

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

**PROJET DE FIN D'ETUDES**  
*EN VUE DE L'OBTENTION*  
**DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

**Importance de la vaccination anti-toxoplasmique  
dans la prévention de la maladie humaine**

Présenté par : *Sahraoui Asma*

Soutenu en Juin 2013

Les membres de jury :

- **Président : KHELEf D, professeur (ENSV. Alger)**
- **Promoteur : AIT-LOUDHIA K, Maitre de conférences classe A (ENSV.Alger)**
- **Examineur : BOUZID R Maitre de Conférences B (ENSV. Alger)**
- **Examineur : MESSAI C.R Maitre assistant B (ENSV. Alger)**

Année universitaire : 2012/2013

## *REMERCIEMENT*

Je voudrai présenter mes remerciements à mon encadreur mademoiselle *Aït-Oudhïa Khatima*.

Je voudrai également lui témoigner mon gratitude pour sa patience et son soutien qui m'a été précieux afin de mener mon travail à bon port.

Merci.

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire de fin d'études*

*A la mémoire de ma très chère adorable maman*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour  
Exprimer ce qu'elle mérite pour tout l'amour, la tendresse,  
l'éducation, le soutien et les sacrifices qu'elle n'a cessé de me  
donner depuis ma naissance*

*A mon cher papa*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour  
mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis  
pour mon éducation et ma formation.*

*A ma chère grand-mère Rabea*

*A*

*Mes adorables sœurs que j'adore Nesrine , Fella et Khadija*

*Pour leur affection, compréhension et patience*

*A*

*Mon fiancé Ahmed*

*Qui ma soutenu durant tout ce parcours et a mes futurs  
beaux parents tata Latifa et tonton Djeloul*

*A*

*Toute ma famille et a*

*Tout ce que j'aime*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN**: acide désoxyribonucléique  
**AMPc**: Adénosine Mono Phosphate cyclique  
**ARA-A**: Adénine Arabinoside  
**BCR**: récepteurs des lymphocytes B  
**CCL**: chemokine ligand  
**CCR**: Chemokine motif CC receptor  
**CD**: Cellule Dendritique  
**CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I/II  
**CPA**: Cellule Présentatrice d'Antigène  
**ES** : antigènes métaboliques  
**FEL V**: Feline Leukemia Virus  
**FHV**: HerpesVirus Félin  
**FHV**: HerpesVirus Félin  
**GM-CSF**: granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor  
**Gp 30** : glycoprotéine de surface  
**GP**: Glycoprotéine  
**GRA** : antigène cytoplasmique  
**HD**: Hôte Définitif  
**HSP70**: protéine de choc thermique  
**IL**: Interleukines  
**IDO** : indolamine dioxygénase  
**Ig**: Immunoglobuline  
**IGTP**: GTPase interféron inducible  
**INOS** : oxyde nitrique synthase inducible  
**INOS** : Oxyde Nitrique synthétase inducible  
**Kda** : kilodalton unité de masse atomique unifiée  
**kDa**: kilo dalton  
**L'IFN**: Interféron gamma  
**LTR ; LTK**: mutants toxiques d'enterotoxine  
**MAG1** : antigènes spécifiques des kystes à bradyzoites  
**MIC**: Micronèmes  
**MICA7** : antigène micronème  
**NK**: Natural Killer

**NKT**: Natural Killer T  
**NO**: Monoxy de d'azote  
**P30** (SAG1): antigène membranaire  
**PBS**: Phosphate Buffered Saline  
**PMN**: polymorphonucléaires  
**RE** : réticulum endoplasmique  
**RE**: reticulum endoplasmique  
**ROP**: Rhoptrie  
**Rrop 2**: antigene de rhoptrie  
**SAG**: protéine de surface de *T.gondii*  
**STAT**: Signal Transducers and Activators of Transcription  
**TAP**: transporter associated with antigen processing  
**TCR** : récepteurs des lymphocytes T  
**TCR**: T cell Receptor  
**TH**: T helper  
**TK**: Thymidine Kinase  
**TNF**: Tumor Necrosis Factor  
**VEG**: souche vaccinale

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b>	Divers antigènes de <i>Toxoplasma gondii</i> utilisés dans les études vaccinales et spécificités de stades	40
<b>Tableau 2</b>	récapitulatif des études d'immunisation contre <i>T. gondii</i> menées chez le chat.	48

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Tachyzoïtes de <i>T. gondii</i> observés après coloration au May-Grunwald-Giemsa	5
<b>Figure 2</b>	Kyste libérant ses bradyzoïtes après digestion trypsique de la paroi	5
<b>Figure 3</b>	Tachyzoïtes (souche RH) formant des pseudokystes dans une cellule infectée	6
<b>Figure 4</b>	Kyste tissulaire à droite et à bradyzoïtes dans du tissu musculaire à gauche	7
<b>Figure 5</b>	Oocyste non sporulé (à droite) et oocyste sporulé contenant des sporocystes (à gauche)	7
<b>Figure 6</b>	Cycle évolutif de <i>Toxoplasma gondii</i>	12
<b>Figure 7</b>	Sources et modes de contamination humaine par <i>Toxoplasma gondii</i>	15
<b>Figure 8</b>	Lésions oculaires chez deux chats atteints de toxoplasmose	20
<b>Figure 9</b>	Schéma représentatif de l'immunité anti-toxoplasmique, humorale et cellulaire, locale et systémique	28
<b>Figure 10</b>	Origine de la souche T-263.3 ARA-A résistante de <i>Toxoplasma gondii</i>	44

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

LISTE DES ABREVIATION

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLE DES MATIERES

	Page
INTRODUCTION	1
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA TOXOPLASMOSE</b>	
	3
I. HISTORIQUE DE LA TOXOPLASMOSE	3
II. DEFINITION DE LA TOXOPLASMOSE	3
III. ETUDE DU PARASITE : <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	4
III.1. Classification	4
III.2. Morphologie et biologie du parasite	4
III.2.1. Morphologie	4
III.2.2. Biologie du parasite	8
III.2.2.1. Hôtes du parasite	8
III.2.2.2. Source du parasite	8
III.2.2.3. Mode de transmission	8
III.2.2.4. Les cellules parasitées	9
III.2.2.5. Résistance du parasite	9
III.2.2.6. Les Cycle évolutif	9
IV. LES INFLUENCES DE LA TOXOPLASMOSE SUR LA SANTE HUMAINE ET ANIMALE	13
IV.1. Impacts sur la santé animale	13
IV.1.1. Réceptivité et sensibilité des animaux hôtes potentiels	13
IV.1.2. Expressions cliniques chez les animaux	13

IV.2. Impacts sur la santé humaine	15
IV.2. 1. Modes de contamination de l'homme	15
V. LA TOXOPLASMOSE FELINE	17
V.1. Symptômes	18
V.1.1. La toxoplasmose acquise	18
V.1.1.1. Forme aiguë ou évolutive	18
V.1.1.2. Forme chronique	19
V.1.1.3. Forme asymptomatique ou latente	19
V.1.2. La toxoplasmose congénitale	19
V.2. Lésions	19
VI. DIAGNOSTIC ET METHODES DE LUTTE	20
VI.1. Diagnostic	20
VI.1.1. Diagnostic clinique	20
VI.1.2. Diagnostic nécropsique	21
VI.1.3. Diagnostic différentiel	21
VI.1.4. Diagnostic de laboratoire	21
VI.1.4.1. Examen coprologique	21
VI.1.4.2. Examens histologiques	22
VI.1.4.3. Inoculations aux souris	22
VI.1.4.4. Inoculation à des cultures cellulaires	22
VI.1.4.5. Diagnostic sérologique	22
VI.1.4.6. Techniques moléculaires (PCR)	24
VI.1. Méthodes de lutte	25
VI.1.1. Traitement	25
VI.1.2. Mesures prophylactiques	25
VI.1.2.1. Prophylaxie sanitaire	25
VI.1.2.2. Prophylaxie médicale	26
 <b>CHAPITRE II : IMMUNITE ANTITOXOPLASMIQUE</b>	
I. LA REPONSE INNEE : PREMIERE LIGNE DE DEFENSE CONTRE <i>T. GONDII</i>	27
I.1. Schéma de l'immunité innée	27
I.2. Rôle des entérocytes dans l'immunité innée contre <i>T. gondii</i>	29
I.3. Rôle des neutrophiles, cellules dendritiques, macrophages et des Natural killer	29

dans l'immunité innée contre <i>T.gondii</i>	
I.3.1. Les Neutrophiles	29
I.3.2. Les Cellules dendritiques	29
I.3.3. les Macrophages	30
I.3.4. Les Natural Killer	30
I.4. Rôle majeur de l'IFN- $\gamma$ dans la réponse innée	30
II. L'IMMUNITE ADAPTATIVE	30
II.1. Présentation des antigènes au système immunitaire	30
II.1.1. La voie de présentation utilisant le CMH de classe I : voie endogène ou exogène (cross-présentation)	31
II.1.2. la voie de présentation utilisant le CMH de classe II ou voie exogène	32
II.2. La présentation CMHI, CMHII de <i>T. gondii</i>	33
II.3. Immunité à médiation humorale	33
II.3.1. Etude du rôle de la réponse humorale <i>in vitro</i>	33
II.4. L'immunité à médiation cellulaire	34
II.4.1. Rôle de l'IFN- $\gamma$	35
II.4.2. Activation des lymphocytes TCD8+ et TCD4+	35
II.5. Régulation de la réponse immune suite à l'infection par <i>Toxoplasma gondii</i>	36
<b>CHAPITRE III : VACCINATION ANTITOXOPLASMIQUE</b>	
I. OBJECTIFS VACCINAUX	38
II. PROBLEMATIQUE VACCINALE	38
III. CARACTERES ANTIGENIQUES	39
IV. ADJUVANTS UTILISES	40
V. VOIES D'IMMUNISATION	42
VI. LA VACCINATION FELINE	43
VI.1. Vaccin déjà élaboré : un vaccin vivant atténué	43
VI.1.1. La souche T 263 : caractéristiques et obtention	43
VI.1.2. Etude des risques vaccinaux	45
VI.2. Essais vaccinaux chez le chat	46
VI.2.1. Vaccination par voie intra nasale avec des protéines de rhoptrie	46
VI.2.2. Vaccination avec des souches de <i>Toxoplasma gondii</i> irradiées au Cobalt 60 (60Co-irradiation)	46
VI.2.3. Vaccination avec rROP2 vectorisé par l'herpesvirus félin de type 1	47

(FHV1)	
VII. LE VACCIN FELIN IDEAL	49
<b>CONCLUSION</b>	<b>52</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>54</b>

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION

La toxoplasmose est une infection parasitaire dont l'agent responsable est le protozoaire *Toxoplasma gondii* (parasite intracellulaire obligatoire). Son nom provient de sa morphologie (*toxon*=arc et *plasma*=forme) et de l'espèce chez laquelle il a été découvert, *Ctenodactylus gundi* (« le gondi », rongeur sauvage). Le parasite infecte tous les vertébrés à sang chaud, mammifères, hommes et oiseaux. Le cycle de développement du parasite est particulièrement complexe et l'hôte définitif est systématiquement un félin (sauvage ou domestique).

Il s'agit d'une zoonose qui présente un risque sérieux pour les femmes enceintes séronégatives et les sujets immunodéprimés. Cette parasitose majeure est cosmopolite et on estime qu'un tiers de la population mondiale est infectée par *Toxoplasma gondii*. C'est aussi la plus fréquente des maladies congénitales après la trisomie 21 (Bout D. et al., 1996).

La toxoplasmose a une double importance en santé publique et vétérinaire du fait de la menace de transmission transplacentaire chez les femmes enceintes séronégatives et des pertes économiques provoquées par les avortements chez les espèces de rente. Le chat est au centre du cycle de développement parasitaire puisque les félidés sont les seuls hôtes chez lesquels la reproduction sexuée peut avoir lieu. Mais cela en fait-il l'acteur principal de la transmission à l'homme et aux animaux destinés à la consommation ?

La perception du rôle du chat au sein de la toxoplasmose a beaucoup évolué depuis la découverte du parasite, et surtout depuis la compréhension de son cycle évolutif. Au départ, les médecins ont considéré le chat comme principale source de contamination humaine et donc de toxoplasmose congénitale, ils conseillent alors aux femmes enceintes de se séparer de leur chat. Jusque dans les années 1990, le facteur « chat » va rester au centre des inquiétudes du corps médical. Puis le rôle du chat est relativisé et les facteurs alimentaires de contamination sont mis en avant (consommation de viande crue ou mal cuite, ingestion ou contact avec des fruits, des légumes ou de l'eau souillés). La question de l'intérêt d'une vaccination féline mérite donc réflexion : aurait-elle un réel impact sur la prévalence animale et humaine de l'infection toxoplasmique ?

La diversité génétique de *Toxoplasma gondii* et la distribution géographique des génotypes comptent parmi les découvertes majeures de ces 25 dernières années, les génotypes sud-américains étant différents des européens ou nord-américains (certains continents restant par ailleurs inexplorés). Des avancements considérables ont été faits depuis une vingtaine d'années

dans les recherches de biologie cellulaire et moléculaire sur le toxoplasme. Une question centrale reste à investiguer : celle de la possibilité, jamais observée jusqu'à maintenant, d'une reproduction sexuée chez des hôtes non félins, ceci bouleverserait considérablement le protagonisme du chat dans le cycle parasitaire (*Boothroyd J.C., 2009*). Parmi les objectifs de recherche pour le siècle à venir, on trouve les investigations sur les médicaments anti-toxoplasme et également la vaccination animale et humaine (*Boothroyd J.C., 2009*).

Dans cette étude, nous nous intéresserons à ce second objectif, en se concentrant particulièrement sur la vaccination féline. Après une première partie de rappels sur le toxoplasme et ses effets sur les hôtes animaux et humains, nous centrerons notre réflexion sur le rôle du chat dans la transmission de cette parasitose, pour enfin faire le point sur la vaccination féline contre *Toxoplasma gondii*: ses objectifs, ses outils actuels et les perspectives d'avenir.

# *Chapitre I*

## *« GENERALITES SUR LA TOXOPLASMOSE »*

## I. HISTORIQUE DE LA TOXOPLASMOSE

La Toxoplasmose est une anthroponose, c'est-à-dire une maladie commune à l'animal et à l'Homme. C'est une parasitose cosmopolite dont l'agent pathogène est un protozoaire intracellulaire : *Toxoplasma gondii*. Le parasite a d'abord été découvert en 1908 par Nicolle et Manceaux à l'Institut Pasteur de Tunis chez un rongeur sauvage, *Ctenodactylus gondii*, puis au Brésil par Splendore chez un lapin en 1909. Il est alors identifié sous sa forme tachyzoïte, sa forme de multiplication rapide. Ni son cycle biologique, ni son importance ne sont alors connus.

Les premiers cas de toxoplasmose humaine sont décrits dans les années 1920-1930. Des cas de toxoplasmose congénitale avec manifestations oculaires (microphthalmie et chorioretinite) ainsi que des cas d'encéphalites sont rapportés (Wolf, 1939).

La toxoplasmose est alors considérée comme une maladie congénitale rare. Le développement dans les années 40 des techniques sérologiques a permis de montrer l'importance de la prévalence de la toxoplasmose humaine. Ce n'est que vers la fin des années 1960 que le cycle évolutif est définitivement décrit (Hutchinson 1965 ; Frenkel 1969). Ces auteurs démontrent le rôle du chat comme hôte définitif et la contamination d'hôtes intermédiaires faisant intervenir des oocystes.

Depuis, de nombreuses formes de toxoplasmose ont été décrites chez l'Homme et chez l'animal. Le toxoplasme a en effet été isolé chez de nombreuses espèces.

## II. DEFINITION DE LA TOXOPLASMOSE

Maladie infectieuse provoquée par un protozoaire (parasite composé d'une seule cellule), *Toxoplasma gondii*. Ce parasite se rencontre habituellement dans l'intestin du chat, mais également chez d'autres animaux. Quand une personne est infectée par la toxoplasmose, elle ne présente, la plupart du temps, aucun signe clinique : c'est une maladie tout à fait bénigne.

La source principale de contamination de l'homme par *Toxoplasma gondii* n'est pas définie avec précision. La contamination se fait généralement par voie orale à la suite d'ingestions " d'œuf " (oocyste) de toxoplasmose qui provient d'un sol contaminé ou encore d'une viande insuffisamment cuite.

Un chat arrive à excréter jusqu'à 100 millions de parasites par jour. Ces oocystes très résistants contiennent une variété de spores (sporozoïtes) qui sont très infectieux et peuvent rester vivant pendant de nombreuses années dans le sol. C'est la viande (mouton, porc, plus rarement le bœuf) et peut-être cuite ou mal congelée qui est le plus souvent à l'origine de la contamination dans les pays développés.

Plus rarement l'infection peut être transmise par voie sanguine ou après une transplantation. Le problème est différent quand il s'agit d'une femme enceinte.

### III. ETUDE DU PARASITE : *TOXOPLASMA GONDII*

#### III.1. Classification

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire intracellulaire obligatoire appartenant au phylum des Apicomplexa, à l'ordre des *Coccidiidae*, à la famille des *Sarcocystidae* et à la sous-famille des Toxoplasmatinae. En plus du genre *Toxoplasma*, cette sous-famille comporte également les genres *Besnoitia*, *Hammondia* et *Neospora*. (D'après Tenter et al 2002).

Dans les années 1910, de nombreux auteurs rapportent l'infection d'oiseaux par des espèces de *Toxoplasma* autre que *Toxoplasma gondii* : *Toxoplasma avium* par Marullaz en 1913, *Toxoplasma francae* et *Toxoplasma fulicae* par de Mello en 1915 et en 1935, *Toxoplasma columbae* par Yakimoff et Kohl-Yakimoff en 1912 (Dubey, 2002). En 1977, Levine montre que toutes ces espèces n'ont en réalité aucune différence morphologique ou sérologique avec *Toxoplasma gondii* et cette dernière est dès lors utilisée pour décrire la toxoplasmose aviaire.

#### III.2. Morphologie et biologie du parasite

##### III.2.1. Morphologie

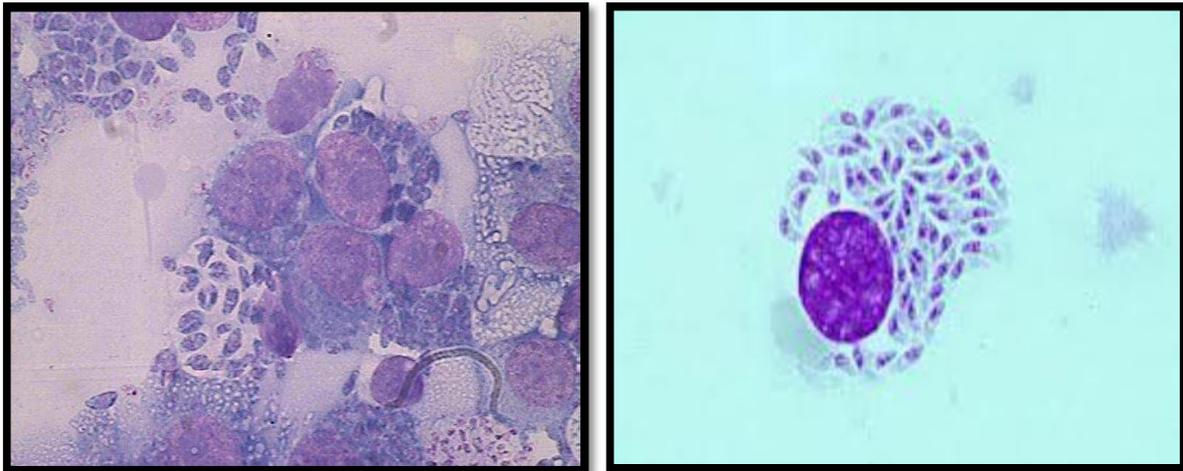
*Toxoplasma gondii* est une coccidie à développement intracellulaire obligatoire, il réalise son développement de chat à chat, d'hôte intermédiaire à hôte intermédiaire ou du chat à un hôte intermédiaire. La transmission du toxoplasme se fait par les tachyzoïtes, les bradyzoïtes enkystés ou bien par les sporozoïtes contenus dans les oocystes.

Ce parasite dont l'hôte définitif est le chat, est disséminé dans la nature et infecte de nombreux autres mammifères (Berger., 2005).

\* **Formes isolées:** *Les formes infectieuses chez l'hôte*

\* **Tachyzoïtes**

Chez l'hôte intermédiaire ils sont intracellulaires et peuvent être libérés lors de l'éclatement des cellules parasitées. Ce sont des éléments morphologiques typiques de *Toxoplasma*. Ils ont une forme en croissant et possèdent une extrémité effilée. Selon (EUZEBY 1987), ces éléments apparaissent au microscope à contraste de phase avec un cytoplasme homogène, réfringent et un noyau très net occupant une position centrale.



**Figure 1 :** Tachyzoites de *T. gondii* observés après coloration au May-Grunwald-Giemsa (ANOEFEL, 2011)

\* **Bradyzoïtes**

Chez l'hôte intermédiaire est contenu dans des kystes intracellulaires. Les tachyzoïtes et les bradyzoïtes sont morphologiquement très semblables, mais le noyau des bradyzoïtes occupe une position excentrique, tandis que celui des tachyzoïtes est situé au centre de la cellule.



**Figure 2 :** Kyste libérant ses bradyzoïtes après digestion trypsique de la paroi (ANOEFEL, 2011)

\* **Schizozoïte (ou mérozoïte)**

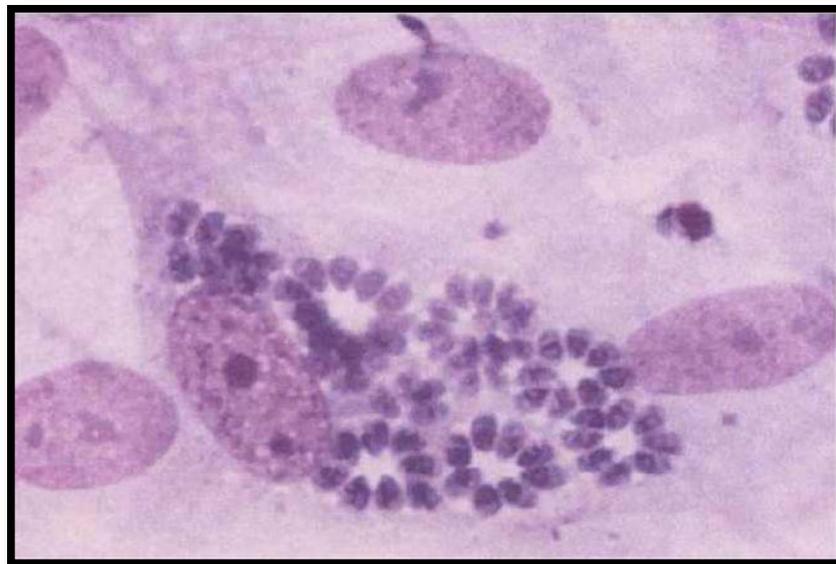
Chez l'hôte définitif (HD), est le seul stade capable de reproduction sexuée.

\* **Formes groupées**

\* **Les pseudokystes**

Ils sont aussi intracellulaires, logés dans une vacuole parasitophore de la cellule hôte qui constitue la paroi du pseudokyste. leur présence caractérise la phase proliférative de l'infection. Les pseudokystes renferment 100 à 200 tachyzoïtes qui n'occupent pas la totalité de la cellule hôte dont le noyau demeure net. Ces pseudokystes n'ont qu'une durée éphémère, et libèrent des tachyzoïtes qui envahissent d'autres cellules.

D'après (GUY 1972), les pseudokystes semblent être responsables de la forme aiguë de la maladie.

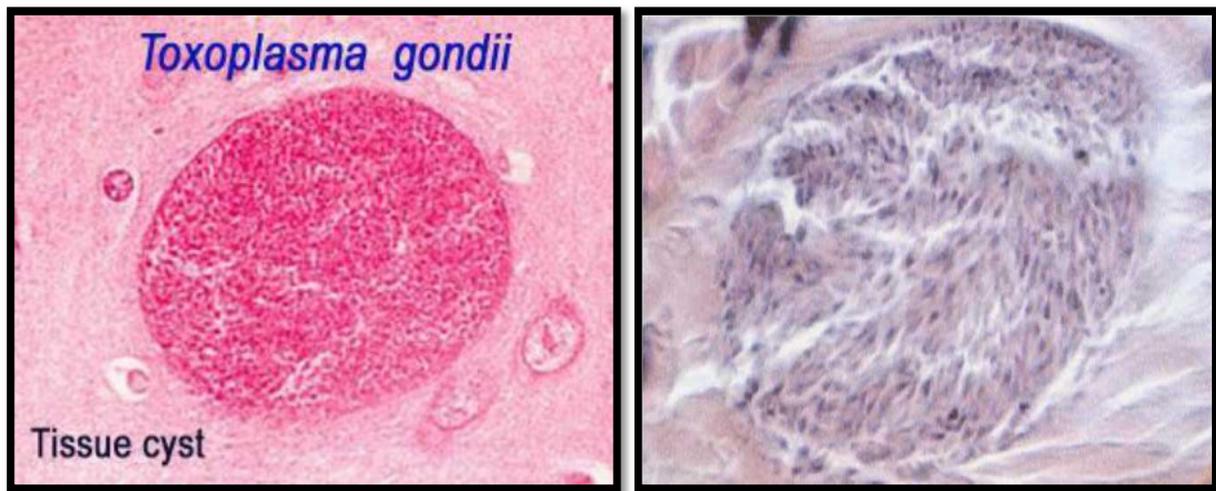


**Figure 3:** Tachyzoïtes (souche RH) formant des pseudokystes dans une cellule infectée (AFSSA, 2005).

\* **Les kystes**

Ils sont également intracellulaires. Contrairement aux pseudokystes, les kystes occupent la quasi-totalité de la cellule parasitée dont le noyau déformé. Les kystes sont plus volumineux que les pseudokystes. De forme subsphérique.

Dans ces kystes se trouvent plusieurs centaines, voire des milliers de bradyzoïtes en croissant dont le noyau occupe une position excentrique à l'extrémité arrondie. Les kystes correspondent à la phase chronique de l'infection toxoplasmique. La cellule qui les porte demeure le plus souvent intacte, mais elle peut aussi se rompre en libérant des kystes enveloppés dans leur propre paroi.



**Figure 4:** Kyste tissulaire a droite et à bradyzoïtes dans du tissu musculaire a gauche (AFSSA, 2005).

\* **L'ookyste**

C'est la forme parasitaire rencontrée dans les cellules épithéliales de l'hôte définitif. C'est un zygote issu de la fécondation d'un gamète femelle par un gamète mâle et qui reste enkysté dans la coque ovulaire. Après éclatement des cellules épithéliales hôtes, les ookystes sont éliminés dans le milieu extérieur, mélangés aux excréments. Ils sont subsphériques et subissent la sporogonie en milieu extérieur. L'ookyste en sporulant renferme 2 sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes en virgule.

Chez le chat, hôte définitif, la sporogonie aboutit à la production d'un ookyste suite à la fécondation des gamètes femelles qui a lieu dans l'estomac du chat. Ce dernier est la seule espèce animale domestique à héberger la reproduction sexuée du toxoplasme. L'ookyste est la forme éliminée avec les selles du chat et constitue la forme de résistance du toxoplasme dans le milieu extérieur.

Dans le tube digestif du chat, l'ookyste contient 8 sporozoïtes groupés en 2 sporocystes accolés. Cet ookyste représente l'aboutissement du cycle sexué chez le chat et constitue la forme infectieuse métacyclique ou forme contaminante pour l'homme.



**Figure 5 :** Oocyste non sporule (a droite) et oocyste sporule contenant des sporocystes (a gauche)

### III.2.2. Biologie du parasite

#### III.2.2.1. Hôtes du parasite

##### \* Hôtes définitifs

Ce sont principalement les félinés, notamment le chat chez qui le cycle évolutif a été élucidé. Il faut cependant noter que de nombreuses recherches menées aussi bien par (JEWELL et coll. 1972 que MILLER et coll. 1972) ont permis de mettre en évidence l'excrétion des ookystes par des félinés sauvages tels que le lynx (*Lynx rufus*), le léopard d'Asie (*Felis bengalensis*), l'ocelot (*Felis pardalis*), le lion des montagnes (*Felis concolor*). Le chat chez qui se fait la reproduction sexuée et asexuée, reste la principale source d'infestation par les ookystes libérés.

##### \* Hôtes intermédiaires

De nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux, ainsi que l'homme sont des hôtes intermédiaires. Cependant, il existe des hôtes accidentels, qui véhiculent ou transportent le parasite, sans modification du cycle évolutif du parasite. Il s'agit des insectes (mouches), des insectes carnivores, et même des mollusques. Les hôtes intermédiaires sont aussi des sources de parasites, par des kystes de résistance ou même à travers les excréments et sécrétions virulentes lors de toxoplasmose. Ces sources de parasites sont transitoirement dangereuses.

#### III.2.2.2. Source du parasite

Ce sont surtout les hôtes définitifs excréant le parasite dans leurs fèces ou sur la fourrure et les hôtes intermédiaires hébergeant les kystes qui constituent les principales sources de contamination pour les animaux sains. La viande crue issue des mammifères et oiseaux portant des kystes, les végétaux souillés par les ookystes (les pâturages, les produits de maraîchage comme les laitues, les choux,...) constituent le plus souvent les sources d'infestation pour l'homme et les autres hôtes.

#### III.2.2.3. Mode de transmission

La contamination de l'homme s'effectue selon trois modalités principales :

- \* **Transmission par absorption d'oocystes** : cette contamination est essentiellement indirecte par consommation de fruits et légumes crus mal lavés ou d'eau de boisson contaminée, et une hygiène des mains insuffisante après contact avec le sol (jardinage) ou les animaux.
- \* **Transmission par des kystes** : la contamination se fait par consommation de viandes fumées, saumurées ou insuffisamment cuites, les kystes n'étant détruits que par une cuisson de la viande à 67°C ou une congélation inférieure à -12°C pendant 3 jours au moins. Ce sont

également les kystes qui sont impliqués dans la transmission par transplantation d'organe d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif avant la greffe.

\* **Transmission par les tachyzoïtes** : le tachyzoïte est une forme fragile, détruite dans le milieu extérieur et par le suc gastrique. C'est l'agent de la transmission transplacentaire, responsable de la toxoplasmose congénitale. C'est également le tachyzoïte qui est responsable des exceptionnels cas de transmission par transfusion, possibles si le donneur était en pleine phase parasitémique d'une toxoplasmose.

#### III.2.2.4. Les cellules parasitées

Chez l'hôte définitif, les cellules parasitées sont principalement les entérocytes qui sont occupés par les bradyzoïtes ou les sporozoïtes au moment de la contamination et par les schizozoïtes pendant la phase schizogonique de l'infection intestinale.

Chez l'hôte intermédiaire, les tachyzoïtes peuvent infecter toutes les cellules nucléées à l'exception des ostéoblastes. Les hématies immatures des mammifères et les hématies nucléées d'oiseaux peuvent être parasitées. Bien que les leucocytes et les plaquettes puissent héberger le parasite, la parasitémie est peu importante et n'est observée que de façon éphémère car, les toxoplasmes électivement localisés aux muscles striés (viande) et à l'encéphale notamment dans les astrocytes.

#### III.2.2.5. Résistance du parasite

Les kystes tissulaires sont résistants à la réfrigération (KUTICIC et WIKERHAUSER, 1996), et à des températures comprises entre -1 et -8°C mais sont détruits à la congélation à des températures inférieures à -12°C. Ils sont également détruits à + 67°C (DUBEY, 2000; DUBEY et coll., 1990) et à la salaison (NaCl) 6% (DUBEY, 1997; LUNDEN et UGGLA, 1992).

La résistance des ookystes sporulés dans le milieu extérieur est encore plus grande. Ils peuvent rester infestants dans le sol moite pendant plus de 18 mois (BOCH, 1984 ; FRENKEL, 2000 cités par TENTER et Coll., 2000). Ils sont très imperméables et donc résistent aux désinfectants usuels (FRENKEL, 2000 ; KUTICIC et WIKERHAUSER, 1996; DUBEY, 1986) mais sont détruits en une (1) à deux (2) minutes à 55–60°C (DUBEY, 1998).

#### III.2.2.6. Les Cycle évolutif

##### Cycle Asexué, incomplet

Il fait intervenir uniquement des hôtes intermédiaires (homme, animaux omnivores ou carnivores). La contamination est liée à l'ingestion des kystes contenus dans la chair d'animaux aussi bien carnivores qu'herbivores. Les kystes libèrent les toxoplasmes qui se reproduisent rapidement par multiplication asexuée. Ils donnent naissance à des kystes intracellulaires qui permettent la poursuite du cycle par carnivorerisme (AMBROISE, 1998).

### Cycle complet

Il se déroule successivement chez un hôte intermédiaire (généralement un oiseau ou un petit mammifère), puis chez l'hôte définitif, le chat, ce dernier s'infeste en ingérant des kystes contenus dans ses proies. Les formes végétatives libérées par les kystes pénètrent dans les cellules de l'intestin grêle du chat où elles se reproduisent par multiplication asexuée (schizogonie).

Des éléments sexués apparaissent ensuite, males ou femelles également situés dans les cellules de l'intestin grêle. La fécondation (gamogonie) aboutit à la formation d'un œuf particulier, l'ocyste est rejeté dans le milieu extérieur avec les fèces du chat. Cet oocyste n'est pas infestant et plusieurs jours sont indispensables pour permettre sa maturation (sporogonie). Il rend possible la contamination des herbivores. Il intervient également dans la contamination des omnivores (AMBROISE, 1998).

## ➤ LES DIFFERENTS TYPES DE CYCLES POSSIBLES

### \* Cycle HD-HD

Dans ce cas, le cycle se déroule uniquement chez le chat, HD. On parle également de cycle monoxène (ou « cycle court »). Le chat se contamine par ingestion de terre, d'eau ou de végétaux souillés par des ookystes sporulés. Dans l'intestin grêle, des sporozoïtes sont libérés par les ookystes. Ils ne peuvent pas envahir directement les entérocytes (seuls les bradyzoïtes le peuvent). Ils traversent donc la muqueuse intestinale et sont distribués par voie sanguine ou lymphatique dans les divers tissus de l'organisme.

Suit une période de multiplication rapide des sporozoïtes (tachyschizogonie) qui aboutit à la formation de tachyzoïtes dans des pseudokystes puis une période de multiplication plus lente (bradyschizogonie) avec formation de bradyzoïtes dans des kystes. Les bradyzoïtes issus de ces kystes pénètrent dans les entérocytes et le chat développe alors une coccidiose toxoplasmique : il y a schizogonie, gamétogonie, fécondation puis évacuation d'ookystes immatures avec les fèces.

### \* Cycle HI-HD

Il s'agit du cycle de base faisant intervenir un HD: le chat, et un HI quel qu'il soit. On peut parler de cycle dixène (ou « cycle long »). Le chat s'infeste par ingestion de kystes formés chez un HI, ce qui

implique donc le carnivorisme. Le chat développe alors une coccidiose toxoplasmique (phase endogène) à l'issue de laquelle des ookystes immatures sont évacués dans les fèces. Il y a sporulation (phase exogène) si les conditions extérieures sont favorables (48h à 5 jours en moyenne). Les ookystes sporulés, très résistants dans le milieu extérieur sont alors infectants pour les hôtes intermédiaires. La période prépatente est ici de 3 à 10 jours (Davis S.W. et al. 1995).

L'HI se contaminera ensuite par ingestion d'aliments souillés par des ookystes sporulés. Il développe une toxoplasmose au sens strict : les sporozoïtes libérés dans l'intestin grêle traversent la muqueuse intestinale et sont véhiculés par voie sanguine et lymphatique par les lymphocytes intraépithéliaux, puis ils envahissent les cellules des divers tissus. Il y a alors multiplication par endodyogénie. Lorsque l'infection devient chronique, il y a formation de kystes.

L'HI porteur de kystes est à son tour source de parasite pour l'HD (le chat) ou pour un autre HI et le cycle se poursuit. Dans les deux types de cycles précédemment décrits, le chat, HD, rejette des ookystes dans l'environnement, source de contamination de tout hôte intermédiaire potentiel, y compris l'homme. C'est à ce niveau qu'un vaccin félin devra agir, le but étant de supprimer la source initiale du parasite afin de diminuer la charge parasitaire dans le milieu.

#### \* Cycle HI-HI

La possibilité de transmission du parasite par carnivorisme entre hôtes intermédiaires par un processus de multiplication asexuée est une des particularités du toxoplasme au sein des coccidies. Le cycle se déroule sans intervention du chat et donc sans reproduction sexuée. On parle d'une évolution de type auto-hétéroxène : si un HI ingère un autre HI porteur de kystes les bradyzoïtes libérés gagnent une localisation exentérale, se multiplient dans l'organisme sous forme de tachyzoïtes qui forment des pseudokystes.

Ces pseudokystes se transforment en kystes à bradyzoïtes, à nouveau infectants pour d'autres HI. Les carnivores non félidés comme le chien ou l'homme constituent donc des culs-de-sac épidémiologiques car ils ne sont pas ingérés par d'autres carnivores.

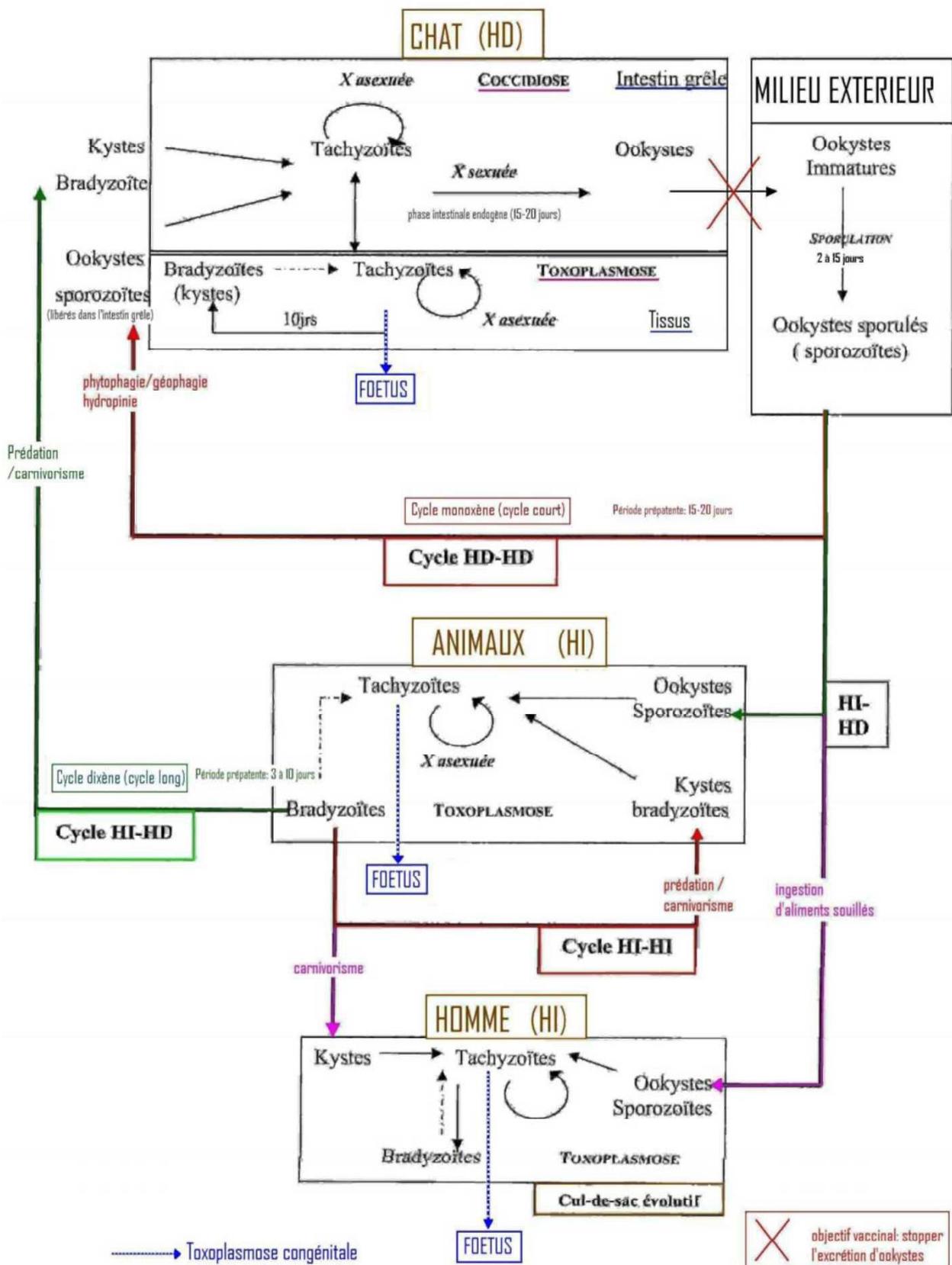


Figure 6 : Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* (d'après Loriaux M.J., 2008)

## IV. LES INFLUENCES DE LA TOXOPLASMOSE SUR LA SANTE HUMAINE ET ANIMALE

### IV.1. Impacts sur la santé animale

#### IV.1.1. Réceptivité et sensibilité des animaux hôtes potentiels

Tous les animaux à sang chaud, mammifères et oiseaux, sont réceptifs à la toxoplasmose, mais leur sensibilité est variable selon la dose infectante, le génotype du parasite et surtout l'espèce. Parmi les carnivores domestiques, le chien est plus sensible que le chat à la toxoplasmose (les symptômes cliniques sont fréquemment neurologiques dans l'espèce canine).

Chez le chat, la séroprévalence dépend en grande partie du style de vie (les chats qui sortent sont plus souvent séropositifs). L'âge (jeunes animaux) ainsi que l'état pathologique de l'animal jouent également sur la réceptivité et la sensibilité de celui-ci à la toxoplasmose. Certains états infectieux concomitants augmentent fortement ces deux paramètres :

- Infections virales (FIV, FeLV, PIF chez le chat, maladie de Carré chez le chien, louping-ill chez le mouton) (Euzéby J., 1998),
- Infections parasitaires (hémobartonellose chez le chat, babésiose, leishmaniose, ankylostomose et ehrlichiose chez le chien).

Certains processus tumoraux (lymphosarcome, leucémie) peuvent, par ailleurs, favoriser la survenue d'une toxoplasmose clinique (BOURDEAU., 1993)

#### IV.1.2. Expressions cliniques chez les animaux

En médecine vétérinaire, la toxoplasmose est surtout reconnue comme étant à l'origine d'avortements chez les petits ruminants (brebis et chèvres) et d'uvéïte chez le chat. La symptomatologie des mammifères de rente non ovins reste très discrète. Chez les animaux sauvages, les manifestations cliniques sont mal connues.

##### Chez les carnivores domestiques

1. **Chat (HD) :** Dans la majorité des cas, l'infection se traduit chez le chat par une coccidiose toxoplasmique asymptomatique ou plus rarement accompagnée de troubles digestifs (diarrhées et vomissements). Des formes aiguës extra-intestinales peuvent toutefois être observées (hyperthermie, adénopathie, bronchopneumonie, atteintes hépatiques, nerveuses et cardiaques). La transmission congénitale est possible (Sato K. et al., 1993) et dans ce cas l'atteinte oculaire

prédomine. Nous relaterons plus en détails la clinique de la toxoplasmose féline lors de la deuxième partie.

2. **Chien** : Comme chez le chat non immun, les manifestations d'une infection acquise chez un chien adulte sont très variées : anorexie, léthargie, lésions hépatiques, pulmonaires, musculaires et nerveuses. Les lésions oculaires sont par contre exceptionnelles dans l'espèce canine. La toxoplasmose congénitale est généralement fulminante, disséminée et fatale (Dubey J.P., 1985), seule une sérologie peut permettre de la différencier de la néosporose.

### **Chez les espèces de rente**

Chez les animaux de rente adultes, la toxoplasmose est souvent asymptomatique.

1. **Mouton et chèvre** : La gravité de la toxoplasmose chez les petits ruminants est liée à la fréquence de la transmission fœtale : la toxoplasmose congénitale serait l'une des principales causes d'avortement chez la brebis et la chèvre (Duncanson P. et al., 2001).
2. **Porc** : Chez le porc, on peut observer des manifestations oculaires (kératite, ulcère cornéen, hypopion) (Euzéby J., 1998). La transmission verticale provoque des avortements, des naissances prématurées et des infections congénitales (Lind P. et al. 2000).
3. **Bovins et Cheval** : Les manifestations cliniques ne sont pas identifiables lors d'infestation naturelle et le risque de transmission fœtale semble très faible.

### **Dans la faune sauvage et chez les oiseaux**

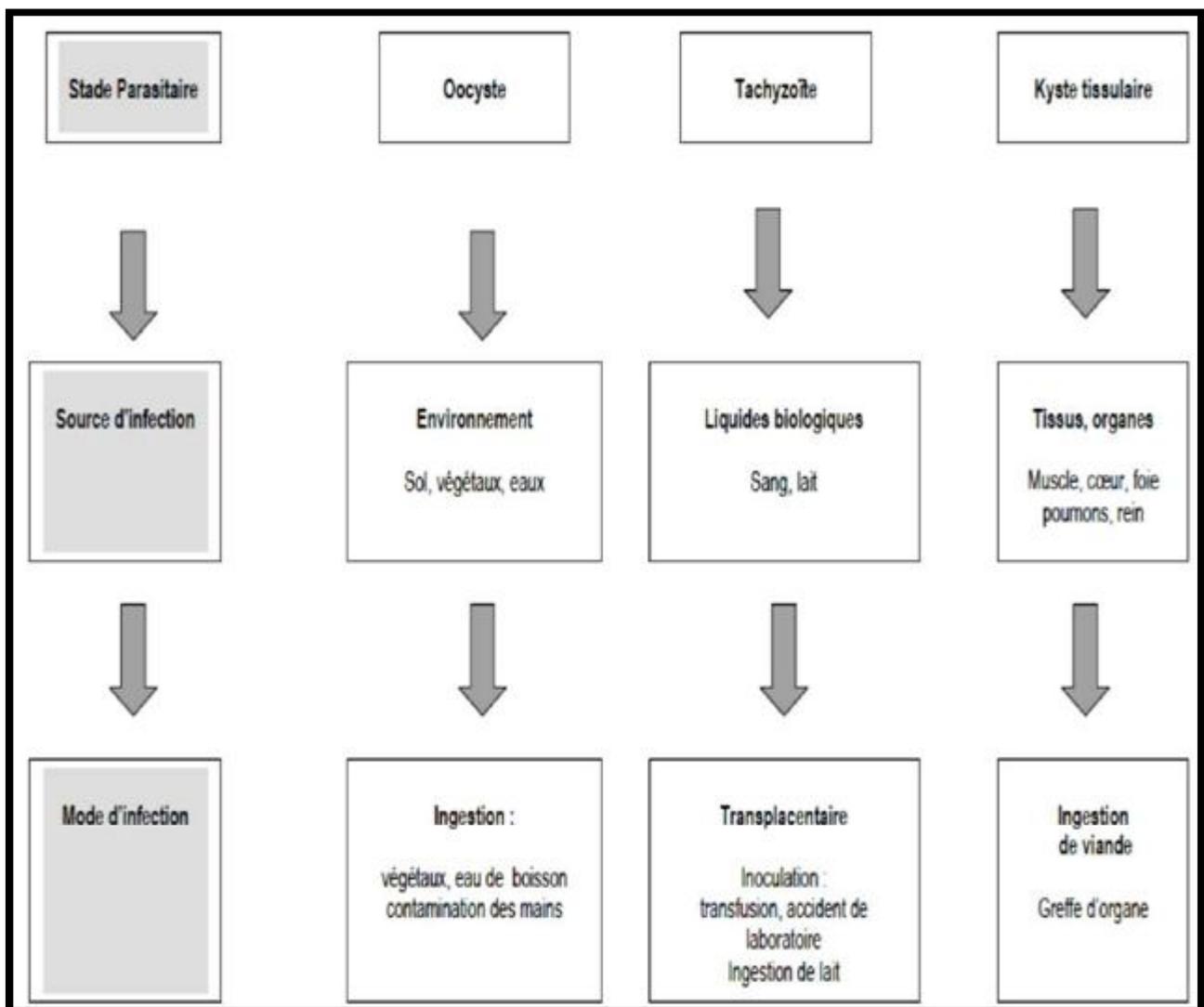
1. **Rongeurs et autres mammifères** : Des données d'infections expérimentales chez les rongeurs de laboratoire rapportent des signes pulmonaires ou digestifs en phase aiguë puis une forme chronique asymptomatique ou une altération progressive de l'état général, conduisant à la cachexie associée à des signes nerveux (Stahl W. et al., 1988). Le rat semble partiellement résistant. La transmission congénitale est fréquente en laboratoire, mais son taux est peu connu dans les conditions naturelles. Des mortalités importantes ont été constatées chez des loutres de mer, des lémurins, des marsupiaux australiens et des primates du nouveau monde (Dubey J.P. et Odening K., 2001).
2. **Oiseaux** : Les oiseaux domestiques ou sauvages sont fréquemment infectés et la toxoplasmose peut être sévère dans certaines espèces (chez le pigeon par exemple) (Dubey J.P., 2002a). La volaille est un bon indicateur de la contamination environnementale du fait de son régime alimentaire. Au final, la toxoplasmose animale présente une clinique peu spécifique, et généralement peu symptomatique (du moins chez les adultes). Ceci en fait une pathologie souvent sous-diagnostiquée en médecine vétérinaire, chez les animaux domestiques, comme

sauvages. L'impact réel de la toxoplasmose en santé vétérinaire est donc principalement économique, du fait des avortements chez les petits ruminants d'élevage. Par ailleurs, son caractère zoonotique et sa répartition mondiale amène à ne pas négliger l'impact de la toxoplasmose animale en santé humaine. A ce sujet, les préoccupations majeures du corps vétérinaire sont à la fois l'excrétion et la dissémination d'ookystes par l'hôte définitif (le chat) et le portage de kystes dans les viandes d'élevage destinées à la consommation.

## IV.2. Impacts sur la santé humaine

### IV.2. 1. Modes de contamination de l'homme

Les circonstances de contamination de l'homme sont quasiment identiques à celles rencontrées chez l'animal (figure)



**Figure 7:** Sources et modes de contamination humaine par *Toxoplasma gondii* (AFSSA, 2005)

## IV.2. 2. Conséquences cliniques chez l'homme

La toxoplasmose est cliniquement inapparente dans environ 80% des cas, y compris chez la femme enceinte séronégative (AFSSA, 2005). La toxoplasmose humaine est médicalement grave dans diverses situations :

- \* Lors de forme grave de toxoplasmose acquise (formes septicémiques et nerveuses) : rares, mais d'un pronostic très sombre.
- \* Lors d'une immunodépression induisant une réactivation de kystes latents, qui peut être à l'origine d'une toxoplasmose de rechute très grave.
- \* Lors de séroconversion d'une femme enceinte (primo-infection avec risques de transmission de tachyzoïtes au fœtus).

### La toxoplasmose chez les individus immunocompétents

Chez les individus immunocompétents, l'infection toxoplasmique reste généralement asymptomatique ou bénigne car un état de résistance immunitaire est rapidement acquis. Lorsqu'elle s'exprime cliniquement, l'infection évolue après une période d'incubation de 1 à 3 semaines. On observe alors un épisode fébrile, pseudogrippal, accompagné d'une polyadénomégalie. Ces symptômes peuvent persister plusieurs mois avant de régresser spontanément sans traitement (Mc CABE. et al., 1987).

Lors de formes sévères de toxoplasmose acquise, l'adénopathie s'accompagne d'atteintes cutanées (érythème polymorphe, nodules, papulomacules, dermatomyosite) et viscérales (hépatiques, myocardiques, péricardiques, pulmonaires ou neurologiques) (AFSSA, 2005 ; Henriquez S.A. et al., 2009).

Une toxoplasmose oculaire peut aussi survenir au cours d'une toxoplasmose déclarée. Elle se manifeste surtout par une uvéite avec iritis et chorioretinite.

On associe parfois à la toxoplasmose certaines modifications comportementales et psychologiques ou des maladies neurologiques ou psychiatriques chroniques comme la schizophrénie, mais ceci reste très controversé (AFSSA, 2005 ; Henriquez S.A. et al., 2009).

### La toxoplasmose de l'immunodéprimé

On l'observe chez les patients atteints par le virus de l'immunodéficience humaine, souvent sous forme d'une encéphalite toxoplasmique. elle est souvent associée à une localisation cérébrale (DUPOUY-CAMET. et al., 1993).

## **La toxoplasmose congénitale**

Il s'agit de la toxoplasmose prénatale ou néo-natale, par opposition sémantique à la toxoplasmose contractée après la naissance. Le risque est présent chez des mères séronégatives ou immunodéprimées : femmes atteintes de lupus érythémateux disséminé ou du SIDA (TENTER et al., 2000).

## **CONSEQUENCES**

En cas de contamination en cours de grossesse, le risque de transmission materno-fœtale est de 29% (AFSSA, 2005). La fréquence et la gravité de la toxoplasmose placentaire dépendent de la date de l'infection maternelle et du stade de gestation : la fréquence est d'autant plus grande que la grossesse est avancée, la gravité d'autant plus élevée que l'infection est précoce (en cas d'infection précoce, on peut observer des avortements ou des résorptions embryonnaires).

La période la plus dangereuse, associant gravité et fréquence, se situe entre la 10<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée, correspondant au 2<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse.

Les répercussions possibles sont nerveuses : méningo-encéphalomyélite, hydrocéphalie par sténose de l'aqueduc de Sylvius (bombement des fontanelles, périmètre crânien augmenté), calcifications intracrâniennes responsables de séquelles à évolution tardive (retards psychomoteurs, convulsions, modification des réflexes) et oculaires : chorioretinite, nystagmus, strabisme, microphthalmie.

En plus des manifestations neuro-oculaires, on observe parfois un syndrome polyarthrite chronique (maladie de Still) ou une atteinte généralisée sévère avec exanthème maculo-papulaire, purpura, pneumonie, ictère et hépato-splénomégalie (qui peut aussi survenir seule). Globalement, l'infection toxoplasmique s'exprime de 2 façons chez le nouveau-né : clinique ou subclinique, cryptosymptomatique : des séquelles neurologiques ou ophtalmologiques menacent de se manifester plus tard.

L'affection anténatale est donc très polymorphe et certaines manifestations n'apparaissent que très tardivement.

## **V. LA TOXOPLASMOSE FELINE**

Chez le chat adulte, la toxoplasmose clinique est rare. Les manifestations cliniques se développent surtout chez les jeunes (immunologiquement fragiles) ou chez les animaux ayant une immunité compromise par la maladie ou le traitement.

## V.1. Symptômes

### V.1.1. La toxoplasmose acquise

#### V.1.1.1. Forme aiguë ou évolutive

On distingue deux phases au cours de l'infection toxoplasmique chez les félinés, dont les symptômes diffèrent :

✚ **La phase intestinale** (Cycle sexué du parasite).

On la dénomme aussi « **coccidiose toxoplasmique** ». Cette phase passe souvent inaperçue, même à la suite d'une infection importante par ingestion de millions d'ookystes (Dubey J.P., 1996). Des diarrhées et des vomissements ont pu être observés chez certains chats infectés par ingestion de kystes à bradyzoïtes. Chez les adultes, ces manifestations disparaissent spontanément mais certains chatons peuvent y succomber (Dubey J.P. et al., 1972).

✚ **La phase extra-intestinale** (cycle asexué du parasite).

Cette phase est polymorphe et les symptômes de la forme aiguë sont peu caractéristiques :

- \* Hyperthermie persistante, ne répondant pas aux traitements antibiotiques,
- \* Adénopathie généralisée (surtout mésentérique),
- \* Signes respiratoires : broncho-pneumonie (toux, dyspnée, amygdalite associée), pneumonie, pleurésie,
- \* Troubles digestifs : diarrhée, vomissements, voire gastro-entérite hémorragique,
- \* Atteintes hépatique (ictère, ascite) et pancréatique,
- \* Symptômes oculaires : kératite, uvéite, chorioretinite,
- \* Signes nerveux centraux (méningo-encéphalite) ou périphériques (polyradiculonévrites caractérisées par une parésie évoluant vers la paralysie, myoclonies, etc),
- \* Signes musculaires (polymyosites : démarche anormale, amyotrophie, myalgies),
- \* Atteintes cardiaques (rares).

Cette forme généralisée peut évoluer assez rapidement, les symptômes respiratoires étant prédominants et parfois fatals (le chaton peut mourir en une semaine) (Dubey J.P. et al., 1993).

Les virus de l'immunodéficience féline et de la leucose féline ont parfois été incriminés dans une plus grande sensibilité des chats à la toxoplasmose (symptômes et lésions plus sévères que les chats indemnes) (Davidson M.G. et al., 1993). Cependant, cette affirmation est sujette à controverses, et il a été montré que l'infection par le FIV de chats préalablement infectés par *Toxoplasma* ne modifie pas

l'évolution de la toxoplasmose et n'induit pas de rechute de l'infection acquise (Lappin M.R. et al., 1992).

### V.1.1.2. Forme chronique

Elle concerne plutôt les animaux adultes et peut se traduire par une forme intestinale, oculaire, nerveuse ou une simple hyperthermie (Dubey J.P, 1986).

- ✚ **La forme intestinale** se manifeste par un amaigrissement et un mauvais état général, des signes digestifs d'intensité variable et la formation de granulomes et d'ulcères associés à une réaction des noeuds lymphatiques mésentériques (confusion possible avec des masses tumorales, des fécalomes ou une intussusception).
- ✚ **La forme oculaire:** est la plus évocatrice de toxoplasmose féline, même si les lésions ne sont pas pathognomoniques d'une atteinte toxoplasmique. Leur physiologie impliquerait des mécanismes immunologiques. Elle se traduit par une rétinite, une chorioretinite et/ou une uvéite (uni ou bilatérale). L'atteinte initiale touche en général le segment postérieur de l'oeil.
- ✚ **La forme nerveuse:** il y a atteinte progressive du système nerveux central et apparition de convulsions. Une atteinte respiratoire peut être associée.

### V.1.1.3. Forme asymptomatique ou latente

C'est la forme la plus fréquente de la maladie. L'animal s'immunise suite à une infection inapparente mais des symptômes peuvent apparaître lors d'une réactivation.

### V.1.2. La toxoplasmose congénitale

Elle fait suite à une primo-infection chez une femelle gestante et se traduit par une mortalité néonatale vers 15-20 jours (Sato K. et al., 1993). Les chatons présentent une atteinte respiratoire (pneumonie), ainsi que des troubles nerveux centraux (encéphalite), hépatiques (hépatite) et parfois oculaires (atteinte de la choroïde et inflammation secondaire de la rétine avec uvéite antérieure fréquente) (Davidson., 2000). Le pronostic dans ce cas est sombre et le chaton meurt rapidement. La toxoplasmose congénitale reste cependant rare dans l'espèce féline, voire exceptionnelle, contrairement au chien et aux petits ruminants.

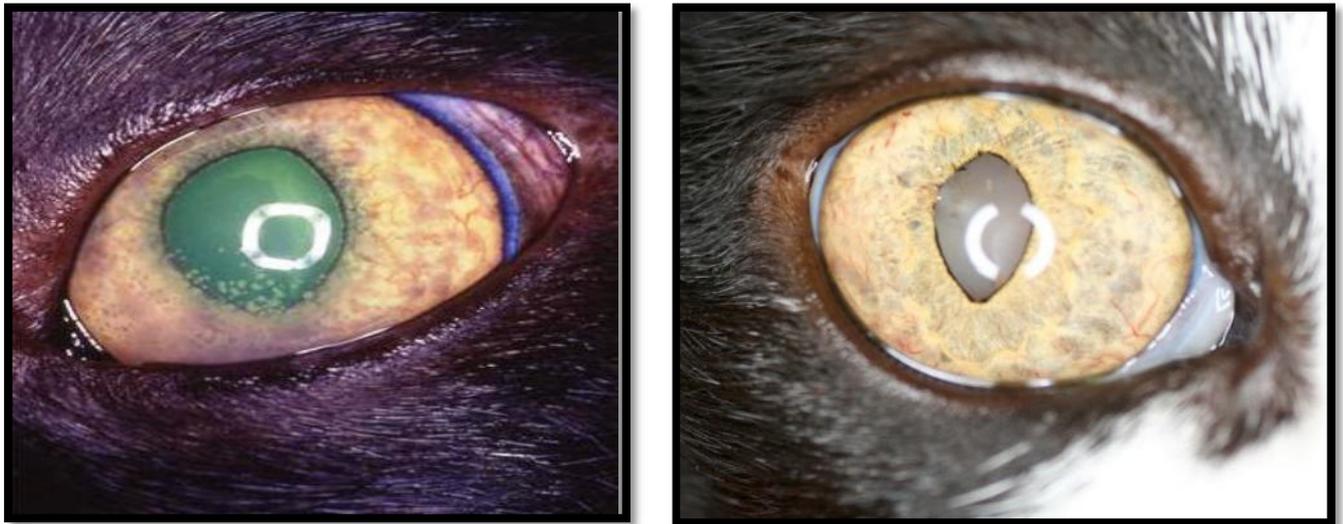
## V.2. Lésions

Les lésions sont surtout hémorragiques et nécrotiques lors de forme aiguë, granulomateuses lors de forme chronique (Bourdeau P., 1993). Selon Dubey (Dubey et Carpenter., 1993), les localisations des lésions dans 100 cas de toxoplasmose confirmée étaient pulmonaires dans 98% des cas (multiples

nodules grisâtres), neurologiques dans 96% des cas (zones hémorragiques, nécrotiques, atrophie cérébelleuse), hépatiques dans 93% des cas (hypertrophie, cholangiohépatite), cardiaques (86%), pancréatiques (84%) et oculaires (81%).

Les noeuds lymphatiques présentent aussi fréquemment une adénopathie généralisée prenant parfois un aspect pseudo tumoral (ganglions mésentériques surtout).

Les lésions oculaires sont les plus évocatrices de toxoplasmose féline mais n'en sont cependant pas pathognomoniques. On observe des lésions de choroïdite et de rétinite, avec parfois une opacification et des hémorragies dans le vitré. L'uvéite antérieure est fréquente, avec atteinte de l'iris et du corps ciliaire (Davidson M.G. et al., 2000). Le fond d'oeil révèle des lésions multifocales gris foncé, hyporéfléctives et des infiltrats blancs duveteux autour.



**Figure 8:** Lésions oculaires chez deux chats atteints de toxoplasmose (Source : S. Chahory)

## VI. DIAGNOSTIC ET METHODES DE LUTTE

### VI.1. Diagnostic

#### VI.1.1. Diagnostic clinique

Il est difficile car la toxoplasmose est le plus souvent asymptomatique, et même quand elle s'exprime cliniquement, le tableau anatomo-clinique est polymorphe. C'est ce qui explique la difficulté du diagnostic clinique. Cependant, chez les animaux, la toxoplasmose congénitale doit toujours être prise en compte en cas d'avortements collectifs dans les troupeaux (surtout chez les brebis).

### VI.1.2. Diagnostic nécropsique

Il est également difficile à cause de la faible densité de l'infection mais aussi de la ressemblance avec les kystes de *Sarcocystis*. La différence avec ces derniers réside dans l'absence de vacuoles parasitophores dans les cellules parasitées par les *Sarcocystis*. Cependant, les lésions nécrotiques focales de quelques mm, siégeant dans les muscles, les poumons, la rate et éventuellement les centres nerveux doivent attirer l'attention du vétérinaire inspecteur. Le contenu de ces foyers de nécrose, étalé sur lame et coloré au Giemsa permet de révéler la présence de bradyzoïtes.

### VI.1.3. Diagnostic différentiel

Il doit être fait avec:

- Toutes les pathologies entraînant des avortements à savoir la brucellose, la forme chronique des trypanosomoses ;
- Les pathologies cérébrales comme les méningites et les encéphalites.

### VI.1.4. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic clinique et les autres diagnostics (différentiels, nécropsiques) étant difficiles et peu fiables, on a généralement recours aux méthodes de laboratoire pour infirmer ou confirmer les suspicions.

#### VI.1.4.1. Examen coprologique

L'examen coprologique est uniquement réalisé chez le chat, ce dernier étant le seul animal domestique excréteur des ookystes de toxoplasme. Cet examen bien que facile à réaliser est cependant peu fiable dans la mesure où l'excrétion des ookystes ne se fait que durant la période patente qui dure environ quinze jours. Au terme de cette période, l'animal a évacué ses parasites et n'en est plus disséminateur. En outre, le chat ne devient évacuateur d'ookystes que lorsqu'il atteint l'âge auquel il commence à se nourrir d'aliments carnés, environ un mois et demi, et ces ookystes ne deviennent infectant qu'au terme de leur sporulation dans le milieu extérieur.

Les ookystes de *Toxoplasma gondii* ont une forme globuleuse, avec un diamètre d'environ 13 à 15µm et ne sont pas segmentés au moment de leur rejet. Ils sont morphologiquement semblables aux ookystes de deux toxoplasmatinés: le genre *Hammondia* et *Besnoitia*, la distinction n'est possible que sur des critères biologiques. Une étude récente menée par (MATSUO et coll. 2004) a permis d'améliorer les résultats de l'examen coprologique. Ces auteurs ont montré que la méthode de flottation à partir d'une

solution sucrée permet l'obtention de meilleurs résultats par l'ajout de 0,1 de gélatine dans la solution de lavage et de flottation.

#### **VI.1.4.2. Examens histologiques**

Ils sont basés sur l'observation au microscope des toxoplasmes, soient libres, soient sous forme de pseudokystes dans de nombreux prélèvements de tissus, organes ou exsudats. Ces éléments peuvent être prélevés directement sur des animaux vivants (biopsie) ou morts mais nécessite une infestation parasitaire importante pour faciliter l'observation. Cette observation des toxoplasmes se fait sur des étalements ou frottis de pulpe d'organes (cerveau, foie, rein, poumons, coeur, muscle...) ou éventuellement de placenta fixés dans du formol et colorés à l'hématoxyline éosine ou au May-Grünwald-Giemsa (MGG) pour rechercher les kystes parasites et les foyers de nécrose.

#### **VI.1.4.3. Inoculations aux souris**

C'est la méthode la plus fiable. Elle nécessite l'usage des matières infectantes notamment les fragments d'organes (cerveau, foie, coeur, placenta broyé) ou alors le liquide céphalo-rachidien, du sang et parfois la pulpe ganglionnaire. Ces éléments mis en suspension dans un soluté isotonique de chlorure de sodium ou de liquide physiologique additionné à un antibiotique (1000UI de pénicilline et 100mg de streptomycine/ml) sont injectés à des souris par voie intra-péritonéale à la dose de 1ml/souris. L'apparition de kyste est lente et nécessite environ quarante jours. Cependant les tachyzoïtes peuvent être isolés du liquide péritonéal après trois à quatre jours d'inoculation.

#### **VI.1.4.4. Inoculation à des cultures cellulaires**

Les cellules généralement utilisées sont les cellules VERO, fibroblastes humains. L'inoculation des échantillons de toxoplasme à ces cultures cellulaires exige des laboratoires spécialisés mais des échecs dus à la destruction des parasites présents suite à l'autolyse des tissus sont fréquents.

#### **VI.1.4.5. Diagnostic sérologique**

Les épreuves sérologiques sont les méthodes de diagnostic les plus utilisées et permettent la mise en évidence d'anticorps circulants.

##### **Test de lyse de Sabin-Feldman (Dye Test)**

Il a été mis au point par (SABIN et FELDMAN 1948). Il est fondé sur le fait que les tachyzoïtes libres ne sont colorés par le bleu de méthylène alcalin que s'ils sont mis en présence d'un sérum qui renferme des anticorps spécifiques. Cette perte d'affinité tinctoriale est due à une lyse partielle, la cellule parasite perd sa basophilie à la suite de la disparition d'une partie de son cytoplasme. L'anticorps

spécifique est un sensibilisateur thermostable, inactif par lui-même. Il agit grâce à un activateur thermolabile du sérum frais «le facteur accessoire» qui peut en partie être identifié avec le complément hémolytique. «Le facteur accessoire» ne se trouve que dans les sérums des sujets n'ayant jamais été en contact avec des toxoplasmes. Le titre du sérum est donné par la dilution finale pour laquelle des parasites ne se colorent pas.

Le test de lyse présente l'avantage d'être très sensible avec une spécificité satisfaisante mais il est délaissé à cause de nombreux inconvénients qui limitent son utilisation:

- La nécessité d'utiliser des toxoplasmes vivants qui impose un entretien des souches et expose au risque de contamination accidentelle le personnel de laboratoire;
- L'intervention d'un «facteur accessoire» qu'on ne trouve que dans certains sérums et qui doit être dépourvu d'action lytique spontanée vis-à-vis du toxoplasme.

#### Immunofluorescence indirecte

Elle se fait à partir de frottis sur lequel un colorant, l'isocyanate de fluorescéine, est recouvert par du sérum à différentes dilutions. Après un temps de contact suffisant, les frottis sont rincés et recouverts de sérum antiglobuline fluorescent.

Lorsqu'on examine la préparation à la lumière ultraviolette, les toxoplasmes présentent une intense fluorescence si la réaction est positive (la fluorescence est localisée électivement sur la membrane parasitaire). Le problème de fluorescence non spécifique a rendu plus difficile l'interprétation de la réaction. Pour contourner ce problème, on a recours à une contre coloration par le bleu d'Evans.

#### - *Le test de Remington*

L'immunofluorescence permet par l'utilisation d'un conjugué fluorescent spécifique anti-IgM (test de Remington), de mettre en évidence des IgM antitoxoplasmiques témoins d'une infection récente ou d'une toxoplasmose évolutive. Malheureusement, l'interprétation reste toujours délicate et est entachée d'erreurs.

#### ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)

C'est la réaction de référence qui est universellement acceptée en médecine humaine. Elle est contraignante et délicate mais possède une bonne spécificité et une bonne sensibilité.

Dans cette méthode, l'antigène (cytoplasmique et membranaire) est fixé au fond des cupules des plaques en polystyrène utilisées en microtitration. Le sérum suspect est ajouté, puis l'excès est éliminé par lavage. Un sérum anti-immunoglobuline spécifique marqué à la phosphatase ou à la peroxydase est ensuite introduit dans la réaction. Les anticorps anti-immunoglobulines se fixeront sur les anticorps spécifiques éventuellement retenus par l'antigène. L'enzyme est alors révélée par un substrat qui donne à l'ensemble, une coloration dont l'intensité est fonction de la positivité du sérum étudié.

D'autres techniques immunoenzymologiques peuvent être associées à l'ELISA ce qui permettrait d'aboutir à de meilleurs résultats. Il s'agit

- **ELIFA (Enzyme Linked Immuno-Filtration Assay)** Elle a l'originalité de proposer une approche qualitative des anticorps afin de différencier les anticorps acquis des anticorps transmis.
- **S.A.G.A (immuno-sorbent agglutination Assay)** C'est une méthode d'immuno-absorption spécifique qui dose les IgM.

#### **Hémagglutination**

- **Hémagglutination directe**

Mise au point par (FULTON et VOLLER en 1964), cette méthode est d'un usage très simple puisqu'elle ne met en jeu que l'antigène et le sérum suspect. Elle est réalisée dans des plaques pour micro-agglutination à fond conique dans lesquels sont introduits le sérum dilué et la suspension de toxoplasmes formolés. C'est une méthode pratique et non dangereuse puisque les toxoplasmes utilisés sont morts. Toutefois, elle est peu sensible.

- **Hémagglutination indirecte**

Elle a été proposée pour la première fois par (JACOBS 1973). Elle fait intervenir un antigène soluble. Cette méthode repose sur l'agglutination d'hématies de mouton traitées par la glutaraldéhyde et sensibilisées par un lysat de toxoplasmes lorsqu'elles sont en présence de dilutions de sérum contenant des anticorps homologues.

La réaction est réalisée dans des plaques pour micro-agglutination. On effectuera en parallèle un titrage à partir du sérum traité au 2-mercaptoéthanol. C'est une méthode simple et de lecture facile.

#### **VI.1.4.6. Techniques moléculaires (PCR)**

Des techniques moléculaires récentes ont été mises au point pour le diagnostic de la toxoplasmose. Ainsi, grâce à la PCR (Polymerase Chain Reaction), on a pu identifier la présence de l'ADN de *Toxoplasma gondii* chez le chien et dans des échantillons biologiques de félins. L'efficacité de la PCR dans le diagnostic des avortements toxoplasmiques chez les agnelles a été démontrée avec une bonne

sensibilité (PIERGILI-FIORETTI, 2004). La technique de la PCR peut être appliquée aux fèces, ainsi (MATSUO et coll. 2004) ont montré que son efficacité est encore accrue lorsque les échantillons de fèces destinés à l'examen sont au préalable traités avec du PolyVinylPyrrolidone (PVP) chauffé puis refroidi et associé au NaCl.

## **VI.1. Méthodes de lutte**

### **VI.1.1. Traitement**

La toxoplasmose, aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, peut être traitée à l'aide de certains médicaments. Parmi les antibiotiques, un seul produit, la spiramycine, est réellement actif contre *Toxoplasma gondii* et présente un tropisme cellulaire et tissulaire élevé. Dans les organes comme le placenta, le foie, la rate ou le cerveau, le médicament atteint des concentrations 3 à 4 fois supérieures à celles obtenues dans le sérum. Par ailleurs, le parasite est sensible à certains sulfamides tels que la sulfapyrimidine (EUZEBY, 1987).

Les associations pyriméthamine (malacides) et sulfamides (sulfadiazine, sulfadoxine, sulfaméthoxazole) sont hautement efficaces et très diffusibles. Elles empêchent la synthèse de l'acide folique par le parasite et par conséquent sa multiplication.

Toutefois, le traitement associant la pyriméthamine provoque une leucopénie et une thrombocytopénie, et doit être couplé à l'administration d'acide folique sous une forme non utilisable par le parasite. Par ailleurs, la pyriméthamine a des propriétés tératogènes et doit donc être déconseillée aux femelles gestantes.

#### **- Posologie et mode d'administration**

Ils varient selon les espèces. Chez le chat, qui est l'espèce sur laquelle notre étude a porté, il est recommandé l'association sulfadiazine 100mg/kg/j per os à répartir en 4 prises et pyriméthamine 1mg/kg pendant une à deux semaines. L'adjonction de l'acide folique est nécessaire. Il est important de signaler que le traitement n'empêche pas l'élimination définitive des ookystes (DIA, 1992; LAHAMDI, 1992). En définitive, le traitement de la toxoplasmose s'avère difficile, long et coûteux. L'accent doit être plutôt mis sur des mesures prophylactiques.

### **VI.1.2. Mesures prophylactiques**

#### **VI.1.2.1. Prophylaxie sanitaire**

Les mesures prophylactiques doivent s'appliquer à tous les acteurs du cycle biologique du parasite à savoir le chat (hôte définitif), l'homme et les ruminants (hôtes intermédiaires) et le milieu extérieur. Elles seraient d'une grande efficacité si elles étaient faciles à mettre en place. Ces mesures consistent à :

- Empêcher l'accès des bâtiments et des réserves de céréales aux chats
- Surveiller les mises bas surtout lors d'avortements enzootiques chez les petits ruminants ;
- Ne pas laisser les placentas des femelles ayant avorté à la portée des autres femelles ;
- Conserver les brebis qui auront été infectées par ce processus pathologique puisqu'elles sont immunisées ;

### **VI.1.2.2. Prophylaxie médicale**

Aucun vaccin anti-toxoplasmique n'est encore disponible sur le marché. Des travaux entrepris pour la mise au point d'un vaccin anti-toxoplasmique n'ont pas abouti à l'élaboration d'un vaccin efficace.

Des essais de radio-vaccin dans la toxoplasmose murine ont été réalisés par (TRAN MANH SUNG 1982), mais le contrôle du pouvoir immunisant des trophozoïtes irradiés a donné des résultats contradictoires selon (PESTRE-ALEXANDRE et MOUNIER 1982) qui ont apprécié l'efficacité de la «pré-immunisation» de la souche RH chez le lapin, le cobaye et la souris.

Selon (BEVERLEY 1976) l'utilisation d'un vaccin tué pour les ovins ne confère qu'une faible immunité. Par contre, l'injection de kystes vivants sept (7) semaines avant la lutte permet aux brebis gestantes (par monte naturelle) de résister à une contamination naturelle. WALDELAND, 1977 a proposé d'utiliser comme vaccin une souche humaine non pathogène pour les moutons.

# *Chapitre II*

## *« IMMUNITÉ ANTI- TOXOPLASMIQUE »*

Chez l'hôte immunocompétent, l'infection à *T. gondii* est contrôlée essentiellement par l'immunité à médiation cellulaire (Denkers and Gazzinelli 1998). Néanmoins, l'immunité à médiation humorale intervient également (Kang, Remington et al. 2000; Sayles, Gibson et al. 2000). Pour contrôler l'infection, les cellules T activées interviennent aussi bien à la phase aiguë qu'à la phase chronique de l'infection (Suzuki and Remington 1988; Gazzinelli, Hakim et al. 1991). Les cellules T CD8+ sont les cellules effectrices dont le rôle est de maîtriser la multiplication du parasite (Suzuki Y 1988) tandis que les cellules TCD4+ produisent de l'IFN- $\gamma$  et régulent la réponse immune développée contre le parasite (Gazzinelli, Hakim et al. 1991; Gazzinelli, Xu et al. 1992). Les macrophages et les Natural killer sont la première ligne de défense contre le parasite pendant la phase aiguë de l'infection (Sher 1993 ; Gazzinelli 1993). Pendant cette phase la sécrétion de l'IL-12 par les macrophages, les neutrophiles et les cellules dendritiques permettra l'induction d'une réponse immune efficace contre le parasite assurée par la différenciation des cellules T précurseurs en cellules T helper 1 (Th1) (Gazzinelli et al 1994 ; Bliss et al 1999 (Reis e Sousa, Hieny et al. 1997). L'IL-12 est la cytokine majeure de la réponse innée, l'IFN- $\gamma$  est la cytokine majeure des réponses innée et adaptative.

## I. LA REPOSE INNEE : PREMIERE LIGNE DE DEFENSE CONTRE *T. GONDII*

*T.gondii* est un parasite intracellulaire qui infecte son hôte via le tractus gastro-intestinal. Au niveau de la muqueuse intestinale, le parasite se trouve en contact avec une première barrière physique assimilée à plusieurs couches de cellules épithéliales, ce sont les entérocytes. Le parasite développe des stratégies d'adhésion et d'invasion des entérocytes qui lui permettront de traverser la barrière et de se disséminer rapidement aux divers organes, notamment par sa capacité à infecter et à se multiplier dans les cellules dendritiques, les macrophages, les leukocytes polymorphonucléaires (PMN) attirés sur le site de l'infection par les chimiokines et cytokines sécrétées par les entérocytes (BuzoniGatel and Werts 2006). Ces cellules s'échappent dans la circulation sanguine vers les différents organes, ce qui permet au parasite de se disséminer dans la rate, les poumons, le foie, et de s'infiltrer dans le cerveau (Courret, Darce et al. 2006).

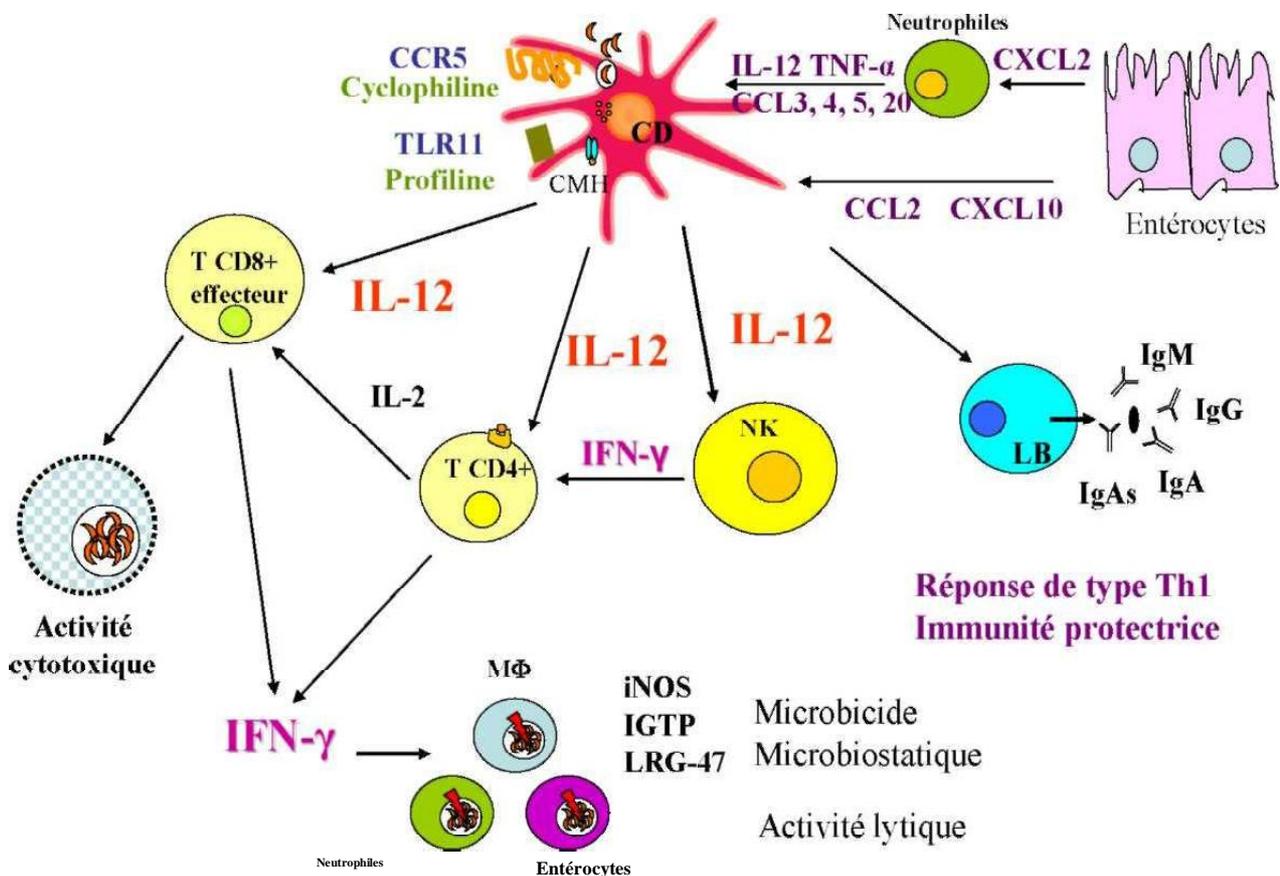
### I.1. Schéma de l'immunité innée

Les macrophages et les cellules dendritiques sont directement infectés par les parasites libres ayant traversé l'épithélium ou indirectement en phagocytant les entérocytes infectés ou en apoptose. Les cellules dendritiques peuvent capturer les pathogènes dans la lumière de l'intestin grâce à l'élongation de leurs dendrites, à travers les jonctions serrées de l'épithélium (Rescigno, Rotta et al. 2001).

Le parasite infecte les CD des plaques de Peyer, de la lamina propria ainsi que ceux des ganglions mésentériques en plus des macrophages, et des entérocytes. L'infection des entérocytes, des

CD et macrophages déclenche une réponse immune dirigée contre le parasite (Lieberman and Hunter 2002; Buzoni-Gatel, Schulthess et al. 2006). L'IL-15 produit par les entérocytes infectés et l'IL-12 produit par les CD activées stimulent l'activité des cellules T et leur différenciation en T helper de type 1 capables de sécréter l'IFN- $\gamma$  (Aliberti, Jankovic et al. 2004). Ces cytokines activent également les Natural killer (NK), et les Natural Killer T (NKT) pour sécréter de l'IFN- $\gamma$  (Korbel, Finney et al. 2004). L'IFN- $\gamma$  déclenche l'activité microbicide et microbiostatique des macrophages, des cellules dendritiques et des entérocytes ce qui permet l'élimination du parasite.

Cependant, la production de l'IFN- $\gamma$  incontrôlée induit une inflammation aiguë, ce qui conduit à des dommages intestinaux dus à l'infiltration des cellules immunitaires inflammatoires ainsi que des hémorragies dont la conséquence est la destruction de la barrière épithéliale.



**Figure 9 :** Schéma représentatif de l'immunité anti-toxoplasmique, humorale et cellulaire, locale et systémique.

## **I.2. Rôle des entérocytes dans l'immunité innée contre *T. gondii***

Les entérocytes infectés produisent du NO (monoxide d'azote), des chimiokines (CCL2, CXCL10 et dans une moindre mesure : CXCL2, CCL3, CCL4 et CCL5) et de l'IL-15. Le NO limite la réplication du parasite. Les chimiokines attirent les polynucléaires (PMN), les macrophages, les cellules dendritiques sur le lieu de l'infection. L'IL-15 active les cellules NKT, cellules productrices d'IFN- $\gamma$  qui activeront via une réaction en chaîne les lymphocytes T de la lamina propria (Buzoni-Gatel, Schulthess et al. 2006).

## **I.3. Rôle des neutrophiles, cellules dendritiques, macrophages et des Natural killer dans l'immunité innée contre *T.gondii***

Pendant l'infection, l'IL-12 est produit par les neutrophiles, les macrophages et essentiellement par les cellules dendritiques (Denkers 2003; Liu, Fan et al. 2006).

### **I.3.1. Les Neutrophiles**

La chimiokine CXCL2 produite par les entérocytes permet le recrutement massif des neutrophiles via leur récepteur CXCR1 murin ou CXCR2 humain (Del Rio, Bennouna et al. 2001). L'IL-17 est également impliquée dans le recrutement des neutrophiles (Kelly, Kolls et al. 2005). Les neutrophiles sont des cellules phagocytaires capables de détruire les tachyzoïtes à la fois dans leur compartiment intracellulaire mais également par la sécrétion de facteurs microbicides (Thorn, 1983, Nichols, 1985).

En réponse à cette stimulation, les neutrophiles sécrètent un panel de chimiokines incluant le CCL-3, CCL4, CCL5 (RANTES) et CCL20. Ces chimiokines possèdent des propriétés attractrices pour les cellules dendritiques. Les neutrophiles sécrètent également l'IL-12 et le TNF- $\alpha$ , cytokines responsables de l'activation des CD. Les neutrophiles apparaissent comme les cellules responsables du recrutement et de la maturation des CD, contribuant ainsi à la génération d'une réponse adaptative conduisant à l'élimination du parasite (Bennouna, Bliss et al. 2003).

### **I.3.2. Les Cellules dendritiques**

Les CD CD8<sup>+</sup> sont probablement la source majeure d'IL-12. Cinq jours après une infection par voie orale, la plupart des CD de la lamina propria sont matures. Ces CD de par leur sécrétion d'IL-12 (mais aussi d'IL-15), activent les NK, les NKT et les cellules TCD4<sup>+</sup>. Ces cellules après activation sécrètent de grande quantité d'IFN- $\gamma$  qui active les fonctions microbicides des entérocytes, des macrophages et des CD. Les CD murines activées par l'INF- $\gamma$  inhibent *T. gondii* (Aline, Bout et al. 2002).

Les CD de par leur capacité à migrer vers les tissus lymphoïdes et à présenter les antigènes aux cellules T naïves, jouent un rôle majeur dans l'initiation de la réponse immune adaptative.

### **I.3.3. les Macrophages**

Les macrophages sont capables de tuer *T. gondii* dans leur compartiment intracellulaire, consécutif à une endocytose active et de libérer des facteurs microbicides en réponse à l'infection par le parasite (Murray, Rubin et al. 1985). Les macrophages activés par l'IFN- $\gamma$  génèrent des dérivés nitrogènes pendant la phase aiguë de l'infection, inhibant ainsi la multiplication des tachyzoïtes *in vivo* (Mordue and Sibley 2003).

### **I.3.4. Les Natural Killer**

L'IL-1 $\beta$ , le TNF- $\alpha$  et l'IL-15, également produits par les macrophages infectés, potentialisent l'effet de l'IL-12 sur l'activation des cellules NK (Gazzinelli, Hieny et al. 1993; Hunter, Abrams et al. 1993; Sher, Oswald et al. 1993; Hunter, Subauste et al. 1994; Hunter, Chizzonite et al. 1995; Hunter, Ellis-Neyer et al. 1997).

L'activité cytotoxique des NK est augmentée par l'IL-18 produit par les macrophages et les CD et leur prolifération dépend de l'action concertée de l'IL-18 et de l'IL-15. La production d'IFN- $\gamma$  par les NK est stimulée par l'IL-12 produit par les neutrophiles, les macrophages et les CD (French, Holroyd et al. 2006). L'interaction directe entre les CD et les NK augmente la production d'IFN- $\gamma$  par les NK ainsi que la production d'IL-12 par les CD (Guan, Moretto et al. 2007). Les NK jouent également un rôle dans la réponse adaptative.

## **I.4. Rôle majeur de l'IFN- $\gamma$ dans la réponse innée**

L'IL-12 secrété pendant la phase de l'immunité innée par les neutrophiles, les cellules dendritiques et les monocytes recrutés au niveau du site d'infection stimulent les NK à produire l'IFN- $\gamma$ . L'IFN- $\gamma$  déclenche d'une part l'activité microbicide et microbiostatique de nombreuses cellules dont les macrophages, entérocytes et cellules dendritiques par l'induction d'enzymes STAT1-dépendantes telles: l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), la GTPase interféron inductible (la IGTP) et l'indolamine dioxygénase (IDO) (Yap, Shaw et al. 2006). D'autre part, l'IFN- $\gamma$  induit l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'activation et la maturation des cellules immunes (Boehm, Klamp et al. 1997).

## **II. L'IMMUNITÉ ADAPTATIVE**

### **II.1. Présentation des antigènes au système immunitaire**

Les défenses immunitaires de l'organisme vis-à-vis des pathogènes et des cellules malignes reposent en grande partie sur la surveillance par les lymphocytes T cytotoxiques. Les antigènes peptidiques sont constamment présentés au système immunitaire qui fait la différence entre le soi et le non soi. Le système immunitaire va tolérer les antigènes du soi tandis que les antigènes du non- soi suscitent un panel de réactions immunes dirigées contre l'antigène étranger. Cette reconnaissance antigénique est possible grâce à la présentation des antigènes aux lymphocytes T associés au complexe majeur d'histocompatibilité CMH. Les molécules du CMH sont de deux classes (I et II), ce qui permet une présentation différente des antigènes selon leur localisation cellulaire (Harding, Song et al. 1995).

### **II.1.1. La voie de présentation utilisant le CMH de classe I : voie endogène ou exogène (cross-présentation)**

#### **✚ La Voie endogène**

Les peptides présentés par les molécules de classe I du CMH sont issus :

- De la dégradation des protéines endogènes, codées par le génome cellulaire et celles issus de pathogènes infectant la cellule, et synthétisées par les cellules présentatrices.
- Du produit de dégradation des compartiments subcellulaires, le lysosome et le cytosol, dotés de capacité protéolytique importante (Ciechanover 2005; Wilson and Villadangos 2005).

Dans le cytosol, les protéines sont dégradées par le protéasome, un grand complexe protéolytique composé d'une structure cylindrique formée par 28 protéines et qui occupe une place centrale dans le métabolisme cellulaire. Le protéasome est capable de dégrader la quasi-totalité des protéines en produisant des fragments de 4 à 15 résidus (Baumeister, Walz et al. 1998). Ces peptides sont ensuite transportés dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE) site d'assemblage avec les molécules CMH I, grâce à un système transporteur de protéine porté par la membrane de (RE) et appelé les protéines TAP (transporter associated with antigen processing), ce dernier est composé de deux sous unités homologues (TAP1 et TAP2) et appartient à la grande famille des protéines ABC, qui utilisent l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour transporter des solutés à travers les membranes (van Endert, Saveanu et al. 2002).

Dans le RE il y a formation d'un complexe entre un peptide et une molécule CMH I qui implique l'action de quatre protéines chaperons différentes dont trois appartiennent au système de contrôle de qualité du RE, qui empêche les protéines de conformation non adéquates de sortir de ce compartiment (Cresswell, Bangia et al. 1999). Le complexe « peptide-molécule CMH I » est ensuite véhiculé vers l'appareil de Golgi, à partir duquel des vésicules golgiennes contenant le complexe sont émises et

viennent fusionner avec la membrane plasmique cellulaire. Le peptide antigénique associé à la molécule CMH de classe I se trouve donc exposé à la surface cellulaire avec une partie intégrée à la double couche phospholipidique de la membrane plasmique.

L'ensemble « peptide-molécule CMH I » ainsi présenté peut être reconnu par le récepteur des lymphocytes T (TCR). Tandis que le peptide est reconnu par le TCR, la molécule de CMH I est reconnue par une molécule appelée CD8 portée par le lymphocyte T, ajouté à l'action d'autres molécules de costimulation présentent sur les cellules présentatrices d'antigènes, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> sont activés.

### **La cross-présentation**

Les cellules dendritiques ont une voie de transport transmembranaire qui relie la lumière des compartiments endocytaires au cytosol. Ce transport permet aux antigènes internalisés d'accéder à la voie cytosolique de présentation antigénique par le CMHI (Rodriguez, Regnault et al. 1999). Cette voie, comme la voie endogène est TAPdépendante (Guermontprez, Saveanu et al. 2003; Cresswell, Ackerman et al. 2005).

#### **II.1.2. la voie de présentation utilisant le CMH de classe II ou voie exogène**

Cette voie de présentation antigénique est utilisée par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) pour présenter les peptides produits de la dégradation des antigènes exogènes à la cellule mais internalisés par endocytose puis dégradés. La dégradation en peptides des antigènes endocytés est assurée dans l'endosome par les protéases-acidedépendantes.

Les molécules CMH II sont transportées de la lumière du RE et à travers l'appareil de Golgi jusqu'aux endosomes où elles formeront avec les peptides déjà présents un complexe « peptides-CMH II ». Le complexe formé est transporté jusqu'à la surface cellulaire pour être reconnu par le TCR des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> appelées aussi lymphocyte T helper (Watts 2004). Les macrophages qui expriment un faible taux de CMH II acquièrent leur capacité à présenter les antigènes après leur activation par des médiateurs tel que l'IFN- $\gamma$  et le GM-CSF.

Les lymphocytes B sont capables de présentation antigénique suite à l'internalisation des antigènes capturés via leur récepteur appelé BCR. Les cellules dendritiques qui sont les principales cellules présentatrices d'antigènes sont incapables de former le complexe peptide-CMH II lorsqu'elles sont à l'état immature. Leur maturation leur permet de présenter des peptides internalisés avant la maturation (Bryant and Ploegh 2004).

## II.2. La présentation CMHI, CMHII de *T. gondii*

Par l'utilisation de parasites exprimant des protéines hétérologues telles que l'ovabulmine ou la  $\beta$ -galactosidase, exprimées soit au stade tachyzoïte ou bradyzoïte, soit dans le cytoplasme, soit sécrétées.

## II.3. Immunité à médiation humorale

Lors d'une primo-infection avec *T.gondii* une réponse humorale spécifique est mise en place par l'hôte infecté. Elle se traduit par la production d'anticorps de type IgM, IgA, IgG chez la souris et par la production d'anticorps de type IgM, IgA, IgG et IgE chez l'homme.

### II.3.1. Etude du rôle de la réponse humorale *in vitro*

Des études suggèrent que les anticorps seuls ou en coopération avec l'immunité cellulaire participent à la limitation de la dissémination du parasite. En effet, lorsque le parasite pénètre activement une cellule phagocytaire non activée, sa vacuole parasitophore échappe à la fusion avec les lysosomes, et donc à son acidification. Lorsque les anticorps monoclonaux recouvrent le toxoplasme avant son internalisation, ils sont opsonisants et favorisent la phagocytose par les macrophages, conduisant à la formation d'un phagolysosome qui permet la lyse du parasite (Hauser and Remington 1981; Amer and Swanson 2002).

Des anticorps développés contre les antigènes excrétés/sécrétés de *T.gondii* induisent *in vitro* l'agglutination et la destruction des tachyzoïtes extracellulaires en présence du complément (Costa-Silva, Meira et al. 2008). Ainsi, les IgA isolées à partir du lait maternel des femmes en phase aiguë de l'infection sont capables de réduire l'infection des entérocytes jusqu'à 75% par leur pouvoir à agglutiner le parasite. Les IgA sécrétoires humain interviennent pour limiter l'infection des entérocytes (Mack and McLeod 1992).

Les anticorps ont également un rôle dans la neutralisation de la pénétration du toxoplasme dans la cellule hôte, notamment les anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre SAG1. Ainsi, (Mineo et al 1993) ont décrit la capacité des anticorps dirigés contre SAG1 à bloquer l'infection des fibroblastes humains et des entérocytes murins par le parasite *in vitro*. De même Grimwood et al ont décrit un anticorps monoclonal dirigé contre SAG1 bloquant l'invasion par le parasite des cellules bovines de reins. Cependant, des anticorps monoclonaux dirigés contre d'autres protéines de surface (SAG2 et 3), de micronèmes (MIC3), de rhoptries et de granules denses (GRA1) n'ont pas d'effet sur l'invasion du parasite (Mineo, McLeod et al. 1993; Grimwood and Smith 1996).

Néanmoins, des anticorps monoclonaux anti-GRA2 et GRA6 et polyclonaux anti-ROP2 inhibent, *in vitro*, l'invasion par le parasite des fibroblastes et des macrophages cultivés en conditions adhérentes. Cette inhibition est plus efficace en présence du complément (Cha, Song et al. 2001; Mishima, Xuan et al. 2002).

Des anticorps pouvant bloquer la réplication du parasite dans la cellule hôte sans altérer les mécanismes d'interaction entre le parasite et son hôte ont été décrit (Mineo, Khan et al. 1994). Cependant, les anticorps neutralisants qu'ils soient d'action extra ou intracellulaire n'empêchent pas la pénétration ou la multiplication du parasite dans des monocytes humains non adhérents et non activés (Fadul, Channon et al. 1995). Cette constatation expliquerait la dissémination de *T. gondii* dans l'organisme à la faveur de cellules circulantes.

#### **II.4. L'immunité à médiation cellulaire**

En plus de l'immunité humorale, le parasite induit chez l'organisme hôte une immunité à médiation cellulaire qui protège l'hôte contre la multiplication rapide du parasite à l'origine de nombreuses pathologies. De plus, suite à l'infection par le toxoplasme, la persistance de la pression immune est essentielle pour éviter la réactivation de la maladie pendant sa phase chronique. En effet, sous la pression du système immunitaire, les tachyzoïtes se transforment en bradyzoïtes qui s'enkystent pour échapper à la réponse immune, c'est la forme latente de la toxoplasmose.

Ces kystes sont retrouvés essentiellement au niveau du système nerveux central. La réactivation de ces kystes au niveau du cerveau chez les immunodéprimés s'accompagne par des neuropathologies tel que l'encéphalite, majeure cause de morbidité et de mortalité chez les malades du SIDA (Luft, Brooks et al. 1984; Navia, Petito et al. 1986; Suzuki, Conley et al. 1989).

L'IFN- $\gamma$  joue un rôle central dans le maintien d'une pression immune à l'origine du contrôle de la multiplication du parasite. Des expériences de déplétion de l'IFN- $\gamma$  chez des souris en phase chronique de l'infection entraînent l'émergence de la forme tachyzoïte ainsi que l'augmentation du nombre de kystes cérébraux (Suzuki, Conley et al. 1989).

Comme L'IFN- $\gamma$ , les CD8+ jouent un rôle crucial dans la mise en place d'une immunité protectrice contre le toxoplasme aussi bien pendant la phase aiguë que chronique de l'infection. Dans la réponse adaptative, les T CD8+, les T CD4+ et les NK sont des cellules productrices de l'IFN- $\gamma$ .

### II.4.1. Rôle de l'IFN- $\gamma$

L'IFN- $\gamma$  est un médiateur important dans la résistance de l'hôte contre le parasite (Suzuki Y 1988). L'IFN- $\gamma$  ainsi que d'autres molécules pro-inflammatoires qui interviennent lors de la phase aiguë de l'infection sont essentielles au développement d'une immunité adaptative anti-toxoplasmique.

L'IFN- $\gamma$  déclenche la sécrétion des chimiokines par les macrophages, molécules essentielles au recrutement d'un grand panel de cellules immunes tel que les APC ou encore les lymphocytes T. L'action de synergie de l'IFN- $\gamma$  avec l'IL-12 assure la différenciation des cellules Th1 à partir des lymphocytes T helper. En présence du parasite, les macrophages stimulés par l'IFN- $\gamma$  sécrètent de l'IL-12. L'IFN- $\gamma$  est également à l'origine de l'expression du récepteur de l'IL-12 sur les lymphocytes T. La liaison de l'IL-12 par son récepteur sur les lymphocytes T induit la phosphorylation du facteur de transcription STAT4 essentiel à la différenciation des cellules T en lymphocytes de profil Th1 (Bacon, Petricoin et al. 1995)

L'un des mécanismes de protection de l'IFN- $\gamma$  est l'augmentation de l'expression de la molécule d'histocompatibilité de classe I par les cellules présentatrices de l'antigène. La présentation de l'antigène par les APC aux lymphocytes CD8+ induit l'activation des T CD8+ et une activité cytotoxique spécifique de l'antigène (Boehm, Klamp et al. 1997; Ely, Kasper et al. 1999; Nakano, Hisaeda et al. 2001).

Comme lors de la réponse innée, l'IFN- $\gamma$  exerce un fort pouvoir anti-parasitaire. En effet, l'activation des entérocytes par l'IFN- $\gamma$  inhibe la réplication intracellulaire de *T. gondii* en limitant la disponibilité en Fer (Dimier and Bout 1998). Combiné au TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  active la production d'oxide nitrique par les macrophages limitant ainsi la réplication du parasite (Adams, Hibbs et al. 1990; Langermans, van der Hulst et al. 1992; Stenger, Donhauser et al. 1996). L'IFN- $\gamma$  induit également la dégradation du tryptophane dans les cellules hématopoïétiques ou non hématopoïétiques infectées (Silva, Rodrigues et al. 2002).

### II.4.2. Activation des lymphocytes TCD8+ et TCD4+

En plus du rôle de l'IFN- $\gamma$ , des expériences ont montré l'importance de cellules T lors de l'infection à *T. gondii*. De plus, le transfert passif de cellules T activées par le toxoplasme à des souris naïves protègent celles-ci contre une infection d'épreuve avec des souches virulentes de *T. gondii* (Parker, Roberts et al. 1991; Pavia, Bittker et al. 1992; Buzoni-Gatel, Lepage et al. 1997). Plus important encore, la corrélation étroite entre le développement d'encéphalites toxoplasmiques et la diminution du nombre

de cellules T périphériques chez des patients atteints du SIDA met en évidence le rôle crucial des lymphocytes T dans le contrôle de l'infection chronique.

#### ✚ Les lymphocytes cytotoxiques CD8+

L'activité protectrice des lymphocytes T CD8+ s'exerce par le biais de leurs activités cytolytiques spécifiques et de leur synthèse d'IFN- $\gamma$ .

#### ✚ Rôle effecteur des lymphocytes T CD4+

Les lymphocytes T CD4+ peuvent intervenir par le biais de deux mécanismes : la cytotoxicité et la production de cytokines. L'activité cytotoxique de ces lymphocytes sur les cellules infectées par *T.gondii* est restreinte au CMH II et a été mise en évidence dans le sang de patients en phase chronique d'infection, par Curiel (Curiel, Krug et al. 1993; Yang, Aosai et al. 1995). Cependant, l'activité cytotoxique des LTCD4+ est rencontrée surtout chez l'espèce humaine (Curiel, Krug et al. 1993; Yang, Aosai et al. 1995; Montoya, Lowe et al. 1996). Inversement, chez la souris, les études ne montrent pas une activité cytotoxique due aux LTCD4+ (Subauste, Koniaris et al. 1991).

Les cellules T CD4+ représentent la plus grande sous-population de lymphocytes T de la lamina propria. Lors d'une infection naturelle à *T. gondii*, les cellules T CD4+ sont activées par les cellules présentatrices de l'antigène au niveau des ganglions mésentériques et recrutées au niveau du site d'infection pour produire de grandes quantités d'IFN- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$ . A l'état naïf, les lymphocytes CD4+ expriment constitutivement le récepteur chimiokinique le CCR7. Une fois activées les cellules T CD4+ réduisent l'expression de leur CCR7 et augmentent l'expression de leur récepteurs CCR2, CCR5 et CCR9 et CXCR3 qui interagissent avec les chimiokines produites par les cellules épithéliales infectées et par les APC activées (Bachmann, Kopf et al. 2006)

### II.5. Régulation de la réponse immune suite à l'infection par *Toxoplasma gondii*

La production de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoire est une condition requise pour le contrôle de la réplication intracellulaire de *T.gondii* empêchant la dissémination du parasite et les lésions tissulaires qu'il provoque. Cependant cette réaction inflammatoire peut être dangereuse pour l'hôte si elle n'est pas contrôlée. Une réaction inflammatoire exacerbée est en fait à l'origine de pathologie inflammatoire au niveau des intestins.

Le parasite est capable d'interférer dans l'expression des molécules CMH classe II, en effet, il bloque l'expression de cette molécule au niveau des cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques, entraîne également la baisse de l'expression du CMHII au niveau des macrophages (Luder, Lang et al.

1998; McKee, Dzierszinski et al. 2004). La diminution de l'expression du CMH classe II par les APC entraîne la faible activation des cellules CD4+ naïves ayant pour effet la faible prolifération des CD4+ et le blocage de la fonction effectrice des lymphocytes T helper. Ceci aboutit à une réponse T CD4+ moins importante et moins développée que la réponse LTCD8+ (Luft, Kansas et al. 1984; Sklenar, Jones et al. 1986; McKee, Dzierszinski et al. 2004).

# Chapitre III

## « VACCINATION ANTI- TOXPLASMIQUE »

## I. OBJECTIFS VACCINAUX

Le concept global de vaccination contre *Toxoplasma gondii* intègre trois objectifs complémentaires, visant trois populations différentes (les femmes enceintes séronégatives, les animaux de rente et les chats). Ces trois objectifs sont :

- ✚ Réduire l'excrétion d'ookystes chez le chat afin de limiter la contamination environnementale et le risque d'infection pour tous les hôtes intermédiaires,
- ✚ Prévenir la formation de kystes chez les animaux destinés à la consommation (pour éviter la transmission à l'homme et aux autres animaux),
- ✚ Empêcher l'apparition d'une parasitémie chez la femme enceinte et les femelles en élevage (brebis surtout) pour éviter une transmission transplacentaire du parasite au fœtus et une toxoplasmose congénitale.

### *Dans la vaccination féline*

L'outil vaccinal devra répondre à plusieurs exigences théoriques afin d'atteindre au mieux cet objectif pratique. Le vaccin candidat devra donc induire une forte réponse lymphocytaire T (CD8+ spécifiques notamment). Pour ce faire, une présentation du ou des antigènes vaccinaux par les cellules dendritiques est nécessaire. Il devra également être à l'origine d'une bonne réponse humorale au niveau intestinal : les IgA sécrétées par les plasmocytes de la muqueuse intestinale jouent en effet un premier rôle de barrière contre l'infection toxoplasmique (Chardès et Bout., 1993).

La nature et la dose de l'antigène, la nature de l'adjuvant, ainsi que le mode d'administration du vaccin seront des facteurs primordiaux à étudier pour que les conditions précitées soient remplies.

Enfin, il serait intéressant que les antigènes vaccinaux choisis puissent être différenciables des antigènes naturels afin que la vaccination n'interfère pas avec les tests de dépistage.

## II. PROBLEMATIQUE VACCINALE

Mettre au point des vaccins contre des parasites est délicat car ceux-ci stimulent souvent plusieurs types de réponses immunes (humorales et cellulaires) envers différents antigènes, toutes ne permettant pas l'acquisition d'une immunité protectrice. Or l'objectif dans le cadre de la vaccination antitoxoplasme, est d'obtenir avant tout une réponse cellulaire.

Le cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii* est complexe, au cours de ce cycle s'expriment de nombreux épitopes antigéniques communs ou stade-dépendants, or l'immunisation d'un animal contre un stade parasitaire ne protège pas contre une infection par un stade différent. Pour ces raisons, une vaccination multiantigénique, comprenant des antigènes des différents stades parasitaires semble un choix pertinent. Le défi majeur dans la conception de nouveaux vaccins est de sélectionner les antigènes appropriés, et de les présenter au système immunitaire de telle façon qu'ils provoquent une réponse protectrice.

La multiplicité des hôtes intermédiaires possibles et le fait que la réponse immune induite dépende en partie de l'hôte complique encore la problématique vaccinale. Un vaccin animal a déjà été commercialisé pour les ovins mais chez l'homme, le vaccin reste à l'état d'ébauche car l'immunisation par des parasites atténués n'est pas applicable du fait du risque de mutation pouvant restituer la virulence du parasite. Les vaccins vivants posent des problèmes de sécurité, mais aussi de durée de conservation et de production à grande échelle.

La mise au point d'un vaccin efficace contre *Toxoplasma gondii* nécessitera donc d'atteindre un maximum d'objectifs, tout en palliant aux difficultés techniques posées par ce protozoaire complexe.

### III. CARACTERES ANTIGENIQUES

*Toxoplasma gondii* élabore des antigènes de trois origines: antigènes pariétaux, antigènes cytoplasmiques et antigènes métaboliques.

#### Les antigènes pariétaux ou de surface

Ils sont surtout de nature glycoprotéique. Le plus important d'entre eux a un poids moléculaire de 30 kDa (glycoprotéine 30 ou SAG-I) et est présent chez les tachyzoïtes.

#### Les antigènes cytoplasmiques

Ce sont des protéines de 15 à 133 kDa. Seules trois d'entre elles sont vraiment importantes car elles permettent de mettre en évidence la présence du toxoplasme lors du diagnostic sérologique.

#### Les antigènes métaboliques

Les antigènes métaboliques ou antigènes ES renferment au moins neuf (9) protéines, de 21 à 108 kDa, dont certaines sont contenues dans la vacuole parasitophore, où on a aussi, mis en évidence la

glycoprotéine gp30 de surface. Ces antigènes jouent un rôle dans la protection du parasite contre les réactions de défense de l'hôte.

#### **Variation de la structure antigénique en fonction du stade évolutif**

Les sporozoïtes, les tachyzoïtes et les bradyzoïtes n'ont pas la même structure antigénique, certains antigènes étant spécifiques de stade, d'autres présents chez tous les stades. Il semble d'ailleurs qu'une immunisation contre l'ensemble des stades parasitaires soit préférable pour une meilleure efficacité vaccinale.

**Tableau 1** : Divers antigènes de *Toxoplasma gondii* utilisés dans les études vaccinales et spécificités de stades

	<b>Stade sporozoïte</b>	<b>Stade tachyzoïte</b>	<b>Stade bradyzoïte</b>
<b>Antigènes spécifiques de stades</b>		- P30 (SAG1) (antigène membranaire) - HSP70 (protéine de choc thermique)	MAG1 (antigène spécifique des kystes à bradyzoïtes) -HSP30 (BAG1)
		-SAG3 (antigène membranaire)	
<b>Antigènes communs à plusieurs stades</b>		-GRA1,2,4,5,6,7 (antigènes cytoplasmiques)	
		ROP2 (antigène de rhoptrie) MIC A7 (antigènes de micronème)	

#### **IV. ADJUVANTS UTILISES**

Le but de la vaccination est d'induire une forte réponse immune envers un ou plusieurs antigènes administrés. Atteindre cet objectif avec les vaccins inactivés requiert souvent l'ajout d'adjuvants, définis comme les substances qui améliorent l'immunogénicité de l'antigène vaccinal.

Les adjuvants peuvent être classés selon leur nature, leurs propriétés physico-chimiques ou leur mécanisme d'action. Certains vecteurs, comme les liposomes, possèdent également un rôle adjuvant. Les limites des adjuvants peuvent être leur toxicité (chez l'homme surtout), leur stabilité, leur biodisponibilité et leur coût de production. De plus, chaque adjuvant génère une réponse immune spécifique caractéristique, certains ne permettent donc pas d'obtenir le profil th1 recherché (l'alun par exemple) (Petrovsky N. et Aguilar J.C., 2004). Plusieurs d'entre eux, de natures variées, ont déjà été utilisés lors d'études vaccinales antitoxoplasme.

### ✚ Sels minéraux

Les sels d'alun (dérivés de l'aluminium) ont été utilisés comme adjuvants des vaccins humains depuis plus de 70 ans et malgré le fait qu'ils orientent plutôt la réponse cellulaire vers un type Th2, plusieurs études ont montré leur efficacité dans la protection contre *T.gondii* (Martin V. et al., 2004). Il a été montré que l'alun augmente l'expression des molécules de CMHII et des molécules de costimulation (ICAM-1, LFA-3, CD40) associées aux cellules dendritiques matures (Ulanova M. et al., 2001).

### ✚ Cytokines

L'utilisation des cytokines comme adjuvant est particulièrement intéressante dans la vaccination à ADN car les cytokines peuvent être exprimées par le même vecteur que l'antigène vaccinal.

### ✚ GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor).

C'est un facteur de croissance majeur des cellules dendritiques, qui permet l'augmentation du nombre de ces cellules chez la souris et l'homme (Smooker P.M. et al., 2004). C'est un adjuvant idéal pour les vaccins à ADN. Il permet de renforcer la réponse humorale et cellulaire par intensification du recrutement des macrophages et des cellules dendritiques au site d'injection (Ismael A.B. et al., 2003).

Son efficacité à amplifier la réponse immune anti-toxoplasme a déjà été montrée dans plusieurs études sur souris (Angus C.W. et al., 2000, Desolme B. et al., 2000).

### ✚ Interleukines

#### ✓ L'interleukine 12

Elle oriente rapidement et fortement la réponse immune vers un type Th1 et joue un rôle essentiel au cours de la phase aiguë de la toxoplasmose. Elle est sécrétée par les macrophages et les DC lors de la stimulation antigénique et permet l'activation des NK. Elle stimule la production d'IFN  $\gamma$ , essentiel à la résistance contre le parasite. Plusieurs études ont déjà montré son efficacité adjuvante dans des essais de vaccination anti-toxoplasmique (Letscher-Bru V. et al., 1998 ; Zhang J. et al., 2007 ; Cui Y.L. et al., 2008).

Par contre, elle a parfois un effet délétère expliqué par la formation massive d'IFN  $\gamma$  induisant la production d'oxide nitrique ayant une action nécrotique sur la masse intestinale (Desolme B. et al., 2000).

✓ **L'interleukine 2** (Chen G. et al., 2002)

L'inoculation simultanée d'IL 2 murine et d'un plasmide codant pour la protéine SAG1 de *Toxoplasma gondii* (pcSAG1) a permis d'augmenter considérablement le temps de survie de souris soumises à une infection expérimentale.

✚ **IFN  $\gamma$**

On a déjà évoqué le rôle majeur de cette cytokine dans la protection contre l'infection toxoplasmique, notamment par l'induction d'une réponse cellulaire.

✚ **Dérivés bactériens**

Les toxines bactériennes sont des adjuvants intéressants pour induire une immunité muqueuse à la fois humorale (sécrétion d'IgA) et cellulaire, mais leur toxicité est souvent un facteur limitant à leur utilisation chez l'homme.

✓ **Entérotoxines thermolabiles d'Escherichia Coli**

LTR72 et LTK63 sont les 2 mutants non toxiques d'entérotoxines thermolabiles qui ont été utilisés avec l'antigène SAG 1 dans un protocole de vaccination par voie intra-nasale (Bonenfant C. et al., 2001). Le nombre de kystes chez les souris immunisées était significativement moindre.

✓ **Toxine du Choléra**

(Chardès T. et Bout D., 1993 ; Bourguin I. et al. , 1993) La toxine du choléra est efficace pour induire une réponse intestinale locale à la fois humorale et cellulaire et peut donc être utilisée comme adjuvant lors de vaccination per os. C'est un bon inducteur de sécrétion d'IgA spécifiques et d'IFN  $\gamma$ . Son pouvoir adjuvant est lié à sa capacité à stimuler la synthèse d'AMPc, mais cette synthèse est par la suite stimulée continuellement et définitivement d'où la toxicité de la toxine cholérique, qui ne peut donc être utilisée chez l'homme.

## V. VOIES D'IMMUNISATION

La voie d'administration de l'inoculum, tout comme la nature de l'adjuvant utilisé, a une importance majeure dans l'orientation de la réponse immune vaccinale.

Elle va donc conditionner l'efficacité vaccinale et son importance dans le cas d'une prophylaxie vaccinale féline est aussi de nature pratique.

### Voie parentérale

Cette voie d'immunisation est utilisée dans la plupart des modèles expérimentaux, pourtant, elle induit rarement une bonne immunité muqueuse. On rappelle à nouveau que ce point est capital car in vivo, le premier contact entre l'organisme et le parasite se fait au niveau de la muqueuse intestinale. De plus, elle s'avère peu pratique dans le contexte d'une campagne vaccinale à grande échelle chez le chat.

### Voie orale

L'administration par voie orale est intéressante car elle stimule l'immunité locale intestinale, or le site naturel de l'infection par *Toxoplasma gondii* est la muqueuse intestinale. Ce mode d'administration est le plus simple et le plus sécuritaire. Par contre, le milieu digestif étant un milieu peu favorable à l'antigène, la vaccination orale nécessite un inoculum important pour être efficace (AFSSA, 2005). Cette voie d'administration est compatible avec une vaccination en masse des chats : vaccin dissimulé dans la nourriture ou dans des appâts.

### Voie intra nasale

Un de ses avantages est d'épargner au vaccin la dégradation par les enzymes protéolytiques gastrointestinales, une moindre quantité d'antigènes est donc requise par rapport à l'immunisation par voie orale (Garcia J.L., 2009). Elle permet aussi, avec des doses antigéniques faibles, d'induire une réponse immunologique muqueuse importante (Wu H.Y. et al., 1997), en plus d'une réponse immune systémique.

## VI. LA VACCINATION FELINE

### VI.1. Vaccin déjà élaboré : un vaccin vivant atténué

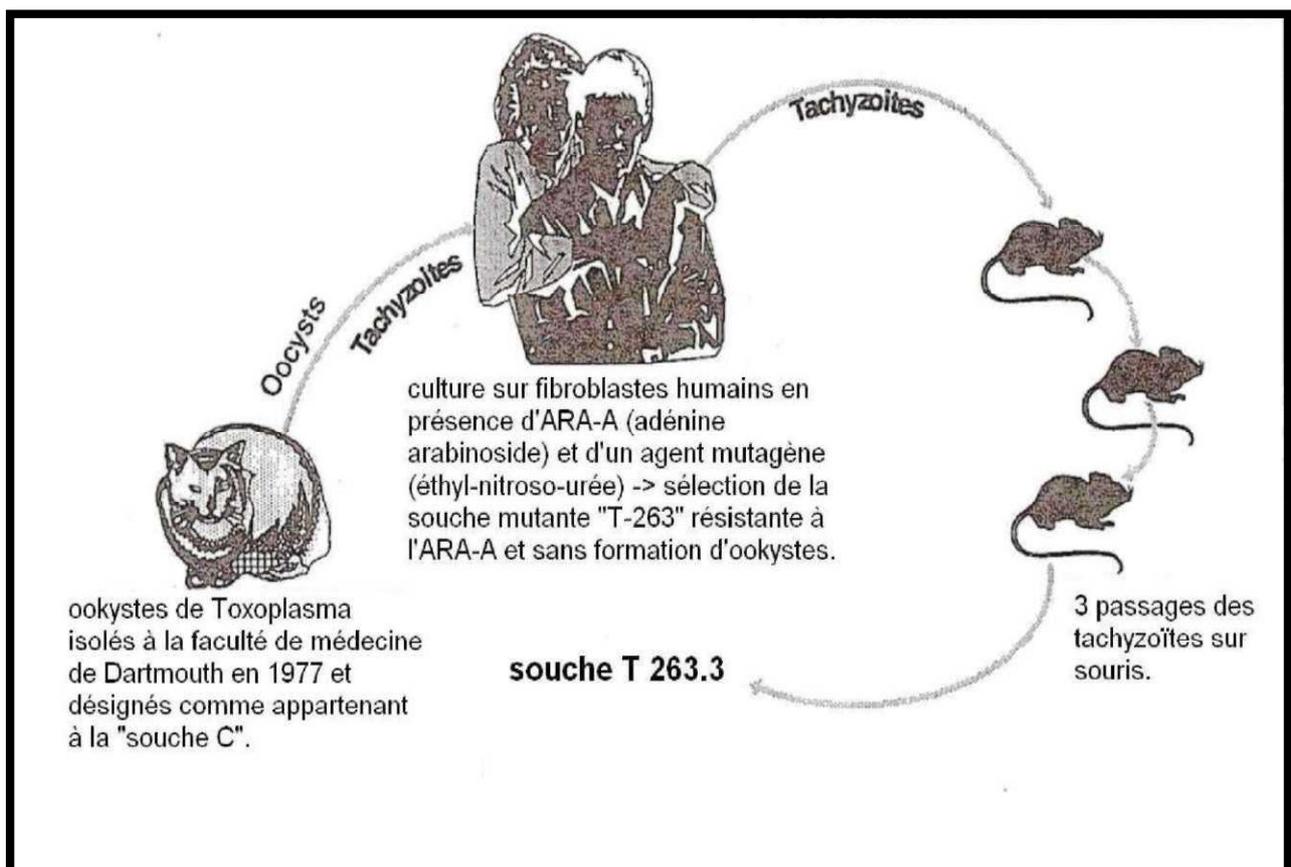
Pour vacciner le chat, on a d'abord essayé d'utiliser un antigène hétérologue, fourni par un toxoplasmatiné voisin du toxoplasme, *Hammondia hammondi*, agent d'une coccidiose du chien, mais les résultats furent décevants (Euzéby J., 1998).

#### VI.1.1. La souche T 263 : caractéristiques et obtention

Le seul vaccin félin qui a été testé sur le terrain aux Etats-Unis est issu d'une souche mutante atténuée du toxoplasme : la souche T 263.

Cette souche induit une immunité qui permet de supprimer l'élimination d'ookystes chez le chat. L'infection coccidienne se limite à la schizogonie, sans gamétogonie ni formation d'ookystes : la partie sexuée du cycle coccidien n'a pas lieu car un seul gamonte (mâle ou femelle) est produit. Ceci permet de diminuer la pression parasitaire dans l'environnement mais ne protège en revanche pas l'animal de l'infection. L'administration du vaccin se fait par voie orale (administration de bradyzoïtes vivants de la souche mutante).

La souche T 263 a été élaborée par incubation de tachyzoïtes de la souche C (de génotype III) de *Toxoplasma gondii* avec du N-méthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (agent mutagène). Ensuite, les tachyzoïtes sont cultivés sur fibroblastes humains ou murins dans un milieu contenant de l'adénine arabinoside (Ara-A). Les mutants résistants à l'Ara-A subissent à nouveau des mutations au contact de l'éthyl-nitroso-urée. La souche mutante T 263 de *Toxoplasma gondii* a été sélectionnée parmi plusieurs clones obtenus (117 clones en tout) parce qu'elle induit une immunité protectrice chez le chat et prévient la formation d'ookystes après infection par une souche sauvage (Frenkel J.K. et al., 1991).



**Figure 10 :** Origine de la souche T-263.3 ARA-A résistante de *Toxoplasma gondii* (Choromanski L. et al. , 1995 d'après Frenkel J.K. et al., 1991).

La vaccination, opérée par voie orale, nécessite deux administrations à intervalle de 3 ou 4 semaines d'un vaccin renfermant 1000 bradyzoïtes. Le vaccin doit être maintenu congelé jusqu'à son utilisation car les parasites ne survivent que quelques heures à température ambiante. Frenkel et al. (1991) ont montré que l'administration de bradyzoïtes de la souche T-263 permettait d'empêcher l'excrétion d'ookystes chez 84% des chatons vaccinés (31 chatons sur 37) et soumis à une infection expérimentale par voie orale, utilisant des bradyzoïtes de la souche sauvage T 265 de *Toxoplasma gondii*.

Freyre a obtenu 100% d'inhibition de l'excrétion d'ookystes chez des chatons immunisés avec des bradyzoïtes de la souche T-263 (Freyre A. et al., 1993). Par contre, la même protection contre l'excrétion d'ookystes n'est pas obtenue avec l'administration de tachyzoïtes de la souche T-263, même lorsque cette administration est faite directement par voie duodénale (afin d'éviter la digestion pepsique), et ce malgré le développement de forts taux d'anticorps (Freyre A. et al., 1993). Cette absence d'immunisation complète chez les chats vaccinés avec un inoculat de tachyzoïtes reste inexplicée.

### **VI.1.2. Etude des risques vaccinaux**

Une étude sur 203 chatons et chats sains (de 2 à 24 mois), séronégatifs pour *Toxoplasma gondii*, a été entreprise afin de démontrer la stabilité de la souche T 263 et son incapacité à produire une toxoplasmose clinique et à entraîner l'excrétion d'ookystes (Choromanski L. et al., 1995).

L'administration du vaccin (bradyzoïtes vivants de la souche T263) se fait par voie orale. Les résultats montrent que le vaccin est 100% sécuritaire: aucun des 203 chats vaccinés n'a excrété d'ookystes ni n'a montré de signes de toxoplasmose clinique après la vaccination. Il a été également montré lors de cette étude que la souche vaccinale était incapable de subir une réversion à la virulence ou à la formation d'ookystes et ne pouvait survivre à des passages successifs sur différents hôtes définitifs (chats). De plus, cette souche est inexistante dans l'environnement car elle ne peut se reproduire chez l'HD, le cycle est donc incomplet.

Lorsque les sujets vaccinés sont infectés par la leucose féline (donc potentiellement immunodéprimés), l'administration de la souche T 263 ne conduit pas à une ré-excrétion d'ookystes en début d'infection (6 à 7 mois post infection). Par contre, s'il s'agit de chats infectés sur le long terme par le FeLV (plus de 11 mois), il existe des risques vaccinaux : mort possible de l'animal suite à la leucose compliquée d'une toxoplasmose clinique. On en a conclu que le vaccin avec la

souche T 263 pouvait exacerber une leucose féline avancée. Il a donc été recommandé d'utiliser ce vaccin vivant atténué sur des chats sains exclusivement.

## **VI.2. Essais vaccinaux chez le chat**

### **VI.2.1. Vaccination par voie intra nasale avec des protéines de rhoptrie**

Une étude a été faite sur des chats vaccinés par voie intra-nasale avec des protéines de rhoptrie brutes du toxoplasme adjuvées par de la saponine Quil-A afin d'évaluer les répercussions sur l'excrétion d'ookystes (Garcia et al., 2007).

Après immunisation intra-nasale de chats séronégatifs avec 3 doses antigéniques (à 0, 21 et 42 jours), les animaux sont soumis à une infection expérimentale avec 600 kystes de la souche VEG au 51ème jour. Tous les chats immunisés ont subi une séroconversion (IgG et IgA détectées) et la protection a été évaluée à 67%.

Chez 2 des 3 chats vaccinés avec des protéines de rhoptrie par la voie intra nasale, aucun ookyste de *Toxoplasma gondii* n'a été trouvé lors d'observation au microscope dans les fèces (entre le 2ème et le 15ème jour après l'infection expérimentale).

Dans cette étude, l'échantillon de chats est très restreint : 3 chats vaccinés avec les protéines de rhoptrie et Quil-A, 3 chats ayant reçu du PBS (phosphate buffered saline) avec Quil-A, 3 chats n'ayant reçu que du PBS mais subissant quand même l'infection expérimentale et enfin 2 chats ayant reçu du PBS seul et non infectés. Il est donc difficile de conclure à une protection vaccinale contre l'excrétion ookystale, d'autant plus que nous avons déjà évoqué la difficulté à mettre en évidence les ookystes de *Toxoplasma gondii* dans les fèces. 109

### **VI.2.2. Vaccination avec des souches de *Toxoplasma gondii* irradiées au Cobalt 60 (60Co-irradiation)**

Les parasites irradiés conservent leur capacité à entrer dans les cellules mais sont incapables de se multiplier une fois dans la cellule hôte. Chez la souris, la vaccination avec des tachyzoïtes irradiés au Cobalt 60 (souches RH ou Beverley de *Toxoplasma gondii*) induit une immunité protectrice efficace même lors d'infection expérimentale avec la souche RH, très virulente.

L'expérience a été renouvelée sur des chats et l'efficacité d'une telle vaccination sur la prévention de l'excrétion d'ookystes a été évaluée : seule la vaccination avec la souche non

virulente de *Toxoplasma gondii* (60 Co-Beverley) permet de prévenir l'excrétion d'ookystes chez seulement 3 chats sur 7 (Omata Y. et al., 1996).

### **VI.2.3. Vaccination avec rROP2 vectorisé par l'herpesvirus félin de type 1 (FHV1)**

Le FHV, pathogène spécifique des félinés, est rendu déficient en Thymidine kinase (TK) : FHVdITK, ce qui permet de le rendre apathogène chez le chat. L'unité d'expression contenant le fragment d'ADN qui encode le précurseur de ROP2 est inséré dans la région codante TK du virus FHV. L'avantage par rapport aux vaccins *Toxoplasma* sous-unitaires, aux vaccins à ADN ou aux vaccins vivants est que le

FHVdITK se propage par contagiosité entre les chats, ce qui est très intéressant dans le cadre d'une immunisation collective sur le terrain mais les risques de mutation et donc de réversibilité à la virulence sont alors fortement augmentés.

La vaccination des chats avec FHV/ROP2 induit la présence d'IgG reconnaissant l'Ag natif, dans le sérum des chats. De plus, ces anticorps inhibent *in vitro* l'invasion des tachyzoïtes. *In vivo*, la vaccination accélère la réponse en IgG après une infection par le toxoplasme et réduit le taux de parasites localisés dans le cerveau chez le chat.

En revanche, la vaccination n'a pas permis une diminution du nombre d'ookystes rejetés par les chats, l'objectif principal n'est donc pas atteint (Mishima M. et al., 2002).

**Tableau 2** : récapitulatif des études d'immunisation contre *T. gondii* menées chez le chat.

vaccin candidat (antigène(s) + vecteur)	adjuvant	animaux utilisés	voie d'administration	infection induite	résultats obtenus	Etude
bradyzoïtes vivants de la souche <b>T263</b>			voie orale	ookystes de la souche <b>T265</b> , voie orale	84% d'inhibition de l'excrétion d'ookystes	<i>Frenkel J.K. et al., 1991</i>
bradyzoïtes vivants de la souche <b>T263</b>		chats SPF(specific pathogen free) entre 9 et 11 semaines, mâles et femelles	voie orale	ookystes de la souche <b>T265</b> , voie orale	100 % de séroconversion et d'inhibition de l'excrétion d'ookystes	<i>Freyre A. et al., 1993</i>
tachyzoïtes de la souche <b>T263</b>			voie orale ou intraduodénale	souche <b>T265</b> , voie orale	séroconversion chez 100% des chats mais inhibition incomplète de l'excrétion d'ookystes	<i>Freyre A. et al., 1993</i>
tachyzoïtes irradiés au Cobalt 60, des souches <b>RH</b> ou <b>Beverley</b>		chats séronégatifs pour <i>Toxoplasma gondii</i> de 3 mois, mâles et femelles	voie intramusculaire	kystes tissulaires de la souche <b>Beverley</b> (II) par voie orale	Inhibition partielle de l'excrétion d'ookystes par immunisation avec la souche <b>Beverley</b> (seulement 3 chats protégés sur 7), absence d'inhibition par immunisation avec la souche <b>RH</b>	<i>Omata Y. et al., 1996</i>
antigène ROP2 (souche <b>RH</b> ) vectorisé par rFHVdITK (feline herpesvirus type 1)		8 siamois SPF de 4 mois	voie intranasale	kystes tissulaires de la souche <b>Beverley</b> (II) par voie orale	absence de kystes cérébraux chez 100% des chats immunisés, pas d'influence sur l'excrétion d'ookystes	<i>Mishima M. et al., 2002</i>
protéines de rhoptrie de tachyzoïtes de la souche <b>LIV-5</b>	Quil-A	3 Short-hair séronégatifs pour <i>Toxoplasma gondii</i> , entre 5 et 8 mois, mâles et femelles	voie intranasale	kystes tissulaires de la souche <b>VEG</b> (III) par voie orale	67% d'inhibition de l'excrétion d'ookystes	<i>Garcia J.L. et al., 2007</i>

## VII. LE VACCIN FELIN IDEAL

Un vaccin idéal doit induire une réponse en anticorps et lymphocytes T cytotoxiques de niveau élevé et de longue durée contre les antigènes parasitaires ainsi qu'une mémoire immunitaire. Il doit aussi être sûr, pratique à manipuler et avoir un coût raisonnable.

En synthétisant toutes les informations apportées précédemment, on peut énumérer les éléments qui caractériseraient une formulation vaccinale contre *Toxoplasma gondii* idéale pour le chat :

- ✚ Le vaccin doit a minima empêcher l'excrétion d'ookystes par le chat (donc enrayer le cycle intestinal du parasite) ou mieux, empêcher également l'infection du chat par *Toxoplasma gondii*,
- ✚ Le vaccin doit stimuler l'immunité locale intestinale car la voie orale est la voie d'infection naturelle du parasite. Par exemple, une vaccination per os permet d'induire une réponse immunitaire muqueuse.

De plus, cette voie d'administration permet d'envisager une vaccination des populations de chats sauvages à l'aide d'appâts alimentaires. Pour ces raisons,

- ✚ Le vaccin doit être stable à température ambiante et les conditions de sa conservation les moins contraignantes possibles,
- ✚ La production du vaccin doit être facile en grande quantité et à faible coût,
- ✚ L'immunité induite doit être de longue durée afin d'espacer au maximum les rappels vaccinaux (point important dans le cadre d'une campagne de vaccination en masse incluant les populations sauvages),
- ✚ Le vaccin doit être sûr (pas de réversion à la virulence possible), à la fois pour l'animal et pour le manipulateur humain. De plus, on doit pouvoir l'administrer à de jeunes chats, tout juste sevrés, avant que ceux-ci ne se contaminent dans leur environnement,
- ✚ Des antigènes de tous les stades parasitaires doivent être présents dans la formulation vaccinale et la souche parasitaire choisie doit permettre une protection croisée, ceci afin d'induire une immunité complète contre le toxoplasme,
- ✚ La réponse immune cellulaire induite par la vaccination doit être majoritairement de type Th1,
- ✚ Si possible, les anticorps vaccinaux doivent pouvoir être distingués des antigènes naturels (cette exigence ne vaut que si on envisage des études de séroprévalence féline).

Les vaccins à ADN multiantigéniques répondent à la plupart de ces exigences, à condition d'être correctement vectorisés et adjuvés. Mais une administration par voie orale n'est pas encore envisageable pour ce type de vaccins, ce qui en fait de mauvais candidats à une campagne vaccinale féline de grande échelle, visant majoritairement les individus errants et sauvages.

L'unique vaccin félin utilisé sur le terrain (souche T 263) ne présente certes pas toutes les qualités requises pour une campagne vaccinale de grande importance. Pour autant, la seule étude ayant évalué l'impact d'une prophylaxie vaccinale féline contre la toxoplasmose (Mateus-Pinilla N.E. et al., 1999) a permis d'encenser une telle mesure en montrant sa répercussion positive sur la séroprévalence des animaux destinés à la consommation, source majeure de contamination humaine.

De multiples outils vaccinaux sont à l'heure actuelle utilisés et avec la plupart des antigènes à l'étude, un certain degré d'immunité protectrice a été obtenu, évalué par une augmentation du taux de survie et une réduction du nombre de kystes cérébraux chez les animaux immunisés (voir Annexe 9 et 10). Il est donc légitime d'aspirer à la mise au point future d'un vaccin félin efficace et compatible avec les contraintes imposées par une vaccination à grande échelle.

Pour l'instant, seule l'administration de tachyzoïtes vivants de la souche atténuée ts-4 de *Toxoplasma gondii* (Gazzinelli R.T. et al., 1991) a permis d'établir une protection complète et de longue durée contre l'infection par la souche RH, sans signes de toxoplasmose aiguë ou chronique (formation de kystes) chez des souris de lignées variées. La variété des antigènes présentés au système immunitaire de l'hôte pourrait expliquer les meilleurs résultats obtenus avec des vaccins vivants atténués par rapport aux vaccins à ADN. Il est probable que l'activation de la réponse immune contre la souche RH et l'amélioration de la protection obtenue contre les souches kystogènes puissent être obtenues avec une combinaison d'antigènes qui cibleraient simultanément le processus d'attachement et d'invasion cellulaire et les protéines métaboliques du parasite. Ceci confirme l'intérêt déjà évoqué d'une vaccination multiantigénique.

De même, les espoirs d'une vaccination anti-toxoplasme humaine résident dans les vaccins à ADN multiantigéniques codants pour des épitopes très immunogènes et adjuvés de manière efficace. Une étude réalisée sur des femmes enceintes déjà infectées auparavant a montré que les antigènes GRA1, GRA7 et SAG1 pouvaient induire une réponse cellulaire avec production de cytokines de type Th1 chez une majorité de patientes en phase chronique de toxoplasmose (Fatoohi A.F. et al., 2002).

Ces antigènes sont donc des candidats pour l'élaboration d'un vaccin permettant de prévenir une toxoplasmose congénitale mais aucun d'entre eux n'a été reconnu par tous les sujets simultanément. La variation considérable dans les réponses cellulaires individuelles aux antigènes toxoplasmiques doit être considérée pour le développement d'un vaccin anti-toxoplasme humain (Fatoohi A.F. et al., 2002).

## CONCLUSION

L'aspect zoonotique mondial de la toxoplasmose en fait une parasitose de première importance ciblée par les organisations de santé publique comme la WHO, qui recommande continuellement la collecte de données épidémiologiques sur l'infection parasitaire. De telles données sont primordiales pour déterminer l'importance relative des différentes sources d'infection humaine, pour contrôler la maladie et ses conséquences. Cependant, très peu de pays dans le monde exercent une surveillance épidémiologique de l'infection humaine, et encore moins de la toxoplasmose animale.

L'importance relative des différentes voies de transmission horizontale du toxoplasme à l'homme reste encore très discutée. Certaines études ont identifié la consommation de viande peu cuite comme le principal facteur de risque, cependant il a été montré qu'au sein d'une population de végétariens stricts, plus de 47% d'entre eux étaient séropositifs (Tenter et al., 2000).

En réalité, la source principale d'infection par *Toxoplasma gondii* est différente d'une population à une autre en fonction des cultures et des habitudes alimentaires.

De nombreux facteurs ont un impact sur l'épidémiologie du parasite : le type de gestion et le mode de production du bétail, les normes d'hygiène à l'abattoir, la densité de chats ou de félins sauvages dans l'environnement, les conditions environnementales ayant un impact sur la sporulation des ookystes (température, humidité, vent), la localisation géographique, les habitudes de consommation humaine, etc. La place du chat dans la transmission de cette parasitose est donc variable suivant les régions du monde mais de manière constante, le chat reste la source initiale de contamination de l'environnement et indirectement des hôtes intermédiaires et de l'homme.

Il semble difficile de mettre en place des stratégies de contrôle qui soient valables partout dans le monde et dans toutes les ethnies. La résolution du problème à sa source : empêcher l'excrétion ookystale par la vaccination de l'hôte définitif (félin), pourrait être une solution à validité mondiale, mais une forte hétérogénéité persisterait sans doute dans son application.

La difficulté d'une vaccination animale à grande échelle ne se confine pas à son élaboration mais également à sa mise en place et son application : le choix de la population ciblée est important (chats sauvages, chats domestiques, âge des animaux lors de la vaccination...). Au terme de notre réflexion, notre choix se portera sur l'ensemble des chatons juste après sevrage, et à minima sur les populations de chats à proximité des zones d'élevage.

Cependant, imposer une vaccination non thérapeutique aux propriétaires de chats domestiques s'avère une mesure plus difficile à faire accepter, le vaccin félin ayant pour principal objectif d'enrayer l'excrétion d'ookystes, sans pour autant empêcher l'infection de l'animal. On pourrait donc qualifier cette mesure de « **vaccination altruiste** » (*Frenkel J.K. et al ; 1991*), le but étant le contrôle d'une zoonose ubiquitaire, et non la préservation de la santé du chat.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFSSA , Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation, Rapport du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'AFSSA, décembre 2005, 316

**Aliberti, J., D. Jankovic, et al. (2004).** "Turning it on and off: regulation of dendritic cell function in *Toxoplasma gondii* infection." *Immunol Rev* 201: 26-34

**Aline, F., D. Bout, et al. (2002).** "Dendritic cells as effector cells: gamma interferon activation of murine dendritic cells triggers oxygen-dependent inhibition of *Toxoplasma gondii* replication." *Infect Immun* 70(5): 2368-74.

**Ambroise-Thomas and E.Pedersen Ed.,** Springer-Verlag, Paris, 2000, 261-269.

**Angus C.W ET AL, Desolme B. AL** Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. *J. Infect. Dis.* 2000, **181** (1), 317-324.

**Bennouna, S., S. K. Bliss, et al. (2003).** "Cross-talk in the innate immune system: neutrophils instruct recruitment and activation of dendritic cells during microbial infection." *J Immunol* 171(11): 6052-8

**Berger F., 2005.** La toxoplasmose en France chez la femme enceinte : séroprévalence et estimation de l'incidence à partir d'enquêtes nationales. Mémoire de Master M2 « Epidémiologie et recherche clinique ». Université Paris XI..

**Beverley J.K.A. (1976)** Congenital toxoplasma infection in animals other than man. Colloque sur la toxoplasmose congénitale. *Lyon. Med.*, 222: 5-20

**Boch J. (1984)** Die Kokzidiose der Katze. *Tierärztl Prax*, 12: 383-390.

**Boehm, U., T. Klamp, et al. (1997).** "Cellular responses to interferon-gamma." *Annu Rev Immunol* 15: 749-95.

**Bonenfant C.ET AL** .Intranasal immunization with SAG1 and nontoxic mutant heat-labile enterotoxins protects mice against *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.* 2001, **69** (3), 16051612.

**Bourdeau P.,** La toxoplasmose des carnivores. *Rec. Méd. Vét.*, 1993, 169 (5-6), 457-472.

**Buzoni-Gatel, D. and C. Werts (2006).** "Toxoplasma gondii and subversion of the immune system." Trends Parasitol 22(10): 448-52.

**Buzoni-Gatel, D., J. Schulthess, et al. (2006).** "Mucosal defences against orally acquired protozoan parasites, emphasis on Toxoplasma gondii infections." Cell Microbiol 8(4): 535-44.

**Chardes T, Bout D., Bourguin I., et al.,** Vaccination par voie muqueuse contre la toxoplasmose. CJF-INSERM « Immunologie des maladies Infectieuses », 1996, 3p.

**Chardes T., Bout D.,** Mucosal immune response in toxoplasmosis. *Res. Immunol.*, 1993, **144** (1):57-60.

**Chen G et al ,** Protective effect of DNA-mediated immunization with a combination of SAG1 and IL-2 gene adjuvant against infection of *Toxoplasma gondii* in mice. *Chin. Med. J. (Engl)*, 2002, **115** (10), 1448-1452.

**Davidson M.G., Rottman J.B., English R.V., Lappin M.R., Tompkins M.B.,** Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am. J. Pathol.* 1993; 143 (5): 1486-1497.

**Davidson M.G.,** Toxoplasmosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2000, 30 (5), 1051-1062

**Davis S.W., Dubey J.P.,** Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. *J Parasitol.* 1995, 81 (6), 882-886.

**Denkers, E. Y. and R. T. Gazzinelli (1998).** "Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection." *Clin Microbiol Rev* 11(4): 569-88

**Desolme B.** Induction of protective immunity against toxoplasmosis in mice by DNA immunization with a plasmid encoding *Toxoplasma gondii* GRA4 gene. *Vaccine.* 2000, **18** (23), 2512-2521.

**Dia F. (1992)** Contribution à l'étude de l'épidémiologie de la toxoplasmose chez les ruminants domestiques au Sénégal. Thèse: Méd. Vét: Dakar n°48.

**Dubey 2002 J.P.**A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasitol.*, 2002, 106: 121-153.

**Dubey J.P., Gamble H.R., Hill D., SREEKUMAR C., ROMAND S., THUILLIEZ P.,** High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. *J Parasitol.* 2002, 88 (6), 1234-1238.

**Dubey J.P.,** Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.*, 1996, 82, 957-961.

**Dubey J.P.,** Toxoplasmosis in dogs. *Canine Practice.* 1985, 81, 887-893

**Dubey J.P.** (1986) Toxoplasmosis in cats. *Feline Pract.*, 16: 12-45.

**Dubey J.P.** (1997) Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-20°C. *J Parasitol.*, 83: 946-949.

**Dubey J.P.** (1998) *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *J Parasitol.*, 84: 862-865.

**Dubey JP.** A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet Parasitol.*, 1986, 22:177-202

**Dubey, J. P. and J. K. Frenkel** (1972). "Cyst-induced toxoplasmosis in cats." *J Protozool* 19(1): 155-77.

**Dumas** (1995) Toxoplasmosis in the republic of Senegal. Sero-epidemiological survey. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales.*, 83(2): 283-285.

**Duncanson P., Terry R.S., Smith J.E., Hide G.,** High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. *Int J Parasitol.* 2001, 31 (14), 1699-1703.

**Dupouy-Camet J., Gavinet M.F., Paugam A., Tourte-Schaefer C.,** Mode de contamination, incidence et prévalence de la toxoplasmose. *Méd. Mal. Inf.*, 1993, 23 (spécial): 13-147

**Euzeby J.** (1987) *Protozoologie médicale comparée.-Volume II.* - Paris: Fondation Merieux.- 475p.

**Euzeby J.** Toxoplasmose. In : *Les parasites des viandes. Epidémiologie, physiopathologie, incidences zoonosiques.* Editions Lavoisier, Paris, 1998, 45-90.

**Fatoohi A.F. ET AL.**, Cellular immune responses to recombinant antigens in pregnant women chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2002, **9** (3), 704-707.

**Frenkel J.K** (2000) Biology of *Toxoplasma gondii*. In: AmbroiseThomas P., Petersen E., editors. Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control. Paris: Springer-Verlag, pp 9-25.

**Frenkel JK, Dubey JP, Miller ML.** *Toxoplasma gondii*: fecal forms separated from eggs of nematodes *Toxocara cati*. *Science*, 1969, 164: 432-33

**Frenkel JK, Dubey JP, Miller ML.** *Toxoplasma gondii*: fecal forms separated from eggs of nematodes *Toxocara cati*. *Science*, 1969, 164: 432-33.

**Freyre A ET AL** I Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, 1993, **79** (5), 716-719.

**Fulton R.D. et Voller A.** (1964) Evaluation of immunofluorescent and direct agglutination methods for specific *toxoplasma* antibodies. *Br. Med. J.*, 2: 1173-1175.

**Garcia J.L. et al.**, Protective activity against oocyst shedding in cats vaccinated with crude rhoptry proteins of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. *Vet. Parasitol.*, 2007, **145** (3-4), 197-206.

**Garcia J.L.**, Vaccination concepts against *Toxoplasma gondii*. *Expert Rev. Vaccines*. 2009, **8** (2),215-225.

**Gazzinelli et al. (1994).** "Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*." *J Immunol* 153(6): 2533-43.

**Gazzinelli, R. T., F. T. Hakim, et al. (1991).** "Synergistic role of CD4+ and CD8+ T lymphocytes in IFN-gamma production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine." *J Immunol* 146(1): 286-92.

**Gazzinelli, R. T., S. Hieny, et al. (1993).** "Interleukin 12 is required for the Tlymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts." *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(13): 6115-9.

**Hutchison WM.** Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature*, 1965, 206: 61-62

**Hutchison WM.** Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature*, 1965, 206: 961-62

**Ismael A.B ET AL** The MIC3 gene of *Toxoplasma gondii* is a novel potent vaccine candidate against toxoplasmosis. *Infect. Immun.*, 2003,**71** (11), 6222-6228.

**Jacobs L. (1973)** New knowledge of *Toxoplasma* and toxoplasmosis. *Adv. Parasit.*, 11: 631-669

**Jewell M.L., Frenkel J.K., Johnson K.M., Reed V., Ruiz A.(1972)** Development of *Toxoplasma* oocyst in neotropical felidae. *Am. J. Trop. Med. Hyg* , 21: 512-513.p

**Kang, H., J. S. Remington, et al. (2000).** "Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN-gamma, TNFalpha, and inducible nitric oxide synthase." *J Immunol* 164(5): 2629-34.

**Kuticic V. et Wikerhauser T. (1996)** Studies of effect of various treatments on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts and oocysts. In:Gross U, editor. *Toxoplasma gondii*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 261-265.

**Lahamdi A. (1992)** Etude comparative de deux techniques sérologiques: Elisa et IFI appliquées au sérodiagnostic de la toxoplasmose ovine dans les quartiers de Dakar et banlieue. Thèse: Méd. Vét.: Dakar n°38

**Lahamdi A. (1992)** Etude comparative de deux techniques sérologiques: Elisa et IFI appliquées au sérodiagnostic de la toxoplasmose ovine dans les quartiers de Dakar et banlieue. Thèse: Méd. Vét.: Dakar n°38

**Lappin M.R., Gasper P.W., Rose B.J., Powell C.C.,** Effect of primary phase feline immunodeficiency virus infection on cats with chronic toxoplasmosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1992, 35 (1-2), 121-131.

**Letscher-Bru V et al** Protective effect of vaccination with a combination of recombinant surface antigen 1 and interleukin-12 against toxoplasmosis in mice. *Infect. Immun.* 1998, **66** (9), 4503-4506.

**Levine ND.** Taxonomy of *Toxoplasma*. *J. Protozool.*, 1977, 24 (1): 36-41.

**Lind P., Buxton D.**, Veterinary aspects of Toxoplasma infection. In “Congenital toxoplasmosis”, P

**Lundén A. et Uggla A. (1992)** Infectivity of Toxoplasma gondii in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *Int. J. Food Microbiol.*, 15: 357-363.

**Martin V et al.**, Recombinant GRA4 or ROP2 protein combined with alum or the gra4 gene provides partial protection in chronic murine models of toxoplasmosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004, **11** (4), 704710.

**Mateus-Pinilla N.E., Dubey J.P., Choromanski L., Weigel R.M.**, A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. *J. Parasitol.*, 1999, **85** (5), 855-860.

**Mateus-Pinilla N.E., ET AL** computer simulation of the prevention of the transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms using a feline *T. gondii* vaccine. *Prev Vet Med.* 1999, **55** (1), 17-36.

**Matsuo J., Kimura D., Rai S. K., Uga S (2004).** Detection of Toxoplasma oocysts from soil by modified sucrose flotation and PCR methods. *Southeast Asian J. Trop .Med .Public Health*, 35(2): 270-274.

**Omata Y.,ET AL.**, Toxoplasma gondii: experimental infection in cats vaccinated with 60Co-irradiated tachyzoites, *Vet. Parasitol.*, 1996, **65** (3-4), 173-183.

**Pestre A. M. Mounier M.** Immunisation active avec les souches avirulentes. *Lyon Méd*, 248 (Numéro hors serie): 95-99.

**Petrovsky N., Aguilar J.C.** Vaccine adjuvants: current state and future trends. *Immunol. Cell.Biol.* 2004, **82** (5), 488-496.

**Piergili Fioretti D. (2004)** Problems and limitations of conventional and innovative methods for the diagnosis of Toxoplasmosis in humans and animals. *Parasitology*, 46(1-2): 177-181.

**Reis e Sousa, C., S. Hieny, et al. (1997).** "In vivo microbial stimulation induces rapid CD40 ligand-independent production of interleukin 12 by dendritic cells and their redistribution to T cell areas." *J Exp Med* 186(11): 1819-29.

**Sabin A.B. et Feldman H.A.** (1948) Dyes as a microchemical indicators of a new immunity phenomenon who affecting protozoon parasite (Toxoplama). *Science*, 108: 660.

**Sato K.** Experimental toxoplasmosis in pregnant cats. *J Vet Med Sci.* 1993, 55 (6), 1005-1009.

**Sato K., Iwamoto I., Yoshiki K.,** Experimental toxoplasmosis in pregnant cats. *J Vet Med Sci.* 1993, 55 (6), 1005-1009.

**Sayles, P. C., G. W. Gibson, et al. (2000).** "B cells are essential for vaccination-induced resistance to virulent *Toxoplasma gondii*." *Infect Immun* 68(3): 1026-33.

**Sher, (1993).** "*Toxoplasma gondii* induces a T-independent IFN $\gamma$  response in natural killer cells that requires both adherent accessory cells and tumor necrosis factor- $\alpha$ ." *J Immunol* 150(9): 3982-9.

**Smooker P.M., ET AL** DNA vaccines and their application against parasites-- promise, limitations and potential solutions. *Biotechnol. Annu. Rev.*, 2004, **10**, 189-236.

**Stahl W., Turek G.** Chronic murine toxoplasmosis: clinicopathologic characterization of a progressive wasting syndrome. *Ann Trop Med Parasitol.* 1988, 82 (1), 35-48

**Suzuki, Y. and J. S. Remington (1988).** "Dual regulation of resistance against *Toxoplasma gondii* infection by Lyt-2+ and Lyt-1+, L3T4+ T cells in mice." *J Immunol* 140(11): 3943-6.

**Tenter A.M., Heckerroth A.R., Weiss L.M.,** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, 2000, 30 (12-13): 1217-12

**Tenter Al 2002,** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, 2000, 30: 1217-1258.

**Tran Manh Sung R. (1982)** Les essais de radio-vaccins dans la toxoplasmose murine. *Lyon Medical*, 248 (Numéro hors serie): 101-106.

**Ulanova M., ET AL** The Common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect. Immun.* 2001, **69** (2), 1151-1159.

**Waldeland H. (1977)** Toxoplasmosis in sheep haematological, serological and parasitological studies. *Acta Vet. Scand.*, 18: 248-265.

**Wu H.Y.**, Nasal lymphoid tissue (NALT) as a mucosal immune inductive site. *Scand. J. Immunol.*, 1997, **46**, 506-513.

**Zhang J. et al.**, Evaluation of the immune response induced by multiantigenic DNA vaccine encoding SAG1 and ROP2 of *Toxoplasma gondii* and the adjuvant properties of murine interleukin-12 plasmid in BALB/c mice. *Parasitol. Res.* 2007, **101** (2), 331-338.

## **Résumé**

La toxoplasmose est une zoonose mondiale dont les impacts en santé humaine et vétérinaire peuvent être importants et variables selon les régions. Pourtant, les mesures prophylactiques s'y rapportant sont peu développées. Cette étude s'intéresse au rôle du chat dans la transmission horizontale de cette parasitose complexe et tente d'évaluer la pertinence de la mise en place d'une prophylaxie vaccinale féline avec les moyens actuels et futurs.

Une première partie fait le point sur l'état des connaissances concernant le cycle, la biologie et les impacts en santé animale et humaine du parasite *Toxoplasma gondii*.

La seconde partie s'intéresse au statut particulier du chat, hôte définitif du parasite, longtemps considéré à ce titre comme principale source de contamination humaine.

Enfin, la problématique de la vaccination féline est abordée et donne lieu, lors d'une troisième partie, à un recensement des différents vaccins existants ainsi que des potentiels outils vaccinaux à l'étude.

## **Abstract**

The toxoplasmosis is a world zoonose the impacts of which in human and veterinary health can be important and variable according to regions. Nevertheless, the preventive measures relating to it are little developed. This study is interested in the role of the cat(chat) in the horizontal transmission of this complex parasitosis and tries to estimate the relevance of the implementation of a feline vaccinal disease prevention with the current and future means. A first part makes the point on the state of the knowledge concerning the cycle, the biology and the impacts in animal and human health of the *gondii* parasite *Toxoplasma*.

The second part is interested in the particular status of the cat(chat), the definitive host of the parasite, for a long time considered as such as main source(spring) of human contamination.

Finally, the problem of the feline vaccination is approached and gives rise, during the third part (party), to a census(inventory) of various existing vaccines as well as potential vaccinal tools in the study.

## **ملخص**

التكسوبلازما هي عبارة عن طفيليات تآثر بصفة هامة و مختلفة على الحياة الصحية للإنسان و الحيوان و ذلك حسب المناطق, و مع ذلك فان التدابير الوقائية المتعلقة بها غير متطورة تركز هذه الدراسة على دور القط في النقل الأفقي لهذا المجمع الطفيلي ومحاولات لتقييم أهمية إنشاء لقاح لوقاية القطط مع الموارد الحالية والمستقبلية.

تقارير الجزء الأول تدرس حالة المعرفة حول دورة، علم الأحياء وأثاره على صحة الإنسان والحيوان للطفيل التوكسوبلازما المقوسة. ويركز الجزء الثاني على المكانة الخاصة للمضيف النهائي للطفيل الذي يعتبر المصدر الرئيسي للعدوى البشرية.

و في الأخير مسألة تطعيم القطط و مناقشة النتائج مع دراسة استقصائية لمختلف اللقاحات و الوسائل المتوفرة لهذه الدراسة.