasite that infects all warm-blooded animals and 30% of the world population.¹ After infection, the parasite

transforms into fast replicating tachyzoites that disseminate throughout the host's tissues. Subsequent development of cellular immunity and production of antibodies lead the parasite into entering a chronic phase whereby it remains quiescent for the life of the host as tissue cysts with bradyzoite stages preferentially

Abbreviations: DXM, dexamethasone; EEG, electroencephalogram; EMG, electromyogram; pi, post-infection; PS, paradoxical sleep; SWS, slow-wave sleep; SXT, Sulfamethoxazole-Trimethoprim; *Tg*, *Toxoplasma gondii*; WK, waking.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2021 The Authors. *CNS Neuroscience & Therapeutics* Published by John Wiley & Sons Ltd.

CNS Neurosci Ther. 2021;27:895–907.

wileyonlinelibrary.com/journal/cns | 895

located in the central nervous system (CNS), eyes, and skeletal muscles.²

Accumulated evidence indicates that this persistence of *Tg* may lead to physiological and behavioral consequences in infected rodents, resulting in reduced fear of Felidae their natural predators and even sexual attraction to their urine,³⁻⁹ as well as decreased mechanisms of warning and anxiety,¹⁰ and higher activity level.¹¹

Tg infection may also contribute to neurological and psychiatric symptoms in humans. Epidemiological studies suggested a possible link between *Tg* infection and schizophrenia^{12,13} and other mood, behavioral, or neurological disorders. Several literature reviews confirmed the heterogeneity of designs and findings and failed to provide clear conclusions. Yet, these human studies have provided interesting clues, contradicting the current belief that chronic postnatal infection is asymptomatic in immune-competent subjects.

Surprisingly, little attention has been paid to sleep-wake cycle alteration. Yet, the large prevalence of sleep disorders in the general population closely matches that of toxoplasmosis, both estimated to be around 30%.^{1,14} Moreover, sleep constitutes a highly sensitive index of brain functions, as sleep disorders are often found to be associated with mood, behavioral, and neurological disorders, even at their early stage.¹⁵⁻¹⁷ Interestingly, *Tg* cysts are randomly distributed in all brain areas, but overlapping those that control the sleep-wake cycle.^{18,19} Of note, neuromodulators known as sleep-wake regulators, such as melatonin and monoamines including norepinephrine, dopamine, and serotonin, are found to be markedly altered by *Tg* infection, indicating that it can affect vigilance states.²⁰⁻²² Finally, our clinical records indicate occurrence of sleep disturbances in a cohort of congenitally and postnatally infected individuals (unpublished data).

We therefore sought to establish a mouse model to unambiguously assess the consequences of chronic *Tg* infection on sleep and wakefulness in laboratory-controlled conditions, and thus, to highlight the impact of sleep alteration on behavioral, neurological, and neuropsychological functions in infected patients and to provide the required guidance for human studies.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Animals

All experiments were conducted according to the European Ethics Community Directive for the use of research animals (2010/63/EC). We followed the 3R principles to minimize the number of animals used, pain, and discomfort. The experimental protocol and procedures were approved by the local ethics committee for animal experimentation of Lyon 1 University (No. APAFIS#22363-2019100915103240). Both experimental design and conduct of the study were performed strictly according to the ARRIVE guidelines.²³

Male, inbred CBA/Jrj mice were purchased from Janvier Labs, France with a certification as free of pathogenic viral, bacterial, and parasitic contaminants. Known to be susceptible to chronic infection

by *Tg*, they were housed two per cage in our BSL2 animal facility (Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France). Room temperature was maintained at 22°C (+/- 2°C) with a 12 h light/dark cycle (light-on at 7AM). Animals were monitored every day and handled regularly for habituation.

2.2 | Infection with *Tg*

All procedures manipulating infectious materials were performed in our BSL2 animal facility. Outbred female OF1 mice were also purchased from Janvier Labs, France. They were housed four per cage and were only used to multiply and perpetuate the *Tg* strain used for inoculation. We used *Tg* cysts of the canonical type II, avirulent PRU strain, representative of the European epidemiology. Considering its kystogenic profile, it allows to study the chronic phase of toxoplasmosis. We obtained the initial batch (Strain TgH 00001) from the French National Reference Center, as a brain homogenate of female Swiss Webster mice that had been infected intraperitoneally. The homogenate was diluted in sterile saline. OF1 mice were chronically infected by intraperitoneal injection of five cysts per mouse to maintain the *Tg* strain. On the day of inoculation, infected OF1 mice were euthanized under deep anesthesia. Their brains were removed, then homogenized in sterile saline. Using this homogenate, we orally infected 11- to 14-week-old CBA/Jrj mice by gavage (20 cysts) to mimic the natural route of infection and avoid possible peritoneal inflammation.²⁴ Control CBA/Jrj mice were inoculated in the same fashion with a brain homogenate prepared from healthy, non-infected OF1 mice. In order to study the chronic phase of infection, inoculated and control mice underwent surgery as described below between 18 and 22 weeks of age—at least eight weeks after inoculation—and with a body weight of 25-35 g. Infection was verified by the presence of blood-borne anti-*Tg* antibodies, using an ELISA kit (bioMérieux, France), between 4 and 5 weeks post-infection (pi).

2.3 | Surgery

Control and infected CBA/Jrj mice were anesthetized using isoflurane (oxygen flow rate 200 mL/min, 3%-4% initially, maintenance at 1%). We placed each mouse in a stereotaxic apparatus with a heating pad maintaining the animal rectal temperature at 37 ± 1°C. After shaving, the skin over the skull was rubbed with iodine, sectioned longitudinally, and reclined to expose the skull. Four holes (Ø = 0.5 mm) were drilled in the skull at the following coordinates: frontal (1 mm lateral and anterior to bregma) and parietal (1 mm lateral to the midline at the midpoint between bregma and lambda) cortices of both left and right sides. These procedures preserve the integrity of all brain-protecting membranes (dura and pia, particularly). Four cortical electrodes (gold-plated, tinned-copper wire, Ø = 0.4 mm; Filotex, Draveil, France) were placed into these holes for electroencephalogram (EEG). Three muscle electrodes (gold-plated fluorocarbon-coated stainless-steel wire,

$\varnothing = 0.03$ mm; Cooner Wire, Chatworth, CA) were inserted into the neck for electromyogram (EMG) recordings. EEG was differentially recorded between two electrodes overlying frontal and parietal cortice of one side. These electrodes were priorly soldered to a multichannel electrical connector, and each was separately insulated with heat-shrinkable polyolefin/polyester tubing. Finally, the electrode assembly was anchored to the skull with Super-Bond (Sun Medical Co., Shiga, Japan) and embedded with dental cement. The skin was sutured around implant. After subcutaneous injections of Carprofen (Rimadyl, 5 mg/kg) and sterile saline containing 5% glucose, animals were warmed until recovery. We kept each mouse under close observation for another six days: weight, behavior, eating, and drinking activities were monitored. Our implantation procedures allowed stable polygraphic recordings for more than six months.

2.4 | Polysomnographic data acquisition and analysis

After surgery, each mouse was housed individually in a transparent barrel (\varnothing 20 cm, height 30 cm) in a ventilated animal cabinet located in a sound-proof recording room with an ambient temperature of $22 \pm 2^\circ\text{C}$, a 12 h light/dark cycle (light-on at 7^{AM}), food and water *ad libitum*. Mice were habituated to the recording cable connecting implant to a swivel connector for five days before starting polysomnographic (EEG and EMG) recordings.

Fronto-parietal EEG and EMG signals were amplified and filtered (bandwidth 0.3-100 Hz for EEG, 10-100 Hz for EMG). These signals were digitalized with CED 1401 converter (Cambridge Electronic Design, UK) with a sampling rate of 512 Hz using Spike2 software (Cambridge Electronic Design). We used Sleepscore software (ViewPoint, Lyon, France) to determine the vigilance states every 5-sec epoch: WK, SWS, and PS, according to previously described criteria.²⁵⁻²⁷ All sleep-wake recordings were scored blind. Total durations (\pm SEM) of each vigilance state were calculated for light (7^{AM} to 7^{PM}), dark (7^{PM} to 7^{AM}), and 24 h periods. For each vigilance state, the total number of episodes and the mean duration (\pm SEM) of one episode were calculated for each period. All durations were expressed in minutes. In order to evaluate the contrast of sleep-wake states between light and dark phases and as a criterion of sleep-wake circadian rhythms, we used the light/dark ratio for sleep stages (dark/light for WK), obtained by 12 hours sleep-wake amounts before lights-off, divided by those after lights-off.

In addition to quantitative analyses, a qualitative approach consisted in assessing the possible difference of EEG power spectrum between infected and uninfected groups. EEG power spectra were computed every 5-sec epochs for the frequency range of 0.5-40 Hz using fast Fourier transform. For each vigilance state, the total power of densities was obtained over the frequency range of 0.5-40 Hz for each state of vigilance by adding all epochs of a given state. All power spectral densities were standardized at the different

frequency ranges, which were expressed as percentage relative to the total power observed for each vigilance state.

2.4.1 | Experimental procedure

We performed three sets of independent experiments to minimize the possible variation in the effectiveness of inoculation. For all sets, we simultaneously recorded infected vs. uninfected control mice. We used two infected vs. two uninfected control mice in the first, pilot batch, and two controls vs. six infected mice for each one of the two subsequent sets. In total, six control and 14 infected mice were subjected to the following experimental procedures.

2.4.2 | Spontaneous cortical EEG and sleep-wake recordings

After recovery from surgery and habituation to the recording cables, each mouse was recorded for two days. We repeated such recording sessions two to three times a week. Our recordings could last up to six months to evidence chronic alterations in sleep/wake cycle, as the pi period may be important to reveal possible differences between control and infected mice.

2.4.3 | Cortical EEG and sleep-wake cycle after pharmacological administration

Using pharmacological tools, we tentatively evaluated whether *Tg* infection causes sleep-wake effects by affecting surrounding tissue via inflammatory process or by direct *Tg* activity or excretion. The anti-inflammatory corticosteroid DXM (dexamethasone sodium phosphate) was administered at a dose of 2.5 mg/kg/day (5 mg DXM per liter of drinking water) for seven consecutive days.²⁸ A longer period of administration has been shown to lead to an immunodepression which may reactivate *Tg*.²⁹

Sulfamethoxazole-Trimethoprim (SXT), an antimicrobial synergistic compound (Bactrim®) exhibiting activity against replicating forms of the parasite, is generally used against the effects of the acute phase of *Tg* infection. It was administered in drinking water respectively at a dose of 95 mg/kg/day and 19 mg/kg/day for 10 consecutive days.²⁸

Treatments were separated by a wash-out of 2 weeks (Figure 1).

2.5 | Statistical analysis

We used GraphPad Prism 7.0 for all analyses. All experimental data were firstly examined for their value distribution using d'Agostino Pearson normality test. When the data were non-normally distributed, nonparametric Mann-Whitney tests were used. Two-way ANOVA and unpaired Student's *t* test were used when the data were

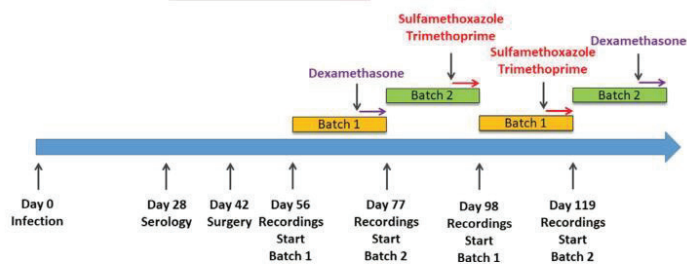


FIGURE 1 Chronology of experiments. Colored bands represent recording periods, colored arrows represent pharmacological administration of either dexamethasone or sulfamethoxazole-trimethoprim. Time between recording periods consists of a washing period with no EEG nor EMG recordings [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

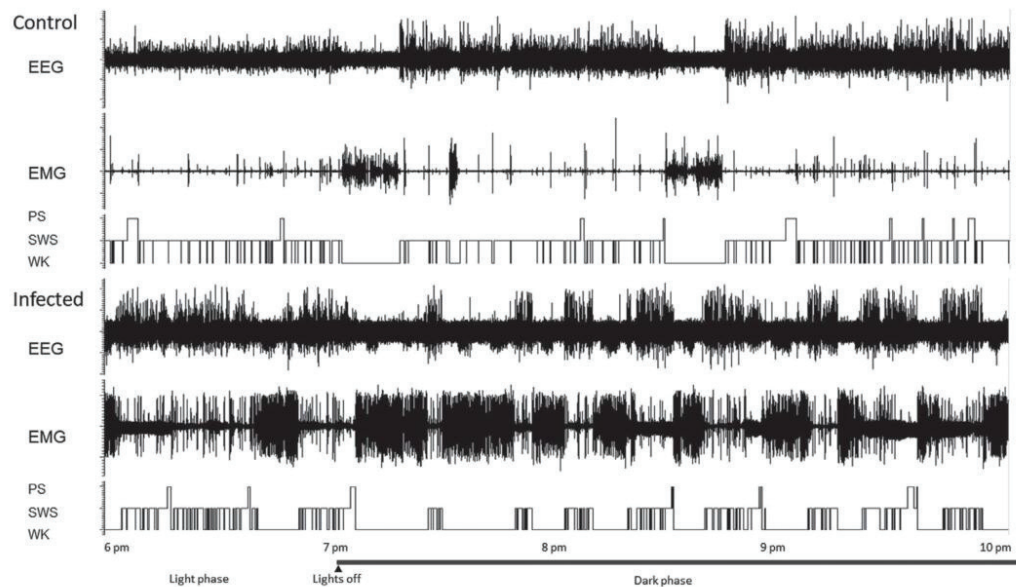


FIGURE 2 Comparison of spontaneous sleep-wake parameters in non-infected (up) and infected mice (low): Examples of polygraphic recordings and corresponding hypnograms showing the spontaneous sleep-wake cycle

normally distributed. Two-way ANOVA with repeated measures for both factors was used to evaluate the differences between control and infected mice with pi time. Drug effects were evaluated with pi time using the same procedure. These tests were followed by post hoc Holm-Sidak test for multiple pair-wise comparisons. All data are expressed as the mean \pm SEM. All tests used were two-tailed with a significance level of alpha set at 0.05.

3 | RESULTS

3.1 | General observations

Infected mice appeared to develop normally as compared to uninfected mice. No obvious abnormalities were detected in terms of general morphology, food intake, reactivity when being handled, or other behaviors under baseline conditions. Yet, infected mice

appeared to execute more locomotive activities than uninfected mice as shown by our electromyogram (EMG) recordings (Figure 2). As reported previously,³⁰ a significant difference in body weight appeared at week 2 pi (-1.7 g weight gain vs $+1.7$ g in uninfected mice; $n = 10$ for both groups, $P = 0.0159$, nonparametric Mann-Whitney test). No difference in lifespan was observed.

3.2 | Increased wakefulness and decreased slow-wave sleep in Tg-infected mice

In baseline conditions, Tg mice exhibited a circadian sleep-wake rhythm quite characteristic of CBA/Jrj mice, with increased activity (Figure 2) and a larger amount of waking (WK) during the dark phase (Figure 3). Compared to uninfected mice, the total amount of WK in Tg mice was significantly increased over all light-dark phases. This effect was due to a significant increase in both mean episode

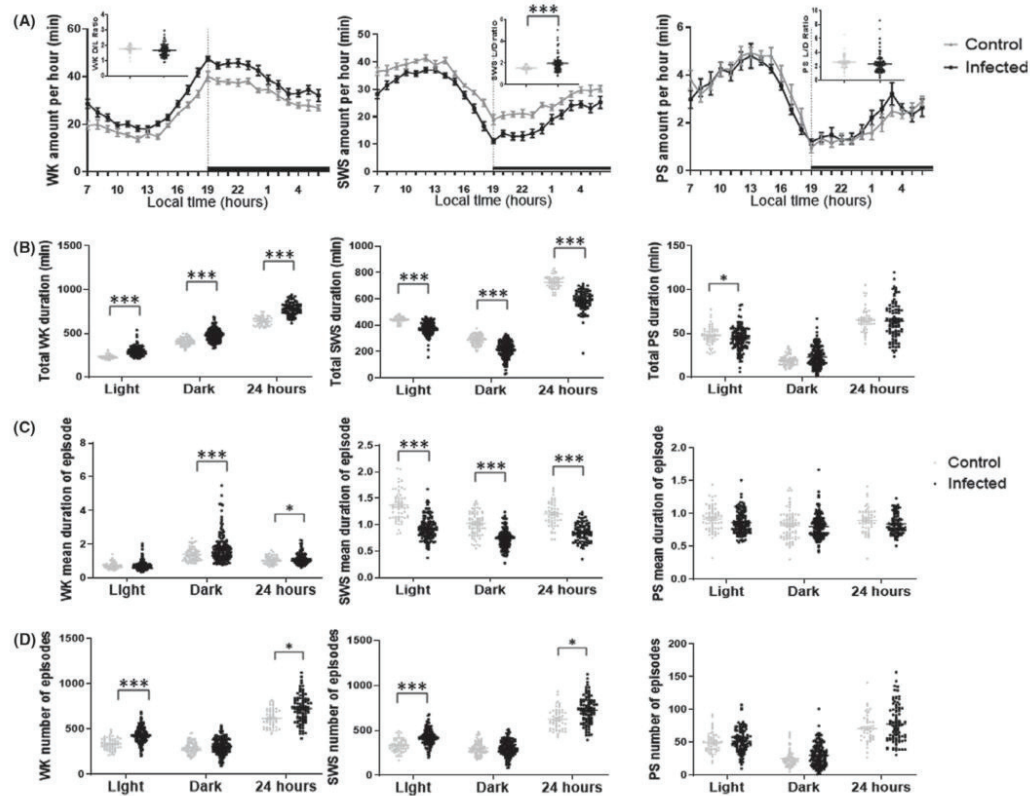


FIGURE 3 A, Sleep-wake states amount per hour: Mean hourly values (\pm SEM in min) of the sleep-wake states. The dark areas correspond to the dark period. The non-background inserted dot plots correspond to the light/dark or dark/light (L/D or D/L) ratio of sleep-wake amount before and after lights-off. B, Total sleep-wake states duration: Means \pm SEM (in min) of the sleep-wake stages for the 12 h light and dark and 24 h periods. C, Mean duration of episodes of each sleep-wake state during the light, dark and 24 hours period (mean values \pm SEM (in min)). D, Mean number of episode of each sleep-wake state during the light, dark, and 24 hours period (mean values \pm SEM). Other abbreviations: PS, Paradoxical Sleep; SWS, Slow-Wave Sleep; WK, Waking. * $P < 0.05$, *** $P < 0.0001$ two-way ANOVA and unpaired Student's *t* test (A, inserted dot plots, two tails)

duration and number of episodes during 24 hours, with a marked increased episode duration during the dark phase and a more pronounced increase in the number of episodes during the light phase (Table 1).

Concomitantly, the total amount of slow-wave sleep (SWS) was decreased over all phases ($P < 0.0001$). The decreased SWS was characterized by a decrease in episode duration and an increase in episode number (Table 1) indicating sleep fragmentation in *Tg* mice. Such sleep fragmentation occurred more prominently during the light phase (the primary sleep period) than during the dark phase (when mice are more aroused) (Table 1). No fragmentation was noted with regards to WK. As revealed by hourly analysis of the sleep-wake amounts, the increase in WK and decrease in SWS were greater during the dark phase than during the light phase and notably during the first 4-5 hours

immediately after lights-off. The larger change of SWS during the dark phase leads to an increased light/dark ratio for SWS from 1.53 to 1.98 ($P = 0.0002$) (Figure 3), indicating disturbed circadian sleep rhythms in *Tg* mice. Nevertheless, WK light/dark ratio had no significant change. When analyzing latencies to sleep after lights-off, we found a significant delayed occurrence for SWS in *Tg* mice: 1169 s vs. 465 s (non-parametric Mann-Whitney test, $P = 0.0001$), in consistency with the enhanced WK observed with *Tg* mice.

The decrease in SWS was accompanied by a reduced total amount of paradoxical sleep (PS) during the light phase only ($P = 0.0059$) (Table 1, Figure 3). No significant changes of PS, either in terms of total amount or episode number and duration, were noted during the dark phase and over 24 h. The latency to PS after lights-off was not significantly modified (4638 s vs. 4608 s; $P = 0.8412$).

TABLE 1 Summarized results for difference in vigilance states (total amount, number of episodes, and duration of episodes) between infected and control mice

| | 24 hours | | | Light period | | | Dark period | | |
|---------------------------|----------------|----------------|---------|----------------|----------------|---------|----------------|----------------|---------|
| | Infected | Control | P | Infected | Control | P | Infected | Control | P |
| WK | | | | | | | | | |
| Mean total amount | 785.7±8.747 | 634.8±7.629 | <0.0001 | 298.2±4.732 | 231.7±3.526 | <0.0001 | 478.5±5.458 | 401.8±5.514 | <0.0001 |
| Mean number of episodes | 727±15.33 | 625.9±16.35 | 0.0106 | 429.1±7.907 | 332.3±8.752 | <0.0001 | 306.9±6.744 | 301.6±7.801 | 0.4312 |
| Mean duration of episodes | 1.145±0.03537 | 1.061±0.03358 | 0.0260 | 0.7435±0.02306 | 0.7262±0.02307 | 0.2377 | 1.794±0.07682 | 1.416±0.04897 | <0.0001 |
| SWS | | | | | | | | | |
| Mean total amount | 586.6±7.907 | 730.9±7.2 | <0.0001 | 378.0±4.384 | 439.7±3.43 | <0.0001 | 215.9±4.764 | 296.5±4.938 | <0.0001 |
| Mean number of episodes | 709.1±14.97 | 629.1±17.39 | 0.0268 | 422.4±7.706 | 332.8.9±8.944 | <0.0001 | 300.5±6.756 | 301.2±7.949 | 0.2258 |
| Mean duration of episodes | 0.8535±0.01778 | 1.207±0.03206 | <0.0001 | 0.9272±0.01804 | 1.385±0.04438 | <0.0001 | 0.7411±0.01504 | 1.027±0.02565 | <0.0001 |
| PS | | | | | | | | | |
| Mean total amount | 64.1±2.150 | 68.1±3.157 | 0.4055 | 43.6±1.188 | 48.4±1.739 | 0.0059 | 23.0±0.974 | 20.8±1.172 | 0.8047 |
| Mean number of episodes | 78.14±2.940 | 76.69±4.236 | 0.7743 | 52.0±1.578 | 57.2±4.781 | 0.0711 | 30.09±1.309 | 29.63±3.499 | 0.7574 |
| Mean duration of episodes | 0.8427±0.0158 | 0.8990±0.02594 | 0.5077 | 0.8624±0.01439 | 0.9227±0.02329 | 0.5709 | 0.8028±0.01377 | 0.8228±0.02373 | 0.9429 |

Note: Figures represent mean values ± SEM (minutes) for Tg-infected mice and -uninfected mice (control) during the different periods (24 hours, light, and dark). P value is calculated using two-way ANOVA with repeated measures to evaluate the differences between control and infected mice. All tests used were two-tailed with a significance level of alpha set at 0.05.

3.3 | Time course of sleep-wake changes induced by Tg infection

The increase in WK and decrease in SWS seen with Tg mice occurred in the second month. The effects were amplified during the third and fourth month, reaching their maximum at the fifth month (Figure 4), and remained important and statistically significant at the sixth month. The impact of time from infection was further confirmed using two-way ANOVA for both WK and SWS (Figure 4), on their total mean duration ($P = 0.008$ and $P = 0.0209$ for 24 h and light phase WK amount; $P = 0.0395$ and $P = 0.0002$ for 24 h and light phase SWS amount) and on their mean number of episodes during 24 h, light and dark periods for WK, and during the dark period for SWS. Finally, we examined the effect of Tg infection on the time course of these sleep-wake changes with the interaction term of ANOVA and found that they were modified according to the infective status. Indeed, Tg mice showed an increased WK and a decreased SWS over time whereas uninfected mice exhibited a decreased WK and an increased SWS (Figure 4). Thus, time exacerbates the effect of Tg infection on the sleep-wake states.

In contrast, PS amount during all light-dark phases had no clear change across time (data not shown).

3.4 | Qualitative alterations in power spectral density of cortical EEG during sleep-wake states

The distribution of cortical EEG power density and their spectral morphology during all light-dark phases were quite similar between Tg and WT mice. Yet, we noticed a markedly increased power spectral density in the θ rhythm (6-9 Hz) for all sleep-wake states, notably WK, as well as a decrease in low δ rhythm (1-2 Hz) (Figure 5). Of note, the differences seen during PS were less important than those seen during SWS and WK.

3.5 | Effects of pharmacological administrations on the sleep-wake changes caused by Tg infection

Since the major effect of Tg infection was enhanced WK, we attempted to identify its possible origin. Notably, such an effect could be due to a direct aggression on the brain tissue by Tg cyst or tachyzoite or to inflammatory reactions around the infected loci causing such long-lasting WK enhancement. Data were analyzed globally over the whole course, that is, from the first to the last days of both treatments to take into account possible mechanisms of compensation. However, we observed the same effects on all periods (light, dark, and 24 h periods).

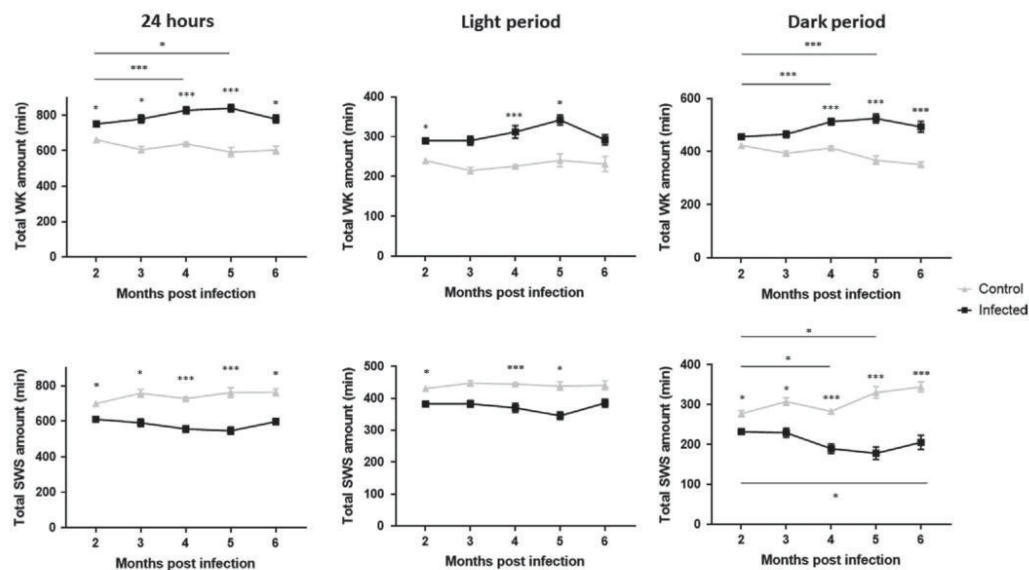


FIGURE 4 Influence of the time since infection on WK and SWS durations between infected (black) and control (uninfected) mice (gray), means \pm SEM (in min) of the sleep-wake stages for the 12 h dark and 24 h periods, showing an increase of WK with a decrease of SWS over time since infection. Time exacerbates the effects of Tg infection for WK total durations (dark: $p_{\text{interaction Tg/time}} < 0.0001$, 24 hours: $p_{\text{interaction Tg/time}} = 0.0013$), as well as for SWS total duration during the dark period ($p_{\text{interaction Tg/time}} < 0.0001$) and over 24 hours ($p_{\text{interaction Tg/time}} = 0.011$). Other abbreviations: Tg, *Toxoplasma gondii*; PS, Paradoxical Sleep; SWS, Slow-Wave Sleep; WK, Waking. * $P < 0.05$, ** $P < 0.0001$ two-way ANOVA followed by Holm-Sidak multiple comparison post hoc tests

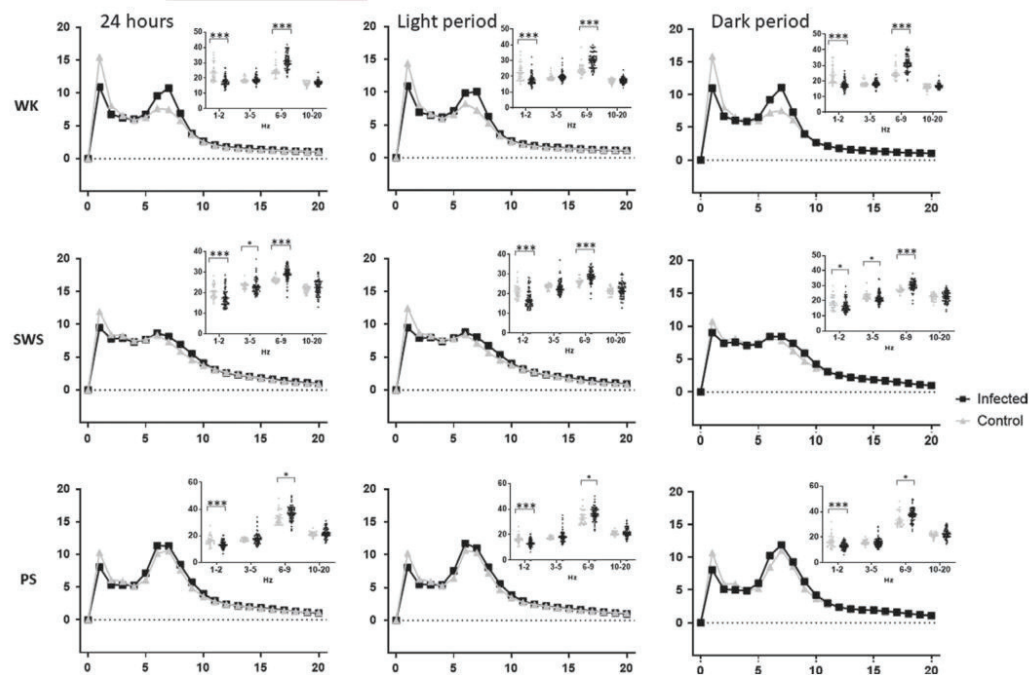


FIGURE 5 Mean spectral distribution of cortical EEG power density (X axis in Hz) in baseline sleep-wake states in infected and control (uninfected) mice for each state (WK line 1, SWS line 2, PS line 3) and each period (24 hours column 1, light column 2, and dark column 3). The data were obtained by pooling consecutive 5 s epochs during 24 hours using the fast Fourier transform routine within the frequency range of 0.5–20 Hz. For each curve, cortical EEG power band density (dot plot) is represented for infected (black) and control (gray) mice. Note that infected mice show an increase in theta band (6–10 Hz) during all states and a decrease in slow activity in 1–2 Hz range during all states. Other abbreviations: PS, Paradoxical Sleep; SWS, Slow-Wave Sleep; WK, Waking. * $P < 0.05$, *** $P < 0.0001$ nonparametric Mann-Whitney test (two tails)

Firstly, we administered the anti- Tg compound SXT and found that its chronic oral application via water supply had no significant effects on the ongoing sleep-wake states in either uninfected or infected mice. Thus, the enhanced WK and decreased SWS seen in Tg mice remained unchanged. No major effects were seen on the cortical EEG except in uninfected mice: a slight increase in the low δ rhythm (1–2 Hz) during light phase SWS ($P < 0.0001$). The cortical EEG changes seen with Tg mice, that is, the increase in power spectral density in the θ rhythm and the decrease in low δ rhythm (1–2 Hz) for all the vigilance states remained virtually identical during and after the SXT treatment. Thus, SXT had little effect on the EEG and sleep-wake changes caused by Tg infection under the current experimental conditions.

Conversely, administration of the anti-inflammatory corticosteroid Dexamethasone (DXM) affected the sleep-wake changes produced by Tg infection. Indeed, chronic oral application via drinking water notably during the fifth month of the infection, where the maximal enhanced WK was observed (Figure 6), resulted in a significant decrease in WK amount during the light phase in the treated Tg mice as compared with the untreated ones (298.2 ± 4.73 vs. 284.4 ± 20.82 ; $P = 0.04$,

$P_{\text{interaction DXM/time}} = 0.01$). Despite the decreased WK effect, the increase in power spectral density in the θ rhythm and the decrease in low δ rhythm (1–2 Hz) for all the vigilance states, identified in the Tg mice, remained similar or were slightly enhanced during and after the DXM treatment. Nevertheless, a moderate decrease in the power of low δ rhythm during the light period (1–2 Hz) for WK ($P < 0.0001$) was observed (Figure 6).

Since DXM likely counteracted some effects of Tg infection, we performed a few additional control tests (i) administration of DXM at the 2nd month of the infection where the enhanced WK just became highly significant: There were no significant effects on the enhanced WK indicating time course-specific effect of DXM ($P = 0.022$); (ii) administration of DXM in control uninfected mice: a slight and statistically non-significant decrease in WK was noticed (Figure 6), indicating that the counteracting effect of DXM on WK was specific to Tg infection.

In summary, DXM alleviated sleep-wake alterations due to Tg infection by counteracting the enhanced WK quantitatively, while having no qualitative effect on cortical EEG, indicating involvement of inflammatory processes, somehow, in the increased amount of WK associated with Tg infection.

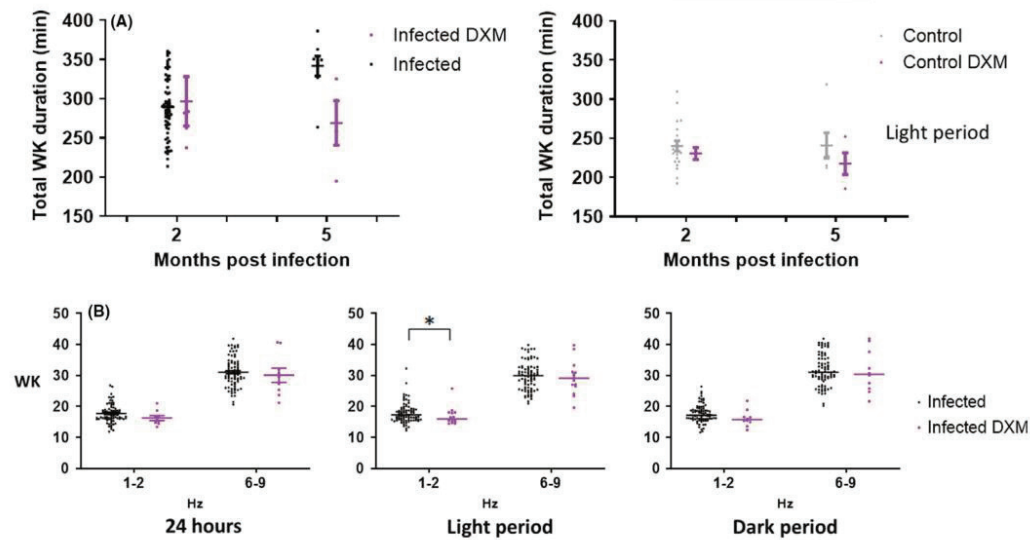


FIGURE 6 A, Influence of the time since infection on WK durations between infected (black) and infected mice treated with DXM (purple), means \pm SEM (in min) of the sleep-wake stage for the 12 h light period, showing that increased WK due to infection is alleviated by DXM. This effect is impacted by time since infection. B, Relevant cortical EEG power band density (dot plot) is represented for infected (black) and infected+DXM (purple) mice during WK, vigilance state in which we observed major quantitative changes. Other abbreviations: pi, post-infection; WK, Waking. * $P < 0.05$, *** $P < 0.0001$ A/two-way ANOVA followed by Holm-Sidak multiple comparison post hoc tests and B/ nonparametric Mann-Whitney test (two tails) [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

4 | DISCUSSION

4.1 | A chronic murine model of *Tg* infection and experimental considerations

Sleep-wake impairment is often associated at an early stage with mood, behavioral, and neurological disorders.^{15,16} Putative involvement of *Tg* infection in this association has been suggested by indirect evidence^{12,31-33} and prompted us to study the effects of latent, chronic *Tg* infection on sleep-wake cycle, an overall indicator of the impact of *Tg* on cerebral functions.

For this purpose, we designed an ecological model allowing us to control all aspects of *Tg* infection over time, and to perform in depth analysis of wake-sleep cycle including EEG power spectral analysis in experimental conditions. We used the Prugniaud strain whose lower virulence and kystogenic profile are advantageous for analyzing the CNS consequences of chronic toxoplasmosis. We are not aware of similar experiments. The few previous studies addressing the question in patients were limited by the use of indirect outcomes such as sleep apnea or daytime sleepiness,³⁴ or sleep self-report,³⁵ and by the need to rely on a single anti-*Tg* IgG test to recognize infected subjects, precluding any estimation regarding time elapsed since infection.

Schematically, the parasite affects the brain by means of two major components: direct parasitic effect or inflammation in response to the parasite aggression. We tried to address this issue by

studying pharmacologically the impact of an anti-parasitic or anti-inflammatory compound on the induced sleep-wake alterations. Considering the fact that SXT has little effect on cysts as opposed to tachyzoites, the active disseminating form of the parasite, we nonetheless chose to test SXT since Watts et al demonstrated that cysts were in fact active and replicating.³⁶ On the other hand, we treated mice with Dexamethasone (DXM) seven days in order to assess the involvement of inflammation while preventing reactivation of cysts: This length of treatment was reported not to promote sleep-wake alterations in rats.³⁷

Finally, the presence of blood-born anti-*Tg* antibodies in our *Tg* mice attests the efficiency of *Tg* infection and supports it as origin of the sleep-wake alterations.

4.2 | A long-lasting, marked and rarely observed enhancement of wakefulness

The main original finding of our study is that chronic *Tg* infection significantly alters the sleep-wake cycle in the mouse. These alterations consisted in a markedly increased amount of wakefulness, particularly during the dark period. SWS was concomitantly decreased at all periods. We found that the anti-*Tg* drug SXT had no clear impact on the sleep-wake effects after *Tg* inoculation, presumably because the direct impact of the parasite at this late chronic stage

(ie, > month 3 pi) was already stable and irreversible. In contrast, the corticosteroid anti-inflammatory DXM reversed the increased WK quantitatively but not qualitatively. These pharmacological data seem to be quite conclusive for the involvement of an inflammatory process in the *Tg*-induced WK enhancement rather than that of the parasite itself.

Our results are in line with previous findings regarding *Tg* infection. First, sleep is an orchestrated neurochemical process on different brain networks³⁸ and involves many neurotransmitters and modulators, notably monoamines, whose balance was found to be modified after *Tg* infection. Indeed, *Tg* infection increases the level of dopamine but not that of serotonin and norepinephrine,²² indirectly via the release of inflammatory cytokines, but mostly directly via the presence in its genome of genes coding for phenylalanine hydroxylase and tyrosine hydroxylase.³⁹ Second, as a consequence of IFN- α -driven host's response, *Tg* infection induces the degradation of tryptophan required for the parasite growth into kynurenine neuroactive metabolites, via indoleamine 2,3-dioxygenase. Such a catabolic shunt of tryptophan, precursor for serotonin and melatonin, may alter their turnover,^{20,21} thus altering sleep and circadian rhythm.⁴⁰ Finally, several brain sleep-regulating structures⁴¹⁻⁴³ have been reported to be more infected, for example, the amygdala, cortex, brainstem, olfactory bulb, and hippocampus.^{18,19}

Although a moderate SWS fragmentation was noted during the light phase, primary sleep period in mice, this effect was not associated with WK fragmentation and did not extend to the dark phase, when mice are more awake and active. Thus, this slight sleep fragmentation was not associated with any sign of somnolence or sleepiness like in many sleep disorders and could instead be regarded as weakened SWS maintenance, consistent with the enhanced WK. Moreover, we found in infected mice that EEG θ power, a sign of cortical activation, increased during the enhanced WK for all light-dark phases and that latency to SWS was delayed after lights-off. All

these findings underline a high level of generalized alertness in infected mice. Intriguingly, this enhanced WK and alertness increased with time and lasted over several months, which is very rarely observed with any experimental model or protocol designed to enhance WK.⁴⁴⁻⁴⁶ Most surprisingly, sleep loss elicited by such long-lasting WK enhancement appeared to be well tolerated by *Tg* mice. Indeed, sleepiness, sleep rebound, or compensating increased cortical slow activities during SWS, which could be expected, was not seen at all during any light-dark phase. Mice were generally active as seen with our EMG recordings. Their morphology, food intake, and lifespan had no apparent changes as compared to uninfected animals. Moreover, a decreased locomotion and increased body weight, often associated with chronic sleep restriction,^{47,48} were not identified with *Tg* mice. Instead, their body weight decreased slightly. These results suggest that *Tg* mice maintain their homeostatic integrity and could serve as a model of chronic sleep restriction. No change of the light/dark ratio for WK but a mild increase for SWS was noticed indicating a limited effect on circadian balance despite such a marked increase in WK.

While the neural mechanisms underlying this remarkable WK enhancement and "well-being" of *Tg* mice remain to be investigated, the *Tg* infection model established here would explain, at least partly, the large prevalence of *Tg* infection in animals and humans (see graphical abstract in Figure 7).

4.3 | A putative strategy of *Tg* to promote its dissemination

This persistently increased WK and reduced sleep in mice with chronic *Tg* infection have not been previously reported but fit well with its suspected strategy by which it would promote its own dissemination by enhancing WK in order to facilitate encounters with their predators.^{8,49} Increased WK was mostly noticed during dark phases when

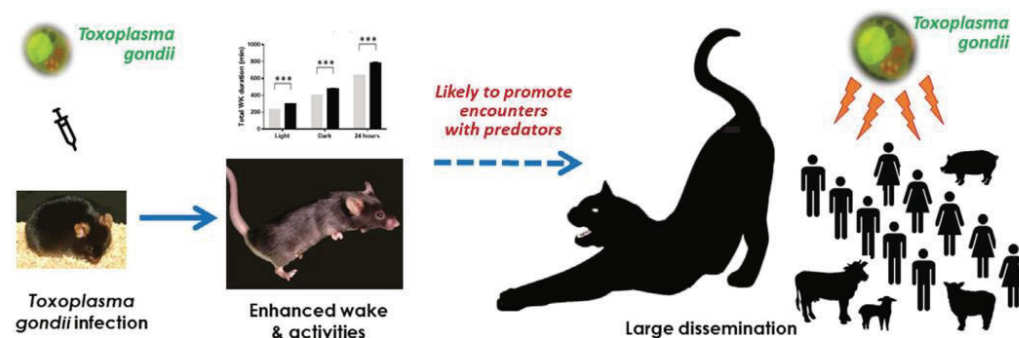


FIGURE 7 Graphic abstract illustrating the main findings of the present study and our interpretations. When mice are infected chronically by *Toxoplasma gondii*, an intracellular parasite, they exhibit a marked increase in wakefulness and activities, thus promoting encounters with cats, its natural predators. It is likely that by this strategy to modify its hosts' sleep-wake and behavioral states, *Toxoplasma gondii* would enhance its own dissemination, thus explaining why it infects a wide range of animals and about 1/3 of the world population [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

increased activity is more likely to favor predation of nocturnal animals like mice. Reduced sleep duration at all phases would also contribute to keeping animals more opportune (Figure 7). Sleep and WK highly impact vigilance and attention processes. Although a lower attention and longer reaction time have been reported in *Tg*-infected animals^{50,51} and man,⁵²⁻⁵⁴ their links with WK alteration were not reported. The impact of this WK enhancement on vigilance and attention remains therefore to be addressed with specific behavioral tests. Since the enhanced WK was stable over the whole periods, it would last for the host's entire lifespan, as a permanent outcome of infection. Intriguingly, they were not immediately at their strongest. Such progressive increase with the time elapsed pi was also reported in humans: the intensity of personality trait shift correlates with estimated duration of infection.⁵⁵ Manifestations of delayed sleep onset and restless legs syndromes that were observed in our patients with post-natal or congenital *Tg* infection tend to develop at least six to 10 years pi (Lyon cohort).

Considering sleep-wake cycle as a major brain function targeted by *Tg* to manipulate the behavior of infected hosts might also explain why our results are contrasted with other infection models that tend to report an increased sleep duration, suspected to be the consequence of increased interactions between inflammatory cytokines and brain sleep-regulating structures. This was the case for acute systemic infections,⁵⁶ including influenza,⁵⁷ but also in chronic infection. Herpes virus is reported to be associated with increased sleep duration and fragmentation.⁵⁸⁻⁶⁰

4.4 | Medical significances and perspectives

We believe that the combination of parasite/host (Prugniaud/male CBA) satisfies most of the criteria of latent infection as seen in humans. Nonetheless, further investigations are required to assess whether our animal model can extend to females and other strains, as they may differ on their susceptibility to the acute or chronic phase of infection depending on their HLA haplotype.⁶¹ It is also important to extend our study to congenitally infected mice, as the effects of congenital infection are generally more pronounced, exhibiting decreased cognitive capacities and increased anxiety compared to mice infected after birth.⁵¹

In particular, the role of monoamines would deserve a central attention given their marked alteration by *Tg* infection (34-36), and their involvement in mood control, motor activity, and attention functions also targeted by *Tg*. Our novel model together with the knockout *Tg* construct designed by Wang et al (deleted of one copy of Tyrosine Hydroxylase⁶²) would constitute promising tools not only with this purpose, but also in pharmacological assessment testing the potential anti-*Tg* therapies to normalize behavioral activities and to alleviate psychiatric symptoms in infected patients.

Finally, given the large prevalence of *Tg* infection, any new finding regarding *Tg*-associated sleep-wake regulation would represent a considerable medical and socioeconomic impact. Our results, if clinically confirmed, would also promote serological or molecular

detection of *Tg* in patients suffering from sleep disorders and prevention campaign against toxoplasmosis, the importance of which is sometimes debated. Such possible underestimation of risk associated with *Tg* infection may also concern the current worldwide debate on the cost-effectiveness of prenatal screening programs.

Altogether, we have established a novel, currently unique and insightful murine model of *Tg* infection suitable for basic and translational investigations. The use of this model has allowed us to demonstrate the *Tg*-induced sleep-wake alterations, notably a remarkable long-lasting enhancement of WK, with which *Tg* would likely promote its own propagation. Our study also demonstrates sleep-wake assessment as a potent and pertinent approach for long-term follow-up of infectious events, that is not always expected or sought.

ACKNOWLEDGMENTS

They would like to thank Dr Laurent Seugnet for critical reading of the manuscript and Mrs Grange for expert editorial assistance and English editing. We are grateful to the CRB Toxoplasma from the French National Reference Center for providing the *Tg* strain. Graphical abstract was designed with contribution from Dr Florence Persat (*T. gondii* picture) and designs by ilonitta/ Freepik.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no competing financial interests.

AUTHORS' CONTRIBUTION

DD involved in conceptualization, data curation, formal Analysis, investigation, methodology, project administration, validation, visualization, writing—original draft, and writing—review and editing. JSL involved in project administration, resources, supervision, validation, and writing—review and editing. FP involved in writing—review & editing. HA involved in conceptualization, data curation, formal Analysis, investigation, methodology, project administration, resources, supervision, validation, visualization, writing—original draft, and writing—review and editing. MW involved in conceptualization, project administration, resources, methodology, supervision, validation, and writing—review and editing.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data available on request from the authors.

ORCID

Damien Dupont  <https://orcid.org/0000-0002-6992-1073>

Jian-Sheng Lin  <https://orcid.org/0000-0002-2004-6079>

REFERENCES

- Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev.* 2005;6(1):41-61. <https://doi.org/10.1079/ahr2005100>
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet.* 2004;363(9425):1965-1976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)
- Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc Biol Sci.* 2000;267(1452):1591-1594. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1182>

4. House PK, Vyas A, Sapolsky R. Predator cat odors activate sexual arousal pathways in brains of *Toxoplasma gondii* infected rats. *PLoS One*. 2011;6(8):e23277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023277>
5. Ingram WM, Goodrich LM, Robey EA, Eisen MB. Mice infected with low-virulence strains of *Toxoplasma gondii* lose their innate aversion to cat urine, even after extensive parasite clearance. *PLoS One*. 2013;8(9):e75246. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075246>
6. Kaushik M, Knowles SCL, Webster JP. What makes a feline fatal in *Toxoplasma gondii*'s fatal feline attraction? infected rats choose wild cats. *Integr Comp Biol*. 2014;54(2):118-128. <https://doi.org/10.1093/icb/ucu060>
7. Lamberton PHL, Donnelly CA, Webster JP. Specificity of the *Toxoplasma gondii*-altered behaviour to definitive versus non-definitive host predation risk. *Parasitology*. 2008;135(10):1143-1150. <https://doi.org/10.1017/S0031182008004666>
8. Webster JP. Rats, cats, people and parasites: the impact of latent toxoplasmosis on behaviour. *Microbes Infect Inst Pasteur*. 2001;3(12):1037-1045.
9. Webster JP, Brunton CF, MacDonald DW. Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *Parasitology*. 1994;109(Pt 1):37-43.
10. Gonzalez LE, Rojnik B, Urrea F, et al. *Toxoplasma gondii* infection lower anxiety as measured in the plus-maze and social interaction tests in rats A behavioral analysis. *Behav Brain Res*. 2007;177(1):70-79. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.11.012>
11. Webster JP. The effect of *Toxoplasma gondii* and other parasites on activity levels in wild and hybrid *Rattus norvegicus*. *Parasitology*. 1994;109(Pt 5):583-589.
12. Sutterland AL, Fond G, Kuin A, et al. Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. Published online April 15, 2015. <https://doi.org/10.1111/acps.12423>
13. Torrey EF, Bartko JJ, Lun Z-R, Yolken RH. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2007;33(3):729-736. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbl050>
14. Ohayon MM. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev*. 2002;6(2):97-111. <https://doi.org/10.1053/smr.2002.0186>
15. Anderson KN, Kelly TP, Griffiths TD. Primary sleep disorders can cause long-term sleep disturbance in patients with autoimmune mediated limbic encephalitis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115(7):1079-1082. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.10.031>
16. Winokur A, Kamath J. Sleep disorders and mental health. *Psychiatr Clin North Am*. 2015;38(4):xiii-xiv. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2015.08.003>
17. Pillai JA, Leverenz JB. Sleep and neurodegeneration: a critical appraisal. *Chest*. 2017;151(6):1375-1386. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.01.002>
18. Berenreiterová M, Flegl J, Kuběna AA, Němec P. The distribution of *Toxoplasma gondii* cysts in the brain of a mouse with latent toxoplasmosis: implications for the behavioral manipulation hypothesis. *PLoS One*. 2011;6(12):e28925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028925>
19. Hermes G, Ajioka JW, Kelly KA, et al. Neurological and behavioral abnormalities, ventricular dilatation, altered cellular functions, inflammation, and neuronal injury in brains of mice due to common, persistent, parasitic infection. *J Neuroinflammation*. 2008;5:48. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-48>
20. Wang T, Sun X, Qin W, et al. From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: Implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Behav Brain Res*. 2019;359:737-748. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.09.011>
21. Mahmoud ME, Ihara F, Fereig RM, Nishimura M, Nishikawa Y. Induction of depression-related behaviors by reactivation of chronic *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Behav Brain Res*. 2016;298(Pt B):125-133. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.005>
22. Stibbs HH. Changes in brain concentrations of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii* infected mice. *Ann Trop Med Parasitol*. 1985;79(2):153-157.
23. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2020;40(9):1769-1777. <https://doi.org/10.1177/0271678X20943823>
24. Couturier-Maillard A, Froux N, Piotet-Morin J, et al. Interleukin-22-deficiency and microbiota contribute to the exacerbation of *Toxoplasma gondii*-induced intestinal inflammation. *Mucosal Immunol*. 2018;11(4):1181-1190. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0005-8>
25. Gondard E, Anaclet C, Akaoka H, et al. Enhanced histaminergic neurotransmission and sleep-wake alterations, a study in histamine H3-receptor knock-out mice. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2013;38(6):1015-1031. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.266>
26. Anaclet C, Parmentier R, Ouk K, et al. Orexin/hypocretin and histamine: distinct roles in the control of wakefulness demonstrated using knock-out mouse models. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2009;29(46):14423-14438. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2604-09.2009>
27. Parmentier R, Zhao Y, Perier M, et al. Role of histamine H1-receptor on behavioral states and wake maintenance during deficiency of a brain activating system: a study using a knockout mouse model. *Neuropharmacology*. 2016;106:20-34. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.12.014>
28. Hawk C, Leary S, Morris T, American College of Laboratory Animal Medicine, European College of Laboratory Animal Medicine. Formulary for laboratory animals. 2005.
29. Nicoll S, Wright S, Maley SW, Burns S, Buxton D. A mouse model of recrudescence of *Toxoplasma gondii* infection. *J Med Microbiol*. 1997;46(3):263-266. <https://doi.org/10.1099/00222615-46-3-263>
30. Picard F, Arsenijevic D, Richard D, Deshaies Y. Responses of adipose and muscle lipoprotein lipase to chronic infection and subsequent acute lipopolysaccharide challenge. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9(4):771-776.
31. Bayani M, Riahi SM, Bazrafshan N, Ray Gamble H, Rostami A. *Toxoplasma gondii* infection and risk of Parkinson and Alzheimer diseases: A systematic review and meta-analysis on observational studies. *Acta Trop*. 2019;196:165-171. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.015>
32. Bay-Richter C, Petersen E, Liebenberg N, Eifving B, Wegener G. Latent toxoplasmosis aggravates anxiety- and depressive-like behaviour and suggest a role of gene-environment interactions in the behavioural response to the parasite. *Behav Brain Res*. 2019;364:133-139. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.02.018>
33. Tedla Y, Shibre T, Ali O, et al. Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Herpesviridae* family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study. *Ethiop Med J*. 2011;49(3):211-220.
34. Dard C, Bailly S, Pépin J-L, et al. Chronic toxoplasmosis and sleepiness in obstructive sleep apnea: is there a link? *PLoS One*. 2020;15(7):e0235463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235463>
35. Corona CC, Zhang M, Wadhawan A, et al. *Toxoplasma gondii* IgG associations with sleep-wake problems, sleep duration and timing. *Pteridines*. 2019;30(1):1-9. <https://doi.org/10.1515/pteridines-2019-0001>
36. Watts E, Zhao Y, Dhara A, Eller B, Patwardhan A, Sinai AP. Novel approaches reveal that *Toxoplasma gondii* bradyzoites within tissue

- cysts are dynamic and replicating entities in vivo. *MBio*. 2015;6(5): https://doi.org/10.1128/mBio.01155-15
37. Issuriya A, Kumarnsit E, Reakkamnuan C, Samerphob N, Sathirapanya P, Cheaha D. Dexamethasone induces alterations of slow wave oscillation, rapid eye movement sleep and high-voltage spindle in rats. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)*. 2019;79(3):251-260.
 38. Saper CB, Scammell TE, Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*. 2005;437(7063):1257-1263. https://doi.org/10.1038/nature04284
 39. Gaskell EA, Smith JE, Pinney JW, Westhead DR, McConkey GA. A unique dual activity amino acid hydroxylase in *Toxoplasma gondii*. *PLoS One*. 2009;4(3):e4801. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004801
 40. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev*. 2005;9(1):11-24. https://doi.org/10.1016/j.smrv.2004.08.001
 41. Jones BE. From waking to sleeping: neuronal and chemical substrates. *Trends Pharmacol Sci*. 2005;26(11):578-586. https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.09.009
 42. Lin J-S, Anacleit C, Sergeeva OA, Haas HL. The waking brain: an update. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2011;68(15):2499-2512. https://doi.org/10.1007/s00018-011-0631-8
 43. Qiu M-H, Vetrivelan R, Fuller PM, Lu J. Basal ganglia control of sleep-wake behavior and cortical activation. *Eur J Neurosci*. 2010;31(3):499-507. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.07062.x
 44. Jouvet M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol*. 1972;64:166-307. https://doi.org/10.1007/3-540-05462-6_2
 45. Lin J-S, Roussel B, Gaspar A, et al. The unfinished journey with modafinil and discovery of a novel population of modafinil-immunoreactive neurons. *Sleep Med*. 2018;49:40-52. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2018.06.008
 46. Moruzzi G. The sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol*. 1972;64:1-165. https://doi.org/10.1007/3-540-05462-6_1
 47. Leproult R, Van Cauter E. Role of sleep and sleep loss in hormonal release and metabolism. *Endocr Dev*. 2010;17:11-21. https://doi.org/10.1159/000262524
 48. Spruyt K, Molfese DL, Gozal D. Sleep duration, sleep regularity, body weight, and metabolic homeostasis in school-aged children. *Pediatrics*. 2011;127(2):e345-352. https://doi.org/10.1542/peds.2010-0497
 49. Webster JP, McConkey GA. *Toxoplasma gondii*-altered host behaviour: clues as to mechanism of action. *Folia Parasitol (Praha)*. 2010;57(2):95-104.
 50. Hrdá S, Votýpka J, Kodym P, Flegr J. Transient nature of *Toxoplasma gondii*-induced behavioral changes in mice. *J Parasitol*. 2000;86(4):657-663.
 51. Wang T, Tang Z, Li J, Li X, Wang X, Zhao Z. A potential association between *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia in mouse models. *Exp Parasitol*. 2013;135(3):497-502. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.08.012
 52. Beste C, Getzmann S, Gajewski PD, Golka K, Falkenstein M. Latent *Toxoplasma gondii* infection leads to deficits in goal-directed behavior in healthy elderly. *Neurobiol Aging*. 2014;35(5):1037-1044. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.012
 53. Příplatová L, Sebánková B, Flegr J. Contrasting effect of pre-pulse signals on performance of *Toxoplasma*-infected and *Toxoplasma*-free subjects in an acoustic reaction times test. *PLoS One*. 2014;9(11):e112771. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112771
 54. Stock A-K, Dajkic D, Köhling HL, von Heinegg EH, Fiedler M, Beste C. Humans with latent toxoplasmosis display altered reward modulation of cognitive control. *Sci Rep*. 2017;7(1):10170. https://doi.org/10.1038/s41598-017-10926-6
 55. Flegr J, Hrdý I. Influence of chronic toxoplasmosis on some human personality factors. *Folia Parasitol (Praha)*. 1994;41(2):122-126.
 56. Tesoriero C, Del Gallo F, Bentivoglio M. Sleep and brain infections. *Brain Res Bull*. 2019;145:59-74. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.002
 57. Fang I, Tooley D, Gatewood C, Renegar KB, Majde JA, Krueger JM. Differential effects of total and upper airway influenza viral infection on sleep in mice. *Sleep*. 1996;19(4):337-342.
 58. Machida M, Ambrozewicz MA, Breving K, et al. Sleep and behavior during vesicular stomatitis virus induced encephalitis in BALB/cJ and C57BL/6J mice. *Brain Behav Immun*. Published online September 18, 2013. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.09.006
 59. Olivadoti MD, Weinberg JB, Toth LA, Opp MR. Sleep and fatigue in mice infected with murine gammaherpesvirus 68. *Brain Behav Immun*. 2011;25(4):696-705. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.01.010
 60. Trammell RA, Toth LA. Behavioral perturbation and sleep in healthy and virus-infected inbred mice. *Comp Med*. 2014;64(4):283-292.
 61. Resende MG, Fux B, Caetano BC, et al. The role of MHC haplotypes H2d/H2b in mouse resistance/susceptibility to cyst formation is influenced by the lineage of infective *Toxoplasma gondii* strain. *An Acad Bras Ciênc*. 2008;80(1):85-99.
 62. Wang ZT, Harmon S, O'Malley KL, Sibley LD. Reassessment of the role of aromatic amino acid hydroxylases and the effect of infection by *Toxoplasma gondii* on host dopamine. *Infect Immun*. 2015;83(3):1039-1047. https://doi.org/10.1128/IAI.02465-14

How to cite this article: Dupont D, Lin J-S, Peyron F, Akaoka H, Wallon M. Chronic *Toxoplasma gondii* infection and sleep-wake alterations in mice. *CNS Neurosci Ther*. 2021;27:895-907. <https://doi.org/10.1111/cns.13650>

Discussion et perspectives

La toxoplasmose est à l'origine de conséquences établies depuis plusieurs décennies chez les sujets atteints de toxoplasmose congénitale et les individus immunodéprimés. Elles sont la conséquence de son tropisme particulier. Elles peuvent être sévères et nécessitent de mettre en place des stratégies de prise en charge et de prévention efficaces. Le programme français de prévention de la toxoplasmose congénitale représente un modèle de ce qui peut être fait pour réduire le nombre de sujets sévèrement touchés, et réduire les coûts de leur prise en charge. La question de l'innocuité du traitement à laquelle j'ai permis de répondre représente un élément essentiel pour la perpétuation de ce programme et son extension à d'autres régions ou pays du monde. En effet, proposer un traitement préventif prolongé à des nouveaux-nés ne serait pas éthique sans des arguments solides concernant sa bonne tolérance. Les informations obtenues sur la bonne tolérance d'une association de sulfadoxine et pyriméthamine sont également utiles pour le traitement de nouveaux-nés dont le diagnostic a été réalisé en dehors de tout screening systématique. Les travaux réalisés chez l'immunodéprimé avaient aussi pour objectif de faire des recommandations destinées à aider la prise en charge du nombre croissant de patients concernés. Ces travaux destinés à guider la clinique se sont appuyés sur le savoir faire de notre équipe et sur des collaborations locales, régionales et internationales.

Toutes les semaines, de nouvelles publications viennent alimenter le débat concernant la possibilité que la persistance de *Toxoplasma gondii* au niveau du système nerveux central auraient d'autres conséquences que celles consécutives à une infection contractée *in utero*, avant ou au cours d'une immunodépression acquise ou thérapeutique. La suspicion porte sur un large spectre de troubles, et se nourrit d'observations faites chez l'animal, et de l'enjeu qu'ils pourraient représenter à l'échelle de la population mondiale.

Nous avons fait le choix d'une approche originale, reposant sur l'étude du cycle éveil/sommeil pour mieux comprendre l'impact de la persistance de parasites au niveau cérébral. Nous nous sommes pour cela entourés de l'expertise réunie au sein de l'équipe Waking du Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon. La première étape a consisté en la conception et la validation d'un modèle

murin qui satisfasse aux exigences de l'enregistrement du sommeil sur une période prolongée dans un contexte de toxoplasmose chronique. Nous avons ainsi souhaité développer un modèle « écologique », c'est-à-dire le plus proche possible de ce que l'on observe à l'état naturel chez les Rongeurs. La voie d'infection naturelle, par voie orale, permet également de s'affranchir de certains problèmes liés à l'inoculation par voie intra-péritonéale, classiquement utilisée dans les modèles murins de toxoplasmose. En effet, une injection intra-péritonéale peut exposer à un risque d'infection péritonéale, et donc conduire à une cascade cytokinique pouvant ainsi modifier les paramètres cérébraux que nous souhaitons étudier.

Outre la voie d'infestation, nous avons également dû jouer sur la souche de souris utilisée. Il fallait en effet trouver une lignée de souris qui soit peu sensible à la phase aiguë de l'infection, mais sensible à sa phase chronique, afin de pouvoir observer un maximum d'effets dus à l'infection parasitaire. Il fallait qu'elle permette une étude du cycle éveil/sommeil complète et de qualité, et soit donc adaptée aux techniques d'anesthésie et de chirurgie, et aux procédures d'enregistrements polysomnographiques. Les modèles murins d'études du sommeil sont réalisés principalement sur des souris consanguines C57 Black 6, et sur des souris mâles afin d'éviter un effet des cycles menstruels sur les enregistrements polysomnographiques. La modélisation infectieuse est, quant à elle, limitée par la susceptibilité génétique intrinsèque à chaque lignée de souris. En effet, la sensibilité à l'infection aiguë ou à l'infection chronique est conditionnée par des allèles particuliers du CMH. Classiquement, les souris utilisées en parasitologie sont des lignées non consanguines de type OF1 ou Swiss Webster, et principalement des femelles pour éviter les comportements agressifs. La souris CBA/Jrj s'est révélée remplir bien tous ces critères, et nous avons pu mettre au point notre modèle infectieux en le basant sur l'utilisation de la souche kystogène Prugnauud, qui est responsable de la majorité des infections toxoplasmiques en France, et dont la faible virulence se prête bien à l'étude de l'infection chronique. Nous avons donc pu déterminer la dose infectante optimale permettant un taux d'infection de 100 %

(environ 250 kystes/mL d'homogénat de cerveau), ainsi qu'une survie à un an de plus de 90 % des souris infectées.

L'infection de souris CBA/Jrj à l'aide de kystes de la souche de type II Prugniaud nous a donc permis de comparer chez des souris infectées et contrôles les caractéristiques quantitatives et qualitatives du cycle éveil/sommeil. Les caractéristiques spectrales des tracés électro-encéphalographiques ont été analysées pour chaque état de vigilance : éveil, sommeil lent et sommeil paradoxal. Nous avons pu également introduire une intervention médicamenteuse destinée à préciser l'impact chez la souris Toxo+ d'un traitement anti-inflammatoire non stéroïdien.

Nous avons ainsi pu montrer que les souris infectées chroniquement présentaient des altérations du cycle éveil/sommeil, altérations qui persistent pendant plusieurs mois, et qui sont caractérisées par une augmentation de plus de 20 % de la durée d'éveil ($785,7 \pm 8,8$ versus $634,8 \pm 7,6$ minutes par 24 heures ; $p < 0.0001$), concomitante d'une diminution significative de la durée de sommeil lent, et ce de manière plus prononcée pendant la nuit, qui est la période d'activité des souris. L'analyse spectrale nous a permis de mettre en évidence une augmentation significative des ondes θ . De manière intéressante, ces effets étaient partiellement corrigés par un traitement anti-inflammatoire à base de corticostéroïdes (dexaméthasone).

Outre le fait que ces altérations soient marquées et tendent à augmenter avec la durée d'infection, elles sont également corrélées avec une augmentation de l'activité, plus particulièrement une activité exploratoire. Par ailleurs, nous n'avons pas noté de mauvaise tolérance ni de conséquences physiques à cette privation de sommeil. Ainsi, les souris sont restées actives, sans modification de leur apparence, de leur prise de poids, par comparaison aux contrôles. Ceci est à noter, parce que la privation de sommeil chronique conduit en général à une baisse de locomotion et à une augmentation significative du poids corporel. L'intégrité homéostasique est donc maintenue chez les souris infectées. On peut considérer que l'on passe d'un phénotype « dormeur normal » à un phénotype « petit dormeur » après infection par *T. gondii*, sans que cela ait d'impact négatif sur la vie sociale de l'individu.

Ces altérations diffèrent significativement de ce que l'on observe dans les autres infections chroniques du système nerveux central, tels que celles dues aux Herpesviridae ou la trypanosomose (maladie du sommeil). Classiquement, les animaux infectés sont léthargiques, et présentent une fragmentation du sommeil.

Nos observations sont uniques et pourraient permettre de compléter les autres résultats publiés soutenant la théorie de la manipulation comportementale par le parasite. En effet, l'excrétion d'oocystes chez les Félines reste tout à fait mineure, en comparaison avec la transmission d'un hôte intermédiaire vers un autre hôte intermédiaire. Cette excrétion bien qu'importante n'est que transitoire et le nombre de Félines infectés par *T. gondii*, bien que mal connu, ne semble pas pouvoir à lui seul expliquer la prévalence considérable de l'infection chez l'être humain, estimée représenter près d'un tiers de la population mondiale. On peut donc se demander ce qui a permis une aussi grande réussite adaptative à ce parasite. C'est tout l'enjeu de la manipulation comportementale qui vise à augmenter la transmission du parasite vers l'hôte définitif, afin de permettre la reproduction sexuée, mécanisme permettant la recombinaison génétique et donc l'adaptation. L'infection latente favorise donc la dissémination du toxoplasme dans l'environnement. Bien que nos résultats ne permettent pas de conclure quant à son importance relative, l'augmentation d'activité et d'éveil pendant la période d'activité des rongeurs, les expose de fait à la prédation par les félins ou d'autres animaux (chiens, renard...).

L'exposition constante de l'Homme permet d'expliquer la prévalence de la maladie, et ainsi de lier celle-ci aux cas recensés de toxoplasmose humaine.

Les facteurs environnementaux et iatrogènes sont autant de facteurs de risque de développer des formes graves de la maladie. En effet, l'immunodépression, due à des traitements ou des infections telles que le VIH, expose le patient à des formes sévères de la maladie. La toxoplasmose congénitale est connue pour ses effets dévastateurs sur le fœtus en cas d'infection pendant le premier trimestre

de la grossesse, en revanche, les infections du dernier trimestre ne sont pas pour autant asymptomatiques. Les patients sont exposés à des réactivations, majoritairement oculaires, entraînant des chorioretinites et ce, pendant toute leur vie. De la même façon, les patients greffés ou infectés chroniquement par le VIH, sont majoritairement à risque de réactivation d'une toxoplasmose chronique, même si le risque d'une primo-infection existe bel et bien. C'est pourquoi la connaissance de ces entités cliniques est fortement liée à la connaissance de la toxoplasmose chronique et de ses connaissances.

Si l'on regarde de plus près, on se rend compte que de nombreuses zones d'ombre persistent.

Quelle que soit la forme que prend la maladie, l'absence d'études randomisées ne permet pas d'avoir la preuve formelle de l'efficacité clinique des traitements utilisés. Bien qu'utilisés avec beaucoup de recul, la plupart des traitements ne sont pas codifiés et il y a urgence à obtenir un consensus international. Puisque l'efficacité ne peut être formellement établie, il est important de démontrer l'innocuité de ces traitements, si possible selon une méthode fiable d'étude de la causalité des effets indésirables. En effet, une bonne compliance va dépendre de la bonne tolérance des traitements utilisés.

La mise au point de nouveaux traitements actifs sur les formes kystiques du parasite ou de vaccins permettrait d'agir sur le réservoir et ainsi de prévenir la réactivation, limitant ainsi *de facto* le poids de la maladie. A ce jour un vaccin sous-unitaire, composé de la totalité des antigènes du toxoplasme, couplés à des nanoparticules constituées d'amidon et de lipides a été développé et son efficacité a été démontrée chez la souris, et chez la brebis. Administré par voie nasale, le vaccin induit une réponse immunitaire cellulaire muqueuse et systémique forte, apportant ainsi une protection contre la toxoplasmose aiguë, chronique et congénitale.

La meilleure connaissance des traitements et la standardisation doit se faire en parallèle de la meilleure connaissance des populations à risque de réactivation.

Qui faut-il traiter, quand faut-il traiter, combien de temps, et surtout qui faut-il traiter ?

L'identification des facteurs de risques dans chaque sous-population, greffés de cellules souches hématopoïétiques, greffés d'organes solides, patients VIH+, est primordial pour repérer et instaurer un traitement préemptif. Une étude rétrospective cas-témoins nous a permis d'identifier certains facteurs de risque dans le cas d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : comme l'absence de prophylaxie efficace contre *T. gondii*, une maladie du greffon contre l'hôte de haut grade et l'administration d'antagonistes du TNF α .

Une étude réalisée en Europe sur les cas de toxoplasmose de l'immunodéprimé colligés entre 2010-2014 a permis de mettre en exergue la disparité des procédures de prévention, de diagnostic et de traitement. Un des points majeurs est l'occurrence de cas de toxoplasmose maladie après arrêt de la chimioprophylaxie, ce qui suggère l'intérêt de surveiller le taux de CD₄ pour guider l'arrêt de la chimioprophylaxie.

L'identification de ces réactivations passe par des procédures diagnostiques, qui ne sont, là encore, pas standardisées. Bien que la PCR prenne une place majeure dans le diagnostic, essentiellement dans le contexte de greffe de moelle, la sérologie conserve une place essentielle pour l'identification des mismatch, et donc pour l'identification du statut immunitaire des patients. Elle permet également de diagnostiquer et de suivre des cas complexes d'infections opportunistes. Certains développements sont en cours afin de pouvoir par exemple, dater l'infection à partir d'un seul sérum, mais également être capable de documenter par quel stade parasitaire le patient s'est infecté. Ce dernier cas permettra ainsi à terme d'évaluer la place de l'hôte définitif dans le cycle parasitaire et donc dans la transmission humaine.

Nous pensons que l'étude de la phase chronique et de son impact sur le fonctionnement cérébral constitue un maillon essentiel pour mieux comprendre le parasite et ses conséquences cliniques. Outre

la confirmation de nos résultats sur des souris femelles, il est nécessaire de les confirmer également sur d'autres lignées de souris. En effet, certains effets sur le comportement semblent être sous la dépendance du genre. Dans le même ordre d'idée, la chronologie de l'infection pourrait jouer un rôle et l'étude de souris infectées congénitalement permettrait d'en élucider l'impact sur des cerveaux immatures. En effet, Wang a rapporté que des souris infectées congénitalement présentaient des capacités cognitives diminuées *versus* des souris infectées après la naissance. D'autres souches de *T. gondii* plus virulentes circulent dans le monde, en dehors de l'Europe et des Etats-Unis et nous souhaiterions les tester afin de vérifier la transposabilité de nos conclusions dans des conditions de virulence différentes.

L'hypothèse que nous avons faite est que les altérations observées sont la conséquence de l'augmentation de la dopamine dans le cerveau. Ainsi, l'utilisation d'un construct knockout *PruΔku80ΔhxcgΔaah2* délété du gene de la TH permettrait de tester cette dernière hypothèse.

Le modèle que nous avons mis au point constitue aussi un cadre unique pour étudier les effets de l'infection toxoplasmique sur les systèmes monoaminergiques, et identifier les substrats neuroanatomiques et neurochimiques pouvant expliquer certains aspects de ces modifications comportementales. Grâce à des techniques d'immunohistochimie, je pourrais quantifier les neurones monoaminergiques, déterminer si les neurones monoaminergiques sont infectés par *T. gondii* et enfin, si les cellules infectées produisent de la dopamine ou de la sérotonine. Si les neurones monoaminergiques synthétisent de la dopamine en plus de leur neurotransmetteur d'origine, cela indiquerait un changement majeur dans les signaux transmis par ces mêmes neurones.

Parallèlement, la détermination du statut immunitaire particulier du SNC (équilibre Th1/Th2 et mécanismes auto-immuns) permettra d'élucider un peu plus les mécanismes mis en jeu, puisque la composante inflammatoire semble jouer un rôle majeur, d'après nos résultats.

Notre modèle offre également la possibilité de tester des substances plus actives sur les kystes de *T. gondii* que les molécules disponibles pour le traitement de la toxoplasmose chez l'Homme. Un fragment d'anticorps ADC, couplé à la spiramycine, a récemment donné des résultats prometteurs sur des lésions neurologiques et oculaires, dans des modèles murins de toxoplasmose congénitale, et pourrait être testé sur ce modèle de toxoplasmose chronique.

Quoiqu'il en soit, les effets observés sur le cycle éveil-sommeil sont uniques parmi les autres observations sur modèle infectieux. L'hypothèse faite dans ce travail est que ces altérations pourraient en elles-mêmes constituer le chaînon manquant entre troubles du sommeil et pathologies neuro-psychiatriques. Bien que les études ne soient pas dénuées de biais, il en ressort tout de même que certaines méta-analyses ainsi qu'un très faible nombre d'études, suggèrent un lien entre séropositivité et pathologies neuro-psychiatriques, plus particulièrement concernant la schizophrénie.

La coexistence de troubles du sommeil, qui apparaissent souvent lors des premières phases de ces pathologies, voire même parfois avant les premiers signes cliniques, nous laissent penser que ces troubles du sommeil pourraient être liés à une infection antérieure par *T. gondii*. Si cela était avéré, et vue la forte prévalence des troubles du sommeil dans la population, cela permettrait d'attirer l'attention des pouvoirs publics et économiques sur cette maladie infectieuse, encore mal connue surtout dans sa forme chronique, et d'apporter par la même occasion plus de moyens au monde de la recherche biomédicale.

Par ailleurs, l'impact de ces altérations, si elles sont confirmées par des études chez l'Homme, doit nous faire penser qu'il sera dorénavant important de rechercher le statut sérologique de tout patient inclus dans une étude sur le sommeil, afin de prendre en compte ce facteur lors de l'analyse statistique.

Bien qu'il reste encore un long chemin à parcourir pour élucider les mécanismes à l'origine de ces altérations, nous pensons que notre modèle permettra la mise aux points d'études fondamentales dans ce sens.

Références

- [1] J. P. Dubey, A. W. Kotula, A. Sharar, C. D. Andrews, et D. S. Lindsay, « Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork », *J. Parasitol.*, vol. 76, n° 2, p. 201-204, avr. 1990.
- [2] A. W. Kotula, J. P. Dubey, A. K. Sharar, C. D. Andrews, S. K. Shen, et D. S. Lindsay, « Effect of Freezing on Infectivity of *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts in Pork », *J. Food Prot.*, vol. 54, n° 9, p. 687-690, sept. 1991, doi: 10.4315/0362-028X-54.9.687.
- [3] E. Watts, Y. Zhao, A. Dhara, B. Eller, A. Patwardhan, et A. P. Sinai, « Novel Approaches Reveal that *Toxoplasma gondii* Bradyzoites within Tissue Cysts Are Dynamic and Replicating Entities In Vivo », *mBio*, vol. 6, n° 5, 2015, doi: 10.1128/mBio.01155-15.
- [4] J. K. Frenkel, « Biology of *Toxoplasma gondii* », in *Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control*, Ambroise-Thomas, P.; Peterse, E., Editors., Paris: Springer-Verlag, 2000, p. 9-25.
- [5] J. P. Dubey, « *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures », *J. Parasitol.*, vol. 84, n° 4, p. 862-865, août 1998.
- [6] J. P. Dubey, « Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii* », *Int. J. Parasitol.*, vol. 28, n° 7, p. 1019-1024, juill. 1998, doi: 10.1016/s0020-7519(98)00023-x.
- [7] D. J. P. Ferguson, « *Toxoplasma gondii* and sex: essential or optional extra? », *Trends Parasitol.*, vol. 18, n° 8, p. 355-359, août 2002.
- [8] J. P. Dubey et J. K. Frenkel, « Cyst-induced toxoplasmosis in cats », *J. Protozool.*, vol. 19, n° 1, p. 155-177, févr. 1972, doi: 10.1111/j.1550-7408.1972.tb03431.x.
- [9] F. Robert-Gagneux et M.-L. Dardé, « Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 25, n° 2, p. 264-296, avr. 2012, doi: 10.1128/CMR.05013-11.
- [10] A. H. Havelaar *et al.*, « World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010 », *PLoS Med.*, vol. 12, n° 12, p. e1001923, déc. 2015, doi: 10.1371/journal.pmed.1001923.
- [11] E. Scallan *et al.*, « Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 1, p. 7-15, janv. 2011, doi: 10.3201/eid1701.p11101.
- [12] D. Hill *et al.*, « Identification of a sporozoite-specific antigen from *Toxoplasma gondii* », *J. Parasitol.*, vol. 97, n° 2, p. 328-337, avr. 2011, doi: 10.1645/GE-2782.1.
- [13] M. Wallon *et al.*, « Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 56, n° 9, p. 1223-1231, mai 2013, doi: 10.1093/cid/cit032.
- [14] T. P. Arantes *et al.*, « *Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs », *Exp. Parasitol.*, vol. 123, n° 2, p. 190-194, oct. 2009, doi: 10.1016/j.exppara.2009.07.003.
- [15] S. A. H. Dass, A. Vasudevan, D. Dutta, L. J. T. Soh, R. M. Sapolsky, et A. Vyas, « Protozoan parasite *Toxoplasma gondii* manipulates mate choice in rats by enhancing attractiveness of males », *PLoS One*, vol. 6, n° 11, p. e27229, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0027229.
- [16] W. D. Z. Lopes *et al.*, « Sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in sheep », *Vet. Parasitol.*, vol. 195, n° 1-2, p. 47-56, juill. 2013, doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.056.
- [17] R. Disko, I. Braveny, et P. Vogel, « [Studies on the occurrence of *Toxoplasma gondii* in the human ejaculate] », *Z. Tropenmed. Parasitol.*, vol. 22, n° 4, p. 391-396, déc. 1971.
- [18] M. E. De Paepe, C. Guerrieri, et M. Waxman, « Opportunistic infections of the testis in the acquired immunodeficiency syndrome », *Mt. Sinai J. Med. N. Y.*, vol. 57, n° 1, p. 25-29, janv. 1990.
- [19] J. Flegr, K. Klapilová, et S. Kaňková, « Toxoplasmosis can be a sexually transmitted infection with serious clinical consequences. Not all routes of infection are created equal », *Med. Hypotheses*, vol. 83, n° 3, p. 286-289, sept. 2014, doi: 10.1016/j.mehy.2014.05.019.

- [20] J. Hlaváčová, J. Flegr, K. Řežábek, P. Calda, et Š. Kaňková, « Male-to-Female Presumed Transmission of Toxoplasmosis Between Sexual Partners », *Am. J. Epidemiol.*, sept. 2020, doi: 10.1093/aje/kwaa198.
- [21] B. L. Herwaldt, « Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, n° 4, p. 659-688, table of contents, oct. 2001, doi: 10.1128/CMR.14.3.659-688.2001.
- [22] D. E. Hill, S. Chirukandoth, et J. P. Dubey, « Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals », *Anim. Health Res. Rev.*, vol. 6, n° 1, p. 41-61, juin 2005, doi: 10.1079/ahr2005100.
- [23] V. N. A. Klaren et A. Kijlstra, « Toxoplasmosis, an overview with emphasis on ocular involvement », *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 10, n° 1, p. 1-26, mars 2002, doi: 10.1076/ocii.10.1.1.10330.
- [24] D.-W. Shin, D.-Y. Cha, Q. J. Hua, G.-H. Cha, et Y.-H. Lee, « Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection and characteristics of seropositive patients in general hospitals in Daejeon, Korea », *Korean J. Parasitol.*, vol. 47, n° 2, p. 125-130, juin 2009, doi: 10.3347/kjp.2009.47.2.125.
- [25] Y. Xiao *et al.*, « Seroepidemiology of human *Toxoplasma gondii* infection in China », *BMC Infect. Dis.*, vol. 10, p. 4, janv. 2010, doi: 10.1186/1471-2334-10-4.
- [26] J. Kamani, A. U. Mani, G. O. Egwu, et H. A. Kumshe, « Seroprevalence of human infection with *Toxoplasma gondii* and the associated risk factors, in Maiduguri, Borno state, Nigeria », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 103, n° 4, p. 317-321, juin 2009, doi: 10.1179/136485909X435094.
- [27] E. S. Swai et L. Schoonman, « Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection amongst residents of Tanga district in north-east Tanzania », *Tanzan. J. Health Res.*, vol. 11, n° 4, p. 205-209, oct. 2009, doi: 10.4314/thrb.v11i4.50178.
- [28] « Article - Bulletin épidémiologique hebdomadaire ». http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2015/15-16/2015_15-16_5.html (consulté le janv. 10, 2020).
- [29] E. Robinson, H. de Valk, I. Villena, Y. Le Strat, et M. Tourdjman, « National perinatal survey demonstrates a decreasing seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in France, 1995 to 2016: impact for screening policy », *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 26, n° 5, févr. 2021, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.5.1900710.
- [30] J. P. Dubey et J. L. Jones, « *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States », *Int. J. Parasitol.*, vol. 38, n° 11, p. 1257-1278, sept. 2008, doi: 10.1016/j.ijpara.2008.03.007.
- [31] L. Halos *et al.*, « An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France », *Int. J. Parasitol.*, vol. 40, n° 2, p. 193-200, févr. 2010, doi: 10.1016/j.ijpara.2009.06.009.
- [32] J. P. Dubey *et al.*, « High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA », *Int. J. Parasitol.*, vol. 41, n° 8, p. 827-833, juill. 2011, doi: 10.1016/j.ijpara.2011.03.006.
- [33] A. M. Tenter, A. R. Heckerroth, et L. M. Weiss, « *Toxoplasma gondii*: from animals to humans », *Int. J. Parasitol.*, vol. 30, n° 12-13, p. 1217-1258, nov. 2000, doi: 10.1016/S0020-7519(00)00124-7.
- [34] A. Khan *et al.*, « Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, n° 37, p. 14872-14877, sept. 2007, doi: 10.1073/pnas.0702356104.
- [35] E. K. Shwab *et al.*, « Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping », *Parasitology*, vol. 141, n° 4, p. 453-461, avr. 2014, doi: 10.1017/S0031182013001844.

- [36] L. D. Sibley et J. C. Boothroyd, « Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage », *Nature*, vol. 359, n° 6390, p. 82-85, sept. 1992, doi: 10.1038/359082a0.
- [37] L. D. Sibley et J. W. Ajioka, « Population structure of *Toxoplasma gondii*: clonal expansion driven by infrequent recombination and selective sweeps », *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 62, p. 329-351, 2008, doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162925.
- [38] Y. Suzuki *et al.*, « Evidence for genetic regulation of susceptibility to toxoplasmic encephalitis in AIDS patients », *J. Infect. Dis.*, vol. 173, n° 1, p. 265-268, janv. 1996, doi: 10.1093/infdis/173.1.265.
- [39] S. L. Gupta, J. M. Carlin, P. Pyati, W. Dai, E. R. Pfefferkorn, et M. J. Murphy, « Antiparasitic and antiproliferative effects of indoleamine 2,3-dioxygenase enzyme expression in human fibroblasts », *Infect. Immun.*, vol. 62, n° 6, p. 2277-2284, juin 1994.
- [40] M. B. Melo, K. D. C. Jensen, et J. P. J. Saeij, « *Toxoplasma gondii* effectors are master regulators of the inflammatory response », *Trends Parasitol.*, vol. 27, n° 11, p. 487-495, nov. 2011, doi: 10.1016/j.pt.2011.08.001.
- [41] J. Aliberti, C. Serhan, et A. Sher, « Parasite-induced lipoxin A4 is an endogenous regulator of IL-12 production and immunopathology in *Toxoplasma gondii* infection », *J. Exp. Med.*, vol. 196, n° 9, p. 1253-1262, nov. 2002, doi: 10.1084/jem.20021183.
- [42] S. Martens *et al.*, « Disruption of *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuoles by the mouse p47-resistance GTPases », *PLoS Pathog.*, vol. 1, n° 3, p. e24, nov. 2005, doi: 10.1371/journal.ppat.0010024.
- [43] M. Yamamoto *et al.*, « A cluster of interferon- γ -inducible p65 GTPases plays a critical role in host defense against *Toxoplasma gondii* », *Immunity*, vol. 37, n° 2, p. 302-313, août 2012, doi: 10.1016/j.immuni.2012.06.009.
- [44] R. M. Andrade, M. Wessendarp, M.-J. Gubbels, B. Striepen, et C. S. Subauste, « CD40 induces macrophage anti-*Toxoplasma gondii* activity by triggering autophagy-dependent fusion of pathogen-containing vacuoles and lysosomes », *J. Clin. Invest.*, vol. 116, n° 9, p. 2366-2377, sept. 2006, doi: 10.1172/JCI28796.
- [45] A. K. Haldar *et al.*, « Ubiquitin systems mark pathogen-containing vacuoles as targets for host defense by guanylate binding proteins », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 112, n° 41, p. E5628-5637, oct. 2015, doi: 10.1073/pnas.1515966112.
- [46] M. Sasai *et al.*, « Essential role for GABARAP autophagy proteins in interferon-inducible GTPase-mediated host defense », *Nat. Immunol.*, vol. 18, n° 8, p. 899-910, août 2017, doi: 10.1038/ni.3767.
- [47] W. H. Witola *et al.*, « NALP1 influences susceptibility to human congenital toxoplasmosis, proinflammatory cytokine response, and fate of *Toxoplasma gondii*-infected monocytic cells », *Infect. Immun.*, vol. 79, n° 2, p. 756-766, févr. 2011, doi: 10.1128/IAI.00898-10.
- [48] M. Sasai, A. Pradipta, et M. Yamamoto, « Host immune responses to *Toxoplasma gondii* », *Int. Immunol.*, vol. 30, n° 3, p. 113-119, 10 2018, doi: 10.1093/intimm/dxy004.
- [49] K. S. Harker, E. Jivan, F. Y. McWhorter, W. F. Liu, et M. B. Lodoen, « Shear forces enhance *Toxoplasma gondii* tachyzoite motility on vascular endothelium », *mBio*, vol. 5, n° 2, p. e01111-01113, avr. 2014, doi: 10.1128/mBio.01111-13.
- [50] A. Barragan et L. D. Sibley, « Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence », *J. Exp. Med.*, vol. 195, n° 12, p. 1625-1633, juin 2002, doi: 10.1084/jem.20020258.
- [51] C. Konradt *et al.*, « Endothelial cells are a replicative niche for entry of *Toxoplasma gondii* to the central nervous system », *Nat. Microbiol.*, vol. 1, p. 16001, févr. 2016, doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.1.
- [52] N. Courret, S. Darche, P. Sonigo, G. Milon, D. Buzoni-Gâtel, et I. Tardieux, « CD11c- and CD11b-expressing mouse leukocytes transport single *Toxoplasma gondii* tachyzoites to the brain », *Blood*, vol. 107, n° 1, p. 309-316, janv. 2006, doi: 10.1182/blood-2005-02-0666.

- [53] S. M. Lachenmaier, M. A. Deli, M. Meissner, et O. Liesenfeld, « Intracellular transport of *Toxoplasma gondii* through the blood-brain barrier », *J. Neuroimmunol.*, vol. 232, n° 1-2, p. 119-130, mars 2011, doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.10.029.
- [54] N. Ueno *et al.*, « Real-time imaging of *Toxoplasma*-infected human monocytes under fluidic shear stress reveals rapid translocation of intracellular parasites across endothelial barriers », *Cell. Microbiol.*, vol. 16, n° 4, p. 580-595, avr. 2014, doi: 10.1111/cmi.12239.
- [55] S. Rougier, J. G. Montoya, et F. Peyron, « Lifelong Persistence of *Toxoplasma* Cysts: A Questionable Dogma? », *Trends Parasitol.*, vol. 33, n° 2, p. 93-101, 2017, doi: 10.1016/j.pt.2016.10.007.
- [56] P. M. Robben, D. G. Mordue, S. M. Truscott, K. Takeda, S. Akira, et L. D. Sibley, « Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype », *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 172, n° 6, p. 3686-3694, mars 2004, doi: 10.4049/jimmunol.172.6.3686.
- [57] F. van Knapen, A. F. Kremers, J. H. Franchimont, et U. Narucka, « Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cattle and swine in The Netherlands: towards an integrated control of livestock production », *Vet. Q.*, vol. 17, n° 3, p. 87-91, sept. 1995, doi: 10.1080/01652176.1995.9694539.
- [58] F. Robert-Gangneux, H. Yera, D. D'Herve, et C. Guiguen, « Congenital toxoplasmosis after a preconceptional or periconceptional maternal infection », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 28, n° 7, p. 660-661, juill. 2009, doi: 10.1097/INF.0b013e3181966020.
- [59] D. S. Lindsay et J. P. Dubey, « *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis », *Parasitology*, vol. 138, n° 14, p. 1829-1831, déc. 2011, doi: 10.1017/S0031182011001478.
- [60] A. Elbez-Rubinstein *et al.*, « Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review », *J. Infect. Dis.*, vol. 199, n° 2, p. 280-285, janv. 2009, doi: 10.1086/595793.
- [61] M. Wallon *et al.*, « Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 56, n° 9, p. 1223-1231, mai 2013, doi: 10.1093/cid/cit032.
- [62] F. Kieffer et M. Wallon, « Congenital toxoplasmosis », *Handb. Clin. Neurol.*, vol. 112, p. 1099-1101, 2013, doi: 10.1016/B978-0-444-52910-7.00028-3.
- [63] C. Codaccioni *et al.*, « Ultrasound features of fetal toxoplasmosis: A contemporary multicenter survey in 88 fetuses », *Prenat. Diagn.*, juin 2020, doi: 10.1002/pd.5756.
- [64] F. Dhombres *et al.*, « Prognosis of Fetal Parenchymal Cerebral Lesions without Ventriculomegaly in Congenital Toxoplasmosis Infection », *Fetal Diagn. Ther.*, vol. 41, n° 1, p. 8-14, 2017, doi: 10.1159/000445113.
- [65] F. Kieffer, M. Wallon, P. Garcia, P. Thulliez, F. Peyron, et J. Franck, « Risk factors for retinochoroiditis during the first 2 years of life in infants with treated congenital toxoplasmosis », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 27, n° 1, p. 27-32, janv. 2008, doi: 10.1097/INF.0b013e318134286d.
- [66] M. Wallon *et al.*, « Ophthalmic outcomes of congenital toxoplasmosis followed until adolescence », *Pediatrics*, vol. 133, n° 3, p. e601-608, mars 2014, doi: 10.1542/peds.2013-2153.
- [67] Koppe J., Loewer-Sieger D., et Roeber-Bonnet H, « Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis », *Lancet*, vol. 1, p. 254-256, 1986.
- [68] Wilson C., Remington J.S., et Stagno S., « Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection », *Pediatrics*, vol. 66, p. 767-774, 1980.
- [69] E. M. Dodds *et al.*, « Intraocular Inflammation Associated with Ocular Toxoplasmosis: Relationships at Initial Examination », *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 146, n° 6, p. 856-865.e2, déc. 2008, doi: 10.1016/j.ajo.2008.09.006.

- [70] Y. A. Al-Zahrani, H. A. Al-Dhibi, et A. A. Al-Abdullah, « Atypical Presentation of Ocular Toxoplasmosis: A Case Report of Exudative Retinal Detachment and Choroidal Ischemia », *Middle East Afr. J. Ophthalmol.*, vol. 23, n° 1, p. 150-152, mars 2016, doi: 10.4103/0974-9233.164624.
- [71] P. R. Torgerson et P. Mastroiacovo, « The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review », *Bull. World Health Organ.*, vol. 91, n° 7, p. 501-508, juill. 2013, doi: 10.2471/BLT.12.111732.
- [72] E. G. Lago, M. M. Endres, M. F. da C. Scheeren, et H. H. Fiori, « Ocular Outcome of Brazilian Patients With Congenital Toxoplasmosis », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, oct. 2020, doi: 10.1097/INF.0000000000002931.
- [73] A. G. G. F. Strang *et al.*, « The congenital toxoplasmosis burden in Brazil: Systematic review and meta-analysis », *Acta Trop.*, vol. 211, p. 105608, nov. 2020, doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105608.
- [74] P. R. Torgerson et P. Mastroiacovo, « The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review », *Bull. World Health Organ.*, vol. 91, n° 7, p. 501-508, juill. 2013, doi: 10.2471/BLT.12.111732.
- [75] J. G. Montoya et O. Liesenfeld, « Toxoplasmosis », *Lancet*, vol. 363, n° 9425, p. 1965-1976, juin 2004, doi: 10.1016/S0140-6736(04)16412-X.
- [76] F. Peyron *et al.*, « Maternal and Congenital Toxoplasmosis: Diagnosis and Treatment Recommendations of a French Multidisciplinary Working Group », *Pathog. Basel Switz.*, vol. 8, n° 1, févr. 2019, doi: 10.3390/pathogens8010024.
- [77] « Diagnostic biologique de la toxoplasmose chez les patients immunodéprimés Patients infectés par le VIH, greffés de cellules souches hématopoïétiques et transplantés d'organe ». Consulté le: juin 25, 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2017-05/dir108/argumentaire_toxoplasmose_id.pdf.
- [78] SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group, R. Thiébaud, S. Leproust, G. Chêne, et R. Gilbert, « Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 369, n° 9556, p. 115-122, janv. 2007, doi: 10.1016/S0140-6736(07)60072-5.
- [79] M. Wallon *et al.*, « Congenital *Toxoplasma* infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 56, n° 9, p. 1223-1231, mai 2013, doi: 10.1093/cid/cit032.
- [80] G. Miremont-Salamé, H. Théophile, F. Haramburu, et B. Bégaud, « Causality assessment in pharmacovigilance: The French method and its successive updates », *Therapies*, vol. 71, n° 2, p. 179-186, avr. 2016, doi: 10.1016/j.therap.2016.02.010.
- [81] R. McLeod *et al.*, « Levels of pyrimethamine in sera and cerebrospinal and ventricular fluids from infants treated for congenital toxoplasmosis. Toxoplasmosis Study Group », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 36, n° 5, p. 1040-1048, mai 1992.
- [82] C. Binquet *et al.*, « The cost-effectiveness of neonatal versus prenatal screening for congenital toxoplasmosis », *PloS One*, vol. 14, n° 9, p. e0221709, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0221709.
- [83] J. Bajnok *et al.*, « High frequency of infection of lung cancer patients with the parasite *Toxoplasma gondii* », *ERJ Open Res.*, vol. 5, n° 2, avr. 2019, doi: 10.1183/23120541.00143-2018.
- [84] D. M. Israelski et J. S. Remington, « Toxoplasmosis in patients with cancer », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 17 Suppl 2, p. S423-435, nov. 1993, doi: 10.1093/clinids/17.supplement_2.s423.
- [85] D. Karanovic *et al.*, « Disseminated and Congenital Toxoplasmosis in a Mother and Child With Activated PI3-Kinase δ Syndrome Type 2 (APDS2): Case Report and a Literature Review of Toxoplasma Infections in Primary Immunodeficiencies », *Front. Immunol.*, vol. 10, p. 77, 2019, doi: 10.3389/fimmu.2019.00077.

- [86] A. A. Gharamti, A. Rao, P. E. Pecun, A. F. Henao-Martínez, C. Franco-Paredes, et J. G. Montoya, « Acute *Toxoplasma* Dissemination With Encephalitis in the Era of Biological Therapies », *Open Forum Infect. Dis.*, vol. 5, n° 11, p. ofy259, nov. 2018, doi: 10.1093/ofid/ofy259.
- [87] E. B. Lee, N. Ayoubi, M. Albayram, V. Kariyawasam, et K. Motaparathi, « Cerebral toxoplasmosis after rituximab for pemphigus vulgaris », *JAAD Case Rep.*, vol. 6, n° 1, p. 37-41, janv. 2020, doi: 10.1016/j.jdc.2019.10.015.
- [88] A. Enriquez-Marulanda *et al.*, « Cerebral toxoplasmosis in an MS patient receiving Fingolimod », *Mult. Scler. Relat. Disord.*, vol. 18, p. 106-108, nov. 2017, doi: 10.1016/j.msard.2017.05.004.
- [89] S. Pulivarthi, R. A. Reshi, C. T. McGary, et M. K. Gurram, « Cerebral toxoplasmosis in a patient on methotrexate and infliximab for rheumatoid arthritis », *Intern. Med. Tokyo Jpn.*, vol. 54, n° 11, p. 1433-1436, 2015, doi: 10.2169/internalmedicine.54.3977.
- [90] S. Meers *et al.*, « Myeloablative conditioning predisposes patients for *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic stem cell transplantation », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 50, n° 8, p. 1127-1134, avr. 2010, doi: 10.1086/651266.
- [91] O. Paccoud *et al.*, « Features of *Toxoplasma gondii* reactivation after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in a high seroprevalence setting », *Bone Marrow Transplant.*, vol. 55, n° 1, p. 93-99, janv. 2020, doi: 10.1038/s41409-019-0641-y.
- [92] R. Martino *et al.*, « Toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 31, n° 5, p. 1188-1195, nov. 2000, doi: 10.1086/317471.
- [93] A. Chehrazi-Raffle *et al.*, « *Toxoplasma gondii* Serology and Outcomes After Heart Transplantation: Contention in the Literature », *Transplant. Proc.*, vol. 47, n° 6, p. 1949-1953, août 2015, doi: 10.1016/j.transproceed.2015.06.022.
- [94] F. Robert-Gangneux *et al.*, « Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients: a 3-year multicenter retrospective study », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, n° 5, p. 1677-1684, mai 2015, doi: 10.1128/JCM.03282-14.
- [95] A. Mele, P. J. Paterson, H. G. Prentice, P. Leoni, et C. C. Kibbler, « Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature », *Bone Marrow Transplant.*, vol. 29, n° 8, p. 691-698, avr. 2002, doi: 10.1038/sj.bmt.1703425.
- [96] C. Katlama, S. De Wit, E. O'Doherty, M. Van Glabeke, et N. Clumeck, « Pyrimethamine-clindamycin vs. pyrimethamine-sulfadiazine as acute and long-term therapy for toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 22, n° 2, p. 268-275, févr. 1996, doi: 10.1093/clinids/22.2.268.
- [97] S. B. Porter et M. A. Sande, « Toxoplasmosis of the central nervous system in the acquired immunodeficiency syndrome », *N. Engl. J. Med.*, vol. 327, n° 23, p. 1643-1648, déc. 1992, doi: 10.1056/NEJM199212033272306.
- [98] B. J. Luft *et al.*, « Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team », *N. Engl. J. Med.*, vol. 329, n° 14, p. 995-1000, sept. 1993, doi: 10.1056/NEJM199309303291403.
- [99] J. E. Kaplan *et al.*, « Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America », *MMWR Recomm. Rep. Morb. Mortal. Wkly. Rep. Recomm. Rep.*, vol. 58, n° RR-4, p. 1-207; quiz CE1-4, avr. 2009.
- [100] F. Robert-Gangneux *et al.*, « Toxoplasmosis in Transplant Recipients, Europe, 2010-2014 », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 24, n° 8, p. 1497-1504, 2018, doi: 10.3201/eid2408.180045.
- [101] A. L. Campbell, C. L. Goldberg, M. S. Magid, G. Gondolesi, C. Rumbo, et B. C. Herold, « First case of toxoplasmosis following small bowel transplantation and systematic review of tissue-invasive toxoplasmosis following noncardiac solid organ transplantation », *Transplantation*, vol. 81, n° 3, p. 408-417, févr. 2006, doi: 10.1097/01.tp.0000188183.49025.d5.

- [102] K. Gajurel, R. Dhakal, et J. G. Montoya, « Toxoplasma prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations », *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 28, n° 4, p. 283-292, août 2015, doi: 10.1097/QCO.000000000000169.
- [103] F. Derouin, H. Pelloux, et ESCMID Study Group on Clinical Parasitology, « Prevention of toxoplasmosis in transplant patients », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14, n° 12, p. 1089-1101, déc. 2008, doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02091.x.
- [104] M. Tomblyn *et al.*, « Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective », *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 15, n° 10, p. 1143-1238, oct. 2009, doi: 10.1016/j.bbmt.2009.06.019.
- [105] R. Martino *et al.*, « Early detection of *Toxoplasma* infection by molecular monitoring of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood samples after allogeneic stem cell transplantation », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 40, n° 1, p. 67-78, janv. 2005, doi: 10.1086/426447.
- [106] S. Bretagne, J. M. Costa, F. Foulet, L. Jabot-Lestang, F. Baud-Camus, et C. Cordonnier, « Prospective study of *Toxoplasma* reactivation by polymerase chain reaction in allogeneic stem-cell transplant recipients », *Transpl. Infect. Dis. Off. J. Transplant. Soc.*, vol. 2, n° 3, p. 127-132, sept. 2000, doi: 10.1034/j.1399-3062.2000.020305.x.
- [107] M. Fuchs, C. Scheid, A. Schulz, V. Diehl, et D. Söhngen, « Trimethoprim/sulfamethoxazole prophylaxis impairs function of mobilised autologous peripheral blood stem cells », *Bone Marrow Transplant.*, vol. 26, n° 7, p. 815-816, oct. 2000, doi: 10.1038/sj.bmt.1702586.
- [108] H. Chung, J. G. Kim, S. H. Choi, S. Y. Lee, et Y. H. Yoon, « Bilateral *Toxoplasma* retinochoroiditis simulating cytomegalovirus retinitis in an allogeneic bone marrow transplant patient », *Korean J. Ophthalmol. KJO*, vol. 22, n° 3, p. 197-200, sept. 2008, doi: 10.3341/kjo.2008.22.3.197.
- [109] S. F. Parmley, F. D. Goebel, et J. S. Remington, « Detection of *Toxoplasma gondii* in cerebrospinal fluid from AIDS patients by polymerase chain reaction », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 30, n° 11, p. 3000-3002, nov. 1992.
- [110] M. W. Johnson, G. M. Greven, G. J. Jaffe, H. Sudhalkar, et A. K. Vine, « Atypical, severe toxoplasmic retinochoroiditis in elderly patients », *Ophthalmology*, vol. 104, n° 1, p. 48-57, janv. 1997, doi: 10.1016/s0161-6420(97)30362-5.
- [111] J. Dupouy-Camet *et al.*, « Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 31, n° 7, p. 1866-1869, juill. 1993.
- [112] Y. Sterkers *et al.*, « Novel interpretation of molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis according to gestational age at the time of maternal infection », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 50, n° 12, p. 3944-3951, déc. 2012, doi: 10.1128/JCM.00918-12.
- [113] J. L. Burg, C. M. Grover, P. Pouletty, et J. C. Boothroyd, « Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 27, n° 8, p. 1787-1792, août 1989.
- [114] U. Reischl, S. Bretagne, D. Krüger, P. Ernault, et J.-M. Costa, « Comparison of two DNA targets for the diagnosis of Toxoplasmosis by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes », *BMC Infect. Dis.*, vol. 3, p. 7, mai 2003, doi: 10.1186/1471-2334-3-7.
- [115] S. Belaz, J.-P. Gangneux, P. Dupretz, C. Guiguen, et F. Robert-Gangneux, « A 10-year retrospective comparison of two target sequences, REP-529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, n° 4, p. 1294-1300, avr. 2015, doi: 10.1128/JCM.02900-14.
- [116] J. E. Vidal, « HIV-Related Cerebral Toxoplasmosis Revisited: Current Concepts and Controversies of an Old Disease », *J. Int. Assoc. Provid. AIDS Care*, vol. 18, août 2019, doi: 10.1177/2325958219867315.

- [117] H. Fricker-Hidalgo *et al.*, « Diagnosis of toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation: results of DNA detection and serological techniques », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 48, n° 2, p. e9-e15, janv. 2009, doi: 10.1086/595709.
- [118] D. Dupont, H. Fricker-Hidalgo, M.-P. Brenier-Pinchart, C. Garnaud, M. Wallon, et H. Pelloux, « Serology for *Toxoplasma* in Immunocompromised Patients: Still Useful? », *Trends Parasitol.*, oct. 2020, doi: 10.1016/j.pt.2020.09.006.
- [119] B. Carme *et al.*, « Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 40, n° 11, p. 4037-4044, nov. 2002, doi: 10.1128/jcm.40.11.4037-4044.2002.
- [120] J. G. Montoya et J. S. Remington, « Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 23, n° 2, p. 277-282, août 1996, doi: 10.1093/clinids/23.2.277.
- [121] I. Barber et N. J. Dingemans, « Parasitism and the evolutionary ecology of animal personality », *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, vol. 365, n° 1560, p. 4077-4088, déc. 2010, doi: 10.1098/rstb.2010.0182.
- [122] R. Dawkins, *The Extended Phenotype: The Long Reach of the Gene*. Oxford University Press, Incorporated, 1982.
- [123] M. Kaushik, P. H. L. Lamberton, et J. P. Webster, « The role of parasites and pathogens in influencing generalised anxiety and predation-related fear in the mammalian central nervous system », *Horm. Behav.*, vol. 62, n° 3, p. 191-201, août 2012, doi: 10.1016/j.yhbeh.2012.04.002.
- [124] M. Berdoy, J. P. Webster, et D. W. Macdonald, « Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii* », *Proc. Biol. Sci.*, vol. 267, n° 1452, p. 1591-1594, août 2000, doi: 10.1098/rspb.2000.1182.
- [125] P. H. L. Lamberton, C. A. Donnelly, et J. P. Webster, « Specificity of the *Toxoplasma gondii*-altered behaviour to definitive versus non-definitive host predation risk », *Parasitology*, vol. 135, n° 10, p. 1143-1150, sept. 2008, doi: 10.1017/S0031182008004666.
- [126] G. Kannan, K. Moldovan, J.-C. Xiao, R. H. Yolken, L. Jones-Brando, et M. V. Pletnikov, « *Toxoplasma gondii* strain-dependent effects on mouse behaviour », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 57, n° 2, p. 151-155, juin 2010.
- [127] F. Haroon *et al.*, « *Toxoplasma gondii* actively inhibits neuronal function in chronically infected mice », *PLoS One*, vol. 7, n° 4, p. e35516, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0035516.
- [128] A. Vyas, S.-K. Kim, N. Giacomini, J. C. Boothroyd, et R. M. Sapolsky, « Behavioral changes induced by *Toxoplasma* infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, n° 15, p. 6442-6447, avr. 2007, doi: 10.1073/pnas.0608310104.
- [129] C. Poirotte, P. M. Kappeler, B. Ngoubangoye, S. Bourgeois, M. Moussodji, et M. J. E. Charpentier, « Morbid attraction to leopard urine in *Toxoplasma*-infected chimpanzees », *Curr. Biol. CB*, vol. 26, n° 3, p. R98-99, févr. 2016, doi: 10.1016/j.cub.2015.12.020.
- [130] M. Kaushik, S. C. L. Knowles, et J. P. Webster, « What makes a feline fatal in *Toxoplasma gondii*'s fatal feline attraction? Infected rats choose wild cats », *Integr. Comp. Biol.*, vol. 54, n° 2, p. 118-128, juill. 2014, doi: 10.1093/icb/icu060.
- [131] M. Boillat *et al.*, « Neuroinflammation-Associated Aspecific Manipulation of Mouse Predator Fear by *Toxoplasma gondii* », *Cell Rep.*, vol. 30, n° 2, p. 320-334.e6, janv. 2020, doi: 10.1016/j.celrep.2019.12.019.
- [132] L. J. T. Soh, A. Vasudevan, et A. Vyas, « Infection with *Toxoplasma gondii* does not elicit predator aversion in male mice nor increase their attractiveness in terms of mate choice », *Parasitol. Res.*, vol. 112, n° 9, p. 3373-3378, sept. 2013, doi: 10.1007/s00436-013-3545-6.
- [133] A. Vyas, S.-K. Kim, et R. M. Sapolsky, « The effects of *Toxoplasma* infection on rodent behavior are dependent on dose of the stimulus », *Neuroscience*, vol. 148, n° 2, p. 342-348, août 2007, doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.06.021.

- [134] W. M. Ingram, L. M. Goodrich, E. A. Robey, et M. B. Eisen, « Mice infected with low-virulence strains of *Toxoplasma gondii* lose their innate aversion to cat urine, even after extensive parasite clearance », *PloS One*, vol. 8, n° 9, p. e75246, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0075246.
- [135] N. B. Bottari *et al.*, « Synergistic effects of resveratrol (free and inclusion complex) and sulfamethoxazole-trimetropim treatment on pathology, oxidant/antioxidant status and behavior of mice infected with *Toxoplasma gondii* », *Microb. Pathog.*, avr. 2016, doi: 10.1016/j.micpath.2016.04.002.
- [136] J. P. Webster, P. H. L. Lamberton, C. A. Donnelly, et E. F. Torrey, « Parasites as causative agents of human affective disorders? The impact of anti-psychotic, mood-stabilizer and anti-parasite medication on *Toxoplasma gondii*'s ability to alter host behaviour », *Proc. Biol. Sci.*, vol. 273, n° 1589, p. 1023-1030, avr. 2006, doi: 10.1098/rspb.2005.3413.
- [137] S. A. Hari Dass et A. Vyas, « *Toxoplasma gondii* infection reduces predator aversion in rats through epigenetic modulation in the host medial amygdala », *Mol. Ecol.*, vol. 23, n° 24, p. 6114-6122, déc. 2014, doi: 10.1111/mec.12888.
- [138] W. M. Hutchinson, M. Bradley, W. M. Cheyne, B. W. Wells, et J. Hay, « Behavioural abnormalities in *Toxoplasma*-infected mice », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 74, n° 3, p. 337-345, juin 1980, doi: 10.1080/00034983.1980.11687350.
- [139] W. M. Hutchison, P. P. Aitken, et W. P. Wells, « Chronic *Toxoplasma* infections and familiarity-novelty discrimination in the mouse », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 74, n° 2, p. 145-150, avr. 1980, doi: 10.1080/00034983.1980.11687324.
- [140] J. Hay, W. M. Hutchison, P. P. Aitken, et D. I. Graham, « The effect of congenital and adult-acquired *Toxoplasma* infections on activity and responsiveness to novel stimulation in mice », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 77, n° 5, p. 483-495, oct. 1983, doi: 10.1080/00034983.1983.11811741.
- [141] J. Hay, P. P. Aitken, D. M. Hair, W. M. Hutchison, et D. I. Graham, « The effect of congenital *Toxoplasma* infection on mouse activity and relative preference for exposed areas over a series of trials », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 78, n° 6, p. 611-618, déc. 1984, doi: 10.1080/00034983.1984.11811872.
- [142] T. Wang *et al.*, « From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: Implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii* », *Behav. Brain Res.*, vol. 359, p. 737-748, 01 2019, doi: 10.1016/j.bbr.2018.09.011.
- [143] S. Hrdá, J. Votýpka, P. Kodým, et J. Flegr, « Transient nature of *Toxoplasma gondii*-induced behavioral changes in mice », *J. Parasitol.*, vol. 86, n° 4, p. 657-663, août 2000, doi: 10.1645/0022-3395(2000)086[0657:TNOTGI]2.0.CO;2.
- [144] J. Gatkowska, M. Wiczorek, B. Dziadek, K. Dzitko, et H. Długonska, « Behavioral changes in mice caused by *Toxoplasma gondii* invasion of brain », *Parasitol. Res.*, vol. 111, n° 1, p. 53-58, juill. 2012, doi: 10.1007/s00436-011-2800-y.
- [145] I. Alsaady *et al.*, « Downregulation of the Central Noradrenergic System by *Toxoplasma gondii* Infection », *Infect. Immun.*, vol. 87, n° 2, 2019, doi: 10.1128/IAI.00789-18.
- [146] M. de la L. Galván-Ramírez *et al.*, « Kinematic Locomotion Changes in C57BL/6 Mice Infected with *Toxoplasma* Strain ME49 », *Microorganisms*, vol. 7, n° 11, nov. 2019, doi: 10.3390/microorganisms7110573.
- [147] D. Tan, L. J. T. Soh, L. W. Lim, T. C. W. Daniel, X. Zhang, et A. Vyas, « Infection of male rats with *Toxoplasma gondii* results in enhanced delay aversion and neural changes in the nucleus accumbens core », *Proc. Biol. Sci.*, vol. 282, n° 1808, p. 20150042, juin 2015, doi: 10.1098/rspb.2015.0042.
- [148] L. Torres, S.-A. Robinson, D.-G. Kim, A. Yan, T. A. Cleland, et M. S. Bynoe, « *Toxoplasma gondii* alters NMDAR signaling and induces signs of Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice », *J. Neuroinflammation*, vol. 15, n° 1, p. 57, févr. 2018, doi: 10.1186/s12974-018-1086-8.

- [149] S. Tyebji, S. Seizova, A. L. Garnham, A. J. Hannan, et C. J. Tonkin, « Impaired social behaviour and molecular mediators of associated neural circuits during chronic *Toxoplasma gondii* infection in female mice », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 80, p. 88-108, 2019, doi: 10.1016/j.bbi.2019.02.028.
- [150] M. Gulinello *et al.*, « Acquired infection with *Toxoplasma gondii* in adult mice results in sensorimotor deficits but normal cognitive behavior despite widespread brain pathology », *Microbes Infect. Inst. Pasteur*, vol. 12, n° 7, p. 528-537, juill. 2010, doi: 10.1016/j.micinf.2010.03.009.
- [151] T. Wang, Z. Tang, J. Li, X. Li, X. Wang, et Z. Zhao, « A potential association between *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia in mouse models », *Exp. Parasitol.*, vol. 135, n° 3, p. 497-502, nov. 2013, doi: 10.1016/j.exppara.2013.08.012.
- [152] G. Piekarski, H. M. Zippelius, et P. A. Witting, « [Effects of a latent *Toxoplasma* infection on the learning ability in white laboratory rats and mice (author's transl)] », *Z. Parasitenkd. Berl. Ger.*, vol. 57, n° 1, p. 1-15, sept. 1978, doi: 10.1007/bf00927625.
- [153] D. Goodwin *et al.*, « Congenital infection of mice with *Toxoplasma gondii* induces minimal change in behavior and no change in neurotransmitter concentrations », *J. Parasitol.*, vol. 98, n° 4, p. 706-712, août 2012, doi: 10.1645/GE-3068.1.
- [154] H. Hodkova, P. Kodym, et J. Flegr, « Poorer results of mice with latent toxoplasmosis in learning tests: impaired learning processes or the novelty discrimination mechanism? », *Parasitology*, vol. 134, n° Pt 10, p. 1329-1337, sept. 2007, doi: 10.1017/S0031182007002673.
- [155] C. Afonso *et al.*, « *Toxoplasma*-induced changes in host risk behaviour are independent of parasite-derived AaaH2 tyrosine hydroxylase », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 13822, 23 2017, doi: 10.1038/s41598-017-13229-y.
- [156] B. P. Daniels, S. R. Sestito, et S. T. Rouse, « An expanded task battery in the Morris water maze reveals effects of *Toxoplasma gondii* infection on learning and memory in rats », *Parasitol. Int.*, vol. 64, n° 1, p. 5-12, févr. 2015, doi: 10.1016/j.parint.2014.09.002.
- [157] L. E. Gonzalez *et al.*, « *Toxoplasma gondii* infection lower anxiety as measured in the plus-maze and social interaction tests in rats A behavioral analysis », *Behav. Brain Res.*, vol. 177, n° 1, p. 70-79, févr. 2007, doi: 10.1016/j.bbr.2006.11.012.
- [158] Z. Parvin, M. D. Iraj, S. Minoo, et K. Fatemeh, « Effects of *Toxoplasma gondii* infection on anxiety, depression and ghrelin level in male rats », *J. Parasit. Dis. Off. Organ Indian Soc. Parasitol.*, vol. 40, n° 3, p. 688-693, sept. 2016, doi: 10.1007/s12639-014-0561-0.
- [159] F. Ihara *et al.*, « *Toxoplasma gondii* Infection in Mice Impairs Long-Term Fear Memory Consolidation Through Dysfunction of the Cortex and Amygdala », *Infect. Immun.*, juill. 2016, doi: 10.1128/IAI.00217-16.
- [160] J. P. Webster, C. F. Brunton, et D. W. MacDonald, « Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, *Rattus norvegicus* », *Parasitology*, vol. 109 (Pt 1), p. 37-43, juill. 1994.
- [161] M. Berdoy, J. P. Webster, et D. W. Macdonald, « Parasite-altered behaviour: is the effect of *Toxoplasma gondii* on *Rattus norvegicus* specific? », *Parasitology*, vol. 111 (Pt 4), p. 403-409, nov. 1995.
- [162] C. Afonso, V. B. Paixão, et R. M. Costa, « Chronic *Toxoplasma* infection modifies the structure and the risk of host behavior », *PLoS One*, vol. 7, n° 3, p. e32489, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0032489.
- [163] E. C. M. Bezerra, S. V. Dos Santos, T. C. C. Dos Santos, H. F. de Andrade, et L. R. Meireles, « Behavioral evaluation of BALB/c (*Mus musculus*) mice infected with genetically distinct strains of *Toxoplasma gondii* », *Microb. Pathog.*, vol. 126, p. 279-286, janv. 2019, doi: 10.1016/j.micpath.2018.11.021.

- [164] J. Xiao *et al.*, « Sex-specific changes in gene expression and behavior induced by chronic *Toxoplasma* infection in mice », *Neuroscience*, vol. 206, p. 39-48, mars 2012, doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.051.
- [165] M. Berenreiterová, J. Flegr, A. A. Kuběna, et P. Němec, « The distribution of *Toxoplasma gondii* cysts in the brain of a mouse with latent toxoplasmosis: implications for the behavioral manipulation hypothesis », *PloS One*, vol. 6, n° 12, p. e28925, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0028925.
- [166] M. Di Cristina, D. Marocco, R. Galizi, C. Proietti, R. Spaccapelo, et A. Crisanti, « Temporal and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* differentiation into Bradyzoites and tissue cyst formation in vivo », *Infect. Immun.*, vol. 76, n° 8, p. 3491-3501, août 2008, doi: 10.1128/IAI.00254-08.
- [167] J. P. Dubey *et al.*, « Experimental Toxoplasmosis in Rats Induced Orally with Eleven Strains of *Toxoplasma gondii* of Seven Genotypes: Tissue Tropism, Tissue Cyst Size, Neural Lesions, Tissue Cyst Rupture without Reactivation, and Ocular Lesions », *PloS One*, vol. 11, n° 5, p. e0156255, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0156255.
- [168] A. Parlog, D. Schlüter, et I. R. Dunay, « *Toxoplasma gondii*-induced neuronal alterations », *Parasite Immunol.*, vol. 37, n° 3, p. 159-170, mars 2015, doi: 10.1111/pim.12157.
- [169] D. Samońowicz, J. Twarowska-Mańczyńska, A. Borowska-Solonyńko, Ł. A. Poniatowski, N. Sharma, et M. Olczak, « Presence of *Toxoplasma gondii* infection in brain as a potential cause of risky behavior: a report of 102 autopsy cases », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 38, n° 2, p. 305-317, févr. 2019, doi: 10.1007/s10096-018-3427-z.
- [170] A. K. Evans, P. S. Strassmann, I.-P. Lee, et R. M. Sapolsky, « Patterns of *Toxoplasma gondii* cyst distribution in the forebrain associate with individual variation in predator odor avoidance and anxiety-related behavior in male Long-Evans rats », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 37, p. 122-133, mars 2014, doi: 10.1016/j.bbi.2013.11.012.
- [171] C. M. Cabral *et al.*, « Neurons are the Primary Target Cell for the Brain-Tropic Intracellular Parasite *Toxoplasma gondii* », *PLoS Pathog.*, vol. 12, n° 2, p. e1005447, févr. 2016, doi: 10.1371/journal.ppat.1005447.
- [172] T. C. Melzer, H. J. Cranston, L. M. Weiss, et S. K. Halonen, « Host Cell Preference of *Toxoplasma gondii* Cysts in Murine Brain: A Confocal Study », *J. Neuroparasitology*, vol. 1, 2010, doi: 10.4303/jnp/N100505.
- [173] N. Blanchard, I. R. Dunay, et D. Schlüter, « Persistence of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system: a fine-tuned balance between the parasite, the brain and the immune system », *Parasite Immunol.*, vol. 37, n° 3, p. 150-158, mars 2015, doi: 10.1111/pim.12173.
- [174] G. Hermes *et al.*, « Neurological and behavioral abnormalities, ventricular dilatation, altered cellular functions, inflammation, and neuronal injury in brains of mice due to common, persistent, parasitic infection », *J. Neuroinflammation*, vol. 5, p. 48, 2008, doi: 10.1186/1742-2094-5-48.
- [175] S. Udenfriend, « Tyrosine hydroxylase », *Pharmacol. Rev.*, vol. 18, n° 1, p. 43-51, mars 1966.
- [176] J. T. Coyle et S. H. Snyder, « Catecholamine uptake by synaptosomes in homogenates of rat brain: stereospecificity in different areas », *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 170, n° 2, p. 221-231, déc. 1969.
- [177] G. Rodriguez De Lores Arnaiz et E. D. De Robertis, « Cholinergic and non-cholinergic nerve endings in the rat brain. II. Subcellular localization of monoamine oxidase and succinate dehydrogenase », *J. Neurochem.*, vol. 9, p. 503-508, oct. 1962, doi: 10.1111/j.1471-4159.1962.tb04203.x.
- [178] J. Axelrod et E. S. Vesell, « Heterogeneity of N-and O-methyltransferases », *Mol. Pharmacol.*, vol. 6, n° 1, p. 78-84, janv. 1970.

- [179] H. H. Stibbs, « Changes in brain concentrations of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii* infected mice », *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, vol. 79, n° 2, p. 153-157, avr. 1985.
- [180] Y. Zhou *et al.*, « [Effect of *Toxoplasma gondii* Infection in Female Mice on Dopamine Level in the Brain of the Male Offspring] », *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*, vol. 33, n° 1, p. 29-32, févr. 2015.
- [181] J. Gatkowska, M. Wieczorek, B. Dziadek, K. Dzitko, et H. Dlugonska, « Sex-dependent neurotransmitter level changes in brains of *Toxoplasma gondii* infected mice », *Exp. Parasitol.*, vol. 133, n° 1, p. 1-7, janv. 2013, doi: 10.1016/j.exppara.2012.10.005.
- [182] J. Xiao *et al.*, « MicroRNA-132 dysregulation in *Toxoplasma gondii* infection has implications for dopamine signaling pathway », *Neuroscience*, vol. 268, p. 128-138, mai 2014, doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.03.015.
- [183] E. Prandovszky, E. Gaskell, H. Martin, J. P. Dubey, J. P. Webster, et G. A. McConkey, « The neurotropic parasite *Toxoplasma gondii* increases dopamine metabolism », *PLoS One*, vol. 6, n° 9, p. e23866, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0023866.
- [184] J. S. Strobl, D. G. Goodwin, B. A. Rzigalinski, et D. S. Lindsay, « Dopamine stimulates propagation of *Toxoplasma gondii* tachyzoites in human fibroblast and primary neonatal rat astrocyte cell cultures », *J. Parasitol.*, vol. 98, n° 6, p. 1296-1299, déc. 2012, doi: 10.1645/GE-2760.1.
- [185] E. A. Gaskell, J. E. Smith, J. W. Pinney, D. R. Westhead, et G. A. McConkey, « A unique dual activity amino acid hydroxylase in *Toxoplasma gondii* », *PLoS One*, vol. 4, n° 3, p. e4801, 2009, doi: 10.1371/journal.pone.0004801.
- [186] H. Chen *et al.*, « Efficient genome engineering of *Toxoplasma gondii* using the TALEN technique », *Parasit. Vectors*, vol. 12, n° 1, p. 112, mars 2019, doi: 10.1186/s13071-019-3378-Y.
- [187] Z. T. Wang, S. Harmon, K. L. O'Malley, et L. D. Sibley, « Reassessment of the role of aromatic amino acid hydroxylases and the effect of infection by *Toxoplasma gondii* on host dopamine », *Infect. Immun.*, vol. 83, n° 3, p. 1039-1047, mars 2015, doi: 10.1128/IAI.02465-14.
- [188] R. McFarland *et al.*, « AAH2 gene is not required for dopamine-dependent neurochemical and behavioral abnormalities produced by *Toxoplasma* infection in mouse », *Behav. Brain Res.*, vol. 347, p. 193-200, 16 2018, doi: 10.1016/j.bbr.2018.03.023.
- [189] G. A. McConkey, C. Peers, et E. Prandovszky, « Reproducing increased dopamine with infection to evaluate the role of parasite-encoded tyrosine hydroxylase activity », *Infect. Immun.*, vol. 83, n° 8, p. 3334-3335, août 2015, doi: 10.1128/IAI.00605-15.
- [190] H. L. Martin *et al.*, « Effect of parasitic infection on dopamine biosynthesis in dopaminergic cells », *Neuroscience*, vol. 306, p. 50-62, oct. 2015, doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.005.
- [191] A. Skallová, P. Kodym, D. Frynta, et J. Flegr, « The role of dopamine in *Toxoplasma*-induced behavioural alterations in mice: an ethological and ethopharmacological study », *Parasitology*, vol. 133, n° Pt 5, p. 525-535, nov. 2006, doi: 10.1017/S0031182006000886.
- [192] L. Jones-Brando, E. F. Torrey, et R. Yolken, « Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii* », *Schizophr. Res.*, vol. 62, n° 3, p. 237-244, août 2003, doi: 10.1016/s0920-9964(02)00357-2.
- [193] Y. E. Li, G. Kannan, M. V. Pletnikov, R. H. Yolken, et J. Xiao, « Chronic infection of *Toxoplasma gondii* downregulates miR-132 expression in multiple brain regions in a sex-dependent manner », *Parasitology*, vol. 142, n° 4, p. 623-632, avr. 2015, doi: 10.1017/S003118201400167X.
- [194] C. N. David *et al.*, « GLT-1-Dependent Disruption of CNS Glutamate Homeostasis and Neuronal Function by the Protozoan Parasite *Toxoplasma gondii* », *PLoS Pathog.*, vol. 12, n° 6, p. e1005643, 2016, doi: 10.1371/journal.ppat.1005643.

- [195] Y. Li *et al.*, « Chronic *Toxoplasma gondii* Infection Induces Anti-N-Methyl-d-Aspartate Receptor Autoantibodies and Associated Behavioral Changes and Neuropathology », *Infect. Immun.*, vol. 86, n° 10, 2018, doi: 10.1128/IAI.00398-18.
- [196] R. E. Adamec, P. Burton, T. Shallow, et J. Budgell, « NMDA receptors mediate lasting increases in anxiety-like behavior produced by the stress of predator exposure--implications for anxiety associated with posttraumatic stress disorder », *Physiol. Behav.*, vol. 65, n° 4-5, p. 723-737, janv. 1999, doi: 10.1016/s0031-9384(98)00226-1.
- [197] D. Lang *et al.*, « Chronic *Toxoplasma* infection is associated with distinct alterations in the synaptic protein composition », *J. Neuroinflammation*, vol. 15, n° 1, p. 216, août 2018, doi: 10.1186/s12974-018-1242-1.
- [198] J. M. Brooks, G. L. Carrillo, J. Su, D. S. Lindsay, M. A. Fox, et I. J. Blader, « *Toxoplasma gondii* Infections Alter GABAergic Synapses and Signaling in the Central Nervous System », *mBio*, vol. 6, n° 6, p. e01428-01415, 2015, doi: 10.1128/mBio.01428-15.
- [199] M. E. Mahmoud, F. Ihara, R. M. Fereig, M. Nishimura, et Y. Nishikawa, « Induction of depression-related behaviors by reactivation of chronic *Toxoplasma gondii* infection in mice », *Behav. Brain Res.*, vol. 298, n° Pt B, p. 125-133, févr. 2016, doi: 10.1016/j.bbr.2015.11.005.
- [200] N. M. Silva, C. V. Rodrigues, M. M. Santoro, L. F. L. Reis, J. I. Alvarez-Leite, et R. T. Gazzinelli, « Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1 », *Infect. Immun.*, vol. 70, n° 2, p. 859-868, févr. 2002, doi: 10.1128/iai.70.2.859-868.2002.
- [201] R. Schwarcz et T. W. Stone, « The kynurenine pathway and the brain: Challenges, controversies and promises », *Neuropharmacology*, vol. 112, n° Pt B, p. 237-247, janv. 2017, doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.08.003.
- [202] F. M. Notarangelo *et al.*, « Evaluation of kynurenine pathway metabolism in *Toxoplasma gondii*-infected mice: implications for schizophrenia », *Schizophr. Res.*, vol. 152, n° 1, p. 261-267, janv. 2014, doi: 10.1016/j.schres.2013.11.011.
- [203] A. B. Engin, F. Dogruman-Al, U. Ercin, B. Celebi, C. Babur, et N. Bukan, « Oxidative stress and tryptophan degradation pattern of acute *Toxoplasma gondii* infection in mice », *Parasitol. Res.*, vol. 111, n° 4, p. 1725-1730, oct. 2012, doi: 10.1007/s00436-012-3015-6.
- [204] C. Bay-Richter, E. Petersen, N. Liebenberg, B. Elfving, et G. Wegener, « Latent toxoplasmosis aggravates anxiety- and depressive-like behaviour and suggest a role of gene-environment interactions in the behavioural response to the parasite », *Behav. Brain Res.*, vol. 364, p. 133-139, 17 2019, doi: 10.1016/j.bbr.2019.02.018.
- [205] A. A. Tonin *et al.*, « Influence of toxoplasmosis on acetylcholinesterase activity, nitric oxide levels and cellular lesion on the brain of mice », *Pathol. Res. Pract.*, vol. 210, n° 8, p. 526-532, août 2014, doi: 10.1016/j.prp.2014.04.025.
- [206] M. A. Afifi, A. A. Jiman-Fatani, M. W. Al-Rabia, N. H. Al-Hussainy, S. El Saadany, et W. Mayah, « More Than an Association: Latent Toxoplasmosis Might Provoke a Local Oxidative Stress That Triggers the Development of Bipolar Disorder », *J. Microsc. Ultrastruct.*, vol. 6, n° 3, p. 139-144, sept. 2018, doi: 10.4103/JMAU.JMAU_22_18.
- [207] T. J. McHugh *et al.*, « Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network », *Science*, vol. 317, n° 5834, p. 94-99, juill. 2007, doi: 10.1126/science.1140263.
- [208] J. Tomasik, T. L. Schultz, W. Kluge, R. H. Yolken, S. Bahn, et V. B. Carruthers, « Shared Immune and Repair Markers During Experimental *Toxoplasma* Chronic Brain Infection and Schizophrenia », *Schizophr. Bull.*, sept. 2015, doi: 10.1093/schbul/sbv134.
- [209] Y. Li, E. G. Severance, R. P. Viscidi, R. H. Yolken, et J. Xiao, « Persistent *Toxoplasma* Infection of the Brain Induced Neurodegeneration Associated with Activation of Complement and Microglia », *Infect. Immun.*, vol. 87, n° 8, 2019, doi: 10.1128/IAI.00139-19.

- [210] Y. Zhang *et al.*, « Activated microglia contribute to neuronal apoptosis in Toxoplasmic encephalitis », *Parasit. Vectors*, vol. 7, p. 372, 2014, doi: 10.1186/1756-3305-7-372.
- [211] R. Mitra, R. M. Sapolsky, et A. Vyas, « *Toxoplasma gondii* infection induces dendritic retraction in basolateral amygdala accompanied by reduced corticosterone secretion », *Dis. Model. Mech.*, vol. 6, n° 2, p. 516-520, mars 2013, doi: 10.1242/dmm.009928.
- [212] J. L. Barbosa *et al.*, « Spontaneous *T. gondii* neuronal encystment induces structural neuritic network impairment associated with changes of tyrosine hydroxylase expression », *Neurosci. Lett.*, vol. 718, p. 134721, janv. 2020, doi: 10.1016/j.neulet.2019.134721.
- [213] A. Parlog *et al.*, « Chronic murine toxoplasmosis is defined by subtle changes in neuronal connectivity », *Dis. Model. Mech.*, vol. 7, n° 4, p. 459-469, avr. 2014, doi: 10.1242/dmm.014183.
- [214] V. Estato *et al.*, « The Neurotropic Parasite *Toxoplasma gondii* Induces Sustained Neuroinflammation with Microvascular Dysfunction in Infected Mice », *Am. J. Pathol.*, vol. 188, n° 11, p. 2674-2687, 2018, doi: 10.1016/j.ajpath.2018.07.007.
- [215] P. K. House, A. Vyas, et R. Sapolsky, « Predator cat odors activate sexual arousal pathways in brains of *Toxoplasma gondii* infected rats », *PLoS One*, vol. 6, n° 8, p. e23277, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0023277.
- [216] M. B. Góis *et al.*, « Chronic infection with *Toxoplasma gondii* induces death of submucosal enteric neurons and damage in the colonic mucosa of rats », *Exp. Parasitol.*, vol. 164, p. 56-63, mai 2016, doi: 10.1016/j.exppara.2016.02.009.
- [217] G. Syn, D. Anderson, J. M. Blackwell, et S. E. Jamieson, « Epigenetic dysregulation of host gene expression in *Toxoplasma* infection with specific reference to dopamine and amyloid pathways », *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.*, vol. 65, p. 159-162, 2018, doi: 10.1016/j.meegid.2018.07.034.
- [218] S. Tanaka, M. Nishimura, F. Ihara, J. Yamagishi, Y. Suzuki, et Y. Nishikawa, « Transcriptome analysis of mouse brain infected with *Toxoplasma gondii* », *Infect. Immun.*, vol. 81, n° 10, p. 3609-3619, oct. 2013, doi: 10.1128/IAI.00439-13.
- [219] J. Xiao, Y. Li, L. Jones-Brando, et R. H. Yolken, « Abnormalities of neurotransmitter and neuropeptide systems in human neuroepithelioma cells infected by three *Toxoplasma* strains », *J. Neural Transm. Vienna Austria 1996*, vol. 120, n° 12, p. 1631-1639, déc. 2013, doi: 10.1007/s00702-013-1064-3.
- [220] Z. Kozar, « [Studies on toxoplasmosis in mental diseases] », *Biul. Panstwowego Inst. Med. Morskiej Trop. W Gdansk Biulleten Gos. Instituta Morskoj Trop. Meditsiny V Gdanske Bull. State Inst. Mar. Trop. Med. Gdansk Pola*, vol. 5, p. 134-137; English transl, 1953.
- [221] W. Kramer, « Frontiers of neurological diagnosis in acquired toxoplasmosis », *Psychiatr. Neurol. Neurochir.*, vol. 69, n° 1, p. 43-64, févr. 1966.
- [222] M. Matsumoto, « Dopamine signals and physiological origin of cognitive dysfunction in Parkinson's disease », *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.*, vol. 30, n° 4, p. 472-483, avr. 2015, doi: 10.1002/mds.26177.
- [223] A. Martorana et G. Koch, « Is dopamine involved in Alzheimer's disease? », *Front. Aging Neurosci.*, vol. 6, p. 252, 2014, doi: 10.3389/fnagi.2014.00252.
- [224] J. W. Mink, « Neurobiology of basal ganglia and Tourette syndrome: basal ganglia circuits and thalamocortical outputs », *Adv. Neurol.*, vol. 99, p. 89-98, 2006.
- [225] P. Li, G. L. Snyder, et K. E. Vanover, « Dopamine Targeting Drugs for the Treatment of Schizophrenia: Past, Present and Future », *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 16, n° 29, p. 3385-3403, 2016, doi: 10.2174/1568026616666160608084834.
- [226] Y. Qian *et al.*, « Advances in Roles of miR-132 in the Nervous System », *Front. Pharmacol.*, vol. 8, p. 770, 2017, doi: 10.3389/fphar.2017.00770.
- [227] G. Kannan *et al.*, « Pathogen-mediated NMDA receptor autoimmunity and cellular barrier dysfunction in schizophrenia », *Transl. Psychiatry*, vol. 7, n° 8, p. e1186, 01 2017, doi: 10.1038/tp.2017.162.

- [228] D. M. Treiman, « GABAergic mechanisms in epilepsy », *Epilepsia*, vol. 42 Suppl 3, p. 8-12, 2001, doi: 10.1046/j.1528-1157.2001.042suppl.3008.x.
- [229] B. Karolewicz, D. Maciag, G. O'Dwyer, C. A. Stockmeier, A. M. Feyissa, et G. Rajkowska, « Reduced level of glutamic acid decarboxylase-67 kDa in the prefrontal cortex in major depression », *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, vol. 13, n° 4, p. 411-420, mai 2010, doi: 10.1017/S1461145709990587.
- [230] G. Oxenkrug, « Serotonin-kynurenine hypothesis of depression: historical overview and recent developments », *Curr. Drug Targets*, vol. 14, n° 5, p. 514-521, mai 2013, doi: 10.2174/1389450111314050002.
- [231] R. Schwarcz, A. Rassoulpour, H. Q. Wu, D. Medoff, C. A. Tamminga, et R. C. Roberts, « Increased cortical kynurenate content in schizophrenia », *Biol. Psychiatry*, vol. 50, n° 7, p. 521-530, oct. 2001, doi: 10.1016/s0006-3223(01)01078-2.
- [232] A. Chaudhury et B. V. Ramana, « Schizophrenia and bipolar disorders: The *Toxoplasma* connection », *Trop. Parasitol.*, vol. 9, n° 2, p. 71-76, déc. 2019, doi: 10.4103/tp.TP_28_19.
- [233] C. L. Miller, I. C. Llenos, J. R. Dulay, M. M. Barillo, R. H. Yolken, et S. Weis, « Expression of the kynurenine pathway enzyme tryptophan 2,3-dioxygenase is increased in the frontal cortex of individuals with schizophrenia », *Neurobiol. Dis.*, vol. 15, n° 3, p. 618-629, avr. 2004, doi: 10.1016/j.nbd.2003.12.015.
- [234] K. Uno *et al.*, « Decreased DNA Methylation in the Shati/Nat8l Promoter in Both Patients with Schizophrenia and a Methamphetamine-Induced Murine Model of Schizophrenia-Like Phenotype », *PLoS One*, vol. 11, n° 6, p. e0157959, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0157959.
- [235] L. Gras, R. E. Gilbert, M. Wallon, F. Peyron, et M. Cortina-Borja, « Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies », *Epidemiol. Infect.*, vol. 132, n° 3, p. 541-548, juin 2004.
- [236] P. B. Mortensen *et al.*, « *Toxoplasma gondii* as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth », *Biol. Psychiatry*, vol. 61, n° 5, p. 688-693, mars 2007, doi: 10.1016/j.biopsych.2006.05.024.
- [237] F. Peyron, M. Wallon, F. Kieffer, et JG. Garweg, « Toxoplasmosis », in *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn*, 8th éd., Remington and Klein, 2015.
- [238] F. M. Leweke *et al.*, « Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia », *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, vol. 254, n° 1, p. 4-8, févr. 2004, doi: 10.1007/s00406-004-0481-6.
- [239] D. G. Goodwin, J. S. Strobl, et D. S. Lindsay, « Evaluation of five antischizophrenic agents against *Toxoplasma gondii* in human cell cultures », *J. Parasitol.*, vol. 97, n° 1, p. 148-151, févr. 2011, doi: 10.1645/GE-2536.1.
- [240] G. Fond *et al.*, « Treatment with anti-toxoplasmic activity (TATA) for toxoplasma positive patients with bipolar disorders or schizophrenia: a cross-sectional study », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 63, p. 58-64, avr. 2015, doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.02.011.
- [241] G. Fond *et al.*, « Latent toxoplasma infection in real-world schizophrenia: Results from the national FACE-SZ cohort », *Schizophr. Res.*, vol. 201, p. 373-380, 2018, doi: 10.1016/j.schres.2018.05.007.
- [242] F. B. Dickerson, C. R. Stallings, J. J. Boronow, A. E. Origoni, et R. H. Yolken, « A double-blind trial of adjunctive azithromycin in individuals with schizophrenia who are seropositive for *Toxoplasma gondii* », *Schizophr. Res.*, vol. 112, n° 1-3, p. 198-199, juill. 2009, doi: 10.1016/j.schres.2009.05.005.
- [243] T. Shibre *et al.*, « Trimethoprim as adjuvant treatment in schizophrenia: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial », *Schizophr. Bull.*, vol. 36, n° 4, p. 846-851, juill. 2010, doi: 10.1093/schbul/sbn191.
- [244] F. Dickerson *et al.*, « Artemisinin reduces the level of antibodies to gliadin in schizophrenia », *Schizophr. Res.*, vol. 129, n° 2-3, p. 196-200, juill. 2011, doi: 10.1016/j.schres.2011.04.010.

- [245] H.-L. Wang *et al.*, « The effect of artemether on psychotic symptoms and cognitive impairment in first-episode, antipsychotic drug-naive persons with schizophrenia seropositive to *Toxoplasma gondii* », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 53, p. 119-124, juin 2014, doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.02.016.
- [246] S. D. Chorlton, « *Toxoplasma gondii* and schizophrenia: a review of published RCTs », *Parasitol. Res.*, vol. 116, n° 7, p. 1793-1799, juill. 2017, doi: 10.1007/s00436-017-5478-y.
- [247] R. Uher et A. Zwicker, « Etiology in psychiatry: embracing the reality of poly-gene-environmental causation of mental illness », *World Psychiatry Off. J. World Psychiatr. Assoc. WPA*, vol. 16, n° 2, p. 121-129, juin 2017, doi: 10.1002/wps.20436.
- [248] C. Bay-Richter *et al.*, « Latent toxoplasmosis and psychiatric symptoms - A role of tryptophan metabolism? », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 110, p. 45-50, 2019, doi: 10.1016/j.jpsychires.2018.12.016.
- [249] E. F. Torrey, « Are we overestimating the genetic contribution to schizophrenia? », *Schizophr. Bull.*, vol. 18, n° 2, p. 159-170, 1992, doi: 10.1093/schbul/18.2.159.
- [250] K. A. Menninger, « Influenza and schizophrenia. An analysis of post-influenzal "dementia precox," as of 1918, and five years later further studies of the psychiatric aspects of influenza. 1926 », *Am. J. Psychiatry*, vol. 151, n° 6 Suppl, p. 182-187, juin 1994, doi: 10.1176/ajp.151.6.182.
- [251] S. C. Kalichman, T. Heckman, A. Kochman, K. Sikkema, et J. Bergholte, « Depression and thoughts of suicide among middle-aged and older persons living with HIV-AIDS », *Psychiatr. Serv. Wash. DC*, vol. 51, n° 7, p. 903-907, juill. 2000, doi: 10.1176/appi.ps.51.7.903.
- [252] A. Hans *et al.*, « Persistent, noncytolytic infection of neurons by Borna disease virus interferes with ERK 1/2 signaling and abrogates BDNF-induced synaptogenesis », *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, vol. 18, n° 7, p. 863-865, mai 2004, doi: 10.1096/fj.03-0764fje.
- [253] U. B. Semiz, V. Turhan, C. Basoglu, O. Oner, S. Ebrinc, et M. Cetin, « Leptospirosis presenting with mania and psychosis: four consecutive cases seen in a military hospital in Turkey », *Int. J. Psychiatry Med.*, vol. 35, n° 3, p. 299-305, 2005, doi: 10.2190/OKUX-JE1J-HV6K-3R9J.
- [254] S. E. Swedo, H. L. Leonard, et J. L. Rapoport, « The pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection (PANDAS) subgroup: separating fact from fiction », *Pediatrics*, vol. 113, n° 4, p. 907-911, avr. 2004, doi: 10.1542/peds.113.4.907.
- [255] R. Yolken, E. F. Torrey, et F. Dickerson, « Evidence of increased exposure to *Toxoplasma gondii* in individuals with recent onset psychosis but not with established schizophrenia », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 11, n° 11, p. e0006040, nov. 2017, doi: 10.1371/journal.pntd.0006040.
- [256] J. Horacek *et al.*, « Latent toxoplasmosis reduces gray matter density in schizophrenia but not in controls: voxel-based-morphometry (VBM) study », *World J. Biol. Psychiatry Off. J. World Fed. Soc. Biol. Psychiatry*, vol. 13, n° 7, p. 501-509, oct. 2012, doi: 10.3109/15622975.2011.573809.
- [257] M. G. Pedersen, H. Stevens, C. B. Pedersen, B. Nørgaard-Pedersen, et P. B. Mortensen, « *Toxoplasma* infection and later development of schizophrenia in mothers », *Am. J. Psychiatry*, vol. 168, n° 8, p. 814-821, août 2011, doi: 10.1176/appi.ajp.2011.10091351.
- [258] K. Sugden, T. E. Moffitt, L. Pinto, R. Poulton, B. S. Williams, et A. Caspi, « Is *Toxoplasma gondii* Infection Related to Brain and Behavior Impairments in Humans? Evidence from a Population-Representative Birth Cohort », *PloS One*, vol. 11, n° 2, p. e0148435, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0148435.
- [259] L. D. de Witte *et al.*, « The association between antibodies to neurotropic pathogens and schizophrenia: a case-control study », *NPJ Schizophr.*, vol. 1, p. 15041, 2015, doi: 10.1038/npjpsz.2015.41.
- [260] M. Lindgren, M. Torniainen-Holm, T. Härkänen, F. Dickerson, R. H. Yolken, et J. Suvisaari, « The association between *Toxoplasma* and the psychosis continuum in a general population setting », *Schizophr. Res.*, juill. 2017, doi: 10.1016/j.schres.2017.06.052.

- [261] Y. Tedla *et al.*, « Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Herpesviridae* family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study », *Ethiop. Med. J.*, vol. 49, n° 3, p. 211-220, juill. 2011.
- [262] X. Chen *et al.*, « Association between *Toxoplasma gondii* infection and psychiatric disorders in Zhejiang, Southeastern China », *Acta Trop.*, vol. 192, p. 82-86, avr. 2019, doi: 10.1016/j.actatropica.2019.02.001.
- [263] N. H. Al-Hussainy, A. M. Al-Saedi, J. H. Al-Lehaibi, Y. A. Al-Lehaibi, Y. M. Al-Sehli, et M. A. Afifi, « Serological evidences link toxoplasmosis with schizophrenia and major depression disorder », *J. Microsc. Ultrastruct.*, vol. 3, n° 3, p. 148-153, sept. 2015, doi: 10.1016/j.jmau.2015.03.006.
- [264] E. V. Stepanova *et al.*, « Toxoplasmosis and mental disorders in the Russian Federation (with special reference to schizophrenia) », *PLoS One*, vol. 14, n° 7, p. e0219454, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0219454.
- [265] H.-L. Wang, G.-H. Wang, Q.-Y. Li, C. Shu, M.-S. Jiang, et Y. Guo, « Prevalence of *Toxoplasma* infection in first-episode schizophrenia and comparison between *Toxoplasma*-seropositive and *Toxoplasma*-seronegative schizophrenia », *Acta Psychiatr. Scand.*, vol. 114, n° 1, p. 40-48, juill. 2006, doi: 10.1111/j.1600-0447.2006.00780.x.
- [266] D. W. Niebuhr, A. M. Millikan, D. N. Cowan, R. Yolken, Y. Li, et N. S. Weber, « Selected infectious agents and risk of schizophrenia among U.S. military personnel », *Am. J. Psychiatry*, vol. 165, n° 1, p. 99-106, janv. 2008, doi: 10.1176/appi.ajp.2007.06081254.
- [267] J. Flegr et J. Horáček, « Negative Effects of Latent Toxoplasmosis on Mental Health », *Front. Psychiatry*, vol. 10, p. 1012, 2019, doi: 10.3389/fpsy.2019.01012.
- [268] A. L. Sutherland *et al.*, « Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis », *Acta Psychiatr. Scand.*, avr. 2015, doi: 10.1111/acps.12423.
- [269] J. M. Monroe, P. F. Buckley, et B. J. Miller, « Meta-Analysis of Anti-*Toxoplasma gondii* IgM Antibodies in Acute Psychosis », *Schizophr. Bull.*, vol. 41, n° 4, p. 989-998, juill. 2015, doi: 10.1093/schbul/sbu159.
- [270] J. Gutiérrez-Fernández *et al.*, « Different presence of *Chlamydia pneumoniae*, *Herpes simplex* virus type 1, human herpes virus 6, and *Toxoplasma gondii* in schizophrenia: meta-analysis and analytical study », *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. 11, p. 843-852, 2015, doi: 10.2147/NDT.S79285.
- [271] E. F. Torrey, J. J. Bartko, Z.-R. Lun, et R. H. Yolken, « Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis », *Schizophr. Bull.*, vol. 33, n° 3, p. 729-736, mai 2007, doi: 10.1093/schbul/sbl050.
- [272] G. Milne, J. P. Webster, et M. Walker, « *Toxoplasma gondii*: An Underestimated Threat? », *Trends Parasitol.*, vol. 0, n° 0, oct. 2020, doi: 10.1016/j.pt.2020.08.005.
- [273] D. Holub *et al.*, « Differences in onset of disease and severity of psychopathology between toxoplasmosis-related and toxoplasmosis-unrelated schizophrenia », *Acta Psychiatr. Scand.*, vol. 127, n° 3, p. 227-238, mars 2013, doi: 10.1111/acps.12031.
- [274] J. Flegr, J. Prandota, M. Sovičková, et Z. H. Israili, « Toxoplasmosis--a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries », *PLoS One*, vol. 9, n° 3, p. e90203, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0090203.
- [275] G. P. Amminger *et al.*, « Antibodies to infectious agents in individuals at ultra-high risk for psychosis », *Biol. Psychiatry*, vol. 61, n° 10, p. 1215-1217, mai 2007, doi: 10.1016/j.biopsych.2006.09.034.
- [276] T. Celik, S. Kartalci, O. Aytas, G. A. Akarsu, H. Gozukara, et S. Unal, « Association between latent toxoplasmosis and clinical course of schizophrenia - continuous course of the disease is characteristic for *Toxoplasma gondii*-infected patients », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 62, 2015, doi: 10.14411/fp.2015.015.

- [277] A. Eshili *et al.*, « *Toxoplasma gondii* infection in schizophrenia and associated clinical features », *Psychiatry Res.*, vol. 245, p. 327-332, nov. 2016, doi: 10.1016/j.psychres.2016.08.056.
- [278] D. Hinze-Selch, W. Däubener, L. Eggert, S. Erdag, R. Stoltenberg, et S. Wilms, « A controlled prospective study of *Toxoplasma gondii* infection in individuals with schizophrenia: beyond seroprevalence », *Schizophr. Bull.*, vol. 33, n° 3, p. 782-788, mai 2007, doi: 10.1093/schbul/sbm010.
- [279] E. Fuller Torrey, R. Rawlings, et R. H. Yolken, « The antecedents of psychoses: a case-control study of selected risk factors », *Schizophr. Res.*, vol. 46, n° 1, p. 17-23, nov. 2000, doi: 10.1016/s0920-9964(99)00237-6.
- [280] B. D. Pearce, D. Kruszon-Moran, et J. L. Jones, « The relationship between *Toxoplasma gondii* infection and mood disorders in the third National Health and Nutrition Survey », *Biol. Psychiatry*, vol. 72, n° 4, p. 290-295, août 2012, doi: 10.1016/j.biopsych.2012.01.003.
- [281] S. D. Gale, A. N. Berrett, B. Brown, L. D. Erickson, et D. W. Hedges, « No association between current depression and latent toxoplasmosis in adults », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 63, sept. 2016, doi: 10.14411/fp.2016.032.
- [282] C. Alvarado-Esquivel *et al.*, « Lack of association between *Toxoplasma gondii* exposure and depression in pregnant women: a case-control study », *BMC Infect. Dis.*, vol. 17, n° 1, p. 190, 06 2017, doi: 10.1186/s12879-017-2292-1.
- [283] J. Suvisaari, M. Torniainen-Holm, M. Lindgren, T. Härkänen, et R. H. Yolken, « *Toxoplasma gondii* infection and common mental disorders in the Finnish general population », *J. Affect. Disord.*, vol. 223, p. 20-25, 01 2017, doi: 10.1016/j.jad.2017.07.020.
- [284] A. M. Simanek, C. Zheng, R. Yolken, M. Haan, et A. E. Aiello, « A Longitudinal Study of the Association Between Persistent Pathogens and Incident Depression Among Older U.S. Latinos », *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, vol. 74, n° 5, p. 634-641, 23 2019, doi: 10.1093/gerona/gly172.
- [285] N. Markkula, M. Lindgren, R. H. Yolken, et J. Suvisaari, « Association of exposure to *Toxoplasma gondii*, Epstein-Barr Virus, *Herpes simplex virus* Type 1 and Cytomegalovirus with new-onset depressive and anxiety disorders: An 11-year follow-up study », *Brain. Behav. Immun.*, déc. 2019, doi: 10.1016/j.bbi.2019.12.001.
- [286] C. Alvarado-Esquivel *et al.*, « *Toxoplasma gondii* Infection and Premenstrual Dysphoric Disorder: A Cross-Sectional Study », *J. Clin. Med. Res.*, vol. 8, n° 10, p. 730-736, oct. 2016, doi: 10.14740/jocmr2699w.
- [287] M. W. Groër *et al.*, « Prenatal depression and anxiety in *Toxoplasma gondii*-positive women », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 204, n° 5, p. 433.e1-7, mai 2011, doi: 10.1016/j.ajog.2011.01.004.
- [288] C. Alvarado-Esquivel *et al.*, « *Toxoplasma gondii* Infection and Mixed Anxiety and Depressive Disorder: A Case-Control Seroprevalence Study in Durango, Mexico », *J. Clin. Med. Res.*, vol. 8, n° 7, p. 519-523, juill. 2016, doi: 10.14740/jocmr2576w.
- [289] Ş. Yalın Sapmaz, S. Şen, Y. Özkan, et H. Kandemir, « Relationship between *Toxoplasma gondii* seropositivity and depression in children and adolescents », *Psychiatry Res.*, vol. 278, p. 263-267, 2019, doi: 10.1016/j.psychres.2019.06.031.
- [290] S. Khademvatan, M. Izadi-Mazidi, J. Saki, et N. Khajeddin, « Mental Health and Latent Toxoplasmosis: Comparison of Individuals with and without Anti-*Toxoplasma* Antibodies », *World Health Popul.*, vol. 17, n° 1, p. 39-46, 2016, doi: 10.12927/whp.2016.24938.
- [291] S. D. Gale, B. L. Brown, A. Berrett, L. D. Erickson, et D. W. Hedges, « Association between latent toxoplasmosis and major depression, generalised anxiety disorder and panic disorder in human adults », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 61, n° 4, p. 285-292, août 2014.
- [292] X. Peng *et al.*, « Moderation of the relationship between *Toxoplasma gondii* seropositivity and trait impulsivity in younger men by the phenylalanine-tyrosine ratio », *Psychiatry Res.*, vol. 270, p. 992-1000, 2018, doi: 10.1016/j.psychres.2018.03.045.

- [293] T. Nayeri Chegeni *et al.*, « Is there any association between *Toxoplasma gondii* infection and depression? A systematic review and meta-analysis », *PloS One*, vol. 14, n° 6, p. e0218524, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0218524.
- [294] X. Wang *et al.*, « Meta-analysis of infectious agents and depression », *Sci. Rep.*, vol. 4, p. 4530, mars 2014, doi: 10.1038/srep04530.
- [295] O. Miman, E. A. Mutlu, O. Ozcan, M. Atambay, R. Karlidag, et S. Unal, « Is there any role of *Toxoplasma gondii* in the etiology of obsessive-compulsive disorder? », *Psychiatry Res.*, vol. 177, n° 1-2, p. 263-265, mai 2010, doi: 10.1016/j.psychres.2009.12.013.
- [296] Ö. Miman, Ö. Özcan, S. Ünal, et M. Atambay, « *Toxoplasma gondii* - obsessive -compulsive disorder relationship: is it different in children? », *Nord. J. Psychiatry*, vol. 72, n° 7, p. 501-505, oct. 2018, doi: 10.1080/08039488.2018.1514421.
- [297] J. Flegr et J. Horáček, « *Toxoplasma*-infected subjects report an Obsessive-Compulsive Disorder diagnosis more often and score higher in Obsessive-Compulsive Inventory », *Eur. Psychiatry J. Assoc. Eur. Psychiatr.*, vol. 40, p. 82-87, 2017, doi: 10.1016/j.eurpsy.2016.09.001.
- [298] T. Nayeri Chegeni *et al.*, « Relationship between toxoplasmosis and obsessive compulsive disorder: A systematic review and meta-analysis », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 13, n° 4, p. e0007306, 2019, doi: 10.1371/journal.pntd.0007306.
- [299] G. Delgado García et E. Rodríguez Perdomo, « [Reactivity of toxoplasmin intradermal test in neurotic and manic-depressive patients] », *Rev. Cubana Med. Trop.*, vol. 32, n° 1, p. 35-39, avr. 1980.
- [300] J. Oliveira *et al.*, « *Toxoplasma gondii* exposure may modulate the influence of TLR2 genetic variation on bipolar disorder: a gene-environment interaction study », *Int. J. Bipolar Disord.*, vol. 4, n° 1, p. 11, déc. 2016, doi: 10.1186/s40345-016-0052-6.
- [301] J. L. V. M. de Barros *et al.*, « Is there any association between *Toxoplasma gondii* infection and bipolar disorder? A systematic review and meta-analysis », *J. Affect. Disord.*, vol. 209, p. 59-65, févr. 2017, doi: 10.1016/j.jad.2016.11.016.
- [302] C. Alvarado-Esquivel, S. Estrada-Martínez, et A. R. Pérez-Alamos, « A Case-Control Seroprevalence Study on the Association Between *Toxoplasma gondii* Infection and Bipolar Disorder », *Front. Psychiatry*, vol. 10, p. 766, 2019, doi: 10.3389/fpsy.2019.00766.
- [303] F. Dickerson *et al.*, « Antibodies to *Toxoplasma gondii* in individuals with mania », *Bipolar Disord.*, vol. 16, n° 2, p. 129-136, mars 2014, doi: 10.1111/bdi.12123.
- [304] G. J. L. J. Snijders *et al.*, « The association between antibodies to neurotropic pathogens and bipolar disorder : A study in the Dutch Bipolar (DB) Cohort and meta-analysis », *Transl. Psychiatry*, vol. 9, n° 1, p. 311, nov. 2019, doi: 10.1038/s41398-019-0636-x.
- [305] T. Barichello *et al.*, « Exposure to Perinatal Infections and Bipolar Disorder: A Systematic Review », *Curr. Mol. Med.*, vol. 16, n° 2, p. 106-118, 2016, doi: 10.2174/1566524016666160126143741.
- [306] J. Xiao *et al.*, « Serological pattern consistent with infection with type I *Toxoplasma gondii* in mothers and risk of psychosis among adult offspring », *Microbes Infect. Inst. Pasteur*, vol. 11, n° 13, p. 1011-1018, nov. 2009, doi: 10.1016/j.micinf.2009.07.007.
- [307] Å. Blomström, R. M. Gardner, C. Dalman, R. H. Yolken, et H. Karlsson, « Influence of maternal infections on neonatal acute phase proteins and their interaction in the development of non-affective psychosis », *Transl. Psychiatry*, vol. 5, p. e502, 2015, doi: 10.1038/tp.2014.142.
- [308] D. Hinze-Selch, W. Däubener, S. Erdag, et S. Wilms, « The diagnosis of a personality disorder increases the likelihood for seropositivity to *Toxoplasma gondii* in psychiatric patients », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 57, n° 2, p. 129-135, juin 2010.
- [309] D. Lester, « Brain parasites and suicide », *Psychol. Rep.*, vol. 107, n° 2, p. 424, oct. 2010, doi: 10.2466/12.13.PRO.107.5.424.

- [310] K. S. Burgdorf *et al.*, « Large-scale study of *Toxoplasma* and Cytomegalovirus shows an association between infection and serious psychiatric disorders », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 79, p. 152-158, 2019, doi: 10.1016/j.bbi.2019.01.026.
- [311] S. A. Sari et A. Kara, « Association of Suicide Attempt With Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Adolescents », *J. Nerv. Ment. Dis.*, vol. 207, n° 12, p. 1025-1030, déc. 2019, doi: 10.1097/NMD.0000000000001046.
- [312] T. A. Arling *et al.*, « *Toxoplasma gondii* antibody titers and history of suicide attempts in patients with recurrent mood disorders », *J. Nerv. Ment. Dis.*, vol. 197, n° 12, p. 905-908, déc. 2009, doi: 10.1097/NMD.0b013e3181c29a23.
- [313] J. Bak *et al.*, « The Association between Suicide Attempts and *Toxoplasma gondii* Infection », *Clin. Psychopharmacol. Neurosci. Off. Sci. J. Korean Coll. Neuropsychopharmacol.*, vol. 16, n° 1, p. 95-102, févr. 2018, doi: 10.9758/cpn.2018.16.1.95.
- [314] A. L. Sutherland *et al.*, « Driving us mad: the association of *Toxoplasma gondii* with suicide attempts and traffic accidents - a systematic review and meta-analysis », *Psychol. Med.*, vol. 49, n° 10, p. 1608-1623, 2019, doi: 10.1017/S0033291719000813.
- [315] V. L. Nimgaonkar *et al.*, « Temporal Cognitive Decline Associated With Exposure to Infectious Agents in a Population-based, Aging Cohort », *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, vol. 30, n° 3, p. 216-222, sept. 2016, doi: 10.1097/WAD.000000000000133.
- [316] A. R. Bharti *et al.*, « Latent *Toxoplasma* Infection and Higher *Toxoplasma gondii* Immunoglobulin G Levels Are Associated With Worse Neurocognitive Functioning in HIV-Infected Adults », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 63, n° 12, p. 1655-1660, déc. 2016, doi: 10.1093/cid/ciw655.
- [317] K. D. Lafferty, « Can the common brain parasite, *Toxoplasma gondii*, influence human culture? », *Proc. Biol. Sci.*, vol. 273, n° 1602, p. 2749-2755, nov. 2006, doi: 10.1098/rspb.2006.3641.
- [318] J. Flegr, P. Lenochová, Z. Hodný, et M. Vondrová, « Fatal attraction phenomenon in humans: cat odour attractiveness increased for *Toxoplasma*-infected men while decreased for infected women », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 5, n° 11, p. e1389, nov. 2011, doi: 10.1371/journal.pntd.0001389.
- [319] J. Flegr, « Influence of latent *Toxoplasma* infection on human personality, physiology and morphology: pros and cons of the *Toxoplasma*-human model in studying the manipulation hypothesis », *J. Exp. Biol.*, vol. 216, n° Pt 1, p. 127-133, janv. 2013, doi: 10.1242/jeb.073635.
- [320] J. Flegr, M. Milinski, Š. Kaňková, M. Hůla, J. Hlaváčová, et K. Sýkorová, « Latent toxoplasmosis and olfactory functions of Rh positive and Rh negative subjects », *PLoS One*, vol. 13, n° 12, p. e0209773, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0209773.
- [321] A. Skallová *et al.*, « Decreased level of novelty seeking in blood donors infected with *Toxoplasma* », *Neuro Endocrinol. Lett.*, vol. 26, n° 5, p. 480-486, oct. 2005.
- [322] J. Flegr, M. Preiss, J. Klose, J. Havlíček, M. Vitáková, et P. Kodým, « Decreased level of psychobiological factor novelty seeking and lower intelligence in men latently infected with the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* Dopamine, a missing link between schizophrenia and toxoplasmosis? », *Biol. Psychol.*, vol. 63, n° 3, p. 253-268, juill. 2003.
- [323] C. A. Alford, S. Stagno, et D. W. Reynolds, « Congenital toxoplasmosis: clinical, laboratory, and therapeutic considerations, with special reference to subclinical disease », *Bull. N. Y. Acad. Med.*, vol. 50, n° 2, p. 160-181, févr. 1974.
- [324] C. B. Wilson, J. S. Remington, S. Stagno, et D. W. Reynolds, « Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection », *Pediatrics*, vol. 66, n° 5, p. 767-774, nov. 1980.
- [325] C. Beste, S. Getzmann, P. D. Gajewski, K. Golka, et M. Falkenstein, « Latent *Toxoplasma gondii* infection leads to deficits in goal-directed behavior in healthy elderly », *Neurobiol. Aging*, vol. 35, n° 5, p. 1037-1044, mai 2014, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.012.

- [326] L. Příplatová, B. Sebánková, et J. Flegr, « Contrasting effect of prepulse signals on performance of *Toxoplasma*-infected and *Toxoplasma*-free subjects in an acoustic reaction times test », *PLoS One*, vol. 9, n° 11, p. e112771, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0112771.
- [327] A.-K. Stock, E. Heitschel von Heinegg, H.-L. Köhling, et C. Beste, « Latent *Toxoplasma gondii* infection leads to improved action control », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 37, p. 103-108, mars 2014, doi: 10.1016/j.bbi.2013.11.004.
- [328] A.-K. Stock, D. Dajkic, H. L. Köhling, E. H. von Heinegg, M. Fiedler, et C. Beste, « Humans with latent toxoplasmosis display altered reward modulation of cognitive control », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 10170, 31 2017, doi: 10.1038/s41598-017-10926-6.
- [329] T. B. Cook *et al.*, « “Latent” infection with *Toxoplasma gondii*: association with trait aggression and impulsivity in healthy adults », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 60, p. 87-94, janv. 2015, doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.09.019.
- [330] E. F. Coccaro, R. Lee, M. W. Groer, A. Can, M. Coussons-Read, et T. T. Postolache, « *Toxoplasma gondii* infection: relationship with aggression in psychiatric subjects », *J. Clin. Psychiatry*, vol. 77, n° 3, p. 334-341, mars 2016, doi: 10.4088/JCP.14m09621.
- [331] O. Okusaga *et al.*, « Combined *Toxoplasma gondii* seropositivity and high blood kynurenine - Linked with nonfatal suicidal self-directed violence in patients with schizophrenia », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 72, p. 74-81, janv. 2016, doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.10.002.
- [332] V. O. Martinez, F. W. de Mendonça Lima, C. F. de Carvalho, et J. A. Menezes-Filho, « *Toxoplasma gondii* infection and behavioral outcomes in humans: a systematic review », *Parasitol. Res.*, vol. 117, n° 10, p. 3059-3065, oct. 2018, doi: 10.1007/s00436-018-6040-2.
- [333] S. K. Johnson *et al.*, « Risky business: linking *Toxoplasma gondii* infection and entrepreneurship behaviours across individuals and countries », *Proc. Biol. Sci.*, vol. 285, n° 1883, 25 2018, doi: 10.1098/rspb.2018.0822.
- [334] L. Lanchava, K. Carlson, B. Šebánková, J. Flegr, et G. Nave, « No Evidence of Association between *Toxoplasma gondii* Infection and Financial Risk Taking in Females », *PLoS One*, vol. 10, n° 9, p. e0136716, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0136716.
- [335] S. Gohardehi *et al.*, « The potential risk of toxoplasmosis for traffic accidents: A systematic review and meta-analysis », *Exp. Parasitol.*, vol. 191, p. 19-24, août 2018, doi: 10.1016/j.exppara.2018.06.003.
- [336] P. D. Gajewski, M. Falkenstein, J. G. Hengstler, et K. Golka, « *Toxoplasma gondii* impairs memory in infected seniors », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 36, p. 193-199, févr. 2014, doi: 10.1016/j.bbi.2013.11.019.
- [337] C. P. Wyman, S. D. Gale, A. Hedges-Muncy, L. D. Erickson, E. Wilson, et D. W. Hedges, « Association between *Toxoplasma gondii* seropositivity and memory function in nondemented older adults », *Neurobiol. Aging*, vol. 53, p. 76-82, 2017, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.01.018.
- [338] P. D. Gajewski, M. Falkenstein, J. G. Hengstler, et K. Golka, « Reduced ERPs and theta oscillations underlie working memory deficits in *Toxoplasma gondii* infected seniors », *Biol. Psychol.*, vol. 120, p. 35-45, août 2016, doi: 10.1016/j.biopsycho.2016.08.002.
- [339] N. Hamdani *et al.*, « Effects of Cumulative *Herpesviridae* and *Toxoplasma gondii* Infections on Cognitive Function in Healthy, Bipolar, and Schizophrenia Subjects », *J. Clin. Psychiatry*, vol. 78, n° 1, p. e18-e27, 2017, doi: 10.4088/JCP.15m10133.
- [340] J. Flegr et I. Hrdý, « Influence of chronic toxoplasmosis on some human personality factors », *Folia Parasitol. (Praha)*, vol. 41, n° 2, p. 122-126, 1994.
- [341] J. Flegr, P. Kodým, et V. Tolarová, « Correlation of duration of latent *Toxoplasma gondii* infection with personality changes in women », *Biol. Psychol.*, vol. 53, n° 1, p. 57-68, mai 2000, doi: 10.1016/s0301-0511(00)00034-x.

- [342] J. Lindová *et al.*, « Gender differences in behavioural changes induced by latent toxoplasmosis », *Int. J. Parasitol.*, vol. 36, n° 14, p. 1485-1492, déc. 2006, doi: 10.1016/j.ijpara.2006.07.008.
- [343] O. Miman, O. Y. Kusbeci, O. C. Aktepe, et Z. Cetinkaya, « The probable relation between *Toxoplasma gondii* and Parkinson's disease », *Neurosci. Lett.*, vol. 475, n° 3, p. 129-131, mai 2010, doi: 10.1016/j.neulet.2010.03.057.
- [344] C. Alvarado-Esquivel *et al.*, « *Toxoplasma gondii* exposure and Parkinson's disease: a case-control study », *BMJ Open*, vol. 7, n° 2, p. e013019, 13 2017, doi: 10.1136/bmjopen-2016-013019.
- [345] M. Bayani, S. M. Riahi, N. Bazrafshan, H. Ray Gamble, et A. Rostami, « *Toxoplasma gondii* infection and risk of Parkinson and Alzheimer diseases: A systematic review and meta-analysis on observational studies », *Acta Trop.*, vol. 196, p. 165-171, août 2019, doi: 10.1016/j.actatropica.2019.05.015.
- [346] S. Fallahi, A. Rostami, M. Birjandi, N. Zebardast, F. Kheirandish, et A. Spotin, « Parkinson's disease and *Toxoplasma gondii* infection: Sero-molecular assess the possible link among patients », *Acta Trop.*, vol. 173, p. 97-101, sept. 2017, doi: 10.1016/j.actatropica.2017.06.002.
- [347] M. Mahami Oskouei *et al.*, « The correlation between *Toxoplasma gondii* infection and Parkinson's disease: a case-control study », *J. Parasit. Dis. Off. Organ Indian Soc. Parasitol.*, vol. 40, n° 3, p. 872-876, sept. 2016, doi: 10.1007/s12639-014-0595-3.
- [348] Z. Zhou *et al.*, « The Association between *Toxoplasma gondii* Infection and Risk of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis », *BioMed Res. Int.*, vol. 2019, p. 8186017, 2019, doi: 10.1155/2019/8186017.
- [349] T. Nayeri Chegeni *et al.*, « Is *Toxoplasma gondii* a potential risk factor for Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis », *Microb. Pathog.*, vol. 137, p. 103751, déc. 2019, doi: 10.1016/j.micpath.2019.103751.
- [350] H. Piéron, *Le problème physiologique du sommeil*. Masson, 1912.
- [351] T. Maeda, C. Pin, D. Salvart, M. Ligier, et M. Jouvet, « [Catecholamine containing neurons in the pontine tegmentum and their pathways in the cat] », *Brain Res.*, vol. 57, n° 1, p. 119-152, juill. 1973, doi: 10.1016/0006-8993(73)90572-6.
- [352] A. Dahlström et K. Fuxe, « Localization of monoamines in the lower brain stem », *Experientia*, vol. 20, n° 7, p. 398-399, juill. 1964, doi: 10.1007/bf02147990.
- [353] G. Aston-Jones et J. D. Cohen, « Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance », *J. Comp. Neurol.*, vol. 493, n° 1, p. 99-110, déc. 2005, doi: 10.1002/cne.20723.
- [354] C. W. Berridge et S. L. Foote, « Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 11, n° 10, p. 3135-3145, oct. 1991.
- [355] M. E. Carter *et al.*, « Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons », *Nat. Neurosci.*, vol. 13, n° 12, p. 1526-1533, déc. 2010, doi: 10.1038/nn.2682.
- [356] H. S. Gompf *et al.*, « Locus ceruleus and anterior cingulate cortex sustain wakefulness in a novel environment », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 30, n° 43, p. 14543-14551, oct. 2010, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3037-10.2010.
- [357] J. P. Wisor, S. Nishino, I. Sora, G. H. Uhl, E. Mignot, et D. M. Edgar, « Dopaminergic role in stimulant-induced wakefulness », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 21, n° 5, p. 1787-1794, mars 2001.
- [358] U. Ungerstedt, « Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain », *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, vol. 367, p. 1-48, 1971, doi: 10.1111/j.1365-201x.1971.tb10998.x.
- [359] M. S. Airaksinen *et al.*, « Histamine neurons in human hypothalamus: anatomy in normal and Alzheimer diseased brains », *Neuroscience*, vol. 44, n° 2, p. 465-481, 1991, doi: 10.1016/0306-4522(91)90070-5.

- [360] J. S. Lin, Y. Hou, K. Sakai, et M. Jouvet, « Histaminergic descending inputs to the mesopontine tegmentum and their role in the control of cortical activation and wakefulness in the cat », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 16, n° 4, p. 1523-1537, févr. 1996.
- [361] R. Parmentier *et al.*, « Role of histamine H1-receptor on behavioral states and wake maintenance during deficiency of a brain activating system: A study using a knockout mouse model », *Neuropharmacology*, vol. 106, p. 20-34, 2016, doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.12.014.
- [362] R. H. Williams *et al.*, « Optogenetic-mediated release of histamine reveals distal and autoregulatory mechanisms for controlling arousal », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 34, n° 17, p. 6023-6029, avr. 2014, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4838-13.2014.
- [363] R. P. Vertes, W. J. Fortin, et A. M. Crane, « Projections of the median raphe nucleus in the rat », *J. Comp. Neurol.*, vol. 407, n° 4, p. 555-582, mai 1999.
- [364] B. Weissbourd, J. Ren, K. E. DeLoach, C. J. Guenther, K. Miyamichi, et L. Luo, « Presynaptic partners of dorsal raphe serotonergic and GABAergic neurons », *Neuron*, vol. 83, n° 3, p. 645-662, août 2014, doi: 10.1016/j.neuron.2014.06.024.
- [365] M. Jouvet, P. Bobillier, J. F. Pujol, et J. Renault, « [Suppression of sleep and decrease of cerebral serotonin caused by lesion of the raphe system in the cat] », *Comptes Rendus Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. Sci. Nat.*, vol. 264, n° 2, p. 360-362, janv. 1967.
- [366] R. Cespuglio, H. Faradji, M. E. Gomez, et M. Jouvet, « Single unit recordings in the nuclei raphe dorsalis and magnus during the sleep-waking cycle of semi-chronic prepared cats », *Neurosci. Lett.*, vol. 24, n° 2, p. 133-138, juill. 1981, doi: 10.1016/0304-3940(81)90236-6.
- [367] C. M. Portas, B. Bjorvatn, et R. Ursin, « Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies », *Prog. Neurobiol.*, vol. 60, n° 1, p. 13-35, janv. 2000, doi: 10.1016/s0301-0082(98)00097-5.
- [368] H. Ito *et al.*, « Analysis of sleep disorders under pain using an optogenetic tool: possible involvement of the activation of dorsal raphe nucleus-serotonergic neurons », *Mol. Brain*, vol. 6, p. 59, déc. 2013, doi: 10.1186/1756-6606-6-59.
- [369] B. el Kafi, L. Leger, S. Seguin, M. Jouvet, et R. Cespuglio, « Sleep permissive components within the dorsal raphe nucleus in the rat », *Brain Res.*, vol. 686, n° 2, p. 150-159, juill. 1995, doi: 10.1016/0006-8993(95)00390-c.
- [370] R. Cespuglio, « Serotonin: its place today in sleep preparation, triggering or maintenance », *Sleep Med.*, vol. 49, p. 31-39, 2018, doi: 10.1016/j.sleep.2018.05.034.
- [371] G. Moruzzi et H. W. Magoun, « Brain stem reticular formation and activation of the EEG », *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 1, n° 4, p. 455-473, nov. 1949.
- [372] C. B. Saper, T. E. Scammell, et J. Lu, « Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms », *Nature*, vol. 437, n° 7063, p. 1257-1263, oct. 2005, doi: 10.1038/nature04284.
- [373] P. M. Fuller, J. J. Gooley, et C. B. Saper, « Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback », *J. Biol. Rhythms*, vol. 21, n° 6, p. 482-493, déc. 2006, doi: 10.1177/0748730406294627.
- [374] T. E. Scammell, E. Arrigoni, et J. O. Lipton, « Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep », *Neuron*, vol. 93, n° 4, p. 747-765, févr. 2017, doi: 10.1016/j.neuron.2017.01.014.
- [375] M. M. Mesulam, E. J. Mufson, A. I. Levey, et B. H. Wainer, « Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey », *J. Comp. Neurol.*, vol. 214, n° 2, p. 170-197, févr. 1983, doi: 10.1002/cne.902140206.
- [376] J. C. Zant *et al.*, « Cholinergic Neurons in the Basal Forebrain Promote Wakefulness by Actions on Neighboring Non-Cholinergic Neurons: An Opto-Dialysis Study », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 36, n° 6, p. 2057-2067, févr. 2016, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3318-15.2016.

- [377] G. Buzsáki, R. G. Bickford, G. Ponomareff, L. J. Thal, R. Mandel, et F. H. Gage, « Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 8, n° 11, p. 4007-4026, nov. 1988.
- [378] P. M. Fuller, P. Fuller, D. Sherman, N. P. Pedersen, C. B. Saper, et J. Lu, « Reassessment of the structural basis of the ascending arousal system », *J. Comp. Neurol.*, vol. 519, n° 5, p. 933-956, avr. 2011, doi: 10.1002/cne.22559.
- [379] L. Détári et C. H. Vanderwolf, « Activity of identified cortically projecting and other basal forebrain neurones during large slow waves and cortical activation in anaesthetized rats », *Brain Res.*, vol. 437, n° 1, p. 1-8, déc. 1987, doi: 10.1016/0006-8993(87)91521-6.
- [380] Y.-F. Shi, Y. Han, Y.-T. Su, J.-H. Yang, et Y.-Q. Yu, « Silencing of Cholinergic Basal Forebrain Neurons Using Archaelrhodopsin Prolongs Slow-Wave Sleep in Mice », *PLoS One*, vol. 10, n° 7, p. e0130130, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0130130.
- [381] C. Anacleit *et al.*, « Basal forebrain control of wakefulness and cortical rhythms », *Nat. Commun.*, vol. 6, p. 8744, nov. 2015, doi: 10.1038/ncomms9744.
- [382] M. Xu *et al.*, « Basal forebrain circuit for sleep-wake control », *Nat. Neurosci.*, vol. 18, n° 11, p. 1641-1647, nov. 2015, doi: 10.1038/nn.4143.
- [383] S. Boucetta, Y. Cissé, L. Mainville, M. Morales, et B. E. Jones, « Discharge profiles across the sleep-waking cycle of identified cholinergic, GABAergic, and glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the rat », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 34, n° 13, p. 4708-4727, mars 2014, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2617-13.2014.
- [384] T. Sugimoto, K. Mizukawa, T. Hattori, A. Konishi, T. Kaneko, et N. Mizuno, « Cholinergic neurons in the nucleus tegmenti pedunculopontinus pars compacta and the caudoputamen of the rat: a light and electron microscopic immunohistochemical study using a monoclonal antibody to choline acetyltransferase », *Neurosci. Lett.*, vol. 51, n° 1, p. 113-117, sept. 1984, doi: 10.1016/0304-3940(84)90271-4.
- [385] N. J. Woolf et L. L. Butcher, « Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain », *Brain Res. Bull.*, vol. 16, n° 5, p. 603-637, mai 1986, doi: 10.1016/0361-9230(86)90134-6.
- [386] A. E. Hallanger, A. I. Levey, H. J. Lee, D. B. Rye, et B. H. Wainer, « The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat », *J. Comp. Neurol.*, vol. 262, n° 1, p. 105-124, août 1987, doi: 10.1002/cne.902620109.
- [387] A. I. Levey, A. E. Hallanger, et B. H. Wainer, « Choline acetyltransferase immunoreactivity in the rat thalamus », *J. Comp. Neurol.*, vol. 257, n° 3, p. 317-332, mars 1987, doi: 10.1002/cne.902570302.
- [388] D. B. Rye, C. B. Saper, H. J. Lee, et B. H. Wainer, « Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum », *J. Comp. Neurol.*, vol. 259, n° 4, p. 483-528, mai 1987, doi: 10.1002/cne.902590403.
- [389] D. Paré, Y. Smith, A. Parent, et M. Steriade, « Projections of brainstem core cholinergic and non-cholinergic neurons of cat to intralaminar and reticular thalamic nuclei », *Neuroscience*, vol. 25, n° 1, p. 69-86, avr. 1988, doi: 10.1016/0306-4522(88)90007-3.
- [390] Y. Smith, D. Paré, M. Deschênes, A. Parent, et M. Steriade, « Cholinergic and non-cholinergic projections from the upper brainstem core to the visual thalamus in the cat », *Exp. Brain Res.*, vol. 70, n° 1, p. 166-180, 1988, doi: 10.1007/bf00271858.
- [391] M. Steriade, D. Paré, A. Parent, et Y. Smith, « Projections of cholinergic and non-cholinergic neurons of the brainstem core to relay and associational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey », *Neuroscience*, vol. 25, n° 1, p. 47-67, avr. 1988, doi: 10.1016/0306-4522(88)90006-1.

- [392] B. J. Losier et K. Semba, « Dual projections of single cholinergic and aminergic brainstem neurons to the thalamus and basal forebrain in the rat », *Brain Res.*, vol. 604, n° 1-2, p. 41-52, févr. 1993, doi: 10.1016/0006-8993(93)90350-v.
- [393] D. A. McCormick et D. A. Prince, « Acetylcholine induces burst firing in thalamic reticular neurones by activating a potassium conductance », *Nature*, vol. 319, n° 6052, p. 402-405, févr. 1986, doi: 10.1038/319402a0.
- [394] D. A. McCormick et D. A. Prince, « Actions of acetylcholine in the guinea-pig and cat medial and lateral geniculate nuclei, in vitro », *J. Physiol.*, vol. 392, p. 147-165, nov. 1987, doi: 10.1113/jphysiol.1987.sp016774.
- [395] L. L. Glenn et M. Steriade, « Discharge rate and excitability of cortically projecting intralaminar thalamic neurons during waking and sleep states », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 2, n° 10, p. 1387-1404, oct. 1982.
- [396] D. B. Fischer *et al.*, « A human brain network derived from coma-causing brainstem lesions », *Neurology*, vol. 87, n° 23, p. 2427-2434, déc. 2016, doi: 10.1212/WNL.0000000000003404.
- [397] S. Kaur *et al.*, « Glutamatergic signaling from the parabrachial nucleus plays a critical role in hypercapnic arousal », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 33, n° 18, p. 7627-7640, mai 2013, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0173-13.2013.
- [398] C. V. Economo, « SLEEP AS A PROBLEM OF LOCALIZATION », *J. Nerv. Ment. Dis.*, vol. 71, n° 3, p. 249-259, mars 1930.
- [399] D. J. McGinty, « Somnolence, recovery and hyposomnia following ventro-medial diencephalic lesions in the rat », *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 26, n° 1, p. 70-79, janv. 1969, doi: 10.1016/0013-4694(69)90035-2.
- [400] J. S. Lin, K. Sakai, et M. Jouvet, « [Role of hypothalamic histaminergic systems in the regulation of vigilance states in cats] », *C. R. Acad. Sci. III*, vol. 303, n° 11, p. 469-474, 1986.
- [401] J. S. Lin, K. Sakai, G. Vanni-Mercier, et M. Jouvet, « A critical role of the posterior hypothalamus in the mechanisms of wakefulness determined by microinjection of muscimol in freely moving cats », *Brain Res.*, vol. 479, n° 2, p. 225-240, févr. 1989, doi: 10.1016/0006-8993(89)91623-5.
- [402] G. Vanni-Mercier, S. Gigout, G. Debilly, et J. S. Lin, « Waking selective neurons in the posterior hypothalamus and their response to histamine H3-receptor ligands: an electrophysiological study in freely moving cats », *Behav. Brain Res.*, vol. 144, n° 1-2, p. 227-241, sept. 2003, doi: 10.1016/s0166-4328(03)00091-3.
- [403] R. M. Chemelli *et al.*, « Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation », *Cell*, vol. 98, n° 4, p. 437-451, août 1999, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81973-x.
- [404] D. C. Piper, N. Upton, M. I. Smith, et A. J. Hunter, « The novel brain neuropeptide, orexin-A, modulates the sleep-wake cycle of rats », *Eur. J. Neurosci.*, vol. 12, n° 2, p. 726-730, févr. 2000, doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00919.x.
- [405] A. R. Adamantidis, F. Zhang, A. M. Aravanis, K. Deisseroth, et L. de Lecea, « Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons », *Nature*, vol. 450, n° 7168, p. 420-424, nov. 2007, doi: 10.1038/nature06310.
- [406] K. Sasaki, M. Suzuki, M. Mieda, N. Tsujino, B. Roth, et T. Sakurai, « Pharmacogenetic modulation of orexin neurons alters sleep/wakefulness states in mice », *PLoS One*, vol. 6, n° 5, p. e20360, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0020360.
- [407] L. Lin *et al.*, « The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene », *Cell*, vol. 98, n° 3, p. 365-376, août 1999, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81965-0.
- [408] A. F. Branch *et al.*, « Progressive Loss of the Orexin Neurons Reveals Dual Effects on Wakefulness », *Sleep*, vol. 39, n° 2, p. 369-377, févr. 2016, doi: 10.5665/sleep.5446.
- [409] C. G. Herrera, M. C. Cadavieco, S. Jago, A. Ponomarenko, T. Korotkova, et A. Adamantidis, « Hypothalamic feedforward inhibition of thalamocortical network controls arousal and consciousness », *Nat. Neurosci.*, vol. 19, n° 2, p. 290-298, févr. 2016, doi: 10.1038/nn.4209.

- [410] A. Venner, C. Anaclet, R. Y. Broadhurst, C. B. Saper, et P. M. Fuller, « A Novel Population of Wake-Promoting GABAergic Neurons in the Ventral Lateral Hypothalamus », *Curr. Biol. CB*, vol. 26, n° 16, p. 2137-2143, 22 2016, doi: 10.1016/j.cub.2016.05.078.
- [411] M. Steriade et L. L. Glenn, « Neocortical and caudate projections of intralaminar thalamic neurons and their synaptic excitation from midbrain reticular core », *J. Neurophysiol.*, vol. 48, n° 2, p. 352-371, août 1982, doi: 10.1152/jn.1982.48.2.352.
- [412] J. M. Krueger *et al.*, « Involvement of cytokines in slow wave sleep », *Prog. Brain Res.*, vol. 193, p. 39-47, 2011, doi: 10.1016/B978-0-444-53839-0.00003-X.
- [413] M. M. Halassa *et al.*, « Astrocytic modulation of sleep homeostasis and cognitive consequences of sleep loss », *Neuron*, vol. 61, n° 2, p. 213-219, janv. 2009, doi: 10.1016/j.neuron.2008.11.024.
- [414] T. E. Bjorness *et al.*, « An Adenosine-Mediated Glial-Neuronal Circuit for Homeostatic Sleep », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 36, n° 13, p. 3709-3721, mars 2016, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3906-15.2016.
- [415] B. B. Fredholm, K. Bättig, J. Holmén, A. Nehlig, et E. E. Zvartau, « Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use », *Pharmacol. Rev.*, vol. 51, n° 1, p. 83-133, mars 1999.
- [416] T. Porkka-Heiskanen, R. E. Strecker, et R. W. McCarley, « Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an in vivo microdialysis study », *Neuroscience*, vol. 99, n° 3, p. 507-517, 2000, doi: 10.1016/S0306-4522(00)00220-7.
- [417] R. M. Virus, M. Djuricic-Nedelson, M. Radulovacki, et R. D. Green, « The effects of adenosine and 2'-deoxycoformycin on sleep and wakefulness in rats », *Neuropharmacology*, vol. 22, n° 12A, p. 1401-1404, déc. 1983, doi: 10.1016/0028-3908(83)90231-9.
- [418] M. Radulovacki, R. M. Virus, M. Djuricic-Nedelson, et R. D. Green, « Adenosine analogs and sleep in rats », *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 228, n° 2, p. 268-274, févr. 1984.
- [419] T. Roehrs et T. Roth, « Caffeine: sleep and daytime sleepiness », *Sleep Med. Rev.*, vol. 12, n° 2, p. 153-162, avr. 2008, doi: 10.1016/j.smr.2007.07.004.
- [420] J. M. Krueger, J. T. Nguyen, C. J. Dykstra-Aiello, et P. Taishi, « Local sleep », *Sleep Med. Rev.*, vol. 43, p. 14-21, 2019, doi: 10.1016/j.smr.2018.10.001.
- [421] D. J. McGinty et M. B. Serman, « Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat », *Science*, vol. 160, n° 3833, p. 1253-1255, juin 1968, doi: 10.1126/science.160.3833.1253.
- [422] J. E. Sherin, P. J. Shiromani, R. W. McCarley, et C. B. Saper, « Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep », *Science*, vol. 271, n° 5246, p. 216-219, janv. 1996, doi: 10.1126/science.271.5246.216.
- [423] M. A. Alam, S. Kumar, D. McGinty, M. N. Alam, et R. Szymusiak, « Neuronal activity in the preoptic hypothalamus during sleep deprivation and recovery sleep », *J. Neurophysiol.*, vol. 111, n° 2, p. 287-299, janv. 2014, doi: 10.1152/jn.00504.2013.
- [424] J. John et V. M. Kumar, « Effect of NMDA lesion of the medial preoptic neurons on sleep and other functions », *Sleep*, vol. 21, n° 6, p. 587-598, sept. 1998, doi: 10.1093/sleep/21.6.587.
- [425] T. L. Steininger, H. Gong, D. McGinty, et R. Szymusiak, « Subregional organization of preoptic area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups », *J. Comp. Neurol.*, vol. 429, n° 4, p. 638-653, janv. 2001.
- [426] A. Uschakov, H. Gong, D. McGinty, et R. Szymusiak, « Efferent projections from the median preoptic nucleus to sleep- and arousal-regulatory nuclei in the rat brain », *Neuroscience*, vol. 150, n° 1, p. 104-120, nov. 2007, doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.05.055.
- [427] T. C. Chou, A. A. Bjorkum, S. E. Gaus, J. Lu, T. E. Scammell, et C. B. Saper, « Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 22, n° 3, p. 977-990, févr. 2002.

- [428] T. Gallopin *et al.*, « The endogenous somnogen adenosine excites a subset of sleep-promoting neurons via A2A receptors in the ventrolateral preoptic nucleus », *Neuroscience*, vol. 134, n° 4, p. 1377-1390, 2005, doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.05.045.
- [429] O. K. Hassani, M. G. Lee, P. Henny, et B. E. Jones, « Discharge profiles of identified GABAergic in comparison to cholinergic and putative glutamatergic basal forebrain neurons across the sleep-wake cycle », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 29, n° 38, p. 11828-11840, sept. 2009, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1259-09.2009.
- [430] I. D. Manns, A. Alonso, et B. E. Jones, « Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 20, n° 4, p. 1505-1518, févr. 2000.
- [431] C. Anacleit *et al.*, « The GABAergic parafacial zone is a medullary slow wave sleep-promoting center », *Nat. Neurosci.*, vol. 17, n° 9, p. 1217-1224, sept. 2014, doi: 10.1038/nn.3789.
- [432] S. R. Morairty *et al.*, « A role for cortical nNOS/NK1 neurons in coupling homeostatic sleep drive to EEG slow wave activity », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 110, n° 50, p. 20272-20277, déc. 2013, doi: 10.1073/pnas.1314762110.
- [433] E. Aserinsky et N. Kleitman, « Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep », *Science*, vol. 118, n° 3062, p. 273-274, sept. 1953, doi: 10.1126/science.118.3062.273.
- [434] M. Jouvet et F. Michel, « [Study of the cerebral electrical activity during sleep] », *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, vol. 152, n° 7, p. 1167-1170, 1958.
- [435] C. Gottesmann, « What the cerveau isolé preparation tells us nowadays about sleep-wake mechanisms? », *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 12, n° 1, p. 39-48, 1988, doi: 10.1016/s0149-7634(88)80072-1.
- [436] M. Jouvet, F. Michel, et J. Courjon, « [On a stage of rapid cerebral electrical activity in the course of physiological sleep] », *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, vol. 153, p. 1024-1028, 1959.
- [437] C. J. Van Dort *et al.*, « Optogenetic activation of cholinergic neurons in the PPT or LDT induces REM sleep », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 112, n° 2, p. 584-589, janv. 2015, doi: 10.1073/pnas.1423136112.
- [438] J. Cox, L. Pinto, et Y. Dan, « Calcium imaging of sleep-wake related neuronal activity in the dorsal pons », *Nat. Commun.*, vol. 7, p. 10763, févr. 2016, doi: 10.1038/ncomms10763.
- [439] K. Sakai, S. Crochet, et H. Onoe, « Pontine structures and mechanisms involved in the generation of paradoxical (REM) sleep », *Arch. Ital. Biol.*, vol. 139, n° 1-2, p. 93-107, févr. 2001.
- [440] R. Boissard, D. Gervasoni, M. H. Schmidt, B. Barbagli, P. Fort, et P.-H. Luppi, « The rat ponto-medullary network responsible for paradoxical sleep onset and maintenance: a combined microinjection and functional neuroanatomical study », *Eur. J. Neurosci.*, vol. 16, n° 10, p. 1959-1973, nov. 2002, doi: 10.1046/j.1460-9568.2002.02257.x.
- [441] M. Krenzer *et al.*, « Brainstem and spinal cord circuitry regulating REM sleep and muscle atonia », *PLoS One*, vol. 6, n° 10, p. e24998, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0024998.
- [442] J. Lu, D. Sherman, M. Devor, et C. B. Saper, « A putative flip-flop switch for control of REM sleep », *Nature*, vol. 441, n° 7093, p. 589-594, juin 2006, doi: 10.1038/nature04767.
- [443] P.-H. Luppi *et al.*, « Brainstem mechanisms of paradoxical (REM) sleep generation », *Pflugers Arch.*, vol. 463, n° 1, p. 43-52, janv. 2012, doi: 10.1007/s00424-011-1054-y.
- [444] J. A. Williams et P. B. Reiner, « Noradrenaline hyperpolarizes identified rat mesopontine cholinergic neurons in vitro », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 13, n° 9, p. 3878-3883, sept. 1993.
- [445] E. Sapin *et al.*, « Localization of the brainstem GABAergic neurons controlling paradoxical (REM) sleep », *PLoS One*, vol. 4, n° 1, p. e4272, 2009, doi: 10.1371/journal.pone.0004272.

- [446] C. Rampon, C. Peyron, J. M. Petit, P. Fort, D. Gervasoni, et P. H. Luppi, « Origin of the glycinergic innervation of the rat trigeminal motor nucleus », *Neuroreport*, vol. 7, n° 18, p. 3081-3085, nov. 1996, doi: 10.1097/00001756-199611250-00058.
- [447] Y. Y. Lai et J. M. Siegel, « Medullary regions mediating atonia », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 8, n° 12, p. 4790-4796, déc. 1988.
- [448] R. Vetrivelan, P. M. Fuller, Q. Tong, et J. Lu, « Medullary circuitry regulating rapid eye movement sleep and motor atonia », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 29, n° 29, p. 9361-9369, juill. 2009, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0737-09.2009.
- [449] R. Goutagny, P.-H. Luppi, D. Salvvert, D. Lapray, D. Gervasoni, et P. Fort, « Role of the dorsal paragigantocellular reticular nucleus in paradoxical (rapid eye movement) sleep generation: a combined electrophysiological and anatomical study in the rat », *Neuroscience*, vol. 152, n° 3, p. 849-857, mars 2008, doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.12.014.
- [450] F. Weber, S. Chung, K. T. Beier, M. Xu, L. Luo, et Y. Dan, « Control of REM sleep by ventral medulla GABAergic neurons », *Nature*, vol. 526, n° 7573, p. 435-438, oct. 2015, doi: 10.1038/nature14979.
- [451] J. Lu, A. A. Bjorkum, M. Xu, S. E. Gaus, P. J. Shiromani, et C. B. Saper, « Selective activation of the extended ventrolateral preoptic nucleus during rapid eye movement sleep », *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.*, vol. 22, n° 11, p. 4568-4576, juin 2002, doi: 20026455.
- [452] O. K. Hassani, M. G. Lee, et B. E. Jones, « Melanin-concentrating hormone neurons discharge in a reciprocal manner to orexin neurons across the sleep-wake cycle », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, n° 7, p. 2418-2422, févr. 2009, doi: 10.1073/pnas.0811400106.
- [453] R. Vetrivelan *et al.*, « Melanin-concentrating hormone neurons specifically promote rapid eye movement sleep in mice », *Neuroscience*, vol. 336, p. 102-113, nov. 2016, doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.08.046.
- [454] J. A. Hobson, R. W. McCarley, et P. W. Wyzinski, « Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups », *Science*, vol. 189, n° 4196, p. 55-58, juill. 1975, doi: 10.1126/science.1094539.
- [455] E. D. Buhr et J. S. Takahashi, « Molecular components of the Mammalian circadian clock », *Handb. Exp. Pharmacol.*, n° 217, p. 3-27, 2013, doi: 10.1007/978-3-642-25950-0_1.
- [456] W. B. Mendelson et B. M. Bergmann, « Effects of pinealectomy on baseline sleep and response to sleep deprivation », *Sleep*, vol. 24, n° 4, p. 369-373, juin 2001, doi: 10.1093/sleep/24.4.369.
- [457] A. W. De Weerd, « Actigraphy, the alternative way? », *Front. Psychiatry*, vol. 5, p. 155, 2014, doi: 10.3389/fpsy.2014.00155.
- [458] G. Buzsáki, « Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning », *Hippocampus*, vol. 25, n° 10, p. 1073-1188, oct. 2015, doi: 10.1002/hipo.22488.
- [459] L. De Gennaro et M. Ferrara, « Sleep spindles: an overview », *Sleep Med. Rev.*, vol. 7, n° 5, p. 423-440, oct. 2003, doi: 10.1053/smr.2002.0252.
- [460] F. Snyder, J. A. Hobson, D. F. Morrison, et F. Goldfrank, « Changes In Respiration, Heart Rate, And Systolic Blood Pressure In Human Sleep », *J. Appl. Physiol.*, vol. 19, p. 417-422, mai 1964, doi: 10.1152/jappl.1964.19.3.417.
- [461] M. M. Gassel, P. L. Marchiafava, et O. Pompeiano, « Phasic Changes In Muscular Activity During Desynchronized Sleep In Unrestrained Cats. An Analysis Of The Pattern And Organization Of Myoclonic Twitches », *Arch. Ital. Biol.*, vol. 102, p. 449-470, juill. 1964.
- [462] C. Tesoriero, F. Del Gallo, et M. Bentivoglio, « Sleep and brain infections », *Brain Res. Bull.*, vol. 145, p. 59-74, 2019, doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.07.002.
- [463] J. L. Valatx, R. Bugat, et M. Jouvet, « Genetic studies of sleep in mice », *Nature*, vol. 238, n° 5361, p. 226-227, juill. 1972, doi: 10.1038/238226a0.
- [464] P. Franken, A. Malafosse, et M. Tafti, « Genetic determinants of sleep regulation in inbred mice », *Sleep*, vol. 22, n° 2, p. 155-169, mars 1999.

- [465] P. Franken, A. Malafosse, et M. Tafti, « Genetic variation in EEG activity during sleep in inbred mice », *Am. J. Physiol.*, vol. 275, n° 4, p. R1127-1137, 1998, doi: 10.1152/ajpregu.1998.275.4.R1127.
- [466] S. Ebihara, T. Marks, D. J. Hudson, et M. Menaker, « Genetic control of melatonin synthesis in the pineal gland of the mouse », *Science*, vol. 231, n° 4737, p. 491-493, janv. 1986, doi: 10.1126/science.3941912.
- [467] A. Rechtschaffen et A. Kales, *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, 1968.
- [468] E. Aserinsky et N. Kleitman, « Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. 1953 », *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, vol. 15, n° 4, p. 454-455, 2003, doi: 10.1176/jnp.15.4.454.
- [469] M. Hirshkowitz, « Normal human sleep: an overview », *Med. Clin. North Am.*, vol. 88, n° 3, p. 551-565, vii, mai 2004, doi: 10.1016/j.mcna.2004.01.001.
- [470] M. J. Sateia, « International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications », *Chest*, vol. 146, n° 5, p. 1387-1394, nov. 2014, doi: 10.1378/chest.14-0970.
- [471] M. M. Ohayon, « Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn », *Sleep Med. Rev.*, vol. 6, n° 2, p. 97-111, avr. 2002, doi: 10.1053/smr.2002.0186.
- [472] M. M. Ohayon et T. Roth, « Place of chronic insomnia in the course of depressive and anxiety disorders », *J. Psychiatr. Res.*, vol. 37, n° 1, p. 9-15, févr. 2003, doi: 10.1016/s0022-3956(02)00052-3.
- [473] B. Phillips, T. Young, L. Finn, K. Asher, W. A. Hening, et C. Purvis, « Epidemiology of restless legs symptoms in adults », *Arch. Intern. Med.*, vol. 160, n° 14, p. 2137-2141, juill. 2000, doi: 10.1001/archinte.160.14.2137.
- [474] F. H. Khan, C. D. Ahlberg, C. A. Chow, D. R. Shah, et B. B. Koo, « Iron, dopamine, genetics, and hormones in the pathophysiology of restless legs syndrome », *J. Neurol.*, vol. 264, n° 8, p. 1634-1641, août 2017, doi: 10.1007/s00415-017-8431-1.
- [475] C. Hublin, J. Kaprio, M. Partinen, K. Heikkilä, et M. Koskenvuo, « Prevalence and genetics of sleepwalking: a population-based twin study », *Neurology*, vol. 48, n° 1, p. 177-181, janv. 1997, doi: 10.1212/wnl.48.1.177.
- [476] M. M. Ohayon, C. Guilleminault, et R. G. Priest, « Night terrors, sleepwalking, and confusional arousals in the general population: their frequency and relationship to other sleep and mental disorders », *J. Clin. Psychiatry*, vol. 60, n° 4, p. 268-276; quiz 277, avr. 1999, doi: 10.4088/jcp.v60n0413.
- [477] J. Kamphuis, J. Karsten, A. de Weerd, et M. Lancel, « Sleep disturbances in a clinical forensic psychiatric population », *Sleep Med.*, vol. 14, n° 11, p. 1164-1169, nov. 2013, doi: 10.1016/j.sleep.2013.03.008.
- [478] H.-T. Lin *et al.*, « Insomnia as an independent predictor of suicide attempts: a nationwide population-based retrospective cohort study », *BMC Psychiatry*, vol. 18, n° 1, p. 117, 02 2018, doi: 10.1186/s12888-018-1702-2.
- [479] L. Shi *et al.*, « Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis », *Sleep Med. Rev.*, vol. 40, p. 4-16, 2018, doi: 10.1016/j.smr.2017.06.010.
- [480] Y. Kaneita *et al.*, « The relationship between depression and sleep disturbances: a Japanese nationwide general population survey », *J. Clin. Psychiatry*, vol. 67, n° 2, p. 196-203, févr. 2006, doi: 10.4088/jcp.v67n0204.
- [481] B. Stubbs *et al.*, « The prevalence and predictors of obstructive sleep apnea in major depressive disorder, bipolar disorder and schizophrenia: A systematic review and meta-analysis », *J. Affect. Disord.*, vol. 197, p. 259-267, juin 2016, doi: 10.1016/j.jad.2016.02.060.

- [482] K. Spiegelhalder, W. Regen, S. Nanovska, C. Baglioni, et D. Riemann, « Comorbid sleep disorders in neuropsychiatric disorders across the life cycle », *Curr. Psychiatry Rep.*, vol. 15, n° 6, p. 364, juin 2013, doi: 10.1007/s11920-013-0364-5.
- [483] A. G. Harvey, D. A. Schmidt, A. Scarnà, C. N. Semler, et G. M. Goodwin, « Sleep-related functioning in euthymic patients with bipolar disorder, patients with insomnia, and subjects without sleep problems », *Am. J. Psychiatry*, vol. 162, n° 1, p. 50-57, janv. 2005, doi: 10.1176/appi.ajp.162.1.50.
- [484] P. A. Geoffroy *et al.*, « Sleep in patients with remitted bipolar disorders: a meta-analysis of actigraphy studies », *Acta Psychiatr. Scand.*, vol. 131, n° 2, p. 89-99, févr. 2015, doi: 10.1111/acps.12367.
- [485] W. V. McCall, B. A. Reboussin, et W. Cohen, « Subjective measurement of insomnia and quality of life in depressed inpatients », *J. Sleep Res.*, vol. 9, n° 1, p. 43-48, mars 2000, doi: 10.1046/j.1365-2869.2000.00186.x.
- [486] A. K. Gold et L. G. Sylvia, « The role of sleep in bipolar disorder », *Nat. Sci. Sleep*, vol. 8, p. 207-214, 2016, doi: 10.2147/NSS.S85754.
- [487] A. G. Harvey, « Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation », *Am. J. Psychiatry*, vol. 165, n° 7, p. 820-829, juill. 2008, doi: 10.1176/appi.ajp.2008.08010098.
- [488] W. R. Pigeon, M. Pinquart, et K. Conner, « Meta-analysis of sleep disturbance and suicidal thoughts and behaviors », *J. Clin. Psychiatry*, vol. 73, n° 9, p. e1160-1167, sept. 2012, doi: 10.4088/JCP.11r07586.
- [489] W. R. Pigeon, P. C. Britton, M. A. Ilgen, B. Chapman, et K. R. Conner, « Sleep disturbance preceding suicide among veterans », *Am. J. Public Health*, vol. 102 Suppl 1, p. S93-97, mars 2012, doi: 10.2105/AJPH.2011.300470.
- [490] T. M. Bishop, P. G. Walsh, L. Ashrafioun, J. E. Lavigne, et W. R. Pigeon, « Sleep, suicide behaviors, and the protective role of sleep medicine », *Sleep Med.*, juill. 2019, doi: 10.1016/j.sleep.2019.07.016.
- [491] S. Malik *et al.*, « The association between sleep disturbances and suicidal behaviors in patients with psychiatric diagnoses: a systematic review and meta-analysis », *Syst. Rev.*, vol. 3, p. 18, févr. 2014, doi: 10.1186/2046-4053-3-18.
- [492] V. Benard *et al.*, « Sleep and circadian rhythms as possible trait markers of suicide attempt in bipolar disorders: An actigraphy study », *J. Affect. Disord.*, vol. 244, p. 1-8, 01 2019, doi: 10.1016/j.jad.2018.09.054.
- [493] R. A. Bernert, D. A. Luckenbaugh, W. C. Duncan, N. G. Iwata, E. D. Ballard, et C. A. Zarate, « Sleep architecture parameters as a putative biomarker of suicidal ideation in treatment-resistant depression », *J. Affect. Disord.*, vol. 208, p. 309-315, janv. 2017, doi: 10.1016/j.jad.2016.08.050.
- [494] L. B. Palmese *et al.*, « Insomnia is frequent in schizophrenia and associated with night eating and obesity », *Schizophr. Res.*, vol. 133, n° 1-3, p. 238-243, déc. 2011, doi: 10.1016/j.schres.2011.07.030.
- [495] E. A. Klingaman, J. Palmer-Bacon, M. E. Bennett, et L. M. Rowland, « Sleep Disorders Among People With Schizophrenia: Emerging Research », *Curr. Psychiatry Rep.*, vol. 17, n° 10, p. 79, oct. 2015, doi: 10.1007/s11920-015-0616-7.
- [496] J. A. Pillai et J. B. Leverenz, « Sleep and Neurodegeneration: A Critical Appraisal », *Chest*, vol. 151, n° 6, p. 1375-1386, 2017, doi: 10.1016/j.chest.2017.01.002.
- [497] D. O. Claassen, K. A. Josephs, J. E. Ahlskog, M. H. Silber, M. Tippmann-Peikert, et B. F. Boeve, « REM sleep behavior disorder preceding other aspects of synucleinopathies by up to half a century », *Neurology*, vol. 75, n° 6, p. 494-499, août 2010, doi: 10.1212/WNL.0b013e3181ec7fac.
- [498] R. K. Malhotra, « Neurodegenerative Disorders and Sleep », *Sleep Med. Clin.*, vol. 13, n° 1, p. 63-70, mars 2018, doi: 10.1016/j.jsmc.2017.09.006.

- [499] R. G. Poryazova et Z. I. Zachariev, « REM sleep behavior disorder in patients with Parkinson's disease », *Folia Med. (Plovdiv)*, vol. 47, n° 1, p. 5-10, 2005.
- [500] M. D. Gjerstad, T. Wentzel-Larsen, D. Aarsland, et J. P. Larsen, « Insomnia in Parkinson's disease: frequency and progression over time », *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 78, n° 5, p. 476-479, mai 2007, doi: 10.1136/jnnp.2006.100370.
- [501] I. Arnulf *et al.*, « Parkinson's disease and sleepiness: an integral part of PD », *Neurology*, vol. 58, n° 7, p. 1019-1024, avr. 2002, doi: 10.1212/wnl.58.7.1019.
- [502] B. F. Boeve, M. H. Silber, T. J. Ferman, J. A. Lucas, et J. E. Parisi, « Association of REM sleep behavior disorder and neurodegenerative disease may reflect an underlying synucleinopathy », *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.*, vol. 16, n° 4, p. 622-630, juill. 2001, doi: 10.1002/mds.1120.
- [503] R. Poryazova, D. Benninger, D. Waldvogel, et C. L. Bassetti, « Excessive daytime sleepiness in Parkinson's disease: characteristics and determinants », *Eur. Neurol.*, vol. 63, n° 3, p. 129-135, 2010, doi: 10.1159/000276402.
- [504] Y. Körner *et al.*, « Predictors of sudden onset of sleep in Parkinson's disease », *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.*, vol. 19, n° 11, p. 1298-1305, nov. 2004, doi: 10.1002/mds.20163.
- [505] B. F. Boeve, « Idiopathic REM sleep behaviour disorder in the development of Parkinson's disease », *Lancet Neurol.*, vol. 12, n° 5, p. 469-482, mai 2013, doi: 10.1016/S1474-4422(13)70054-1.
- [506] K. Yaffe *et al.*, « Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women », *JAMA*, vol. 306, n° 6, p. 613-619, août 2011, doi: 10.1001/jama.2011.1115.
- [507] G. Plazzi *et al.*, « Does the prion protein gene 129 codon polymorphism influence sleep? Evidence from a fatal familial insomnia kindred », *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.*, vol. 113, n° 12, p. 1948-1953, déc. 2002, doi: 10.1016/s1388-2457(02)00308-5.
- [508] H.-P. Landolt *et al.*, « Sleep-wake disturbances in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease », *Neurology*, vol. 66, n° 9, p. 1418-1424, mai 2006, doi: 10.1212/01.wnl.0000210445.16135.56.
- [509] G. Givaty, N. Maggio, O. S. Cohen, I. Blatt, et J. Chapman, « Early pathology in sleep studies of patients with familial Creutzfeldt-Jakob disease », *J. Sleep Res.*, vol. 25, n° 5, p. 571-575, 2016, doi: 10.1111/jsr.12405.
- [510] A. N. Coogan et C. A. Wyse, « Neuroimmunology of the circadian clock », *Brain Res.*, vol. 1232, p. 104-112, sept. 2008, doi: 10.1016/j.brainres.2008.07.087.
- [511] G. Flynn, S. Maru, J. Loughlin, I. A. Romero, et D. Male, « Regulation of chemokine receptor expression in human microglia and astrocytes », *J. Neuroimmunol.*, vol. 136, n° 1-2, p. 84-93, mars 2003, doi: 10.1016/s0165-5728(03)00009-2.
- [512] F. Del Gallo, M. R. Opp, et L. Imeri, « The reciprocal link between sleep and immune responses », *Arch. Ital. Biol.*, vol. 152, n° 2-3, p. 93-102, sept. 2014, doi: 10.12871/000298292014234.
- [513] L. A. Toth et J. M. Krueger, « Alteration of sleep in rabbits by *Staphylococcus aureus* infection », *Infect. Immun.*, vol. 56, n° 7, p. 1785-1791, juill. 1988.
- [514] L. A. Toth, T. W. Gardiner, et J. M. Krueger, « Modulation of sleep by cortisone in normal and bacterially infected rabbits », *Am. J. Physiol.*, vol. 263, n° 6 Pt 2, p. R1339-1346, déc. 1992, doi: 10.1152/ajpregu.1992.263.6.R1339.
- [515] L. A. Toth, « Immune-modulatory drugs alter *Candida albicans*-induced sleep patterns in rabbits », *Pharmacol. Biochem. Behav.*, vol. 51, n° 4, p. 877-884, août 1995, doi: 10.1016/0091-3057(95)00064-4.
- [516] I. Fang, D. Tooley, C. Gatewood, K. B. Renegar, J. A. Majde, et J. M. Krueger, « Differential effects of total and upper airway influenza viral infection on sleep in mice », *Sleep*, vol. 19, n° 4, p. 337-342, mai 1996.

- [517] M. Machida *et al.*, « Sleep and behavior during vesicular stomatitis virus induced encephalitis in BALB/cJ and C57BL/6J mice », *Brain. Behav. Immun.*, sept. 2013, doi: 10.1016/j.bbi.2013.09.006.
- [518] J. Mullington *et al.*, « Dose-dependent effects of endotoxin on human sleep », *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, vol. 278, n° 4, p. R947-955, avr. 2000, doi: 10.1152/ajpregu.2000.278.4.R947.
- [519] K. N. Anderson, T. P. Kelly, et T. D. Griffiths, « Primary sleep disorders can cause long-term sleep disturbance in patients with autoimmune mediated limbic encephalitis », *Clin. Neurol. Neurosurg.*, vol. 115, n° 7, p. 1079-1082, juill. 2013, doi: 10.1016/j.clineuro.2012.10.031.
- [520] T. Hasegawa, J. Kohyama, T. Kohji, M. Shimohira, et Y. Iwakawa, « Impairment of respiratory rhythmogenesis and sequelae of bacterial meningitis », *Pediatr. Neurol.*, vol. 12, n° 4, p. 357-360, mai 1995, doi: 10.1016/0887-8994(95)00051-g.
- [521] D. Milhaud, G. Bernardin, P. M. Roger, M. Magnié, et M. Mattei, « [Central apnea with consciousness impairment due to *Listeria rhombencephalitis* sequelae] », *Rev. Neurol. (Paris)*, vol. 155, n° 2, p. 152-154, févr. 1999.
- [522] V. Pardasani, G. Shukla, S. Singh, V. Goyal, et M. Behari, « Abnormal sleep-wake cycles in patients with tuberculous meningitis: a case-control study », *J. Neurol. Sci.*, vol. 269, n° 1-2, p. 126-132, juin 2008, doi: 10.1016/j.jns.2008.01.003.
- [523] M. D. Olivadoti, J. B. Weinberg, L. A. Toth, et M. R. Opp, « Sleep and fatigue in mice infected with murine *gammaherpesvirus 68* », *Brain. Behav. Immun.*, vol. 25, n° 4, p. 696-705, mai 2011, doi: 10.1016/j.bbi.2011.01.010.
- [524] R. A. Trammell et L. A. Toth, « Behavioral perturbation and sleep in healthy and virus-infected inbred mice », *Comp. Med.*, vol. 64, n° 4, p. 283-292, août 2014.
- [525] S. Spudich et F. González-Scarano, « HIV-1-related central nervous system disease: current issues in pathogenesis, diagnosis, and treatment », *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 2, n° 6, p. a007120, juin 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a007120.
- [526] N. C. Chen, A. T. Partridge, C. Sell, C. Torres, et J. Martín-García, « Fate of microglia during HIV-1 infection: From activation to senescence? », *Glia*, vol. 65, n° 3, p. 431-446, 2017, doi: 10.1002/glia.23081.
- [527] A. L. Fernández-Cruz et L. K. Fellows, « The electrophysiology of neuroHIV: A systematic review of EEG and MEG studies in people with HIV infection since the advent of highly-active antiretroviral therapy », *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.*, vol. 128, n° 6, p. 965-976, 2017, doi: 10.1016/j.clinph.2017.03.035.
- [528] J. Wu, H. Wu, C. Lu, L. Guo, et P. Li, « Self-reported sleep disturbances in HIV-infected people: a meta-analysis of prevalence and moderators », *Sleep Med.*, vol. 16, n° 8, p. 901-907, août 2015, doi: 10.1016/j.sleep.2015.03.027.
- [529] B. Faraut *et al.*, « Sleep Disturbance and Total Sleep Time in Persons Living with HIV: A Cross-Sectional Study », *AIDS Behav.*, vol. 22, n° 9, p. 2877-2887, sept. 2018, doi: 10.1007/s10461-018-2179-1.
- [530] O. Oshinaike, A. Akinbami, O. Ojelabi, A. Dada, A. Dosunmu, et S. John Olabode, « Quality of Sleep in an HIV Population on Antiretroviral Therapy at an Urban Tertiary Centre in Lagos, Nigeria », *Neurol. Res. Int.*, vol. 2014, p. 298703, 2014, doi: 10.1155/2014/298703.
- [531] J. L. White *et al.*, « Early central nervous system response to HIV infection: sleep distortion and cognitive-motor decrements », *AIDS Lond. Engl.*, vol. 9, n° 9, p. 1043-1050, sept. 1995, doi: 10.1097/00002030-199509000-00009.
- [532] P. G. Kennedy, « Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness) », *Lancet Neurol.*, vol. 12, n° 2, p. 186-194, févr. 2013, doi: 10.1016/S1474-4422(12)70296-X.

- [533] K. M. Hudson, C. Byner, J. Freeman, et R. J. Terry, « Immunodepression, high IgM levels and evasion of the immune response in murine trypanosomiasis », *Nature*, vol. 264, n° 5583, p. 256-258, nov. 1976, doi: 10.1038/264256a0.
- [534] S. Mackenzie, « Negro lethargy », *Lancet*, 1890, pp. 1100-1101.
- [535] Y. Dauvilliers *et al.*, « Hypocretin and human African trypanosomiasis », *Sleep*, vol. 31, n° 3, p. 348-354, mars 2008, doi: 10.1093/sleep/31.3.348.
- [536] M. Palomba *et al.*, « Alterations of orexinergic and melanin-concentrating hormone neurons in experimental sleeping sickness », *Neuroscience*, vol. 290, p. 185-195, avr. 2015, doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.12.066.
- [537] M. Keita *et al.*, « Inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in the central nervous system of mice chronically infected with *Trypanosoma brucei brucei* », *Exp. Parasitol.*, vol. 95, n° 1, p. 19-27, mai 2000, doi: 10.1006/expr.2000.4505.

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et schizophrénie

| Année | Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic | Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------|-------------------|----------|-----------|--------------|----------------------|---------------|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|--|
| 2010 | Ahmad | Iran | | Cas témoins | 80 SZ | 99 | 33 | 33,8 | 72,5 | 61,6 | Différence non significative (p>0,005) |
| 2011 | Alipour | Iran | | Cas témoins | 62 SZ | 62 | 37,5 | 37,2 | 67,7 | 37,1 | Différence significative (p<0,01) |
| 2006 | Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas témoins | 38 SZ | 180 | 55,5 | 42 | 26,3 | 8,9 | Différence significative (p=0,005) |
| 2011 | Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas témoins | 50 SZ | 150 | 45,1 | 45,1 | 20 | 5,3 | Association significative (OR = 4,44; 95% CI: 1,49–13,37; p=0,003) |
| 2012 | Bamne | USA | | Cas témoins | 604 SZ | 404 | 38,5 | 41 | 26,3 | 20,6 | MV |
| 2013 | Blomstrom | Suède | | Cas témoins | 47 SZ | 124 | MV | MV | 34 | 23,5 | Association avec sérointensité (OR = 2,1; 95% CI: 1,0-4,5) |
| 2005 | Brown | USA | | Cas témoins | 63 SZ | 123 | 24,2 | 25,2 | 39,7 | 24,4 | Association sérointensité et SZ chez la descendance (OR=2,61; 95% CI: 1,00–6,82) |
| 2007 | Cetinkaya | Turquie | | Cas témoins | 100 SZ | 50 | 37,3 | 37,2 | 66 | 22 | Différence significative (p<0,01) |
| 2009 | Dogruman | Turquie | | Cas témoins | 77 SZ | 88 | 40,3 | 29,7 | 47,7 | 20,4 | Différence significative (p<0,001) |
| 2012 | Emelia | Malaisie | | Cas témoins | 144 SZ | 144 | MV | MV | 37,5 | 34 | Sérointensité >60UI/mL : différence significative (p=0,04) |
| 2010 | Hamidinejat | Iran | | Cas témoins | 98 SZ | 48 | 33 | 33 | 57,1 | 29,2 | Association avec séropositivité (OR = 2,99; 95% CI: 1,65–5,41) |

| | | | | | | | | | |
|------|--------------|-----------------|-------------|--------|------|------|------|------|---|
| 2020 | El Mouwahess | Liban | Cas-témoins | 150SZ | 56 | 58 | 79,1 | 79,6 | Différence non significative (p=0,923) |
| 2019 | Stepanova | Russie | Cas-témoins | 152SZ | MV | MV | 40 | 25 | Association significative avec séropositivité (OR = 1,93; 95% CI: 1,16-3,23; p=0,007) |
| 2010 | Daryani | Iran | Cas-témoins | 80SZ | 33 | 33,8 | 72,5 | 61,6 | Différence non significative (p>0,05) |
| 2019 | Burgdorf | Danemark | Cas-témoins | 151SZ | MV | MV | MV | 25,9 | Association avec séropositivité (OR = 1,47; 95% CI: 1,03-2,09) |
| 2018 | Muyflikhah | Indonésie | Cas-témoins | 94SZ | MV | MV | 69,1 | 65,6 | Différence non significative (p>0,05) |
| 2017 | Ansari Lari | Iran | Cas-témoins | 99SZ | 40,3 | 40,6 | 42 | 27 | Association avec séropositivité (OR = 2; 95% CI: 1,2-3,4; p=0,012) |
| 2018 | Lindgren | Finlande | Transversal | n=5906 | MV | MV | MV | 19,4 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,45; 95% CI: 0,70-3,03; p=0,320) |
| 2017 | Tanaka | USA | Cas-témoins | 28SZ | 39 | 37,9 | 21,8 | 18,8 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,982) |
| 2016 | Eshili | Tunisie | Cas-témoins | 246SZ | 40,5 | 38,1 | 74,8 | 53,8 | Association avec séropositivité (OR = 2,55; 95% IC: 1,59-4,09; p<0,0001), association avec sérointensité (p=0,03) |
| 2015 | Karabulut | Turquie | Cas-témoins | 85SZ | 41,7 | 40,5 | 43,5 | 43,3 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,008; 95% CI: 0,517-1,964; p=0,981) |
| 2015 | Al-Husseiny | Arabie Saoudite | Cas-témoins | 63SZ | MV | MV | 31,6 | 14,6 | Différence significative (p<0,001) |
| 2015 | Cevizci | Turquie | Cas-témoins | 30SZ | MV | MV | 33,3 | 21,7 | Différence non significative |
| 2015 | Omar | Malaisie | Cas-témoins | 101SZ | 45,3 | 41,1 | 51,5 | 18,2 | Association avec séropositivité (OR = 4,78; 95% CI: 2,17-10,51; p=0,0005) |
| 2015 | de Witte | Pays Bas | Cas-témoins | 368SZ | 30,5 | 34,5 | 18,5 | 17,7 | Différence non significative (X2=0,060, p=0,806) |

SZ = schizophrénie

Annexe 2 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et dépression

| Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|----------------------|-----------------|-----------|--------------|---|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|---|
| Thomas | Angleterre | | Transversale | n=425 | <70 | <70 | 38,9 | 45 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,81; 95% CI: 0,29–2,3) |
| Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas témoins | Patients dépressifs n=3 vs patients sains n=180 | 43,7 | 42 | 33,33 | 8,9 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 5,13; 95% CI: 0,44–59,67; p=0,25) |
| Cetinkaya | Turquie | | Cas témoins | Patients dépressifs n=50 vs patients sains n=50 | 37,4 | 37,2 | 24 | 22 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,12; 95% CI: 0,44–2,84) |
| Hinze-Seich | Allemagne | | Cas témoins | Patients dépressifs n=465 vs patients sains n=214 | 46 | 38,9 | 47,5 | 25,7 | Association avec séropositivité (OR = 2,62; 95% CI: 1,83–3,74) |
| Hamidinejat | Iran | | Cas témoins | Patients dépressifs n=46 vs patients sains n=50 | MV | MV | 32,6 | 29,2 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,18; 95% CI: 0,49–2,82) |
| Xiao | Chine | | Cas témoins | Patients dépressifs n=29 vs patients sains n=2634 | MV | MV | 13,8 | 12,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,12; 95% CI: 0,39–3,24) |
| Groër | Autriche | | Transversale | n=414 | MV | MV | 10,6 | | Association avec séropositivité |
| Pearce | USA | | Transversale | n=515 | MV | MV | 12,6 | | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,8; 95% CI: 0,5–1,1; p>0,05) |
| Gale | USA | | Transversale | n=1846 | MV | MV | | | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,484; 95% CI: 0,181–1,290) |
| Markovitz | USA | | Transversale | n=1547 | MV | MV | 57,2 | 49,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,09; 95% CI: 0,57–2,10) |
| Al-Hussainy Saoudite | Arabie Saoudite | | Cas témoins | Patients dépressifs n=99 vs patients sains n=55 | MV | MV | 25,6 | 14,6 | Association avec séropositivité (p=0,001) |

| | | | | | | | |
|-------------------|------------------|--------------|---|------|------|-------|--|
| Cong | Chine | Cas témoins | Patients dépressifs n=39 vs patients sains n=445 | MV | 7,7 | 12,36 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,39) |
| Wilking | Allemagne | Transversale | n=6564 dont 768 dépressions | MV | 53,3 | 55 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,94; 95% CI: 0,78–1,13) |
| Shiadeh | Iran | Cas témoins | Grossesse Patientes dépressives n=116 vs patientes saines n=244 | 28,9 | 28,2 | 51,2 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,4; 95 % CI: 0,9-2,19; p=0,142) |
| Alvarado-Esquivel | Mexique | Cas témoins | Patients dépressifs n=89 vs patients sains n=356 | 38,7 | 38,7 | 6,2 | Association avec séropositivité (OR = 2,14; 95% CI: 1,00–4,59; p=0,04) |
| Alvarado-Esquivel | Mexique | Cas témoins | Patients dépressifs n=65 vs patients sains n=260 | 39,4 | 39,5 | 6,9 | Association avec séropositivité (OR = 4,03; 95% CI: 1,90-8,53; p< 0,001) |
| Gale | USA | Transversale | n=5487 dont 1001 dépressions | | | | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,83; 95% CI: 0,64–1,06; p=0,136) |
| Sugden | Nouvelle Zélande | Transversale | Individus nés entre avril 1972 et mars 1973 (n=1037) | | 14,8 | 15,4 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,01; 95% CI: 0,66–1,54; p=0,98) |
| Flegel | Rép. Tchèque | Transversale | n=1486 | | 17 | 23,52 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,67; 95% CI: 0,31–1,44; p=0,109) |
| Alvarado-Esquivel | Mexique | Cas témoins | Grossesse Patientes dépressives n=200 vs patientes saines n=200 | 69,1 | 68,6 | 6 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,73; 95% CI: 0,30-1,79; p=0,50) |
| Suvisaari | Finlande | Transversale | n=7112 | | 6,8 | 6,3 | Pas d'association avec séropositivité |
| Abdollahian | Iran | Cas témoins | Patients dépressifs n=35 vs patients sains n=350 | 35 | 38 | 34,3 | Association avec séropositivité (OR = 2,03; 95% CI: 1,01–4,08) |
| Yolken | USA | Cas témoins | Patients dépressifs n=64 vs patients sains n=571 | 37,8 | 32,7 | 6,1 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,3; 95% CI: 0,49–3,44) |
| Yalin Sapmaz | Turquie | Cas témoins | Adolescents dépressifs n=37 vs patients sains n=36 | 15,6 | 14,6 | 5,6 | Association avec séropositivité (p=0,046) |
| Gao | Chine | Cas témoins | Patients dépressifs n=106 vs patients sains n=369 | MV | 6,6 | 5,4 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,234; 95% CI: 0,507–3,002; p=0,643) |

| | | | | | | | | |
|----------|----------|-----------------|-------------------------------------|----|----|------|-----|--|
| Markkula | Finlande | Longitudinale | n=7112 | MV | MV | 4,2 | 4,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,00; 95% CI: 0,61-1,64) |
| Duffy | USA | Cross sectional | n=70 vétérans (femmes) | MV | MV | 11,4 | | Association avec séropositivité (p<0,005) |
| Simanek | USA | Longitudinale | n=771 Latinos | MV | MV | | | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,09; 95% CI: 0,87-1,36) |
| Lin | Taiwan | Cas-témoins | Tg+ n=259 vs contrôles Tg- =1036 | MV | MV | MV | MV | Association avec séropositivité (HR = 4,94; 95% CI: 2,15-11,80) |

Annexe 3 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et troubles obsessionnels compulsifs

| Année | Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------|-------------------|--------------|-----------|--------------|---|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|---|
| 2006 | Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas-témoins | Patients TOC n=1 vs patients sains n=180 | 42 | 42 | 8,9 | 0 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 3,32; 95% CI: 0,13–84,89; p=0,91) |
| 2010 | Miman | Turquie | | Cas-témoins | Patients TOC n=42 vs patients sains n=100 | 38,1 | 34,1 | 47,62 | 19 | Association avec séropositivité (OR = 3,88; 95% CI: 1,77–8,50; p<0,01) |
| 2010 | Xiao | Chine | | Cas-témoins | Patients TOC n=12 vs patients sains n=2634 | MV | MV | 25 | 12,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 2,34; 95% CI: 0,63–8,67) |
| 2015 | Cong | Chine | | Cas-témoins | Patients TOC n=29 vs patients sains n=445 | MV | MV | 24,14 | 12,36 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 2,26; 95% CI: 0,92–5,53; p=0,068) |
| 2015 | Memik | Turquie | | Cas-témoins | Patients pédiatriques TOC n=42 vs patients sains n=45 | MV | MV | 4,8 | 8,9 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,51; 95% CI: 0,09–2,96; p=0,677) |
| 2016 | Flegr | Rép. Tchèque | | Transversale | n=1486 | | | 13,04 | 23,52 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,49; 95% CI: 0,14–1,65; p=0,126) |
| 2015 | Flegr | Rép. Tchèque | | Transversale | n=7471 dont 26 TOC | | | 42,31 | 27,18 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,96; 95% CI: 0,89–4,32; p=0,047) |
| 2018 | Flegr | Rép. Tchèque | | Transversale | n=3440 dont 141 TOC | | | 22 | 16,07 | Association avec séropositivité (OR = 1,47; 95% CI: 0,98–2,22; p=0,014) |
| 2018 | Akaltun | Turquie | | Cas-témoins | Patients pédiatriques TOC n=60 vs patients sains n=60 | 14,7 | 15,1 | 35 | 10 | Association avec séropositivité (OR = 4,85; 95% CI: 1,79–13,13; p=0,001) |
| 2018 | Miman | Turquie | | Cas-témoins | Patients pédiatriques TOC n=55 vs patients sains n=59 | 11,88 | 11,96 | 21,82 | 15,25 | Différence non significative (p=0,621) |

Annexe 4 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et troubles bipolaires

| Année | Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------|--------------|-----------|-----------|--------------|--|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|---|
| 2017 | Abdollahian | Iran | | Cas-témoins | Population psychiatrique n=350 vs patients sains n=350 | 38 | NA | 47,1 | 34,3 | Association avec séropositivité (OR = 1,709; 95% CI: 1,018-2,871; p=0,043) |
| 2015 | Avramopoulos | USA | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=489 vs patients sains n=362 | 57,9 | 43,3 | 11,7 | 19,9 | Association négative avec séropositivité (OR = 0,531; 95% CI: 0,364-0,776; p=0,001) |
| 2019 | Chen | China | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=115 vs patients sains n=681 | 37,7 | 37,6 | 19,1 | 9,4 | Association avec séropositivité (OR = 2,281; 95% CI: 1,341-3,8; p=0,003) |
| 2012 | Gerber | Allemagne | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=30 vs patients sains n=20 | 39,8 | 42,6 | 13,3 | 5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 2,923; 95% CI: 0,302-28,286; p=0,354) |
| 2017 | Hamdani | France | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=138 vs patients sains n=180 | 40,1 | 44,3 | 74,6 | 58,3 | Association avec séropositivité (OR = 2,102; 95% CI: 1,295-3,413; p=0,003) |
| 2010 | Hinze-Selch | Allemagne | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=87 vs patients sains n=214 | 38,9 | 46,3 | 47,1 | 40,1 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,327; 95% CI: 0,803-2,191; p=0,270) |
| 2017 | Tanaka | USA | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=32 vs patients sains n=32 | 38,7 | 38,2 | 21,8 | 18,8 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,213; 95% CI: 0,358-4,113; p=0,756) |
| 2011 | Tedla | Ethiopie | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=171 vs patients sains n=71 | 30,4 | 31,6 | 95,3 | 87,3 | Association avec séropositivité (OR = 2,958; 95% CI: 1,092-8,010; p=0,033) |
| 2019 | Snijders | Pays-Bas | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=760 vs patients sains n=132 | 49,5 | 49,4 | 36,2 | 36,3 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 0,992; 95% CI: 0,676-1,457; p=0,968) |
| 2013 | Hamdani | France | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=104 vs patients sains n=85 | 37,8 | 44,8 | 76,9 | 48,2 | Association avec séropositivité (OR = 2,17; 95% CI: 1,09-4,36; p=0,028) |
| 2015 | Hamdani | France | | Cas-témoins | Patients bipolaires n=42 vs patients sains n=36 | 38,1 | 46,1 | 88,1 | 52,7 | Différence significative (p=0,007) |

| | | | | | | | | | |
|------|-------------------|-----------|--------------|--|------|------|------|------|---|
| 2011 | Mortensen | Danemark | Cas-témoins | Patients bipolaires n=127 vs patients sains n=127 | MV | MV | 26 | 20,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,37; 95% CI: 0,76-2,47; p=0,30) |
| 2012 | Pearce | USA | Transversale | n=7440 dont 109 bipolaires | | | | | Association avec séropositivité (OR = 2,40, 95% CI: 1,2-4,8; p= 0,013) |
| 2015 | Stich | Allemagne | Cas-témoins | Patients bipolaires n=40 vs patients sains n=26 | 48,3 | 42,8 | 52,5 | 38,5 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,36; 95% CI: 0,77-2,41; p=0,194) |
| 2020 | Lin | Taiwan | Cas-témoins | Tg + n=259 vs contrôles Tg- =1036 | MV | MV | MV | MV | Association avec séropositivité (OR = 3,60, 95% CI: 2,07-7,26; p= 0,013) |
| 2020 | Hussein | Egypte | Cas-témoins | Patients bipolaires n=57 vs patients sains n=50 | MV | MV | 52,6 | 30 | Différence significative (p=0,018) |
| 2019 | Alvarado-Esquivel | Mexique | Cas-témoins | Patients bipolaires n=66 vs patients sains n=396 | MV | MV | 9,1 | 5,6 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,7, 95% CI: 0,66-4,36; p= 0,26) |
| 2019 | Frye | USA | Cas-témoins | Patients bipolaires n=1207 vs patients sains n=745 | 43,2 | 44,5 | 9,4 | 13,4 | Pas d'association avec sérointensité mais association avec un sous-type particulier de la maladie |
| 2006 | Alvarado-Esquivel | Mexique | Cas-témoins | Patients bipolaires n=6 vs patients sains n=180 | 34 | 42 | 16,7 | 8,9 | Association négative avec séropositivité (OR = 0,69; 95% CI: 0,51-0,93; p=0,01) |
| 2010 | Xiao | Chine | Cas-témoins | Patients bipolaires n=49 vs patients sains n=2634 | MV | MV | 10,2 | 12,5 | Différence non significative (p=0,44) |
| | | | | | | | | | Différence non significative |

Annexe 5 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et tentatives de suicide/comportements suicidaires

| Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------------------|--------------|-----------|---------------|---|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|--|
| Alvarado Esquivel | Mexique | | Cas-témoins | Patients avec des troubles mentaux ou comportementaux due à l'usage de substances psychoactives; n=57 vs 57 | MV | MV | 3,5 | 14 | Association négative entre séropositivité et TS (p=0,03) |
| Alvarado Esquivel | Mexique | | Cas-témoins | Population psychiatrique; n=156 vs 127 | 38,2 | 34 | 4,5 | 7,9 | Association négative entre séropositivité et IS (p=0,004) |
| Ansari Iari | Iran | | Cas-témoins | Patients schizophrènes n=29 vs contrôles sains n=70 | 40,6 | 40,3 | 27,6 | 48,4 | Association entre taux d'IgG élevés (>150UI/mL) et TS (p=0,04) |
| Arling | USA | | Cas-témoins | 218 Patients avec troubles de l'humeur dont 89 avec TS vs contrôles sains n=39 | 42,7 | 40,3 | 13,6 | 11,1 | Association négative entre séropositivité et TS (OR = 0,3; 95% CI: 0,1-0,97; p = 0,04) |
| Bak | Corée du Sud | | Cas-témoins | Patients avec dépression + TS (n=155) vs contrôles sains (n=135) | 41,6 | 43,7 | 13,6 | 5,9 | Association entre séropositivité et TS (OR = 1,55; 95% CI: 1,14 -2,12; p = 0,006) |
| Burgdorf | Danemark | | Cas-témoins | Donneurs de sang avec TS n=655 vs 6503 | MV | MV | 29,5 | 25,1 | Association entre séropositivité et TS (OR = 2,49; 95% CI: 1,27-4,93; p = 0,011) |
| Coryell | USA | | Longitudinale | Population adolescente recevant IRSS n=17 vs 91 | 19 | 17,5 | 12 | 2 | Pas d'association entre séropositivité et TS (OR = 1,13; 95 % CI: 0,94-1,36) Différence significative (p=0,018) |
| Okusaga | Allemagne | | Cas-témoins | Population schizophrène n=372 vs 578 | 36,1 | 40,8 | 41,6 | 37,7 | Association entre séropositivité et TS chez les <38 ans (OR = 1,57; 95% CI: 1,03-2,38; p = 0,03) Association entre séropositivité et TS chez les <38 ans (OR = 1,23; 95% CI: 1,04-1,47; p = 0,02) |

| | | | | | | | |
|-------------|------------------|-------------|---|------|------|------|---|
| Pedersen | Danemark | Cohorte | Femmes ayant accouché entre 1992 et 1995, suivi jusqu'en 2006; n=488 vs 44783 | MV | 34 | 26 | Association entre séropositivité et TS (valeurs variables selon les catégories) |
| Samojlowicz | Pologne | Cas-témoins | Autopsies n=41 vs 83 | 51 | 63 | 49 | Absence de différence significative (p=0,09) |
| Sugden | Nouvelle Zélande | Prospective | Individus nés entre avril 1972 et mars 1973 (n=1037) | 40 | 50 | 27,8 | Pas d'association entre séropositivité et TS (OR = 2,63; 95% CI : 0,97-7,1; p = 0,06) |
| Yagmur | Turquie | Cas-témoins | n=200 vs 200 | 24,3 | 41 | 28 | Différence significative (x2 = 7,48; p = 0,004) |
| Zhang | USA | Cas-témoins | Population psychiatrique; n=54 vs 30 | 57,4 | 40,7 | 20 | Association entre séropositivité et TS (OR = 7,21; 95% CI 1,66-30,6; p = 0,008) |

| | | | | | | | | |
|------|--------|------------------|---------------|---|----|------|------|--|
| 2016 | Sugden | Nouvelle-Zélande | Longitudinale | Individus nés entre avril 1972 et mars 1973 (n=1037) | | 21,6 | 14,9 | Pas d'association avec séropositivité (OR = 1,30; 95% CI: 0,86–1,96; p=0,22) |
| 2006 | Yereli | Turquie | Cas-témoins | Impliqués dans des accidents n=185 vs contrôles sains n=185 | MV | 29,7 | 7,6 | Association avec séropositivité (OR = 5,07; 95% CI: 2,69–30,62; p<0,0001) |

Annexe 7 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et maladie de Parkinson

| Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------------------|---------|-----------|--------------|---|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|--|
| Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=65 vs contrôles sains n=185 | 69,1 | 68,6 | 9,2 | 10,8 | Absence de différence significative (p=0,81) |
| Fallahi | Iran | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=115 vs contrôles sains n=115 | 75,2 | 74,1 | 53 | 55,6 | Pas d'association entre séropositivité et TS (OR = 0,90; 95% CI: 0,54-1,51; p=0,691) |
| Oskouei | Iran | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=75 vs contrôles sains n=75 | 63,7 | 63,4 | 85 | 90,3 | Pas d'association entre séropositivité et TS (p=0,2) |
| Celik | Turquie | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=50 vs contrôles sains n=45 | 63,4 | 62,4 | 50 | 40 | Pas d'association entre séropositivité et TS (p=0,621) |
| Celik | Turquie | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=50 vs contrôles sains n=50 | 65,6 | 65,6 | 18 | 22 | Pas d'association entre séropositivité et TS (p=0,617) |
| Miman | Turquie | | Cas-témoins | Patients atteints de Parkinson n=52 vs. contrôles sains n=40 | 66 | 62,4 | 42,3 | 22,5 | Différence significative (p=0,006) |

Annexe 8 : Tableau récapitulatif des études sur l'association toxoplasmose et maladie d'Alzheimer

| Auteurs | Pays | Référence | Type d'étude | Cas (n) = diagnostic vs Contrôles (n) | Age moyen des cas (années) | Age moyen des contrôles (années) | Séroprévalence Cas (%) | Séroprévalence Contrôles (%) | Association |
|-------------------|---------|-----------|--------------|---|----------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|---|
| Rashno | Iran | | Cas-témoins | Patients atteints d'Alzheimer n=87 vs contrôles sains n=87 | 61 | 62 | 66,6 | 56,3 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,926) |
| Alvarado-Esquivel | Mexique | | Cas-témoins | Population psychiatrique n=137 vs contrôles donneurs de sang n=180 | 43,7 | 42 | 18,2 | 8,9 | Différence significative (p=0,005) |
| Kusbeci | Turquie | | Cas-témoins | Patients atteints d'Alzheimer n=34 vs contrôles sains n=37 | 68,1 | 62,9 | 44,1 | 24,3 | Différence significative (p=0,005) |
| Cong | Chine | | Cas-témoins | Population psychiatrique n=445 dont 18 Alzheimer vs contrôles sains n=445 | MV | MV | 16,67 | 12,36 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,588) |
| Mahami Oskouei | Iran | | Cas-témoins | Patients atteints d'Alzheimer n=75 vs contrôles sains n=75 | 76,1 | 75,7 | 61,3 | 62,6 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,5) |
| Perry | USA | | Cas-témoins | Patients atteints d'Alzheimer n=105 vs contrôles sains n=114 | 80,4 | 79,7 | 41 | 33 | Pas d'association avec séropositivité (p=0,25) |
| Bouscaren | Afrique | | Transversale | n=1662 | | | | | Pas d'association avec séropositivité |