

République Algérienne Démocratique et
Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للطب



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires

Option : Immunologie animale

Thème :

***Toxoplasma gondii* chez le caprin dans la région de Mila : étude de
la réponse en anticorps par deux tests sérologiques (ELISA et
LAT)**

Réalisé par : DAHMANE Abdeldjalil

Les membres du jury :

	Nom & Prénom	Grade	Institution
Président	AZZAG N.	MCA.	ENSV
Promoteur	GHALMI F.	Pr.	ENSV
Copromoteur	HAFSI F.	MCA.	ENSV
Examineur 1	AIT OUDHIA KH.	Pr.	ENSV
Examineur 2	TENNAH S.	MCA.	ENSV

Année Universitaire : 2017/2018

République Algérienne Démocratique et
Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للطب



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires

Option : Immunologie animale

Thème :

***Toxoplasma gondii* chez le caprin dans la région de Mila : étude de
la réponse en anticorps par deux tests sérologiques (ELISA et
LAT)**

Réalisé par : DAHMANE Abdeldjalil

Les membres du jury :

	Nom & Prénom	Grade	Institution
Président	AZZAG N.	MCA.	ENSV
Promoteur	GHALMI F.	Pr.	ENSV
Copromoteur	HAFSI F.	MCA.	ENSV
Examineur 1	AIT OUDHIA KH.	Pr.	ENSV
Examineur 2	TENNAH S.	MCA.	ENSV

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciement

Je tien à remercier :

*Madame le docteur **AZZAG Naouelle**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire, qu'elle trouve ici le témoignage de notre haute considération avec hommages respectueux,*

*Madame le docteur **AIT OUDHIA Khatima**, notre examinateur qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury, pour son apport critique sur ce travail avec sincères remerciements.*

*Madame le docteur **TENNAH Safia** notre examinateur qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury, pour son apport critique sur ce travail avec sincères remerciements.*

*Tout particulièrement ma directrice de thèse le docteur **GHALMI Farida**, qui a initié ce travail et nous a guidé dans sa réalisation, pour sa disponibilité, son aide précieuse, sa confiance, sa patience, ses conseils et l'efficacité de son encadrement avec profonde gratitude.*

*Madame le docteur **HAFSI Fella** pour sa disponibilité et sa gentillesse à nous aider et conseiller au cours de la réalisation de cette étude, sincères remerciements.*

Toute personne qui a aidé et/ou participé à la réalisation de ce travail, surtout chers collègues vétérinaires praticiens ; Okba, Oussama et Fouad. Ainsi chers amis Samir et Hacem.

Dédicace

Avec un grand amour et beaucoup de respect, je dédie le fruit de mon modeste travail à mes parents,

À ma très chère mère, pour son grand cœur plein d'amour, qui ma donné la tendresse et l'espoir pour tout.

À mon très cher père, à l'homme qui a tellement sacrifié pour moi, à celui qui mérite toute ma reconnaissance.

À ma chère ; Assia et son mari, et ses enfants

À mes très chers frères ; Lyes et Zakaria.

À mes très chères sœurs

À mes collègues ; Housseem, Hacène ; Younes, Noussa, Soumaia et toute la promotion épidémiologie

À mes très chers amis ; Samir, Mouad, Abdo (Bobi), Zala, Fouad, Oussama, Taj et cher ami Abdoun.

À tous ceux que je ne saurais citer, mais que je porte dans mon coeur.

Jaliliano

Résumé

Cette étude a été réalisée pour déterminer la séroprévalence et les facteurs de risques de la toxoplasmose caprine dans une région située dans l'Est de l'Algérie et précisément dans la wilaya de Mila. Entre Janvier et Avril 2017, un échantillon représentant 184 caprins a été testé par deux techniques sérologiques : l'Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) et le test d'agglutination au latex (LAT). Un taux de séropositivité de 71,73% (IC95%, 64%-79,4%) et de 63,58% (IC95%, 56.43%- 70.20%) a été obtenu par ELISA et LAT respectivement.

L'analyse de certains facteurs supposés être en rapport avec l'apparition de l'infection par *T.gondii* n'a montré aucun lien significatif entre ces facteurs et la réponse en anticorps anti-*T.gondii*.

De façon inattendue, la présence de chats dans les élevages caprins n'a pas influé sur le taux de séroprévalence vis à vis de *T.gondii* ($p>0,05$).

En revanche, une différence significative dans la séroprévalence vis-à-vis du parasite a été rapportée chez les chèvres ayant avorté comparée à celles n'ayant pas avorté ($p=0,007$), montrant une séropositivité plus marquée chez les avortantes, ce qui suggère un possible échec de la gestation du à *T.gondii* chez cette espèce animale.

En comparant les performances des tests ELISA et LAT, nous avons pu montrer que les deux tests donnent des résultats significativement différents ($p<0,05$) avec une valeur de Kappa de 0,5 signifiant une concordance juste moyenne entre les deux tests.

Devant cette situation de forte séropositivité vis-à-vis de *T.gondii*, la chaleur et l'humidité présentes dans la région semblent jouer le rôle le plus important dans la maturation et la survie des oocystes sévissant dans le sol et participant ainsi au maintien d'une prévalence élevée.

Mots clés : Caprin, *Toxoplasma gondii*, Séroprévalence, ELISA, LAT, Mila.

Abstract

This study was conducted to determine the seroprevalence and risk factors of the caprine toxoplasmosis in a region located in the East of Algeria and precisely in the wilaya of Mila. Between January and April 2017, a sample representing 184 goats has been tested by two serological technique: the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the latex agglutination test (LAT). A rate of seropositivity of 71,73% (IC95%, 64%-79,4%) and 63,58% (IC95%, 56.43%- 70.20%) has been obtained by ELISA and LAT respectively.

The analysis of some factors supposed to be in relation with the onset of infection by *T.gondii* showed no significant link between these factors and the response in antibody anti-*T.gondii*.

Unexpectedly, the presence of cats in the farms goats did not affect the rate of seroprevalence toward *T.gondii* ($p>0.05$).

In contrast, a significant difference in the seroprevalence of the parasite has been reported in goats have aborted compared to those not having aborted ($p=0.007$), showing a *T. gondii* status more marked among aborted, suggesting that *T.gondii* either a non-negligible cause of failure of the gestation in this animal species.

By comparing the performance of ELISA and LAT, we have been able to show that the two tests give results significantly different ($p<0.05$) with a value of Kappa 0.5 meaning that the concordance between the two tests is just average.

Before this situation of high *T. gondii* infection, the heat and the moisture present in the region seem to play the most important role in the maturation and survival of oocysts is rampant in the soil and thus participating in the maintenance of a high prevalence.

Key words: Goat, *Toxoplasma gondii*, Seroprevalence, ELISA, LAT, Mila.

ملخص

تهدف هذه الدراسة الاستقصائية التي اجريت إلى تحديد حاملي الأجسام المضادة وعوامل الخطر من الإصابة بداء المقوسات القوندية (التوكسوبلازما) عند الماعز في منطقة تقع شرق الجزائر تحديدا في ولاية ميله. بين جانفي و أفريل 2017, أخذت عينات تمثل 184 من الماعز وأجريت عليها إختبارات مصلية باستعمال تقنيتين : المقايسة المناعية المرتبطة بالإنزيم والإختبار اللثي غير المباشر. أظهرت النتائج نسبة الإصابة ب 71,73% و 63,58% على التوالي. دراسة بعض العوامل ذات الصلة المحتملة بظهور داء القطط (التوكسوبلازما) لم تُظهر اي إرتباط نوعي بين هاته العوامل و الاستجابة بالأجسام المضادة *anti-T. gondii*. على نحو غير متوقع, فإن وجود القطط في أماكن تربية الماعز لا يُؤثر إطلاقا على معدل الإصابة بطفيلي التوكسوبلازما ($P>0,05$).

ومن ناحية أخرى , هناك اختلاف كبير و نوعي في حاملي الأجسام المضادة الخاصة بهذا الطفيلي عند أنثى الماعز المجهضة مقارنة بالثني لم تُجهض, ما يُظهر نسبة إصابة أكثر عند الإناث المُجهضة, مُقترحا الطفيلي المقوسات القوندية كسبب لا يستهان به في فشل الحمل (الإجهاض) عند هذا النوع من الحيوان. بمقارنة القدرة و الكفاءة التشخيصية لهذه الإختبارات, أظهرنا أنها تُعطي نتائج مختلفة نوعيا ما يدل على توافق متوسط بين كلا الإختبارين, حيث قيمة كبا 0.50.

أمام هذه النسبة العالية من الإصابة بداء المقوسات, الحرارة و الرطوبة المُميزة لمنطقة الدراسة قد تلعب الدور الأهم و المعتبر في نُضج و بقاء البويض المتحوصلة, المنتشرة بشدة في التربة أو على السطح, ما يُشارك في الحفاظ على نسبة عالية من الإصابة بهذا الطفيلي.

كلمات دلالية : ماعز, ميله, *Toxoplasma gondii* المسح المصلي, LAT,ELISA

Liste des tableaux

Tableau 1 : Séroprévalence de <i>T. gondii</i> chez le caprin dans les différentes régions du monde.	20
Tableau 2 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'infection par <i>T. gondii</i> en tenant compte des résultats obtenus par la technique ELISA.	83
Tableau 3 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'infection par <i>T.gondii</i> par le test LAT.	84
Tableau 4 : Comparaison de la technique LAT avec l'ELISA indirect pris comme test de référence dans le dépistage de l'infection par <i>T.gondii</i> chez le caprin.	85

Liste des figures

Figure 1 : Ultrastructure de <i>T.gondii</i> (tachyzoïte) (Joiner et Roos, 2002).	6
Figure 2 : Stades biologiques de <i>T.gondii</i> : Tachyzoïtes observés après coloration au May-Grünwald-Giemsa (Villena et Dardé, 2005).	8
Figure 3 : Différentes voies de transmission de <i>T.gondii</i> (Tenter, 2000).	10
Figure 4 : Cycle évolutif de <i>T.gondii</i> (Adapté d’après Robert-Gangneux et Dardé, 2012).	12
Figure 5 : Invasion et modulation des fonctions de la cellule hôte par <i>T.gondii</i> (El Hajj et al., 2007).	34
Figure 6 : Différents stades d’invasion de la cellule hôte par <i>T. gondii</i> (Garcia-Reguet et al., 2000).	39
Figure 7 : Différentes phases de migration des tachyzoïtes de <i>T. gondii</i> (Guiton, 2008).	43
Figure 8 : Réponse immunitaire innée durant l’infection par <i>T. gondii</i> (Hunter et Sibley, 2012).	47
Figure 9 : TLRs impliqués dans la reconnaissance de <i>T.gondii</i> (Yarovinsky, 2014).	48
Figure 10 : Model de la réponse immune mucoale lors d’infection par <i>T. gondii</i> (Schulthess et al., 2008).	50
Figure 11 : Séquence d’événements aboutissant à la libération des Cryptidines lors d’infection par <i>T.gondii</i> (Foureau, 2008).	51
Figure 12 : Trafic des monocytes inflammatoires lors d'une infection par <i>T. gondii</i> (Dunay et Sibley, 2010).	54
Figure 13 : Sources cellulaires d’IFN γ durant l’infection à <i>T.gondii</i> (Yarovinsky, 2014).	57
Figure 14 : Mécanismes de résistance à <i>T.gondii</i> induits par l’IFN γ (Yarovinsky, 2014).	58
Figure 15 : Modulation de la signalisation immune de cellule hôte par <i>T.gondii</i> (Hunter et Sibley, 2012).	60
Figure 16 : Représentation schématique de l’immunité adaptative anti- <i>T.gondii</i> (Guiton, 2008).	61
Figure 17 : Mécanismes pro inflammatoires anti- <i>T. gondii</i> et régulation par les lymphocytes intra-épithéliaux (Kasper, 2004).	63

Liste des Figures

Figure 18 : Contrôle de la réponse pro-inflammatoire durant l'infection à <i>T. gondii</i> (Reis e Sousa et <i>al.</i> , 1999).	66
Figure 19 : Cinétique de la réponse en anticorps chez l'homme infecté par <i>T. gondii</i> (Robert-Gangneux et Dardé, 2012).	67
Figure 20 : Localisation de la région d'étude (commune Zéghaia et Terrai Bainen) au sein de la wilaya de Mila.	72
Figure 21 : Séroprévalence individuelle vis-à-vis de <i>T.gondii</i> en utilisant le test ELISA.	78
Figure 22 : Séroprévalence troupeau vis-à-vis <i>T.gondii</i> en utilisant le test ELISA Indirect.	79
Figure 23 : Fréquence de distribution de la séroprévalence intra-troupeaux de <i>T. gondii</i> par le test ELISA.	79
Figure 24 : Variation de la séroprévalence de <i>T.gondii</i> en fonction du degré de séropositivité selon le test ELISA.	80
Figure 25 : Séroprévalence individuelle vis-à-vis de <i>T.gondii</i> par le test LAT.	81
Figure 26 : Séroprévalence vis-à-vis de <i>T.gondii</i> au niveau du troupeau par le test LAT.	81
Figure 27 : Distribution de la séroprévalence intra-troupeau de <i>T.gondii</i> par le test LAT.	82
Figure 28 : Variation de la séroprévalence de <i>T.gondii</i> en fonction du statut abortif de la chèvre analysée par le test ELISA.	83

Liste des abréviations

Ac anticorps

Ag antigène

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messenger

AFSSA agence française de sécurité sanitaire des aliments

ATPase: adenosine triphosphatase

CCL: chemokine ligand

CCR : Chemokine motif CC receptor

CD : Cluster de différenciation

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : celles présentatrices d'antigènes

CTL: cytotoxicité lymphocytaire

DAD domain : self-regulatory diaphanous auto-inhibitory domain

DAT : Direct agglutination test (test d'agglutination directe)

DC (ou CD) : Dendritic cells

DO : Densité optique

DSA : Direction des services agricoles

ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay

ENSV : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

FC : Fixation du complément

FIV feline immunodeficiency virus

G-CSF granulocyte-colony stimulating factor

GM-CSF: Granulocyte Macrophage- Colony Stimulating Factor

GPI: glycosyl-phosphatidyl-inositol

GRA: protéines de granules denses

HD hôte définitif

HI hôte intermédiaire

HIF1 hypoxia-inducible factor1

HSP: Heat Shock Protein

IC95% : Intervalle de confiance à 95%

IDO : indolamine dioxygénase

IEC : Intestinal Epithelial cells

IFAT : Immunofluorescence antibody test (test d'immunofluorescence)

IFN- γ : Interféron gamma

IgA: Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgG: Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

IGTP : GTPase interféron inductible

IHAT : Indirect haemagglutination test (test d'hémagglutination indirecte)

Liste des Abréviations

IL: Interleukine
iNOD: oxyde nitrique synthase inductible
iNOS : nitrique oxyde synthase inhibitor
IP : Injection intrapéritonéale
IQ : imidazoquinoline
IRG GTPases liées à l'immunité
kDa: kilo dalton
KO : knockout
LAT : Latex agglutination test (test d'agglutination au latex)
LB : Lymphocyte B
LBP: LPS binding protein
LIE: lymphocytes intraépithéliale
LXA4 lipoxine A4
LPS: lipopolysaccharides
LT : Lymphocyte T
MICs: Micronèmes
MPL : monophosphoryl lipide
MyD88 : Myeloid differentiation primary response gene 88
MAT : Modified agglutination test (test d'agglutination modifié)
NaCl : chlorure de sodium
NETs: Neutrophil extracellular traps
NF- κ B: Nuclear Factor –kapper B
NKT : Natural Killer T
NO: oxyde nitrique
NOS : nitrique oxyde synthase
OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale
PAMP : Pathogen-Associated Molecular Patterns
PCR : Polymerase Chain Reaction
PI3-kinase: phosphoinositide 3-kinase
PMN: polymorphonucléaires
PRRs: Pattern-Recognition Receptors
RE: reticulum endoplasmique
ROI : intermédiaires réactifs de l'oxygène
ROP : Rhoptrie
SAG1: protéine de surface de *T.gondii*
SFDT : Sabin Feldman Dye Test
SDS: Sodium dodecyl Sulfate
SIDA: Syndrome de l'immunodéficience acquise
TAP: transporter associated with antigen processing
TCR: T cell receptor
***T. gondii* :** *Toxoplasma gondii*
TGF- β : Tumor Growth factor beta
TgMyo: *Toxoplasma gondii* myosine
Th: T helper

Liste des Abréviations

TLR: Toll Like Receptors

TNF- α : Tumor Necrosis Factor

TOXO : Toxoplasmose

TRAM: Trif Related Adapter Molecule

TRIF: TIR-domain-containing-adapter inducing interferon- β

TIR: Toll/IL-1 receptor

VP: vacuole parasitophore

μ L microlitre

Mg milligramme

ML millilitre

μ m: micromètre

Sommaire

Résumé	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des Abréviations	
Introduction	1
Première partie ; Étude bibliographique	3
Chapitre premier ; <i>Toxoplasma gondii</i>	3
I. Définition et importance	3
I.1. Définition	3
I.2. Importance	3
II. Historique et taxinomie	5
III. <i>Toxoplasma gondii</i>	6
III.1. Morphologie et résistance	6
III.2. Cycle infectieux	9
III.2.1. Cycle asexué	10
III.2.2. Cycle sexuée	11
III.3. Génotypes et virulence	13
Chapitre seconde ; Toxoplasmose maladie	15
I. Épidémiologie	15
I.1. Épidémiologie descriptive	15
I.2. Épidémiologie analytique	15
I.2.1. Sources de parasites	15
I.2.2. Facteurs de réceptivité	16
I.2.3. Facteurs favorisants	16
I.3. Modes de contamination	17
I.3.1. Voie digestive	17
I.3.2. Voie transplacentaire	18
I.3.3. Greffe d'organe et transfusion	18
I.4. Incidence de Toxoplasmose	18
I.4.1. Incidence chez l'animal	18
I.4.2. Incidence chez l'homme	20
II. Aspects cliniques et nécropsiques	20
II.1. Manifestations cliniques chez l'animal	20
II.1.1. Chez les petits ruminants	21
II.1.2. Chez les félins	22
II.1.3. Chez le chien	23
II.1.4. Chez les Oiseaux	23

II.1.5. Chez les autres mammifères	23
II.2. Manifestations cliniques chez l'homme	24
II.2. Lésions	24
II.2.1. Lésions macroscopiques	24
II.2.2. Lésions microscopiques	25
III. Diagnostic	25
III.1. Changements pathologiques	25
III.2. Bio-essai et détection de <i>T.gondii</i>	26
III.3. Sérologie	27
III.3.1. Techniques sérologiques	27
III.3.2. Test et cinétique d'apparition des immunoglobulines	29
IV. Traitements	30
V. Prévention	31
Chapitre trois ; Pathogénie et virulence	32
I. Loci impliqués dans la virulence	32
II. Facteurs de virulence	32
III. Migration, multiplication et virulence	34
IV. Interconversion et pathogénèse	34
V. Aspects moléculaires d'invasion et de pathogénie	35
V.1. Motilité et invasion	36
V.2. Attachement du parasite à la cellule hôte	38
V.2.1. Rôle des micronèmes	39
V.2.2. Rôle des autres protéines	39
V.3. Formation de la vacuole parasitophore	40
V.4. Maturation de la vacuole parasitophore	40
VI. Physiopathologie de l'infection par <i>T.gondii</i>	41
Chapitre quatre ; Immunité anti- <i>T.gondii</i>	45
I. Réponse immunitaire innée	45
I.1. Schéma de l'immunité innée	45
I.2. TLRs impliqués dans la reconnaissance de <i>T.gondii</i>	46
I.3. Cellules impliquées dans l'immunité innée	48
I.3.1. Cellules épithéliales intestinales IEC	48
I.3.2. Cellules dendritiques	50
I.3.2.1. Activation des cellules dendritiques	50
I.3.2.2. Présentation antigénique par les cellules dendritiques	51
I.3.2.3. Production d'IL12 par les cellules dendritiques	51
I.3.3. Système Monocytes/Macrophages	52
I.3.3.1. Monocytes	52
I.3.3.2. Macrophages	53
I.3.4. Polynucléaires neutrophiles	54
I.3.5. Autres cellules immunitaires	55
I.4. Rôle de l'IFN γ dans la réponse innée	55
I.4.1. Synthèse d'IFN γ	55
I.4.2. Mécanismes de protection induits par l'IFN γ	56

I.5. Subversion du système immunitaire innée par <i>T.gondii</i>	57
II. Réponse immunitaire adaptative anti- <i>T.gondii</i>	59
II.1. Réponse immunitaire cellulaire	60
II.1.1. Rôle des lymphocytes	60
II.1.1.1. Lymphocytes T CD8+	61
II.1.1.2. Lymphocytes T CD4+	62
II.1.1.2.1. Lymphocytes T CD4+ de la lamina propria	62
II.1.1.2.2. Lymphocytes T CD4+ effecteurs	62
II.1.1.2.2.1. Lymphocytes Th1	63
II.1.1.2.2.2. Lymphocytes T CD4+ Th2	63
II.1.1.2.2.3. Lymphocytes Th17	65
II.1.1.2.2.4. Lymphocytes T régulateurs	65
II.2. Réponse immunitaire humorale	66
II.2.1. Détection et Cinétique de la réponse humorale	66
II.2.2. Rôle des lymphocytes B	67
II.2.3. Rôle des anticorps anti- <i>T.gondii</i>	68
II.2.3.1. Réponse muqueuse	68
II.2.3.2. Réponse systémique	68
Deuxième partie ; Étude expérimentale	70
I. Objectif	70
II. Matériel et méthodes	70
II.1. Description de la région étudiée	70
II.2. Description du cheptel caprin	72
II.3. Echantillonnage et prélèvement	72
II.4. Établissement d'un questionnaire	73
II.5. Analyses sérologiques	73
II.5.1. Latex Agglutination Test (LAT)	74
II.5.2. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)	75
II.6. Analyses statistiques	75
III. Résultats	77
III.1. Étude de la séroprévalence vis-à-vis d'une infection par <i>T.gondii</i>	77
III.1.1. Étude de la séroprévalence par la technique ELISA indirect	77
III.1.2. Étude de la séroprévalence par le test d'agglutination le LAT	80
III.2. Étude des facteurs de risque	81
III.2.1. Analyse des facteurs de risque avec le test ELISA	81
III.2.2. Analyse des facteurs de risque avec le test d'agglutination le LAT	83
III.3. Étude de la comparaison des deux techniques sérologiques	83
IV. Discussion	85
IV.1. Protocole de l'étude et biais de conception	85
IV.1.1. Méthode d'échantillonnage	85
IV.1.2. Questionnaire épidémiologique	86
IV.1.3. Techniques sérologiques	86
IV.2. Séroprévalence de l'infection par <i>T.gondii</i> chez le caprin	88
IV.3. Analyse des facteurs de risque associés à une infection par <i>T.gondii</i>	92

IV.4. Séroprévalence vis-à-vis de <i>T.gondii</i> et Avortement	104
IV.5. Étude de la comparaison de deux tests ELISA et LAT	105
Conclusion	109
Bibliographie	
Annexe	

Introduction

Introduction

La toxoplasmose est signalée dans le monde entier, elle est généralement bénigne chez la majorité des animaux. Cependant, dans d'autres cas, elle semble être la cause de la résorption embryonnaire, la momification, les avortements, les mortalités néonatales ou la naissance de nouveau-nés faibles et non viables chez les petits ruminants.

La distribution de *Toxoplasma gondii* protozoaire responsable de cette affection parasitaire varie beaucoup selon les espèces, les fermes et les pays. Les moutons, les chèvres et les porcs sont les espèces les plus sensibles enregistrant les plus fortes séroprévalences et constituent un danger potentiel pour les humains.

En Algérie, les données sur l'infection par *T. gondii* chez les humains et les animaux domestiques utilisés principalement pour la consommation humaine sont rares. La séroprévalence humaine est estimée à 51,56%. En revanche, aucune étude n'est disponible sur la séroprévalence de la toxoplasmose animale et son implication comme origine probable des avortements chez les animaux de la ferme.

Les études sur les facteurs de risque pour les cas de toxoplasmose humaine sont relativement liées à une infection alimentaire lors de la consommation de viande crue ou insuffisamment cuite pouvant contenir des kystes à bradyzoïte (Slifko et al., 2000; Tenter et al., 2000; Ogendi et al., 2013).

La consommation de lait ou des sous-produits de lait contenant des tachyzoïtes de *T.gondii* peut causer l'infection chez les animaux et les humains (Dubey et Beattie, 1988; Ataseven et al., 2006).

La toxoplasmose chez les chèvres est plus largement étudiée en raison de son importance pour la santé humaine, car la consommation du lait de chèvre est recommandée généralement aux enfants allergiques au lait de vache mais aussi en raison de ses vertus thérapeutiques connues et des habitudes alimentaires traditionnelles des villageois.

De plus, selon Smith (1993), la viande ovine et de lait caprin infectés semblent être considéré comme la principale source d'infection pour l'homme.

Par ailleurs, en Algérie, la consommation de viande insuffisamment cuite est considérée comme un facteur de risque majeur pour une infection par *T.gondii* chez la femme enceinte (Messerer et al., 2014).

Par conséquent, une étude sur *T. gondii* chez le bétail est nécessaire afin de détecter le risque potentiel d'infection humaine, surtout quand on sait que la consommation de viande insuffisamment cuite et de lait cru sont une tradition populaire chez les citoyens de la région.

À ce jour, aucune mesure de protection n'a été prise par les agriculteurs chez les différents troupeaux car les répercussions sanitaires et économiques de cette maladie sont inconnues.

Notre travail se résume en une contribution à la connaissance de la circulation de *T.gondii* au sein des élevages caprins dans la région de Milla à travers une étude sur la réponse en anticorps spécifiques de *T.gondii* par deux tests sérologiques différents (l'ELISA et le LAT). Cette étude nous a permis aussi d'étudier les facteurs de risque de transmission de cette infection protozoale et de son rôle très probable dans les phénomènes d'avortement observés sur terrain.

Enfin, un autre but a été tracé est celui de l'évaluation des performances des deux tests ELISA et LAT dans la détection de l'infection toxoplasmique chez les caprins.

Étude
Bibliographique

Chapitre **1**

Toxoplasma gondii

I. Définition et importance

I.1. Définition

La toxoplasmose est une anthroponose ubiquitaire largement répandue dans le monde, de plus en plus préoccupante dans le domaine de la médecine humaine et vétérinaire, causée par un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire, *Toxoplasma gondii*, devenue ces dernières années une maladie opportuniste majeure. Cette infection parasitaire est généralement asymptomatique chez les individus immunocompétents mais elle peut se révéler fatale, en absence de traitement, chez les patients immunodéprimés (sidéens, patients greffés ou atteints d'un cancer). La toxoplasmose encéphalique est le syndrome clinique le plus fréquent chez les sidéens, développé par 20 à 50% des patients (Luft et Remington, 1992).

Elle est responsable des pertes économiques majeures chez toutes les catégories de bétail en particulier chez les moutons (Buxton, 1990), elle a une pertinence économique tant pour la médecine vétérinaire que pour la médecine humaine. La toxoplasmose acquise chez les ovins, les caprins et les équins est subclinique, mais la fièvre, l'ataxie, la dégénérescence rétinienne et l'encéphalomyélite peuvent se développer (Hill et al., 2005). Les moutons et les chèvres peuvent acquérir l'infection sur des pâturages contaminés et / ou par la consommation d'eau contaminée par des oocystes d'origine féline (Vesco et al., 2007).

L'infection toxoplasmique chez l'homme se produit le plus souvent par ingestion de viande infectée, des aliments souillés par de la terre contenant les oocystes ou par transmission congénitale de la mère au fœtus. Les deux principaux organes cibles du parasite sont le cerveau et l'œil où *T. gondii* peut causer une encéphalite et une rétinocoroïdite (Luft et Remington, 1992).

I.2. Importance

L'infection par *Toxoplasma gondii* est très répandue chez l'homme et existe partout dans le monde. L'incidence de cette infection varie en fonction de la zone géographique. En Europe, la séroprévalence chez l'homme est élevée, allant jusqu'à 54% dans les pays du sud de l'Europe, mais est plus faible dans les pays Nordiques tel la Suède ou la Norvège (5-10%) (Jenum, 1998; Evengard, 2001). Sur le continent Américain, la séroprévalence de *T. gondii* reste limitée aux Etats-Unis (16-40%) tandis qu'elle atteint 50 à 80% de la population dans les pays d'Amérique centrale et d'Amérique du sud (Jones, 2003 et Bahia-Oliveira, 2003). De façon générale, la probabilité et la fréquence de contact avec le parasite est élevée parmi les populations vivant dans des milieux socio-économiques pauvres pouvant être contaminés par des eaux souillées (McQuillan, 2004). La France, avec une séroprévalence de l'ordre de 55%,

fait figure d'exception. Dans ce dernier cas, la forte séroprévalence de *T. gondii* est probablement due à des habitudes alimentaires notamment la consommation de viande saignante (Zuber, 1995; Berger, 2007).

- **Importance médicale et économique chez les petits ruminants**

La gravité de la toxoplasmose chez les moutons et les chèvres est associée au stade de la gestation. L'infection au stade précoce de la gestation peut entraîner la mort, la résorption et l'avortement fœtale, alors que l'infection au stade ultérieur de la gestation peut ne pas avoir d'effet clinique et les agneaux sont généralement infectés et immunisés (Dubey et Beattie, 1988; Buxton et *al.*, 2007).

Chez les petits ruminants, la toxoplasmose est une source majeure d'avortement et de mortinatalité, mais une infection subclinique peut également se produire chez les animaux adultes (Buxton, 1990; Hassig et *al.*, 2003; Innes et *al.*, 2007). Les taux de mortalité (y compris l'avortement caprin et la mortalité néonatale) chez les troupeaux affectés peuvent atteindre 50%, et dans des cas subcliniques, ces pertes sont faibles (Radostits et *al.*, 1994).

Cependant, la maladie est bénigne si les oocystes sont ingérés par une brebis non gestante. Cette dernière héberge alors des bradyzoïtes et s'immunise. Si la brebis est gestante, les conséquences de l'infection peuvent devenir sévères (Owen et *al.*, 1998).

- **Importance sanitaire : la toxoplasmose est une zoonose majeure**

La contamination de l'homme dépend de son mode de vie et ses habitudes alimentaires (Tenter et *al.*, 2000). En effet, l'homme peut être contaminé en ingérant des oocystes rejetés par les chats ou en consommant de la viande ou des viscères peu cuites et contenant des kystes à bradyzoïtes, ou encore en consommant du lait non pasteurisé d'animaux infectés par des tachyzoïtes (Dubey, 1994). Les chèvres sont des animaux économiquement importants dans de nombreux pays et constituent la principale source de viande et de lait aux populations islamiques (Neto et *al.*, 2008), ces denrées est une source importante d'infection par *Toxoplasma* chez les humains où la consommation de lait de chèvre non pasteurisé est courante en raison des traditions culturelles (Pal et *al.*, 1995, 1996; Dubey, 1996; Jittapalapong et *al.*, 2005; Ghoneim et *al.*, 2009).

Des enquêtes sérologiques ont été menées dans diverses parties du monde et montrent que plus d'un tiers de la population humaine possède des anticorps contre *T. gondii*. Cette forte séroprévalence chez l'homme démontre son importance en tant que maladie zoonotique (Bisson et *al.*, 2000).

Souvent bénigne, la toxoplasmose peut parfois être très grave, essentiellement chez les personnes immunodéprimées. La contamination d'une femme enceinte, si elle a lieu à un stade précoce de la grossesse, peut conduire à un avortement. A un stade plus avancé, l'enfant peut naître viable mais développer des lésions oculaires et nerveuses. Il s'en suit donc un retard mental ou une perte de la vision dans les premières années de vie (Dubey, 1994).

En conclusion, la toxoplasmose est une maladie essentielle à étudier car outre son importance économique en élevage, elle a aussi une importance sanitaire puisqu'il s'agit d'une zoonose dont les conséquences sont majeures.

II. Historique et taxinomie

Toxoplasma gondii fut découvert pour la première fois chez le rongeur africain *Ctenodactylus gundii* par Nicolle et Manceaux en 1908 à l'Institut Pasteur de Tunisie (Nicolle et Manceaux, 1908) et chez le lapin par Splendor au Brésil (Splendor, 1908). Au cours des années suivantes, il fut observé chez de nombreux animaux mais ce n'est qu'en 1923 qu'un ophtalmologiste découvre sa présence dans des lésions oculaires chez un enfant (Janku, 1923). Dès 1941, Sabin décrit le premier cas d'encéphalite toxoplasmique et montre que *T. gondii* est la seule espèce du genre *Toxoplasma* (Sabin, 1941). Le cycle naturel du parasite ne fut expliqué qu'en 1970 par Frenkel et Hutchinson après la découverte des oocystes et du rôle du chat comme hôte définitif (Frenkel *et al.*, 1970; Hutchinson *et al.*, 1970). Le rôle de la consommation de viande insuffisamment cuite dans l'infection humaine n'a été clairement identifié que dans les années 1960 (Desmonts et Couvreur, 1965). Le diagnostic de la toxoplasmose chez l'Homme a été effectué pour la première fois en 1939 (Wolf *et al.*, 1939).

Dans un premier temps, il s'est appelé *Leishmania gondii* du fait de sa grande ressemblance avec le parasite *Leishmania*. Un an plus tard, il fut rebaptisé *Toxoplasma gondii* du grec « toxon » (arc) et « plasma » (forme) (Nicolle et Manceaux, 1909).

Il a été rattaché au phylum des Apicomplexes majoritairement constitué de parasites intracellulaires obligatoires (Levine, 1977), à la classe des Coccidies grâce à des études de microscopie électronique et plus précisément aux Coccidies formant des kystes tissulaires (Barta, 2001; Tenter *et al.*, 2002).

Finalement, sa classification systématique actuelle est la suivante (Barta, 2001; Su *et al.*, 2003) :

Règne : *Protista*

Phylum : *Apicomplexa*

Classe : *Coccidia*

Famille : *Sarcocystidae*

Sous-famille : *Toxoplasmatinae*

Genre : *Toxoplasma*

Espèce : *Toxoplasma gondii*

III. *Toxoplasma gondii*

III.1. Morphologie et résistance

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) est un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire des cellules nucléées (Sabin et Olitsky, 1937; Dubey et *al.*, 1998). C'est un parasite qui infecte tous les animaux sauvages et domestiques homéothermes, c'est-à-dire les mammifères et les oiseaux (Montoya et Liesenfeld, 2004).

Il existe sous trois formes infectieuses : tachyzoïte, bradyzoïte et sporozoïte. Les tachyzoïtes sont capables de traverser la barrière placentaire mais, en cas d'ingestion, ils sont généralement détruits dans l'estomac. Des centaines voire des milliers de bradyzoïtes (1-3 x 5-8,5 µm) sont enfermés dans des kystes tissulaires qui persistent de façon chronique chez les hôtes infectés. Huit sporozoïtes (2 x 6-8 µm) sont présents dans chaque oocyste sporulé (11 x 13 µm) (Maloney et Kaufman, 1964) (Figure 1).

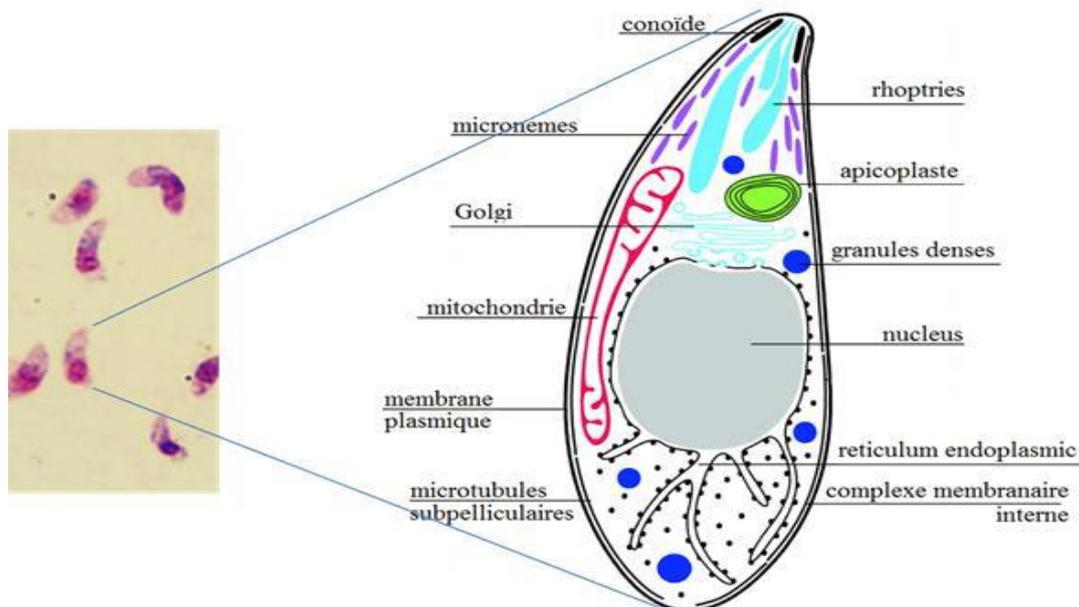


Figure 1: Ultrastructure de *T. gondii* (tachyzoïte) (Joiner et Roos, 2002).

Au cours du cycle, le toxoplasme existe sous trois formes évolutives (Dubey, 1998).

- **Le tachyzoïte**

Il a une forme de croissant et mesure 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large présente deux extrémités différentes, l'une arrondie, l'autre pointue ou conoïdale. Il correspond au stade de multiplication rapide du toxoplasme, par endodyogénie, lors des phases actives de l'infection, et la seule forme capable de traverser la barrière placentaire. La partie antérieure du parasite présente une structure caractéristique du phylum des apicomplexes : le complexe apical qui comporte le conoïde et les organelles sécrétoires (micronèmes, rhoptries, granules denses), et qui participe à la mobilité du parasite et à sa pénétration dans les cellules.

Le tachyzoïte s'attache dans un premier temps à la membrane de la cellule hôte grâce à une interaction du type ligand-récepteur. Lors de son internalisation, le parasite s'entoure d'une vacuole parasitophore limitée par une membrane. La formation et l'accroissement progressif de la membrane de la vacuole parasitophore sont le résultat de sécrétions des rhoptries (celles du bulbe) et des granules denses (Dubey *et al.*, 1998; Speer *et al.*, 1999).

Les tachyzoïtes se multiplient toutes les 5 à 10 heures selon les souches (5 heures pour la souche RH) (Maloney et Kaufman, 1964).

- **Le bradyzoïte**

C'est la forme parasitaire qui se multiplie lentement au sein de l'organisme, en forme de croissant mesurant 7×1,5µm (Ferguson et Hutchison, 1987; Dubey *et al.*, 1998).

Il résulte de la transformation du tachyzoïte, qui s'accompagne de la modification de la vacuole parasitophore, qui s'épaissit par le dépôt de matériel granuleux formant une barrière physique, protégeant les bradyzoïtes des conditions environnementales et des défenses immunitaires de l'hôte. Ainsi se constitue le kyste toxoplasmique intracellulaire, de structure sphérique qui peut mesurer de 5 à 100µm et contenir jusqu'à un millier de bradyzoïtes au métabolisme adapté à une vie quiescente (Tomavo, 2001).

Les kystes se forment dans tous les types cellulaires mais persistent préférentiellement dans les neurones, les astrocytes, les cellules musculaires et les cellules rétinienne. Ces kystes peuvent persister pendant toute la vie de l'hôte et libérer leurs bradyzoïtes à la mort de la cellule. Dans ce cas, les toxoplasmes peuvent aller s'enkyster dans d'autres cellules ou être détruits par le système immunitaire selon le statut immunitaire de l'hôte.

- **Le sporozoïte**

Les sporozoïtes, formes résultant de la multiplication sexuée du parasite, sont contenus dans une structure résistant aux conditions extérieures, l'oocyste. Les oocystes non sporulés

contenant un seul sporoblaste, se développent chez l'hôte définitif, les Félinés, avant d'être excrétés dans le milieu extérieur où ils sporulent et peuvent persister plusieurs mois tout en gardant leur pouvoir infectieux. Les oocystes non sporulés ont une structure sphérique de 10 à 12 μm de diamètre alors que la forme sporulée mesure de 11 à 13 μm .

Ainsi, les oocystes sporulés contiennent deux sporocystes en forme d'ellipse de 6 à 8 μm et chaque sporocyste renferme quatre sporozoïtes (Dubey et al., 1998). L'ultrastructure du sporozoïte est similaire à celle du tachyzoïte bien que le sporozoïte soit plus riche en micronèmes, rhoptries et granules d'amylopectine (Dubey et al., 1998).

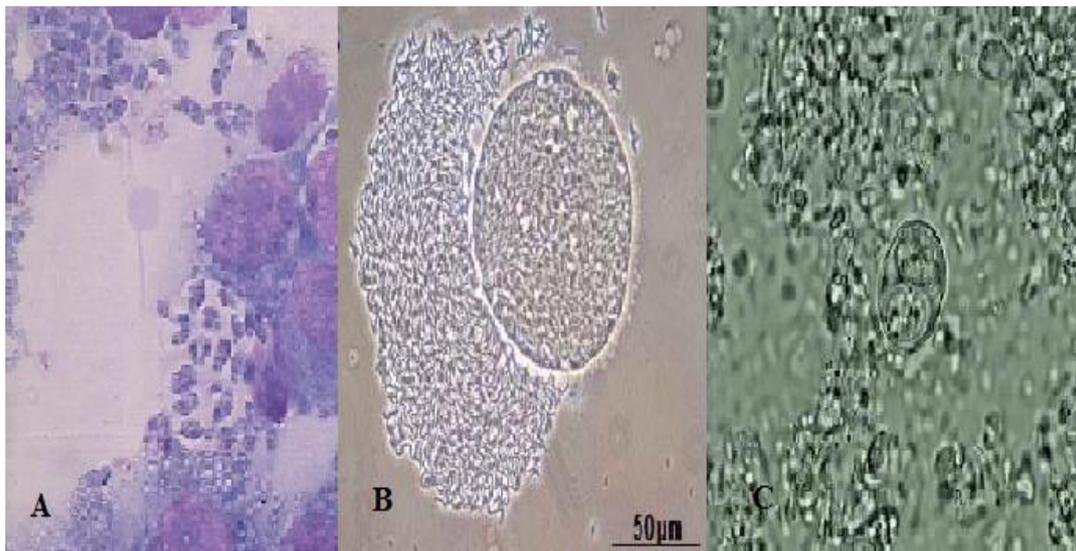


Figure 2 : Stades biologiques de *T. gondii* : Tachyzoïtes observés après coloration au May-Grünwald-Giemsa (A), Kyste libérant ses bradyzoïtes après digestion trypsique de la paroi (B), et oocyste sporulé contenant deux sporocystes (C) (Villena et Dardé, 2005).

➤ Résistance

Les stades infectieux diffèrent dans leur résistance aux conditions extérieures. Les tachyzoïtes sont les plus faciles à détruire, et les conditions de l'estomac sont généralement suffisantes pour leur destruction (Dubey, 2010). La pasteurisation ou l'ébullition détruit les tachyzoïtes et les bradyzoïtes présents dans le lait. Lorsqu'ils sont placés dans un milieu de congélation optimale, les parasites cultivés en culture cellulaire peuvent être cryoconservés (Dubey, 2010).

Les kystes tissulaires de *T. gondii* peuvent être détruits par des températures égales ou supérieures à 67°C (Dubey, 2010). La cuisson dans un four à micro-ondes, le salage, le séchage, et le découpage sont également des moyens plus ou moins fiables pour détruire les kystes tissulaires (Lundén et Ugglå, 1992; Dubey, 2010). La congélation semble détruire les

kystes de *T. gondii* à -20°C pendant 54 heures, mais le parasite peut survivre dans des conditions de gel (Lundén et Uggla, 1992; Dubey, 2010). À + 4°C, les kystes de *T. gondii* peuvent rester viables jusqu'à 56 jours dans une solution NaCl à 0,85% (Dubey, 1997).

Les oocystes sporulés sont très résistants aux conditions environnementales (Yilmaz et Hopkins, 1972; Frenkel et Dubey, 1973; Dubey, 2010). Dans des conditions naturelles à l'extérieur, à l'ombre et exposés à une gamme de température de 5,5°C à 35,5°C, les oocystes ont survécu dans les excréments de chat à découvert pendant 2 mois et demi et presque un an dans les excréments couverts (Yilmaz et Hopkins, 1972). Des études expérimentales ont montré que les oocystes restent infectieux jusqu'à 54 mois à + 4°C et pendant quatre semaines congelés à -21°C mais ils sont détruits en une minute à 60°C (Frenkel et Dubey, 1973; Dubey, 1998). Une étude a montré que la proportion des oocystes survivants après 100 jours d'expérimentation a été estimée à 7,4% dans des conditions sèches et à 43,7% dans des conditions humides (Lélu et *al.*, 2012). L'effet des désinfectants communs sur les oocystes est faible, les réactifs disponibles n'ont pas d'effet ou ont besoin d'un temps de contact long pour être efficace (Dubey, 2010).

III.2. Cycle infectieux

C'est un cycle hétéroxène facultatif, il peut faire intervenir plusieurs hôtes successivement au cours du cycle ou alors s'entretenir grâce à un seul hôte.

Il comprend une phase de multiplication asexuée dans les tissus des hôtes intermédiaires (tous les mammifères, y compris le chat, et les oiseaux) et une phase de multiplication sexuée dans les cellules épithéliales de l'intestin des Félinés (Frenkel, 1973; Dubey, 1998).

Le carnivorisme et la transmission verticale à la progéniture sont les modes de transmission de *T. gondii* initialement découverts (Weinman et Chandler, 1954; Dubey, 2010). Le rôle des excréments du chat dans le cycle de vie de *T. gondii* n'a été découvert que dans les années 60-70 (Hutchison, 1965; Dubey et *al.*, 1970). L'infection peut être congénitale ou acquise par l'ingestion de kystes tissulaires ou d'oocystes. D'autres moyens d'infection par *T. gondii* ont également été reportés comme la transmission par transplantation d'organe, transfusion sanguine, accidents de laboratoire ou encore secondaires à un coup de couteau du boucher (Herwaldt 2001; Derouin et *al.*, 2008). Le lait des animaux infectés peut contenir des toxoplasmes infectieux, et tout type de lait est considéré comme une source potentielle d'infection s'il n'est pas pasteurisé avant sa consommation (Fusco et *al.*, 2007).

Les voies de transmission du toxoplasme sont de deux sortes (Figure 3) :

- Trois voies de transmission horizontales chez l'Homme

- Ingestion orale d’ocystes infectieux disséminés dans l’environnement (eau, végétaux...).
- Ingestion orale de kystes tissulaires contenus dans la viande crue ou peu cuite des hôtes intermédiaires.
- Transmission du parasite par des greffes d’organes ou transfusions sanguines de donneurs infectés (Tenter, 2000; Heckeroth et al., 2000).
- Une voie de transmission verticale de la mère à son fœtus par le passage transplacentaire des tachyzoïtes (Martin, 2001).

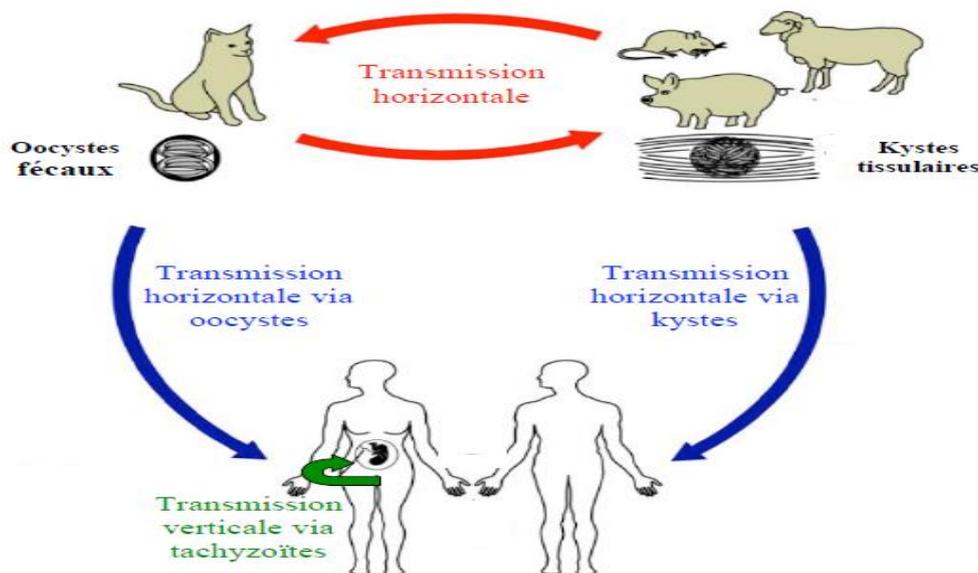


Figure 3 : Différentes voies de transmission de *Toxoplasma gondii* (Tenter, 2000).

III.2.1. Cycle asexué

T. gondii est certainement l’un des parasites qui a le plus large spectre d’hôtes intermédiaires. Tous ces hôtes sont le siège du cycle asexué du parasite qui peut s’infecter soit par ingestion d’ocystes soit par ingestion de kystes tissulaires. La cinétique du cycle varie en fonction de la forme infectieuse ingérée, oocystes ou kystes (Tenter et al., 2000).

Après leur ingestion par l’hôte intermédiaire, la paroi des oocystes se rompt dans l’intestin ; les sporozoïtes libérés pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales dans les quatre heures, se transforment en tachyzoïtes (six à douze heures) qui commencent à se diviser dans une vacuole parasitophore par des mécanismes d’endodyogénie induisant *in fine* l’éclatement des cellules hôtes. Après cette phase intensive de répllication asexuée, des tachyzoïtes réinfectent les cellules adjacentes dont celles de la lamina propria, point de départ de leur migration vers le cerveau (Dubey, 1997; Speer, 1998; Radke, 1998; Bout, 1999).

Ces tachyzoïtes se disséminent rapidement dans tous les organes par l'intermédiaire des monocytes/ macrophages sanguins et lymphatiques. Après une parasitémie brève, les parasites s'enkystent dans les tissus, en particulier les muscles striés et le cerveau (Six jours plus tard), sources de contamination de l'hôte définitif (Dubey, 1998).

Les kystes présents dans les tissus des hôtes intermédiaires sont également source de contamination pour un nouvel hôte intermédiaire (mammifères carnivores ou omnivores, oiseaux carnassiers). Après une phase de multiplication active du parasite sous forme de tachyzoïtes, ces hôtes hébergeront à leur tour des kystes toxoplasmiques quiescents (Dubey, 1998; Martin, 2001).

III.2.2. Cycle sexué

Il a lieu uniquement chez les membres de la famille des *Felidae* (chats sauvages et domestiques), hôtes définitifs pour le parasite (Dubey et Frenkel, 1976) (Figure 4).

Lorsque les hôtes intermédiaires contenant des kystes toxoplasmiques servent de proies à des félidés (chats ou félidés sauvages), la paroi kystique est digérée par les enzymes protéolytiques du tractus digestif et les bradyzoïtes libérés envahissent les cellules épithéliales et se multiplient dans des vacuoles parasitophores (Freyre et *al.*, 1989), d'une façon asexuée par schizogonie. Survient ensuite la transformation des différentes formes asexuées du toxoplasme en gamétocytes mâles et femelles (gamétogonie) suivie d'une fécondation. La différenciation sexuée en macrogamétocytes femelles ou en microgamétocytes mâles débute trois à quinze jours après la contamination. Dans la lumière intestinale, les microgamétocytes libèrent des microgamètes mâles flagellés qui peuvent alors fertiliser les macrogamètes femelles contenus dans les cellules épithéliales (Dumètre et Dardé, 2003).

La fécondation conduit à la formation des millions d'oocystes non sporulés (non infectieux) qui vont être libérés dans la lumière intestinale, et excrétés dans les fèces des félidés 3 à 5 jours après l'ingestion de kystes et cela pendant 7 à 15 jours. Dans le milieu extérieur et à température ambiante (15-25°C), et en fonction des conditions hygrométriques et d'aération, ces oocystes subissent une maturation et deviennent infectieux en 1 à 5 jours après leur émission par un processus appelé sporogonie qui permet la formation de sporozoïtes (sporulation) (Lindsay et *al.*, 1991; Lindsay et *al.*, 1993; Dubey, 1998).

Les oocystes sporulés contiennent des sporocystes renfermant chacun 4 sporozoïtes haploïdes. Les oocystes sporulés, très résistants aux agents physiques et chimiques, peuvent à leur tour, rester quiescents pendant plus d'une année dans le sol.

Les sporozoïtes sont infectieux et contaminent l'homme et les animaux, après leur ingestion, ils se transforment en tachyzoïtes, formes répliquatives du parasite (Courret et *al.*, 2006). Le cycle peut s'entretenir uniquement par la présence de Félinés dont le chat est à la fois hôte définitif en excréant des oocystes non sporulés et hôte intermédiaire en ingérant des oocystes sporulés. Dans ce cas, la période prépatente est plus longue (18 à 49 jours) (Frenkel, 1973; Dubey, 1998).

Des infections expérimentales ont montré que les félinés excrètent des oocystes dans les fèces trois à dix jours après ingestion de bradyzoïtes, dix-huit jours après ingestion d'oocystes sporulés et treize jours après ingestion de tachyzoïtes (Dubey et *al.*, 1998).

Un chat peut produire plusieurs millions d'oocystes, la plupart du temps sans signes cliniques, après l'ingestion d'un seul kyste tissulaire. Cependant, cette excrétion a lieu sur une courte durée (une à deux semaines) dans la vie du chat. On estime qu'à un moment donné et dans une population donnée, 1 % à 2 % des chats excrètent des oocystes, ce qui est suffisant pour assurer une contamination efficace du milieu extérieur (Hill et Dubey 2002; Dumètre et Dardé, 2003).

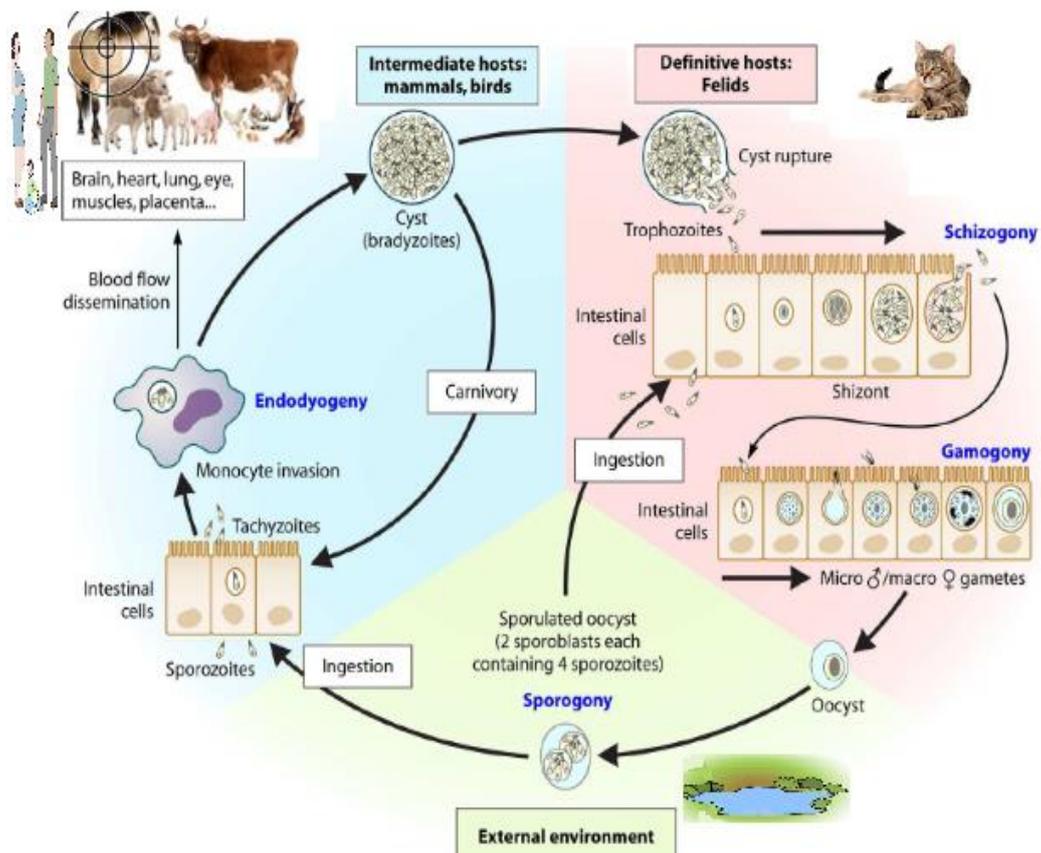


Figure 4 : Cycle évolutif de *T. gondii* (Adapté d'après Robert-Gangneux et Dardé, 2012).

III.3. Génotypes et virulence

Les souches de *T. gondii* sont classées en trois génotypes caractérisés par leur virulence *in vivo* en phase aiguë : hautement virulentes (type I) et non virulentes (types II et III). En effet, les souches virulentes sont définies par une DL100 d'un seul organisme viable tandis que les souches non virulentes ont des DL50 de plus de 10³ (Sibley et Boothroyd, 1992; Sibley, 2003).

Les souches de type I (souche RH) sont hautement virulentes chez les souris non congéniques et potentiellement chez l'homme. Les souches de types II et III sont relativement avirulentes et établissent des infections chroniques. Le type II (souches ME49, 76K) est plus commun que le type III, tant chez les animaux infectés que dans les cas de toxoplasmose humaine. Le type III (souche M7741) est largement confiné aux animaux (Grigg *et al.*, 2001; Sibley, 2003).

Ces trois souches sont des lignées clonales qui avaient probablement un ancêtre commun il y'a 10000 ans. Elles conserveraient leur clonalité grâce à deux adaptations :

- 1) les hôtes intermédiaires sont généralement infectés par une seule souche, ainsi lors de leur ingestion par un chat, l'infection est monotypique et ne produit pas de nouveaux génotypes.
- 2) la transmission directe entre les hôtes intermédiaires successifs rend le chat facultatif dans le cycle de vie du parasite, occultant ainsi le cycle sexuel et le risque inhérent de génération de nouveaux génotypes (Sibley et Boothroyd, 1992; Sibley, 2003).

La proximité des trois types de souches est révélée par le fait qu'elles ne possèdent que deux allèles différents pour n'importe quel locus. De plus, ces allèles eux-mêmes sont hautement similaires puisque identiques à environ 98 % au niveau nucléotidique (Sibley, 2003). Cette faible variation peut s'expliquer par le fait que la plupart des souches actuelles dérive d'un seul croisement génétique entre deux souches parentales (Grigg *et al.*, 2001)

Si plus de 94 % des souches entrent dans ces trois génotypes, il existe également des souches rares ou atypiques, isolées d'espèces exotiques ou de régions géographiquement reculées. Ces souches sont des recombinants des types I, II et III (Grigg *et al.*, 2001). Cependant, ces souches exotiques remonteraient à un million d'années. Ainsi, apparues avant les trois lignées actuelles, elles représenteraient plus vraisemblablement un état ancestral (Sibley, 2003).

La virulence de *T. gondii* diffère selon le génotype (I, II ou III), elle est déterminée sur la base de la DL50 chez la souris ;

- Les souches de type I qui sont caractérisées par une importante virulence chez la souris telle que la souche RH. Les parasites de cette souche forment rarement des kystes. Chez la souris, ils entraînent une mort rapide en phase aiguë de l'infection.
- Les souches de type II comme la souche 76K sont moyennement virulentes, ces parasites n'induisent la mort en phase aiguë qu'à forte dose ou seulement si les souris ont une sensibilité accrue à l'infection aiguë (ex. C57BL/6). Elles sont responsables de la phase chronique de la toxoplasmose.
- Les souches de type III et atypiques sont d'une virulence intermédiaire entre les souches de type I et les souches de type II.

Chapitre 2

Toxoplasmose maladie

I. Epidémiologie

I.1. Epidémiologie descriptive

Tous les vertébrés homéothermes, mammifères et oiseaux, y compris l'Homme peuvent être infestés par le toxoplasme. Des études ont par ailleurs montré la résistance du parasite (sous sa forme tachyzoïte) chez des animaux poïkilothermes dont la température était maintenue à 37°C, sans pour autant prouver l'adaptation du parasite, et donc sa multiplication, chez ces animaux (Vermeil, 1953).

Le plus souvent la toxoplasmose est une maladie sporadique : la plupart des infections sont asymptomatiques et ne se déclarent cliniquement que de façon isolée. Pourtant, en parc zoologique, il n'est pas rare que plusieurs animaux soient touchés en même temps après la consommation d'une même source de nourriture contaminée. On parle alors d'apparition enzootique.

I.2. Epidémiologie analytique

I.2.1. Sources de parasites

Il existe trois sources majeures de contamination : les chats et les félins sauvages disséminent plusieurs millions d'oocystes dans l'environnement (sol, eaux, végétaux). Ces oocystes ont besoin d'au minimum 24h pour être infectants. On estime que 1% des chats sont excréteurs d'oocystes à un moment donné, et pendant une période relativement courte. Il a été montré que les insectes pouvaient être responsables de portage passif des oocystes, notamment des mouches, des blattes et des cafards (Wallace, 1971). Le chat lui-même peut transporter des oocystes infectants sur son pelage. Cependant, Dubey a montré que 7 jours après la fin de l'excrétion, ces oocystes n'étaient pas retrouvés sur les poils (Dubey, 1995).

Les tissus des hôtes intermédiaires infectés et contenant des kystes avec des bradyzoïtes représentent une source considérable de parasites pour les animaux carnivores et omnivores. Chez l'Homme, la consommation de viande mal cuite est le principal mode de contamination. Les viandes de mouton et de porc sont considérées comme les plus à risque.

Le lapin et la volaille domestique sont également sensibles à la toxoplasmose et représentent potentiellement une source de contamination pour l'Homme et l'animal. Notons enfin que les oiseaux et les rongeurs sauvages sont une source de contamination potentielle pour tous les animaux prédateurs (AFSSA, 2005).

Enfin, le sang contenant des tachyzoïtes est une source de contamination possible de la toxoplasmose. C'est le cas lors de primo-infection chez les mammifères femelles qui

contaminent ainsi le fœtus *in utero*. Mais aussi, plus rarement, lors de prédation d'un hôte intermédiaire atteint d'une toxoplasmose aiguë (Tenter, 2000).

I.2.2. Facteurs de réceptivité

- Âge

Il existe peu de données sur le rôle de l'âge dans l'infection à *Toxoplasma gondii*. Cependant, chez les chats, l'infection d'un jeune animal conduit plus fréquemment à une toxoplasmose aiguë.

- Espèce

Toutes les espèces de mammifères et d'oiseaux sont sensibles à la toxoplasmose particulièrement certains animaux domestiques (les petits ruminants, le hamster et le lapin). Chez les oiseaux, des cas de toxoplasmoses sévères ont été rapportés chez le pigeon et le canari (Dubey, 2002).

- Immunodépression

Chez le chat immunodéprimé, coinfecté par le virus de la leucose féline (FeLV) ou de l'immunodéficience féline (FIV), une étude expérimentale a montré que les signes cliniques de la toxoplasmose étaient plus sévères. Cependant, une infection par des rétrovirus n'entraîne pas une réactivation d'une infection antérieure (Davidson, 1993). Le rôle des traitements immunosuppresseurs dans la réactivation de kystes et l'apparition de toxoplasmose clinique a également été rapporté. Par exemple, Barrs décrit en 2006 deux cas de toxoplasmose chez des chats traités à l'aide de ciclosporine.

Remarque : Un chat infesté par certaines autres coccidies, comme par exemple *Isospora felis*, peut réexcréter des oocystes de toxoplasmes en l'absence de signes cliniques (Dubey, 2002).

I.2.3. Facteurs favorisants

- Présence de Félidés

Les Félidés sont les seuls hôtes définitifs connus dans le cycle de la toxoplasmose. Ils ont donc le rôle essentiel de pouvoir disséminer dans l'environnement des millions d'oocystes entraînant ainsi la contamination d'hôtes intermédiaires. Cependant, ils ne sont pas indispensables pour l'entretien du cycle et d'autres voies de contamination sont décrites dans lesquelles ils n'interviennent pas (Baril, 1999).

- Mode de vie et alimentation

Le facteur de risque le plus important est la consommation de viandes crues ou mal cuites, surtout la viande de mouton. Viennent ensuite la consommation de crudités mal lavées et une mauvaise hygiène des mains.

- Fluctuations climatiques

Différentes études chez l'Homme ont montré que les séroprévalences étaient plus élevées dans les régions à climat chaud et humide que dans les régions à climat froid et sec. Ceci s'explique en partie par la résistance des oocystes dans ces conditions. D'autres facteurs sont à considérer pour expliquer les séroprévalences différentes observées : l'importance de la population féline dans ces régions, l'âge des sujets, leur mode de vie ou leurs habitudes alimentaires par exemple (AFSSA, 2005).

I.3. Modes de contamination

Le cycle met en évidence deux possibilités de contamination (ingestion d'oocystes ou de kystes). A ces circonstances habituelles, on peut ajouter deux autres modes de contamination : par un passage transplacentaire des tachyzoïtes au cours de la gestation en primo-infection et une transmission plus rare au cours d'une greffe ou lors d'une transplantation (Baril *et al.*, 1996).

I.3.1. Voie digestive

La voie orale est la voie de prédilection pour la contamination par *T. gondii*. Une analyse multivariée a mis en évidence trois principaux facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose : la viande de mouton ou de bœuf consommée mal cuite, une hygiène incorrecte pour le lavage des mains et des instruments de cuisine et une consommation fréquente de crudités. Cette contamination peut avoir lieu soit suite à une ingestion de kystes soit suite à une ingestion d'oocystes.

• Contamination par les kystes

Les kystes, très résistants, sont responsables de la contamination par les viandes crues, saignantes ou non congelées. La température de cuisson joue aussi un rôle dans la contamination. Une étude réalisée en 1990 par Dubey a permis d'établir une courbe de destruction thermique. Il faut atteindre une température de 67 °C au cœur de la viande pour avoir une inactivation totale des kystes (Afssa, 2005). En revanche, une conservation de la viande dans le réfrigérateur (+ 4 °C) ne détruit pas les kystes. Il existe très peu voire pas de risque de contamination par absorption de lait de vache car il est généralement bouilli ou

pasteurisé. Les œufs de poule crus sont quant à eux une source importante de Salmonelles mais présentent très peu de risque de transmission de la toxoplasmose (Hill et Dubey, 2002).

• Contamination par les oocystes

Les oocystes sont eux aussi responsables de la contamination par la voie digestive. Cette contamination est essentiellement indirecte car elle implique un contact avec des fruits ou des légumes crus mal lavés, une eau de boisson souillée, une hygiène des mains insuffisante après un contact avec le sol (jardinage) ou lors de contact avec un animal en particulier avec un chat.

I.3.2. Voie transplacentaire

Les tachyzoïtes sont la seule forme parasitaire capable de passer la barrière placentaire. Cependant, ce passage ne peut avoir lieu que lors de la primo-infection de la mère.

Le risque de transmission croît régulièrement avec l'âge gestationnel auquel survient la primo-infection toxoplasmique. La gravité de l'infection du fœtus est fonction du stade de la gestation au moment de la contraction de la toxoplasmose. La structure et l'irrigation placentaire évoluent durant la gestation expliquant la fréquence croissante de transmission fœtale en fonction de la période de contamination.

I.3.3. Greffe d'organe et transfusion

La transmission peut également avoir lieu lors de transfusions sanguines ou de transplantations d'organes, par exemple par l'implantation d'un organe ou de moelle osseuse d'un donneur infecté chez un receveur immunodéprimé.

Exceptionnellement, il a été rapporté quelques cas de contamination au cours de transfusion de produits sanguins. Cette contamination peut s'expliquer par le fait que les produits transfusés contiendraient des tachyzoïtes provenant d'une contamination récente (Hill et Dubey, 2002).

I.4. Incidence de la Toxoplasmose

I.4.1. Incidence chez l'animal

La séroprévalence mondiale, notamment chez les animaux de rente, est difficile à estimer étant donné la variabilité existant entre les pays. Cependant, des études récentes menées par pays sont disponibles. En Malaisie, en Chine et en Inde, la séroprévalence chez les vaches est très faible, entre 0 et 3,8 % (Normaznah et *al.*, 2004; Yu et *al.*, 2007; Sharma et *al.*, 2008). En revanche, la Serbie et l'Iran du Nord présentent des taux de séroprévalence élevés de 84,5 et

35 % chez les moutons, respectivement, et de 76,3 % chez les vaches en Serbie (Klun et *al.*, 2006; Sharif et *al.*, 2007).

Les pertes chiffrées dues à des infections à *T. gondii* sur les exploitations sont également rares. En Uruguay, le pourcentage de brebis séropositives avant accouplement est de 28,7 % et passe à 38,5 % après l'agnelage, représentant une incidence de 9,8 %. Ainsi les pertes dues au parasite lors de la gestation ont été estimées entre 1,4 et 4,7 millions de dollars pour le pays entier (Freyre et *al.*, 1999).

Des études de séroprévalence ont été menées dans de nombreux pays du monde sur différentes espèces animales, en raison de son importance dans le secteur de l'élevage (Bisson et *al.*, 2000; Figliuolo et *al.*, 2004; Ivana et *al.*, 2006; Sharif et *al.*, 2006; Spisak et *al.*, 2010; Berger-Schoch et *al.*, 2011). Le tableau suivant résume la séroprévalence observée chez les caprins dans différentes régions du monde.

Tableau 1 : Séroprévalence de *T. gondii* chez le caprin dans les différentes régions du monde.

Référence	Pays (région)	Taille d'échantillon	Séroprévalence %
Zhou et al. (2015)	China		17.6
Dubey et al. (2011)	USA (Virginia)	234	53.4
Prelezov et al. (2008)	Bulgarie (Stara Zagora)	364	59,8
Karaca et al. (2007)	Turke (Van)	98	80.61
Bawm et al. (2016)	Myanmar		11.4
Hamilton et al. (2014)	Caraïbe (Grenade)		57
van der Puije et al. (2000)	Ghana	526	26.8
Deng et al. (2016)	Allemagne(Netherlands)	1664	13.3
Hove et al. (2005)	Zimbabwe	335	67.9
Mainard et al. (2003)	Brésil (Saõ Paulo)		14.5
Dubey et Adams (1990)	USA (Washington)	1000	22.1
Younis et al. (2015)	Egypte (Dakahlia)		50.6
Ghoneim et al. (2009)	Egypte (El Fayoum)	24	41.7
Boughattas et al. (2011)	Tunisie	158	17.7
Stormoen et al. (2012)	Norvège		17
Lopes et al. (2013)	Portugal		18.5
Tzanidakis et al. (2012)	Grèce		30.7
Mancianti et al. (2013)	Italie		60.6
Davous et al. (2014)	Sénégal (Sine-Saloum)	52	15
Zhao et al. (2011)	China (Shaanxi)	751	14,1
Zia-Ali et al. (2007)	Iran (Isfahan)	35	14.2
Kaman et al. (2010)	Borno state, Nigeria	110	4.6
Ramzan et al. (2009)	Pakistan(Punjab)	110	25.4

Sanad et Al-Ghabban (2007)	Arabie Saoudite (Riyadh)	290	51.7
Chikweto et (2011)	West Indies (Grenada)	180	42,8
Cavalcante et al. (2008)	Brésil (Ceará)	2362	25,1
Jittapalapong et al. (2005)	Thaïlande (Satun)	631	27.9
Teshale et al. (2007)	Éthiopie (sud et centre)	641	74,8
Lahmar et al. (2015)	Tunisie (Gafsa)	32	34.5

I.4.2. Incidence chez l'homme

- **Incidence chez la femme enceinte**

La prévalence de la toxoplasmose congénitale est de 1 à 10 pour 10 000 naissances aux États-Unis (Carruthers, 2002; Mets et Chhabra, 2008). En France, une étude sur plus de 300 enfants a montré que 24% des enfants nés de mères ayant subi une séroconversion en cours de grossesse présentaient une toxoplasmose congénitale (Wallon et *al.*, 2004).

- **Incidence chez l'immunodéprimé**

La toxoplasmose de l'immunodéprimé concerne deux types de populations : les patients atteints du SIDA et les patients transplantés.

Des études montrent qu'environ 10% des personnes atteintes du SIDA meurent de toxoplasmose aux États-Unis et plus de 30% en Europe (Hill et Dubey, 2002), taux qui sont certainement à moduler depuis la mise en place de la quadri-thérapie. Tous les organes peuvent être touchés mais l'encéphalite toxoplasmique est l'infection opportuniste du système nerveux central la plus courante (Carruthers, 2002).

II. Aspects cliniques et nécropsiques

II.1. Manifestations cliniques chez l'animal

Tous les animaux à sang chaud, mammifères et oiseaux, peuvent être infectés par le toxoplasme. Leur sensibilité varie en fonction de la dose infectante mais surtout de l'espèce. Quelque soit l'espèce animale, les manifestations pathologiques de la toxoplasmose sont comparables à celles observées chez l'homme. Chez la brebis et la chèvre, la toxoplasmose congénitale est la principale cause d'avortements (Buxton et Finlayson, 1986).

Parmi les espèces d'élevage, la toxoplasmose touche plus particulièrement les ovins, les caprins et les porcins. Elle peut provoquer des encéphalites, des pneumonies ou des mortalités néonatales chez ces animaux. Il s'agit de plus d'une des causes principales d'avortement chez les brebis et les chèvres (Dubey, 1990).

II.1.1. Chez les petits ruminants

La toxoplasmose est l'une des causes principales de mortalité fœtale et d'avortements chez les ovins et les caprins. Chez la brebis, l'ingestion d'au moins 200 sporocystes de *T. gondii* pendant la gestation peut causer une primo-infection (McColgan et al., 1988; Dubey, 2008; Innes, 2010). Ainsi entre 1983 et 1989, 14 à 18% des avortements spontanés chez la brebis ont été attribués à une infection par le toxoplasme (Dubey, 1990).

La maladie est bénigne si les oocystes sont ingérés par une brebis non gestante, cette dernière héberge alors des bradyzoïtes et s'immunise. Si la brebis est gestante, les conséquences de l'infection peuvent devenir sévères et sa manifestation clinique dépend du stade de gestation (Owen et al., 1998).

La maladie peut se manifester par de l'infertilité si l'infection a lieu au début de la gestation. Dans tous les cas, la brebis s'immunise de façon durable, après la première infection.

Les oocystes sporulés ingérés par une brebis gestante sensible sont capables, chacun d'eux, de libérer huit sporozoïtes. Quatre jours plus tard, les tachyzoïtes se retrouvent dans les ganglions mésentériques, où ils se multiplient (Dubey, 1984), et ils sont ensuite libérés dans le sang pour provoquer une parasitémie, qui peut durer du 5^{ème} au 12^{ème} jour après l'infection, en disséminant le parasite dans de nombreux tissus (Dubey et Sharma, 1980; Reid et al., 1982; Wastling et al., 1993). Dans la phase aiguë, les brebis développent une fièvre qui peut persister jusqu'à j10 post-infection (Mévélec et al., 2010). La cessation de la parasitémie coïncide avec l'apparition d'une réponse immunitaire protectrice et l'infection persiste ensuite par formation des kystes tissulaires. Cependant, chez la brebis gestante, l'infection peut s'établir dans l'utérus gravide où les réponses immunologiques maternelles peuvent être altérées et la capacité du fœtus, avec son placenta, à reconnaître et à réagir au parasite est négligeable aux premiers stades mais se développe progressivement avec le temps pour que les agneaux soient nés immunocompétents (Salami et al., 1985).

Initialement, les toxoplasmes parasitent les septas caroncules, les tissus maternels du placentome, avant d'envahir les cellules trophoblastiques adjacentes des villosités fœtales et de reste du fœtus (Buxton et Finlayson, 1986). Les cotylédons sur le placenta montrent également des lésions visibles à l'œil nu (Buxton, 1991).

En effet, chez les animaux gestants, lorsque la primo-infection a lieu dans les 40 à 50 premiers jours de gestation, le fœtus meurt et est soit expulsé soit résorbé, ce qui passe généralement inaperçu, la brebis étant considérée comme stérile pendant la saison. Si la contagion survient entre le 50^{ème} et le 120^{ème} jour de gestation, on assiste à des avortements tardifs autour du quatrième mois ainsi qu'à des naissances d'agneaux non viables qui meurent

à 3 ou 4 jours. En revanche, lors d'infections pendant le dernier mois de gestation, lorsque l'immunité fœtale est relativement bien développée, la progéniture étant normale mais infectée et immunisée. Les toxoplasmoses sont inapparentes, sans aucun symptôme, ou avec une simple fièvre, des douleurs musculaires, ou des écoulements nasaux et oculaires pendant un à deux jours (Rozette *et al.*, 2005).

L'avortement et la mortalité néonatale chez les chèvres sont essentiellement similaires à ceux observés chez les moutons, qu'ils se produisent naturellement (Munday et Mason, 1979; Dubey, 1981; Dubey *et al.*, 1981a; Chhabra et Gautam, 1984; Nurse et Lenghaus, 1986)

Lors d'une infection aiguë chez les chèvres, les toxoplasmes peuvent être excrétés dans le lait (Skinner *et al.*, 1990) et être une source possible d'infection humaine en cas de non pasteurisation (Skinner *et al.*, 1990). De plus, au moins expérimentalement, les toxoplasmes peuvent être présents dans le sperme du bouc pendant un temps variable après l'infection (Dubey et Sharma, 1980), mais leur importance épidémiologique, comme chez le mouton peut être très faible (Blewett *et al.*, 1982).

II.1.2. Chez les félins

Le chat, hôte définitif peut également, présenter occasionnellement des troubles digestifs en relation avec la multiplication du parasite au stade asexué dans la muqueuse de l'intestin grêle (Dubey et Frenkel, 1972; Peterson *et al.*, 1991).

Chez le chat domestique, la toxoplasmose clinique associée à la phase intestinale est rare. Cependant, dans certains cas une diarrhée passagère pendant la phase d'excrétion peut survenir.

La phase extra intestinale, qui correspond à la multiplication asexuée du parasite dans les tissus, peut conduire à une toxoplasmose disséminée. Les signes cliniques décrits sont : hyperthermie, adénopathies, broncho-pneumonies, troubles digestifs, atteintes nerveuses et oculaires (uvéite antérieure, chorioretinite). Ces troubles sont plus fréquemment observés chez les chatons et les chats immunodéprimés (FIV, FeLV, PIF).

De plus, plusieurs auteurs rapportent des cas de toxoplasmose disséminée chez de jeunes chats Manuls (*Otocolobus manul*) en captivité (Kenny, 2002; Kik, 2007). Une étude dans leur milieu naturel (en Mongolie) a montré que les séroprévalences de l'infection à *Toxoplasma gondii* étaient très faibles à nulles chez les chats Manuls sauvages, les chats domestiques et les rongeurs sauvages (Brown, 2005).

Cependant, d'autres auteurs ont évoqué le rôle d'une immunodéficience à composante génétique pour expliquer la forte sensibilité de l'infection chez les chats Manuls (Ketz-Riley, 2003).

II.1.3. Chez le chien

La toxoplasmose est souvent associée à une immunodépression ou à la maladie de Carré. Le tableau clinique est dominé par des troubles neurologiques : ataxie, parésie, paralysie, convulsions. Les symptômes sont comparables à la néosporose, pathologie plus fréquente chez le chien.

II.1.4. Chez les Oiseaux

Les cas de toxoplasmoses asymptomatiques sont majoritaires chez de nombreuses espèces d'oiseaux. Cependant des formes aiguës atypiques sont décrites chez certaines espèces de Passériformes comme chez le canari (*Serinus canarius*) et chez des Colombiformes comme le pigeon. Chez le canari, de nombreux cas de cécité toxoplasmique ont été rapportés associés ou non à des encéphalites se traduisant par des signes nerveux (torticolis, marche en cercle, convulsions). Le tableau clinique peut également être caractérisé par des signes non spécifiques : anorexie, amaigrissement et diarrhée (Dubey, 2002).

II.1.5. Chez les autres mammifères

Il existe des rapports contradictoires à propos de la toxoplasmose chez les bovins et les chevaux. Selon certaines études, chez les bovins, on ne peut observer qu'une fièvre modérée et une anorexie dans une infection expérimentale. Les bovins ne manifestent pas de signes cliniques lors d'une infection naturelle (Stalheim et al., 1980). Les signes sont plus intenses chez le veau avec une fièvre et une détresse respiratoire (Costa et al., 1977). La transmission fœtale chez les bovins n'est pas très importante dans les conditions naturelles car l'isolement de *T. gondii* n'a été obtenu que deux fois, aux Etats Unis et au Portugal (Canada et al., 2002). Par ailleurs, aucun kyste n'a pu être détecté chez les bovins. Récemment il a été décrit que les bovins sont résistants à la toxoplasmose et que c'est *Neospora caninum* qui serait majoritairement responsable des avortements chez les bovins (Dubey, 2003). Plusieurs études montrent la prévalence de l'infection naturelle chez les chevaux mais ils sont assez résistants à la toxoplasmose. Dans les infections expérimentales des chevaux, les signes cliniques sont soit absents soit très discrets (Al- Khalidi, 1980; Dubey, 1985). C'est *Sarcocystis neurona* qui serait l'agent responsable de l'encéphalomyélite fatale chez les chevaux aux Etats-Unis et non pas *T. gondii* (Dubey et al., 2001). Il n'existe aucun cas de toxoplasmose clinique confirmé

chez les bovins ou chez les chevaux (Dubey *et al.*, 2007). Il a été également démontré que *T. gondii* peut persister jusqu'à 476 jours dans les muscles de chevaux (Dubey, 1985).

En comparaison, on trouve rarement de kystes dans les viandes de bœuf ou de buffle, alors que la présence d'anticorps spécifiques dans 92% des troupeaux bovins et 20% des buffles est la preuve d'une exposition passée au parasite (Tenter *et al.*, 2000).

II.2. Manifestations cliniques chez l'homme

Chez les adultes et les enfants immunocompétents, la toxoplasmose est généralement asymptomatique. Dans 10% des cas, une atteinte des chaînes cervicales ganglionnaires peut même être observée, accompagnée d'une faible fièvre, de malaises et de maux de tête.

Exceptionnellement, en particulier lors d'infections en laboratoire, des formes graves existent, caractérisées par une fièvre importante, une atteinte de l'état général, des arthralgies, des éruptions cutanées, et des signes pulmonaires, myocardiques, hépatiques ou cérébraux.

En revanche, chez les patients immunodéprimés, tels que les malades du SIDA, la maladie peut être mortelle. Il s'agit généralement d'une réactivation d'une infection chronique, dont le siège est souvent le système nerveux central. Les manifestations cliniques sont composées d'un changement du statut mental, d'épilepsies, de déficits moteurs focaux, de perturbations nerveuses crâniennes, d'anomalies sensorielles et de désordres du mouvement. De plus, d'autres organes peuvent être impliqués : on observe des chorioretinites, des pneumonies, et des troubles hémodynamiques semblables à un choc septique. (Frenkel, 1990 ; Montoya et Liesenfeld, 2004).

II.3. Lésions

(D'après Canfield, 1990 ; Epiphanio, 2003 ; Wolfe, 2003)

II.3.1. Lésions macroscopiques

Lors de toxoplasmose aiguë, il n'est pas rare qu'aucune lésion ne soit observée à l'autopsie. Toutefois lorsqu'elles sont présentes, les lésions pulmonaires sont les plus fréquentes comme par exemple une congestion, de l'œdème et/ou une consolidation pulmonaire.

Des organomégalies (essentiellement splénomégalie et adénomégalie) sont également souvent reportées. Enfin, des lésions inflammatoires multifocales congestives et/ou nécrotiques peuvent être observées sur de nombreux organes (poumon, cœur, intestin, foie, pancréas, rein, muscle et cerveau principalement).

II.3.2. Lésions microscopiques

Les lésions prédominantes sont des foyers de nécrose cellulaire sur ces mêmes organes. Ces lésions sont des destructions tissulaires causées par la prolifération des tachyzoïtes. En cas de toxoplasmose aiguë, des tachyzoïtes peuvent être retrouvés dans des macrophages, ou même dans le milieu extracellulaire. Il est également possible d'observer des kystes tissulaires dans les muscles cardiaques et le cerveau principalement.

III. Diagnostic

Le diagnostic de la toxoplasmose se base sur les trois objectifs suivants : l'isolement du parasite, l'isolement de l'ADN parasitaire et la mise en évidence des anticorps spécifiques de *T. gondii*. Différentes techniques comme par exemple l'examen microscopique, le bio-essai, la culture cellulaire, les techniques de biologie moléculaire et la sérologie, peuvent être employées pour faire le diagnostic de la toxoplasmose (Akbar, 2011).

III.1. Changements pathologiques

De façon caractéristique, les cotylédons placentaires apparaissent de rouge vif à rouge foncé et sont tachés de foyers blancs de nécrose de 2-3 mm de diamètre qui peuvent être clairsemés ou si nombreux qu'ils peuvent devenir confluent, tandis que l'allanto-chorion inter-cotylédonaire semble normal (Hartley et Kater, 1963; Beverley et *al.*, 1971).

Les changements visibles chez les agneaux et les enfants varient, le plus évident étant le fœtus momifié, une petite miniature chocolatée d'un agneau / enfant, souvent avec son propre petit placenta gris-brun. Les fœtus qui meurent plus tard au cours de la gestation naissent à différents stades de décomposition, souvent avec un œdème sous-cutané clair et sanglant et une quantité variable de liquide transparent à coloré dans les cavités corporelles (Hartley et Kater, 1963).

Cependant, alors que ces derniers changements indiquent une infection intra-utérine, ils ne sont pas spécifiques à l'infection par *Toxoplasma*. Les changements histopathologiques les plus évidents sont les foyers nécrotiques, visibles macroscopiquement dans les cotylédons. Microscopiquement, ils apparaissent comme de grands foyers de nécrose coagulante, remarquablement exempts de cellules inflammatoires, qui peuvent se minéraliser avec le temps. Parfois, un petit nombre de toxoplasmes intracellulaires et extracellulaires sont visibles, généralement à la périphérie des lésions nécrotiques ou dans une villosité qui se trouve dans les premiers stades de l'infection (Buxton et Finlayson, 1986). Dans le cerveau fœtal, les lésions primaires et secondaires se développent. Les foyers gliaux, entourant

typiquement un centre nécrotique et parfois minéralisé, souvent associées à une méningite lymphoïde légère, représentent une réponse immunitaire fœtale suite aux dommages directs causés par la multiplication locale des parasites (Buxton, 1998).

Les Toxoplasmes sont retrouvés habituellement à la périphérie des lésions. La leucomalacie focale, plus fréquemment observée dans les noyaux de la substance blanche cérébrale, est également fréquente et est probablement due à une anoxie fœtale à la fin de la gestation causée par une nécrose avancée dans le placentome, empêchant un transfert suffisant d'oxygène de la mère au fœtus (Buxton et *al.*, 1982; Buxton, 1998).

III.2. Bio-essai et détection de *T. gondii*

Les méthodes biologiques reposent sur l'isolement de *T. gondii* à partir de prélèvements de sécrétions, d'excrétions, de fluides corporels ou de tissus effectués sur des patients.

Les techniques histologiques font suite aux méthodes biologiques par identification du parasite dans les tissus des animaux infectés, par observation directe microscopique, par coloration au Giemsa ou encore par immunohistochimie. Les méthodes moléculaires viennent compléter les méthodes précédentes par la recherche d'ADN parasitaire par PCR dans les prélèvements cités ci-dessus (Hill et Dubey, 2002; Guiton, 2008).

Pour isoler les parasites, des inoculations de sang ou de broyat d'organes à tester sont effectuées chez la souris ou le chat (de Godoi et *al.*, 2010). C'est une technique de référence pour isoler les toxoplasmes viables. L'infection (témoin de la présence de parasite dans l'échantillon inoculé) ne peut le plus souvent être détectée qu'après 3 à 4 semaines par la mise en évidence des anticorps anti-*T. gondii* et est confirmé par l'observation microscopique des kystes dans les cerveaux. Cette technique donne des résultats tardifs mais elle a une bonne sensibilité et une spécificité de 100%. Elle confirme les résultats obtenus par la biologie moléculaire, donc elle est complémentaire des résultats de la PCR. Un autre avantage du bio-essai est qu'il permet l'isolement des souches pour une caractérisation moléculaire ultérieure (Dupuy-Camet et *al.*, 1992, Fricker-Hidalgo et *al.*, 1998).

Bien que la méthode la plus directe et la plus établie pour démontrer l'infection à *Toxoplasma* en cas d'avortement soit de transmettre le parasite de matériel avorté (cœlètes fœtaux et placentaires) à des souris de laboratoire (Fleck et Kwantes, 1980), est lente et coûteuse. Le toxoplasme peut également être cultivé en culture de tissus dans pratiquement n'importe quelle lignée cellulaire de mammifère et, bien que plus rapide que l'inoculation de souris, il est rarement utilisé pour le diagnostic de routine car il est coûteux et les échantillons d'essai peuvent être fréquemment contaminés. Une méthode d'isolement plus rapide mais moins

sensible est la démonstration directe des kystes tissulaires de *T. gondii* par centrifugation d'homogénat du cerveau d'agneau sur un gradient de densité discontinu de 30 et 90% de solution de silice colloïdale (Blewett et al., 1983). Des techniques permettant la visualisation à la fois de *T. gondii* intact et des débris antigéniques dans les coupes tissulaires de matières avortées sont des procédés commodes et sensibles et présentent l'avantage, par rapport aux tentatives d'isolement, de détecter l'antigène de *Toxoplasma* même dans les tissus décomposés. La méthode de l'immunoperoxydase indirecte ABC et la technique de peroxydase anti-peroxydase (PAP) sont également bonnes (Uggla et al., 1987).

Des toxoplasmes viables et non viables peuvent être identifiés dans les tissus avec la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Tant le gène P30 que le B1 de *T. gondii* a été utilisé comme cible en PCR pour la détection de *Toxoplasma* dans divers échantillons cliniques collectés chez des humains infectés. Des études limitées ont également été menées à l'aide d'échantillons d'ovins tels que le matériel placentaire avorté, le cerveau et le liquide péritonéal provenant de fœtus avortés et de ganglions lymphatiques provenant de brebis infectées artificiellement (Wastling et al., 1993). La détection de *T. gondii* par amplification du gène B 1 semble être plus sensible que par le gène P30 en raison de la nature répétitive du gène B 1 dont 25-50 copies sont présentes dans le génome de *T. gondii* par rapport à une seule copie du gène P30. Actuellement, la technique n'est pas utilisée dans le diagnostic de routine, mais le potentiel de la PCR pour identifier l'ADN dans les coupes de paraffine à partir de blocs tissulaires histopathologiques peut élargir son applicabilité (Ellis, 1997; Buxton, 1998).

III.3. Sérologie

III.3.1. Techniques sérologiques

La sérologie comprend soit la détection de l'antigène du toxoplasme utilisant l'anticorps spécifique soit la détection de l'anticorps (IgM, IgA, IgG, IgE) en utilisant l'antigène spécifique. Chaque technique a ses avantages et ses inconvénients. Différentes techniques quantitative et qualitative sont utilisées pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose (Akbar, 2011).

C'est un outil important dans le diagnostic de l'avortement à *Toxoplasma* chez les ovins et les caprins. La présence d'anticorps spécifiques dans le sérum ou le liquide tissulaire provenant d'agneaux morts ou d'enfants, ou dans le sérum précolostral de la descendance indique une infection utérine. Cependant, les titres élevés d'anticorps toxoplasmiques dans des sérums prélevés sur des brebis en quelques semaines après l'avortement ou la production d'agneaux ou d'enfants mort-nés ne peuvent que suggérer la toxoplasmose car les titres restent

relativement élevés pendant de longues périodes après l'infection initiale. La sérologie indiquera également le degré d'exposition à l'infection chez un groupe d'animaux (Buxton, 1998).

La première méthode à mettre au point a été le test de coloration ou de teinture (DT ou Dye Test) de Sabin et Feldman (1948) (Buxton, 1998), basé sur la lyse du parasite mis en présence de concentrations croissantes des anticorps sériques, en présence de complément, a été l'étalon-or depuis de nombreuses années en termes de sensibilité et la spécificité mais est maintenant effectué par très peu de laboratoires. Ce test est coûteux et nécessite des tachyzoïtes vivants comme antigène (Montoya et Liesenfeld, 2004).

Le test d'hémagglutination indirecte utilise également des dilutions croissantes de sérum mais en contact avec des globules rouges de mouton sensibilisés avec un lysat de parasites. Les tests d'agglutination directe et sur latex font appel respectivement à des parasites formolés ou à des billes de latex avec de l'extrait de parasite qui s'agglutinent en présence de sérum (Hill et Dubey, 2002).

Les techniques quantitatives comme par exemple les réactions immunoenzymatiques (ELISA) et IFA (indirect fluorescent antibody ou L'immunofluorescence indirecte (IFI)) ou d'immunochemiluminescence sont employées pour la quantification des taux d'anticorps IgM, IgA ou IgG (Decoster et *al.*, 1995), reposent sur la détection d'anticorps spécifiques du parasite après révélation avec des anticorps secondaires couplés soit à une enzyme donnant lieu à une réaction colorimétrique soit à un fluorochrome, respectivement.

Les techniques ELISA et IFA ont été modifiées et sont également utilisées pour la détection des IgM (Hill et Dubey, 2002).

L'IFI peut détecter des IgG avec une grande spécificité et une détection plus précoce qu'en ELISA après une séroconversion mais ne détecte les IgM que pendant les 2 à 3 premiers mois après l'infection (Decoster et *al.*, 1995; Villena et *al.*, 1999).

L'IFAT (indirect fluorescent antibody test) (Remington, 1969) donne des titres comparables à la DT mais est plus sûr car il utilise des tachyzoïtes tués (Maley et *al.*, 1997)

Le test immunoenzymatique (ELISA) pour les anticorps de *T. gondii* a été adapté à la plupart des animaux domestiques, y compris les moutons et les chèvres (Buxton et *al.*, 1988), et peut être utilisé pour distinguer les anticorps IgM et IgG. Il convient à la manipulation d'un grand nombre de sérums (Buxton, 1998).

L'Immunsorbant Agglutination Assay (ISAGA), une technique d'immunocapture, peut aussi détecter des IgM un an après l'infection. Les méthodes d'immunocapture sont capables de détecter les anticorps IgA et IgE. Leurs cinétiques sont différentes de celles des IgM. Leur

apparition est plus précoce (cas des IgE) et d'une durée de détection plus courte de l'ordre de quatre à six mois environ (Decoster et *al.*, 1995; Villena et *al.*, 1999).

Le test d'agglutination modifié (MAT) (Desmonts et Remington, 1980) s'est avéré particulièrement performant avec les sérums de chèvre (Dubey et *al.*, 1985), bien que pour les études épidémiologiques le test d'hémagglutination indirecte (IHA) (Patton et *al.*, 1990), IFAT et LAT (test d'agglutination au latex) sont adéquates (Opel et *al.*, 1991). L'IHA et le LAT sont faciles à réaliser et ce dernier est disponible sous forme de kit et aucun test ne nécessite d'antisérums spécifiques ou de conjugués (Trees et *al.*, 1989; Maley et *al.*, 1997).

Différentes techniques qualitatives peuvent être utilisées, ce qui permet de dater une infection et de mieux caractériser une réponse immunitaire dans des milieux biologiques différents.

Pour distinguer une toxoplasmose récente d'une toxoplasmose chronique, on peut mesurer l'avidité des IgG par une méthode immunoenzymatique. Au cours d'une infection, l'avidité des IgG pour les antigènes augmente. Cette technique est utilisée dans le cas où les techniques quantitatives ne permettent pas de distinguer par exemple la présence d'IgM ou quand les IgG sont présentes à un titre élevé > 150 UI/ml (Decoster et *al.*, 1995; Villena et *al.*, 1999; Akbar, 2011).

III.3.2. Test et cinétique d'apparition des immunoglobulines

Cette cinétique est importante à connaître puisque la majorité des tests effectués repose sur la détection de différentes classes d'immunoglobulines. Les IgA, IgM et IgE sont les premières à être sécrétées après l'infection, c'est pourquoi leur détection indique une toxoplasmose débutante. Elles ont la même cinétique de sécrétion mais leur persistance est variable (Guiton, 2008). Les anticorps IgM et IgA sont produits pendant la première semaine et atteignent un plateau en 1 mois. Les IgE spécifiques sont également produits au début et disparaissent rapidement (Foudrinier et *al.*, 2003).

Les taux d'anticorps IgM spécifiques diminuent habituellement après 1 à 6 mois ; Ils deviennent négatifs chez 25% des patients dans moins de 7 mois (Gras et *al.*, 2004), mais restent généralement détectables pendant longtemps. Exceptionnellement, les IgM peuvent disparaître dans les 3 mois et être difficilement détectée. D'autre part, l'IgA spécifique était initialement d'une durée plus courte, mais il a été démontré plus tard que pourrait être détecté jusqu'à 9 mois ; donc, il ne peut pas être un marqueur d'une infection récente (Nascimento et *al.*, 2008).

Les IgE ne sont jamais détectées au cours de la phase chronique de la maladie. La précocité de détection des IgG spécifiques dépend de la technique utilisée. leur cinétique varie en

fonction de la protéine parasitaire qu'elles reconnaissent. Les immunoglobulines ciblant les antigènes de surface et qui peuvent être détectés par exemple le test d'immunofluorescence, ou un test d'agglutination, sont les plus précoces puisqu'elles apparaissent une à deux semaines après l'infection pour atteindre un taux maximum vers deux mois. Les techniques ELISA, qui utilisent principalement un mélange d'antigènes cytosoliques ou métaboliques et d'antigènes de surface (différent entre les fabricants), détectent les IgG plus tard (Foudrinier et al., 2003). Ce taux maximum peut persister pendant six mois avant de décroître lentement (Guiton, 2008).

Les immunoglobulines ciblant les protéines parasitaires sécrétées (rhoptries, micronèmes, granules denses) apparaissent après trois à quatre semaines d'infection, atteignant un taux maximum entre trois et six mois (Guiton, 2008). Les variations de la réponse immunitaire individuelle et des caractéristiques de la technique utilisée affectent la détection des IgG, dont la synthèse peut être détectée 1 à 3 semaines après l'augmentation initiale en IgM. Quelle que soit la technique, la synthèse d'IgG atteint un plateau dans les 2 ou 3 mois, puis diminue plus ou moins rapidement et persiste tout au long de la vie à des titres résiduels, qui sont très variables entre les patients, elles signent une infection chronique (Montoya et Liesenfeld, 2004).

IV. Traitement

Plusieurs médicaments sont en cours d'utilisation contre la toxoplasmose. Ils comprennent les inhibiteurs de la déhydrofolate réductase (DHFR) (inhibiteur de la synthèse de l'acide folique comme par exemple la pyriméthamine), les sulfamides (comme par exemple la sulfadiazine, la sulfadoxine). La combinaison des inhibiteurs de l'acide folique et des sulfamides a des effets synergiques et donc est un des meilleurs traitements contre la toxoplasmose. Les effets thérapeutiques des sulfamides ont été décrits pour la première fois en 1941 par Sabin et Warren (Dubey, 2008). Quelques années plus tard, le traitement de la toxoplasmose avec la combinaison des sulfamides et de la pyriméthamine commençait (Eyles et Coleman, 1953).

Les macrolides (dont la spiramycine, roxithromycine, azithromycine, clarithromycine) qui ont une activité parasitostatique forment un autre groupe de médicaments utilisé contre ce parasite. Seule la spiramycine est utilisée pendant la grossesse dans le cas de toxoplasmose acquise. Une combinaison de médicaments utilisés contre la toxoplasmose cérébrale et oculaire comprend la clindamycine et la pyriméthamine. Tous ces médicaments bloquent la croissance parasitaire de la forme tachyzoïte. Ils ont une meilleure efficacité pendant la phase

aiguë de la toxoplasmose et ne traitent pas un individu déjà infecté car ils ont des effets très limités contre la forme kystique du parasite.

La seule molécule active contre les tachyzoïtes et les kystes est l'atovaquone. Les infections oculaires peuvent aussi être traitées avec l'atovaquone et avec des corticostéroïdes pour diminuer l'inflammation oculaire et les dommages tissulaires (Koo et Young, 2006; Innes 2010).

V. Prévention

Des conditions d'hygiène drastique peuvent être appliquées pour diminuer les risques d'infection chez l'Homme plus particulièrement chez les sujets immunodéprimés et les femmes enceintes séronégatives. Pour cela, il faut bien cuire la viande et laver abondamment les légumes avant de les manger. La consommation de viande après la congélation est une des meilleures méthodes pour détruire les kystes dans la viande (Kijlstra et Jongert, 2008). De plus, il faut être extrêmement vigilant lors des changements des litières des chats où sont excrétés les oocystes. Les mesures pour prévenir la toxoplasmose chez l'animal comprennent la gestion des chats à la ferme, la gestion de la nourriture et de l'eau. La vaccination des brebis et parfois l'utilisation de décoquinate dans la nourriture des animaux, peut aider à réduire le taux d'infection (Buxton, 1998 ; Buxton et *al.*, 2007). La vaccination des animaux de rente pourrait diminuer l'incidence des avortements chez les animaux. La prévalence diminuée de toxoplasmose chez les animaux pourrait diminuer, ensuite, la transmission de cette maladie à l'Homme (Buxton et *al.*, 2007a).

Chapitre 3

Pathogénie et virulence

I. Loci impliqués dans la virulence

La virulence des souches de *T. gondii*, chez la souris, pourrait être associée en partie aux gènes situés sur le chromosome VIIa (Sibley et al., 2002; Su et al., 2002; Taylor et al., 2006; Hajj et al., 2007), VIIb (Saeij et al., 2007) et Chr1a (Taylor et al., 2006; Khan et al., 2006, Khan et al., 2007). Certains gènes impliqués dans la virulence de *T. gondii*, ont récemment été identifiés comme par exemple un gène situé sur le chromosome VIIa et codant pour la protéine de rhoptrie, ROP18 (Taylor et al., 2006; Saeij et al., 2006) et un autre gène situé sur le chromosome VIIb et codant la protéine de rhoptrie, ROP16 (Saeij et al., 2006; Yamamoto et al., 2009; Ong et al., 2010). Ces deux protéines ont des activités kinases. Les souches de type I expriment 100 fois plus de ROP18 que les souches de type II et III (Taylor et al., 2006; Steinfeldt et al., 2010; Fentress et al., 2010).

II. Facteurs de virulence

Chez la souris, les souches virulentes se multiplient beaucoup plus et se disséminent plus rapidement à tout l'organisme que les souches avirulentes (Hitziger et al., 2005). *In vitro* les souches virulentes ont également une plus grande capacité migratoire (Barragan et Sibley 2002; Taylor et al., 2006).

Des croisements entre les souches de type I et III et de type II et III ont montré que les protéines de Rhoptries ROP18 et ROP16 étaient des molécules clé de la virulence (Saeij et al., 2006; Taylor et al., 2006; Saeij et al., 2007).

La protéine ROP18 est directement impliquée dans la multiplication du parasite. ROP18 est une kinase et appartient à la famille ROP2. Au cours de l'invasion elle est sécrétée dans le cytoplasme de la cellule hôte puis elle se localise au niveau de la membrane parasitophore. ROP18 est exprimée par les souches de type I et II. Elle est très faiblement exprimée par les souches de type III du fait de la présence dans le promoteur de ces souches d'une séquence de 2.1kb près du codon d'initiation de la traduction (Hedhli, 2008).

L'expression de ROP18 de type I par une souche de type III se traduit par une augmentation significative de la virulence et une augmentation de la réplication intracellulaire (Taylor et al., 2006). La sur-expression de ROP18 de type I dans une souche de type II augmente également la multiplication intracellulaire (El Hajj et al., 2007). L'activité kinase joue un rôle majeur dans l'augmentation de la multiplication cellulaire et le gain de virulence, puisque ces effets ne sont plus observés si un acide aminé clé de la fonction kinase est muté. Le substrat de cette kinase n'est pas encore identifié. Le fait que les souches de type III n'expriment pas ou peu de

protéine ROP18, laisse penser que cette protéine n'est pas indispensable à la vie du parasite (Taylor et *al.*, 2006; Hedhli, 2008).

La ROP16 est impliquée dans la subversion de la signalisation intracellulaire de l'hôte (Figure 5). Au cours de l'invasion cellulaire, elle se localise rapidement dans le noyau de la cellule hôte. Cette protéine a une activité kinase qui a pour effet la phosphorylation de STAT3, un régulateur négatif de la réponse cellulaire Th1, dont son substrat cellulaire n'est pas identifié. Les protéines ROP16 des souches de type I et III sont capables de phosphoryler durablement STAT3 contrairement aux souches de type II. L'expression de la protéine ROP16 de type I dans une souche de type II a permis de relier le polymorphisme de ROP16 ainsi que la phosphorylation de STAT3 à la production d'IL12. Ainsi, l'expression d'une protéine ROP16 de type I dans les souches de type II a pour effet une diminution de la sécrétion d'IL12 par les macrophages infectés. *In vivo*, les souches de type I, diminuent l'expression de l'IL12 via ROP16 et se multiplient plus via ROP18 ce qui conduit finalement à la mort de l'hôte. Les souches de type II ne contrarient pas la mise en place d'une réponse immune de type Th1, ce qui va les conduire, sous la pression de la réponse immunitaire à s'enkyster et donc à persister sans tuer leur hôte. Les souches de type III ne sont pas aussi virulentes que les souches de type I, bien qu'elles agissent sur la réponse immune de l'hôte via ROP16 comme les souches de type I, car parallèlement elles n'expriment pas ou peu ROP18 parasite (Taylor et *al.*, 2006; El Hajj et *al.*, 2007; Hedhli, 2008).

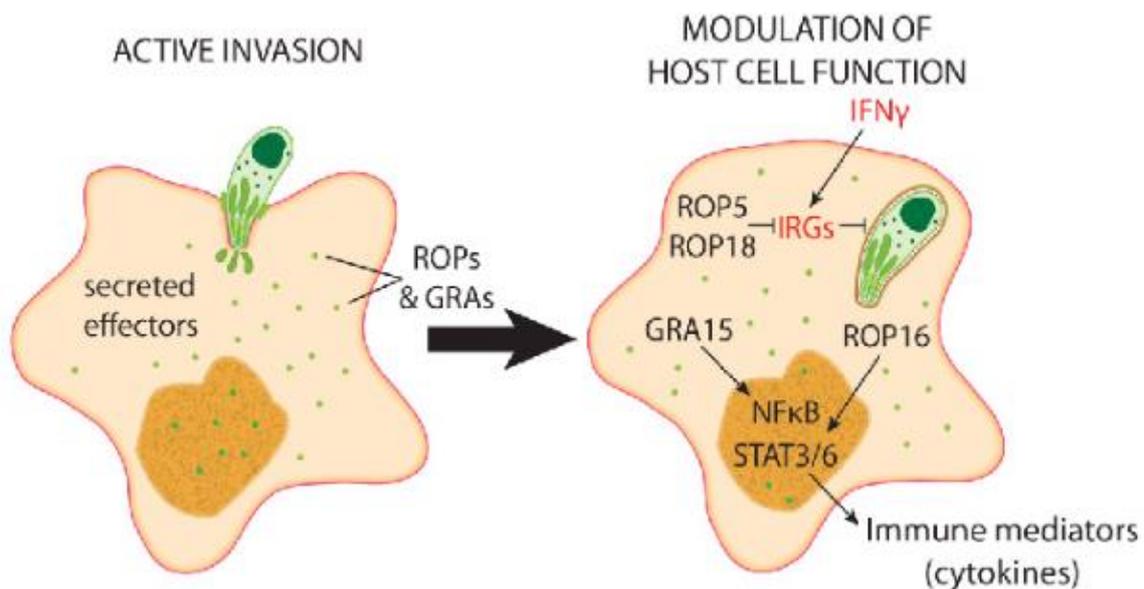


Figure 5 : Invasion et modulation des fonctions de la cellule hôte par *T.gondii* (El Hajj et *al.*, 2007).

III. Migration, multiplication et virulence

Le franchissement de la barrière épithéliale, de la barrière méningée ou du placenta sont des éléments clés pour la propagation du parasite dans l'organisme. Ainsi, au-delà de sa capacité à envahir les cellules de l'hôte, la motilité de *T. gondii* permet la dissémination du parasite. Il a été montré *in vitro* que les souches de type I ont une plus grande motilité que les souches de types II et III (Barragan, 2002, 2003).

La vitesse de multiplication intracellulaire du parasite conditionne à la fois la dissémination du parasite dans l'organisme mais aussi l'intensité de la réponse immunitaire développée par l'hôte (Kaufman, 1958, 1959). La charge parasitaire est hautement corrélée à la pathogénie de *T. gondii* chez la souris, régulant le taux de production de cytokines Th1 en réponse à l'infection, augmentant les phénomènes d'apoptose et les dommages tissulaires (Kaufman, 1959; Mordue, 2001; Gavrilescu, 2001). Les souches de type I ont une vitesse de multiplication *in vitro* supérieure aux souches de types II et III (Radke, 2001; Sibley, 2002). *In vivo*, la charge parasitaire de *T. gondii* RH dans la lamina propria est supérieure à celle de ME49 lors d'injections intra iléale d'une quantité identique de tachyzoïtes (Burg, 1988).

IV. Interconversion et pathogénèse

Le processus d'inter-conversion tachyzoïte-bradyzoïte est un élément central dans la pathogénèse et la longévité de l'infection. Définir les facteurs qui influencent l'inter-conversion pourrait contribuer significativement au développement de nouvelles thérapies qui préviendraient la réactivation du parasite.

Des études ont montré que la morphologie des bradyzoïtes diffère de celle des tachyzoïtes en divers aspects: (i) la modification de la membrane de la vacuole parasitophore (VP) par l'addition de chitine, de glycoprotéines, et probablement de glycolipides pour former la paroi kystique (Boothroyd et al., 1997; Zhang et al., 2001); (ii) l'accumulation de granules d'amylopectine, reflétant un substantiel stockage de glucose; et (iii) la réorganisation subcellulaire avec la relocalisation postérieure du noyau et la redistribution des organes sécrétoires importants pour l'invasion et l'entretien de VP (Saksouk, 2005).

En culture tissulaires, *in vitro*, le taux de conversion est apparemment souche-dépendant. La souche de type II, ME49, a un plus grand taux de conversion spontanée que la souche de type I, RH (Weiss et Kim, 2000). L'inhibition de la réplication des tachyzoïtes (réplication rapide) s'accompagne en culture d'une augmentation du nombre de bradyzoïte (réplication lente). L'application de stress aux conditions de culture (température, pH) se traduit aussi par une augmentation des conversions tachyzoïte-bradyzoïte. La présence d'interféron γ ou encore

l'inhibition de la chaîne respiratoire mitochondrial induisent aussi la transition du tachyzoïte vers la forme bradyzoïte. Au cours de cette transition, le *Toxoplasme* convertit son métabolisme (Weiss et Kim, 2000).

L'inter-conversion est associée avec des changements morphologiques du parasite, l'expression d'antigènes de surface spécifiques à une forme parasitaire donnée, ou encore la mise en route de nouvelles voies métaboliques (Ferguson et Hutchison, 1987; Denton et *al.*, 1996). De nombreux gènes sont exprimés spécifiquement aux stades tachyzoïte (SAG1, SAG2A, SAG2B, LDH1, ENO2, etc) ou bradyzoïte (BSR4, SAG2C, SAG4, BAG1, LDH2, ENO1, etc) (Lyons et *al.*, 2002). Le passage d'une forme à l'autre repose sur un équilibre strict entre activation et répression de grandes familles de gènes (Singh et *al.*, 2002). C'est au niveau de la transcription, en grande partie au moins, que devrait être contrôlé l'engagement de *T. gondii* vers l'une ou l'autre forme. L'inter-conversion semble donc mettre en jeu un système complexe de contrôle transcriptionnel dont les mécanismes moléculaires sont méconnus (Saksouk, 2005).

Le passage de la forme proliférative tachyzoïte à la forme enkystée bradyzoïte serait alors la conséquence phénotypique d'épimutations réversibles. Ces épimutations définissent un état transcriptionnel propre à une forme parasitaire donnée ou à un état transitionnel qui autorise le passage d'une forme à l'autre (Saksouk, 2005).

V. Aspects moléculaires d'invasion et de pathogénie

La multiplication de *T. gondii* est obligatoirement intracellulaire et s'effectue au sein d'une vacuole parasitophore limitée par une membrane. La membrane de la vacuole est impliquée à la fois dans le maintien de l'intégrité de la vacuole, l'acquisition des nutriments et la manipulation de certaines fonctions de la cellule selon des mécanismes qui ne sont pas encore complètement élucidés (Martin et *al.*, 2007).

Pour favoriser son développement au sein de la cellule, *T. gondii* induit le facteur de transcription HIF1 «hypoxia-inducible factor1», qui régule notamment des gènes impliqués dans le métabolisme du Fer et du glucose, éléments importants pour le développement du parasite (Spear et *al.*, 2006).

Parallèlement, pour prolonger sa survie dans la cellule et éviter son élimination rapide par les macrophages, *T. gondii* a développé des stratégies pour bloquer l'apoptose cellulaire (Laliberte et Carruthers, 2008). En augmentant la capacité migratoire des cellules infectées, comme les cellules dendritiques, *T. gondii* facilite sa dissémination à travers l'hôte. Ainsi, Lambert et *al.* (2006) ont observé *in vitro* que les cellules dendritiques infectées, migraient

plus vite et passaient plus rapidement à travers les cellules endothéliales que les cellules non-infectées. *In vivo*, les cellules dendritiques injectées infectées arrivent plus rapidement dans la rate que les cellules non-infectées et la dissémination du parasite est plus rapide après cette injection que l'injection de parasites libres.

Le toxoplasme a une durée de vie limitée à quelques heures en milieu acellulaire. Sa capacité à envahir de nouvelles cellules cibles est donc capitale pour sa survie. Le toxoplasme a une absence quasi-totale de spécificité d'hôte : il est potentiellement capable d'envahir tous les types cellulaires : les cellules de vertébrés à sang chaud, les cellules de poisson et même les cellules d'insecte (Werk et Fischer, 1982). L'invasion est un phénomène actif initié et conduit par le parasite, lié à sa motilité et dépendant de l'actine et de la myosine du parasite (Morisaki et al., 1995; Dobrowolski, Carruthers et al., 1997; Dobrowolski et al., 1997). Le processus d'invasion est achevé en moins de 10 secondes et aboutit à la création d'un compartiment intracellulaire dans lequel le parasite va pouvoir s'installer et se multiplier. Les différents organites du complexe apical interviennent à chaque étape du processus par l'exocytose successive de leur contenu : les protéines de micronèmes interviennent dans la reconnaissance de la cellule hôte, les protéines du col des rhoptries contribuent à la formation de la jonction mobile, les protéines du bulbe des rhoptries à la formation de la vacuole parasitophore et celles des granules denses interviennent lors de la maturation de la vacuole (Carruthers et Sibley, 1997; Dubremetz et al., 1998).

V.1. Motilité et invasion

Les formes invasives de *T. gondii* sont motiles. La motilité et l'invasion sont intimement liées, les parasites non motiles sont incapables de pénétrer dans une cellule.

Cette motilité est très particulière. Les parasites ne possèdent ni cils, ni flagelles, ils glissent sur un substrat solide, pouvant être la surface des cellules, selon une polarité antéro-postérieure. Cette motilité par glissement, spécifique des Apicomplexa est très conservée au sein du phylum. L'examen de tachyzoïtes extracellulaires de *T. gondii* par vidéomicroscopie dévoile que cette motilité par glissement consiste en une succession de plusieurs comportements stéréotypés (Figure 7) : (i) un glissement circulaire, dans le sens des aiguilles d'une montre ; (ii) des tournolements verticaux, toujours dans le sens des aiguilles d'une montre (le parasite restant attaché au substrat par son pôle postérieur) ; (iii) un glissement hélicoïdal, qui combiné à un flip dans le sens des aiguilles d'une montre aboutit en un déplacement vers l'avant (Hakansson et al., 1999).

Au cours de son glissement, le toxoplasme entre directement en contact avec la cellule hôte par son extrémité apicale. Les mouvements propres du conoïde peuvent contribuer à l'apposition de l'apex sur la surface cellulaire (Schwartzman et Saffer, 1992; Morisaki et *al.*, 1995).

L'absence de temps de latence entre la phase d'attachement et la phase de pénétration du parasite implique que le parasite exprime des molécules d'adhésion de surface qui participent aux deux processus par une interaction concertée avec les récepteurs cellulaires et le moteur acto-myosine du parasite. Les ligands parasitaires sécrétés à la surface au niveau du pôle antérieur, permettent un attachement fort et localisé à la surface de la cellule hôte, sont connectés au moteur acto-myosine, ce qui assure leur déplacement antéro-postérieur à la surface du parasite et donc sa motilité et son entrée dans la cellule hôte. Ces ligands sont ensuite rejetés dans le milieu extérieur au niveau du pôle postérieur du parasite. (Sibley et *al.*, 1998; Menard, 2001; Soldati et *al.*, 2001; Opitz et Soldati, 2002). Ce mode de motilité par glissement, implique l'action des adhésines sécrétées (micronèmes), du rôle moteur de la myosine, des facteurs régulant la polymérisation de l'actine et des protéases (Figure 6). La machinerie impliquée dans la motilité est appelée glidéosome (Keeley et Soldati, 2004).

- **Rôle de la profiline dans la motilité et l'invasion**

Dans les conditions physiologiques, l'actine F n'a pas pu être mise en évidence. Cependant, l'extrême susceptibilité du parasite aux drogues qui interfèrent avec la polymérisation (cytochalasine D) ou la dépolymérisation (le cyclopeptide jasplakinoïde) de l'actine, confirme le rôle crucial de l'actine dans la motilité du parasite (Dobrowolski et Sibley, 1997; Wetzel et *al.*, 2003). La plupart des apicomplexa dont *T. gondii* ont des formines (Plattner et *al.*, 2008) et une profiline (Yarovinsky et *al.*, 2005; Baum et *al.*, 2006). Par un système d'expression conditionnel, Plattner et *al.* (2008) ont montré que la profiline de *T.gondii* n'était pas nécessaire à la multiplication intracellulaire. Par contre, elle est indispensable pour la motilité, l'invasion cellulaire et la sortie active des parasites de la cellule infectée. En conséquence, la profiline est impliquée dans la virulence *in vivo* chez la souris.

- **Rôle de la myosine dans la motilité et l'invasion**

Des inhibiteurs de la myosine ont montré que la myosine était impliquée dans la motilité du parasite (Dobrowolski et *al.*, 1997). Plusieurs myosines ont été caractérisées chez *T. gondii*. Six appartiennent à la classe XIV, qui n'est décrite que pour les apicomplexes. Deux d'entre elles, TgMyoB et TgMyoC seraient impliquées dans le bourgeonnement et la séparation des cellules filles lors de la division endodyogénique de *T. gondii* (Delbac et *al.*, 2001). TgMyoA,

quant à elle, participe à la motilité et à l'invasion. Elle est localisée sous la membrane plasmique. Cette localisation est déterminée par deux arginines situées dans son domaine C-terminal. L'extinction conditionnelle de l'expression de TgMyoA a permis de montrer que cette protéine était essentielle à l'invasion cellulaire. En effet, des parasites n'exprimant plus de TgMyo-A ne sont plus mobiles et ne peuvent plus envahir les cellules (Meissner et *al.*, 2002).

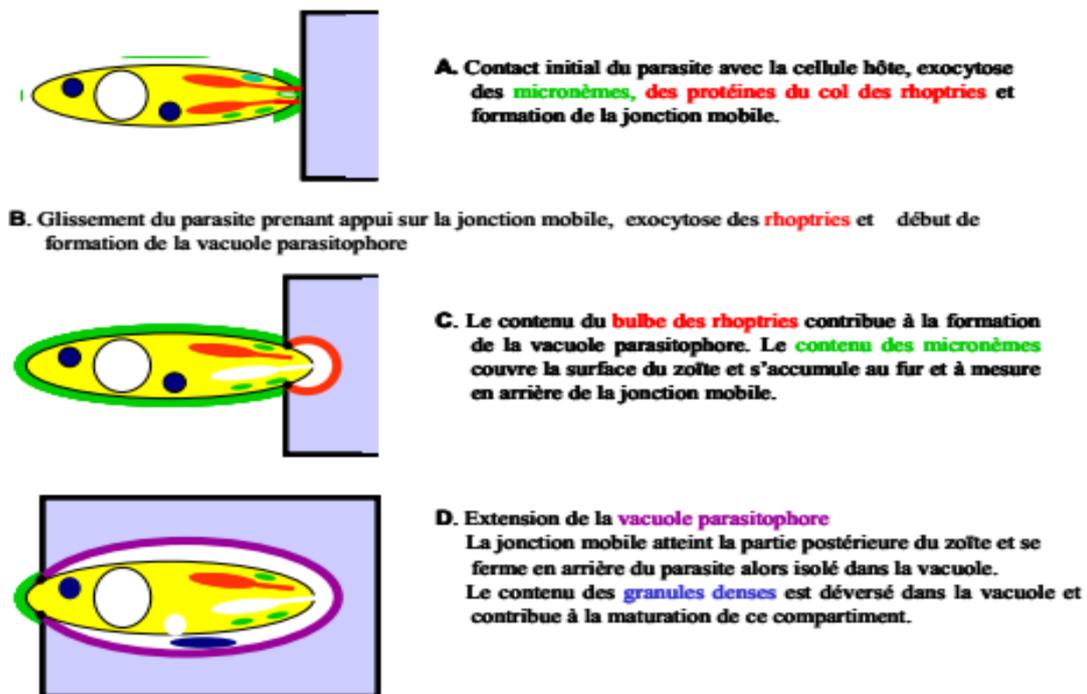


Figure 6 : Différents stades d'invasion de la cellule hôte par *T. gondii* (Garcia-Reguet et *al.*, 2000).

V.2. Attachement du parasite à la cellule hôte

La notion de reconnaissance est difficile à appréhender chez le toxoplasme en raison de sa capacité à envahir de très nombreux types cellulaires. Deux hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer cette absence de spécificité d'hôte : le parasite dispose d'une large panoplie de ligands capables d'interagir avec un ou plusieurs récepteur(s) présent(s) à la surface d'un type cellulaire précis ou/et des molécules très répandues parmi tous les types cellulaires sont impliquées (Taylor et *al.*, 2006; Hedhli, 2008).

V.2.1. Rôle des micronèmes

L'exocytose des micronèmes intervient dès le début de l'invasion comme le suggère fortement la relocalisation de plusieurs protéines de micronèmes à la surface apicale du parasite, au moment du contact initial avec la cellule hôte (Carruthers et Sibley, 1997; Garcia-Reguet et *al.*, 2000; Soldati et *al.*, 2001). Lors de l'invasion, les MICs transmembranaires sont connectées par leur domaine C-terminal cytosolique aux structures cytosquelettiques et par le domaine N-terminal aux récepteurs cellulaires, soit directement ou indirectement via les MICs solubles avec lesquelles elles forment des complexes. Le complexe TgMIC2/M2AP joue un rôle critique dans la motilité, l'attachement et l'invasion (Huynh et *al.*, 2004; Huynh et Carruthers, 2006). MIC3 ne semble pas impliquée dans l'invasion de fibroblastes (HFF) *in vitro*, par contre une légère diminution de la virulence est observée *in vivo* (Cerede et *al.*, 2002). La virulence des parasites délétés des gènes MIC1 et MIC3 n'est pas restaurée par la recomplémentation de ces parasites avec une protéine MIC3 mutée, ne présentant plus d'affinité pour la surface des cellules. *In vivo*, la virulence est donc liée à l'affinité de MIC3 pour la surface des cellules. Les parasites délétés du gène de MIC8 ne sont plus capables de former la jonction mobile ni de sécréter les protéines de rhoptries (Kessler et *al.*, 2008).

V.2.2. Rôle des autres protéines

Par leur localisation, à l'interface formée par le parasite et la cellule hôte, les protéines de surface sont toutes désignées pour participer à la reconnaissance et l'attachement du parasite à la cellule hôte. Ces protéines sont majoritairement des protéines ancrées par l'intermédiaire d'un groupement glycosyl-phosphatidyl-inositol (GPI) (Manger et *al.*, 1998; Lekutis et *al.*, 2000). Certaines de ces protéines sont exprimées uniquement au stade tachyzoïte (SAG1), d'autres au stade bradyzoïte (SAG4) ou exprimées par tous les stades invasifs comme SAG3. La fonction de ces nombreuses protéines n'est pas encore très bien connue. La protéine majeure de surface SAG1 est impliquée dans l'attachement et l'invasion du tachyzoïte (Mineo et McLeod, 1993). La configuration de SAG1 présente une niche qui pourrait potentiellement servir de site de liaison à des protéoglycanes sulfatés de la cellule hôte (He et *al.*, 2002). SAG1 serait en partie responsable du développement de l'immunopathologie qui accompagne l'infection (Rachinel et *al.*, 2004).

Des parasites mutants dépourvus de SAG3 sont 500 à 1000 fois moins virulents pour la souris. Leur capacité d'attachement et d'invasion de cellules *in vitro* est inférieure de moitié à celle de la souche parentale (Dzierszinski et *al.*, 2000).

V.3. Formation de la vacuole parasitophore

La vacuole parasitophore se referme au niveau postérieur du parasite en une calotte sphérique postérieure. La membrane entourant le zoïte se pince et se détache du plasmalemme. Le parasite se trouve alors isolé du cytoplasme de la cellule hôte, dans cette vacuole. Il a été suggéré que sa membrane correspond à l'internalisation d'une partie de la membrane de la cellule hôte (environ 70 %) (SussToby et *al.*, 1996).

Les résultats de Mordue et collaborateurs ont confirmé que les lipides et les protéines, à ancrage GPI, de la membrane hôte sont effectivement incorporés dans la membrane de la VP. Par contre, les protéines transmembranaires en sont exclues, dont les protéines des compartiments de la voie d'endocytose (Mordue et *al.*, 1999).

D'autre part, l'exocytose des rhoptries se produit au début de la formation de la VP. Leur contenu est déversé directement dans le cytoplasme de la cellule hôte sous forme de vésicules (évacuoles). Les protéines ROP se relocalisent au niveau de la membrane vacuolaire, du côté cytosolique de la cellule. Deux protéines ROP16 et PP2C-hn se localisent également dans le noyau de la cellule hôte. ROP2 joue un rôle majeur dans l'invasion et la multiplication du parasite, elle est impliquée dans le recrutement des mitochondries cellulaires et dans la biogénèse des rhoptries (Nakaar et *al.*, 2003).

V.4. Maturation de la vacuole parasitophore

La vacuole résultante résiste à la fusion avec les compartiments de la voie d'endocytose mais par contre recrute les mitochondries et le réticulum endoplasmique de la cellule hôte. Cette association est probablement impliquée dans la survie intracellulaire du parasite, notamment pour l'acquisition d'énergie et des lipides.

Un réseau membranaire intravacuolaire se forme, 10 à 20 minutes après l'invasion, après l'exocytose du contenu des granules denses au niveau du pôle antérieur du parasite (Dubremetz et *al.*, 1993). Les protéines GRA sont sécrétées sous une forme soluble pour la majeure partie d'entre elles puis viennent se localiser à un endroit précis de la vacuole. GRA1 vient se localiser, par une interaction faible, au niveau du réseau tubulaire intravacuolaire (Sibley et *al.*, 1995). Les protéines GRA4 et GRA6 interagissent spécifiquement avec GRA2 pour former un complexe multimérique qui est associé de façon stable avec le réseau intravacuolaire par des interactions hydrophobes (Labruyere et *al.*, 1999; Lecordier et *al.*, 1999). GRA7 est impliquée dans la séquestration des organelles d'endocytose de la cellule, sources de nutriments pour le parasite (Coppens et *al.*, 2006).

VI. Physiopathologie de l'infection par *T. gondii*

Le parasite présente trois phases infectieuses : les tachyzoïtes qui constituent la forme capable de se multiplier rapidement, les bradyzoïtes qui forment le tissu kystique et les sporozoïtes contenus dans les oocystes (Reynal, 2004).

La transmission de *T. gondii* a lieu lors de l'ingestion d'oocystes rejetés dans l'environnement avec les déjections de chats infestés (Cenci-Goga et al., 2013). Les petits ruminants peuvent alors consommer de l'herbe de pâture, de l'eau ou une partie de la ration ainsi contaminées et se parasiter. D'après l'étude de Dubey (2009), il suffirait qu'un petit ruminant ingurgite 100 oocystes viables pour s'infecter et que cela ait des répercussions lors d'une gestation en cours. Dans un article de Buxton et al. (2007), il a été décrit que suite à l'ingestion d'oocystes viables, on observe un relargage de sporozoïtes dans le petit intestin puis une multiplication de tachyzoïtes quatre jours post-infection dans les nœuds lymphatiques mésentériques. Ce mécanisme s'accompagne d'un épisode d'hyperthermie chez la brebis environ 10 jours post-infection et c'est durant cette phase que le parasite est détectable dans le sang.

Suite à l'ingestion des kystes tissulaires, les bradyzoïtes pénètrent dans les entérocytes et les cellules de la lamina propria dans deux heures. Quelques heures plus tard, les bradyzoïtes se transforment en tachyzoïtes. Dans les quatre jours suivants, les tachyzoïtes ont atteint le cerveau, les poumons et les autres organes. Une fois pénétrés dans les cellules de l'hôte, les tachyzoïtes se multiplient activement jusqu'à ce que l'hôte développe une immunité contre le parasite, les parasites extracellulaires sont éliminés, les multiplications intracellulaires ralentissent et des kystes se développent. Deux jours plus tard, les kystes se forment. Leur localisation et leur nombre dépend de l'hôte : chez les rongeurs (souris et rats), les kystes sont plutôt présents dans le cerveau tandis que chez les ruminants (bétail, ovins, chèvres...) ils sont préférentiellement localisés dans les muscles (Uggla et Buxton, 1990; Esteban-Redondo et Innes, 1997; Buxton, 1998; Dubey, 1998) (Figure 7).

La sortie du parasite est rapide et entraîne la lyse de la cellule-hôte tout en libérant des parasites très mobiles. Aucun événement sécrétoire de la part du parasite n'a été mis en évidence (Black et Boothroyd, 2000). La dissémination des parasites dans l'organisme donne lieu à une phase de parasitémie qui déclenche la réponse immunitaire de l'hôte. Les rares parasites qui échappent à l'élimination par le système immunitaire de l'hôte s'enkystent alors dans les organes cibles (Dubey et al., 1998).

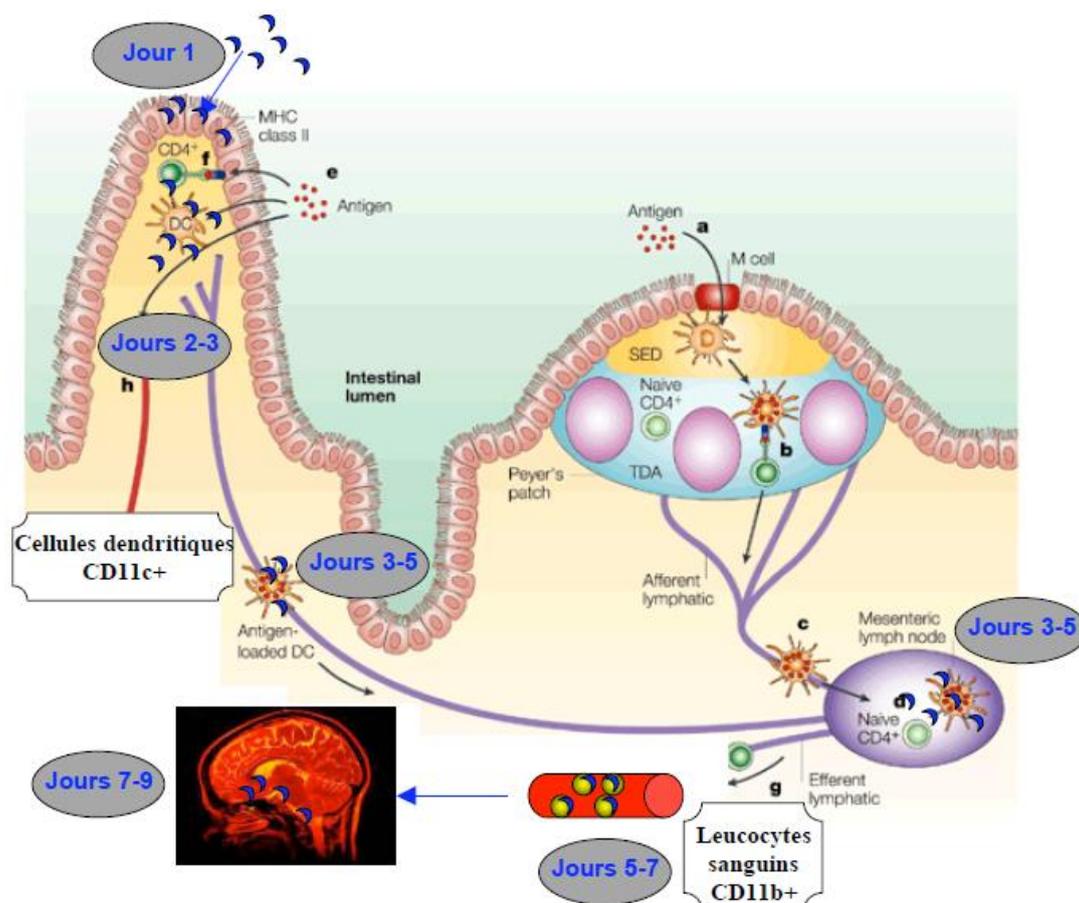


Figure 7 : Différentes phases de migration des tachyzoïtes de *T. gondii* (Guiton, 2008).

Les tachyzoïtes ont la particularité de se développer et d'être disséminés dans les circulations sanguine et lymphatique, ce qui peut conduire à un passage transplacentaire au cours de la gestation. Ce passage transplacentaire s'explique par le fait que le système immunitaire de la mère est inhibé afin de maintenir la gestation. Ainsi, les mécanismes d'activation des cytokines inflammatoires telles que l'interleukine 2 (IL2), le Facteur de Nécrose Tumorale (TNF α) et l'interféron gamma (IFN γ) sont atténués et cela favorise l'infection du fœtus lors d'une contamination verticale. Les parasites progressent ainsi jusqu'aux caroncules maternelles des placentomes puis envahissent les cellules trophoblastiques des villosités fœtales avant d'atteindre l'ensemble du fœtus provoquant alors une nécrose à l'origine de l'avortement. Cette nécrose est provoquée par le développement des tachyzoïtes à l'intérieur des cellules jusqu'à les faire exploser. Il s'agit de ponctuations blanches qui correspondent à une minéralisation dystrophique de foyers nécrotiques associée à la multiplication des tachyzoïtes. Lors d'une gestation, lorsque le fœtus est infecté, on peut ainsi observer des lésions de nécrose sur divers organes (Gutierrez et *al.*, 2010).

D'après Dubey et Hill (2008) et Nietfeld et al. (2008), lorsque les brebis ou les chèvres sont infectées par *T. gondii* en début de gestation, on observe une résorption de l'embryon ou une momification du fœtus. Un animal immunodéprimé ou jeune peut succomber à une infestation majeure par les tachyzoïtes car la dissémination systémique de cette forme parasitaire peut provoquer une pneumonie interstitielle, une myocardite, une nécrose hépatique, une méningo-encéphalite, une chorioretinite, une adénite ou une myosite.

En revanche, un individu immunocompétent peut développer une réaction immunitaire assez forte pour contrôler l'infection et pousser le parasite à se stabiliser dans sa forme kystique (Buxton et al., 2007). Lors d'une infection, les nœuds lymphatiques vont produire des INF γ et de nombreuses cellules blastiques. En début d'infection, une majorité de cellules à CD4+ sont produites puis au bout de 11 jours post-infection, les cellules CD8+ sont prédominantes et les INF γ sont alors indétectables.

L'infection est alors contrôlée et le parasite s'enkyste pour se protéger. Cette forme kystique peut d'ailleurs persister dans l'organisme de l'animal durant des années voir toute sa vie et elle est préférentiellement localisée dans le système nerveux et les muscles.

Dans une étude de Moreno et al. (2012) réalisée sur 74 fœtus avortés d'agneaux et 26 de chevreaux dans diverses régions d'Espagne, 17% de ces fœtus présentaient une infection protozoaire mise en évidence par au moins une technique diagnostique (PCR et/ou histopathologie). Une autopsie a été réalisée sur chacun de ces fœtus et des prélèvements de cerveau, poumon, cœur, foie, rate et rein ont été effectués.

Au cours de ces analyses, il a été mis en évidence des lésions caractéristiques de toxoplasmose : des foyers de nécrose multifocaux entourés de cellules inflammatoires ou des foyers multiples d'infiltrats cellulaires non suppuratifs. Les lésions étaient qualifiées de légères lorsque l'on retrouvait moins de deux foyers nécrotiques sur un organe, modérées pour deux à cinq foyers et enfin sévères pour plus de cinq foyers nécrotiques.

Par ailleurs, des lésions compatibles moins sévères ont été définies ; il s'agit de foyers d'inflammation gliale ou d'une inflammation gliale diffuse sans zone nécrotique apparente. Des lésions dites compatibles correspondent à une atteinte légère. Il est apparu que les lésions étaient similaires pour une infection à *T. gondii* et *Neospora caninum*, ce qui rend la PCR indispensable pour différencier ces deux parasites responsables d'avortements chez les petits ruminants.

À l'issue de cette étude, les auteurs ont conclu que les avortements étaient associés à des lésions pour 62,5 % des fœtus infectés par *Neospora caninum* et seulement 37,5 % pour ceux touchés par *T. gondii*. Il semblerait donc que la présence de lésions histologiques ne puisse

pas être recherchée seule pour la détermination d'une infection par l'agent de la toxoplasmose.

Chez l'homme, le risque d'infection réside dans la consommation de viande mal cuite qui ne permet pas l'élimination d'une éventuelle forme kystique, l'ingestion accidentelle d'oocystes provenant des fèces de chat ou la consommation de légumes du jardin mal lavés et contaminés eux aussi par les déjections de chat.

Chez un individu immunodéprimé, la toxoplasmose peut avoir la forme d'une méningo-encéphalite due à la multiplication de kystes dans le cerveau suite à un échec de la réponse immunitaire. Chez la femme enceinte, une infection durant la grossesse peut provoquer des malformations du fœtus dues à une contamination par voie transplacentaire à la naissance. Il est donc important d'observer des règles strictes d'hygiène lors de la préparation des plats, de bien cuire les viandes, de prendre des précautions lors de la manipulation du chat de compagnie et en particulier lors du nettoyage de sa litière (gants ...) (Reynal, 2004; Halos et al., 2010).

Enfin, dans une étude de Buxton et al. (2007) il est suggéré qu'une sensibilité accrue à l'agent de la toxoplasmose due à la race serait envisageable. En effet, dans une étude citée par ces derniers, les brebis de race Charollaise seraient plus souvent séropositifs que les autres races mais cela pourrait aussi s'expliquer par l'environnement dans lequel évoluent ces animaux et la séroprévalence dans leur région d'élevage.

Chapitre 4

Immunité anti- T.gondii

I. Réponse immune innée

Dans une infection par voie orale, la première barrière à traverser est celle des cellules épithéliales intestinales. Les bradyzoïtes ou les sporozoïtes libérés dans la lumière intestinale entrent en contact avec les entérocytes et les envahissent par un processus d'invasion active.

Pendant la pénétration, les cellules épithéliales sont activées et produisent des cytokines pro-inflammatoires et d'autres molécules comme les défensines. Une fois à l'intérieur d'une cellule hôte, le parasite commence sa multiplication. Ensuite les parasites arrivent dans la lamina propria (LP). Les neutrophiles, monocytes et cellules NK (Natural Killer) sont les premières à arriver au site d'entrée en réponse aux cytokines pro-inflammatoires. Les cellules dendritiques (CD ou DC) et les lymphocytes intra épithéliaux (LIE ou IEL) présents dans la LP jouent également un rôle dans la réponse au parasite. Chez la souris, les PRR (Pathogen Recognition Receptors) comme le TLR11 et le CCR5 identifient les antigènes parasitaires respectivement la profiline (Yarovinsky et *al.*, 2005) et la cyclophiline (Aliberti, 2005). L'interaction des PRR avec ces protéines parasitaires induit la production d'IL12 par les CD. Ces cellules sont les producteurs principaux de l'IL12 dans l'infection à *T.gondii* (Liu et *al.*, 2006). Cependant, plusieurs populations cellulaires sont impliquées dans la production d'IL12 comme les neutrophiles (Bliss et *al.*, 1999, 1999a) et les macrophages (eSousa et *al.*, 1997, 1999). L'IL12 induit ensuite la production de l'IFN γ par les cellules NK, NKT et les cellules de la réponse immune adaptative (lymphocytes CD4+ et CD8+) (Kim 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. Le parasite infecte les CDs des plaques de Peyer, de la lamina propria ainsi que ceux des ganglions mésentériques en plus des macrophages et des entérocytes (Rescigno et *al.*, 2001).

L'IL15 produit par les entérocytes infectés et l'IL12 produit par les CDs activées stimulent l'activité des cellules T et leur différenciation en T helper de type 1 capables de sécréter l'IFN γ (Aliberti et *al.*, 2004). Ces cytokines activent également les Natural killer (NK), et les Natural Killer T (NKT) pour sécréter de l'IFN γ qui déclenche l'activité microbicide et microbiostatique des macrophages, des cellules dendritiques et des entérocytes, ce qui permet l'élimination du parasite (Figure 8) (Korbel et *al.*, 2004).

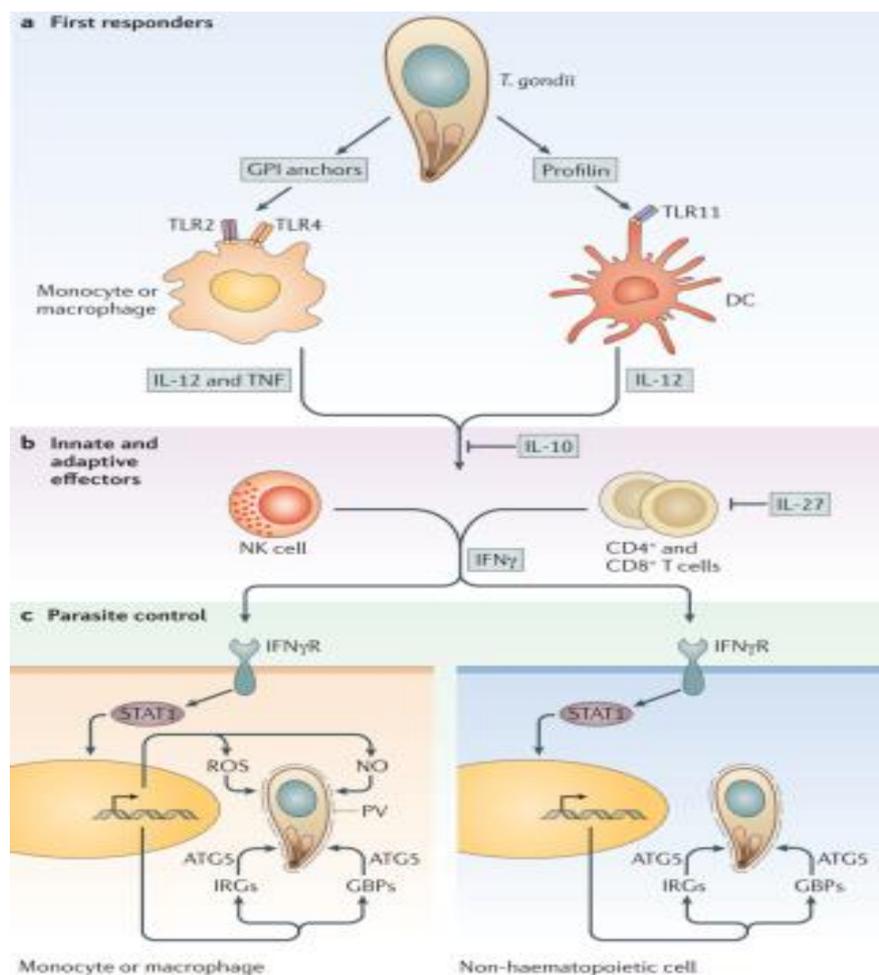


Figure 8 : Réponse immunitaire innée durant l'infection par *T. gondii* (Hunter et Sibley, 2012).

I.2. TLRs impliqués dans la reconnaissance de *T. gondii*

Ainsi, l'activation par le TLR de MYD88 dans les cellules dendritiques (DC) conduit à l'activation dépendante de IL12 des cellules Th1, qui sont nécessaires pour la survie de l'hôte pendant l'infection parasitaire (Jankovic *et al.*, 2002 ; Yarovsky *et al.*, 2006).

Il a été montré que le TLR11 est le récepteur de l'immunité innée qui reconnaît la profiline du toxoplasme chez la souris. Ce récepteur est requis pour la production de l'IL12 par les cellules dendritiques aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* via la molécule MyD88 (Yarovsky *et al.*, 2005; Yarovsky et Sher, 2006; Yarovsky, 2008). Le blocage de la sécrétion de protéine chez *T. gondii* n'a pas empêché la reconnaissance par les DCs de la profiline, ce qui suggère que le TLR11 détecte la profiline qui est libérée passivement par des parasites (Plattner *et al.*, 2008). De plus, il est intéressant de noter que la reconnaissance par les DCs de la profiline se produit avant une interaction directe avec le parasite, en utilisant la stratégie de «détection à distance» (Pifer *et al.*, 2011; Pifer et Yarovsky, 2011). Les humains n'ont pas le gène pour coder le

TLR11 fonctionnel (BOX 2). On ne sait pas si la profiline de *T. gondii* peut être reconnue en l'absence de TLR11 par d'autres classes de récepteurs (Figure 9) (Yarovinsky, 2014).

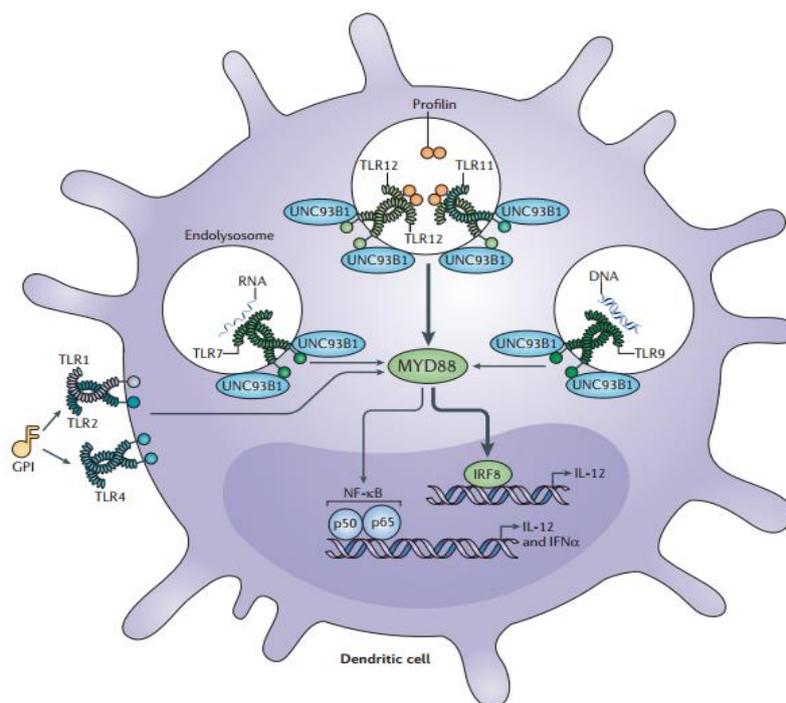


Figure 9: TLRs impliqués dans la reconnaissance de *T.gondii* (Yarovinsky, 2014).

Tandis que le TLR11 contrôle la sécrétion de l'IL12, le TLR2 semble impliqué dans la production du CCL2/MCP-1 ou du TNF en réponse au parasite (Del Rio et *al.*, 2004; Debierre-Grockiego et *al.*, 2007). Le rôle accessoire du TLR2 dans l'induction de la synthèse d'IL12 s'explique par un rôle dominant du TLR11 (Yarovinsky, 2008).

Dans l'ensemble, il semble qu'une gamme de TLR, incluant deux TLRs de surface cellulaire (c'est-à-dire TLR2 et TLR4) et quatre TLR endosomaux (TLR7, TLR9, TLR11 et TLR12) soient impliqués dans la détection innée de *T. gondii* chez la souris. La fonction des récepteurs innés n'est pas seulement de détecter la présence d'un agent pathogène, mais aussi de déchiffrer sa nature. De plus, il semble que seule la reconnaissance de la profiline de *T. gondii* par TLR11 et TLR12 fournit une spécificité innée vis-à-vis de *T. gondii* et des parasites apicomplexes apparentés, alors que les TLR restants contribuent à la réponse immunitaire en détectant des signaux inflammatoires plus génériques pendant l'infection (Yarovinsky, 2014).

I.3. Cellules impliquées dans l'immunité innée

I.3.1. Cellules épithéliales intestinales IEC

Aux surfaces des muqueuses, une seule couche de cellules épithéliales agit comme une barrière entre l'hôte et le monde extérieur (Barker, 2014). Ces cellules deviennent des acteurs centraux dans l'induction des réponses immunitaires muqueuses (Figure 10) (Peterson et Artis, 2014).

De plus, la cytokine IL25 spécifique d'IEC n'est pas requise pour une réponse immunitaire protectrice contre *T.gondii*. Ces IECs sont les premières cellules à être infectées par *T.gondii*, et qui constituent une composante importante de la réponse antiparasitaire (Figure 10) (Zaph et Artis, 2015). Elles produisent des IFN de type 1, influencent la dégranulation des cellules de Paneth et peuvent accélérer la maturation de DCs (Barakat et al., 2009; Foureau et al., 2010). En plus, les IECs produisent des chimiokines à motif CXC qui sont des chemo-attractants des neutrophiles, des chimiokines à motif CC et à motif CXC qui sont attractantes pour les lymphocytes et les monocytes (Laurent et al., 1997; Lacroix-Lamande, 2002).

Des cellules épithéliales spécialisées, appelées cellules de Paneth, tapissent les cryptes et libèrent des défensines et d'autres peptides antimicrobiens dans la lumière intestinale (Clevers et Bevins, 2013).

Des cellules épithéliales spécialisées (cellules M) échantillonnent le contenu luminal et, par transcytose, les antigènes sont transportés vers le DC sous-jacent pour être présentés aux cellules T. La muqueuse intestinale est drainée par les vaisseaux lymphatiques, et de cette manière, les ganglions mésentériques acquièrent un antigène et un DC porteur d'antigène pour l'activation de la réponse immunitaire adaptative (Kunisawa et al., 2007).

Rapidement après infection, les entérocytes libèrent de l'oxyde nitrique NO (monoxide d'azote) inhibant la réplication du parasite et sa pénétration dans la barrière intestinale (Hayashi et al., 1996; Yap et Sher, 1999).

La chimiokine CXCL2 sécrétée par les entérocytes permet le recrutement des neutrophiles (Del Rio et al., 2001). Les chimiokines CCL3, CCL4 et CCL5 partagent un récepteur commun CCR5 exprimé par les macrophages et cellules dendritiques, cellules phagocytaires internalisant *T. gondii*. De même que pour les neutrophiles, les macrophages sont capables de tuer *T. gondii* dans leur compartiment intracellulaire, consécutive à une endocytose active, et de libérer des facteurs microbicides (Murray, 1984; Denkers, 2003).

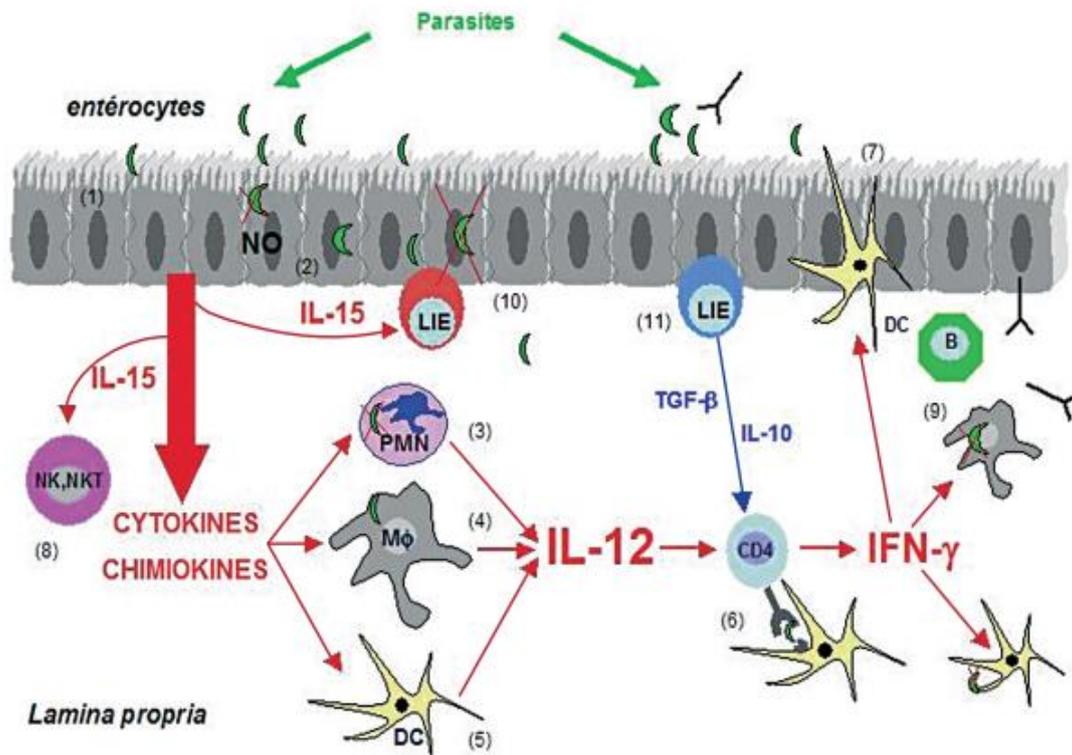


Figure 10: Model de la réponse immunitaire muqueuse lors d'infection par *T. gondii* (Schulthess et al., 2008).

Les α -défensines produites par les cellules de Paneth sont libérées dans la lumière de crypte, où elles contribuent au contrôle de la distribution microbiennes ainsi qu'à la défense contre l'invasion des pathogènes y compris *T. gondii* (Figure 11) (Clevers et Bevins, 2013). En effet, les α -défensines (cryptidines ou Crps) sont parasitocides pour les tachyzoïtes de *T. gondii* in vitro (Tanaka et al., 2010). Barakat et al. (2009) suggèrent que l'activation de TLR9 pendant l'infection conduit à la production d'IFN de type I, qui peut moduler l'expression de Crp dans les cellules de Paneth (Figure 13). Les Cryptidines limitent la pénétration du toxoplasme dans l'intestin en renforçant la réponse inflammatoire intestinale notamment par la production des chimiokines CCL2, CCL3 et CCL5 par les entérocytes (Ju et al., 2009; Yarovsky, 2014).

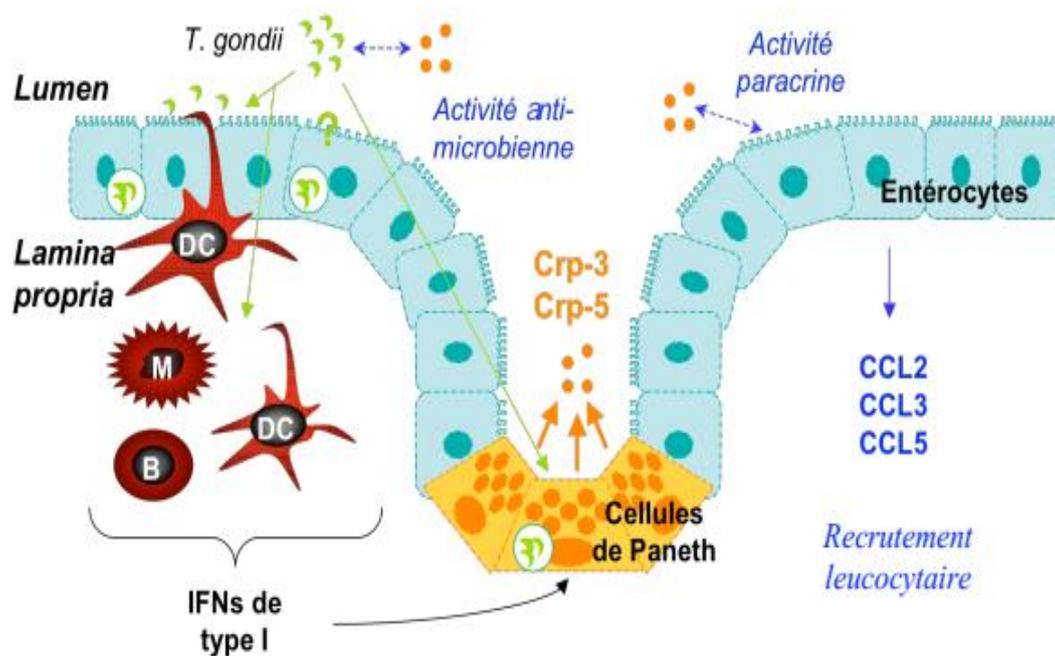


Figure 11: Séquence d'événements aboutissant à la libération des Cryptidines lors d'infection par *T. gondii* (Foureau, 2008).

I.3.2. Cellules dendritiques

Les DCs sont des cellules présentatrices d'antigènes (APC) très puissantes et sont essentielles pour le développement de réponses immunitaires contre la plupart des classes de parasites. Lors de l'infection par *T.gondii*, les DCs sont une source précoce et critique d'IL12 (Scharton-Kersten et Scott, 1995; Reis et Sousa et *al.*, 1997).

Les DCs dites immatures, sont les cellules sentinelles situées dans les tissus périphériques. Leur principale caractéristique est leur grande capacité d'endocytose (Sallusto et *al.*, 1995). Des DCs immatures ont été décrites dans les plaques de Peyer (Rescigno et *al.*, 2001) et à travers la lamina propria. Une fois les antigènes phagocytés dans les tissus périphériques, les DCs migrent vers les organes lymphoïdes secondaires initiant alors leur maturation (Dunay et *al.*, 2008).

I.3.2.1. Activation des cellules dendritiques

Les DCs humaines sont uniquement activées en présence de tachyzoïtes vivants et leur activation entraîne leur maturation, comme indiqué par l'augmentation des molécules de surface CMH II, CD80, CD86 et CD40 (Subauste et Wessendarp, 2000). Les DCs immatures ne subissent pas de maturation une fois infectées par *T. gondii* mais présentent une prolifération intracellulaire du parasite réduite, par leur expression d'un récepteur au TNF α , le

TNF-R2, induite par l'infection. Les DCs matures, même infectées, ne l'expriment jamais (Giese et *al.*, 2004).

I.3.2.2. Présentation antigénique par les cellules dendritiques

Les DCs immatures recrutées au site d'infection sont alors des cellules privilégiées dans le contact avec les antigènes parasitaires ou même le parasite entier au niveau de la lamina propria. L'échantillonnage des antigènes, a lieu directement dans la lumière intestinale. Après maturation, les cellules dendritiques seraient capables de faire passer des extensions à travers les jonctions serrées de l'épithélium intestinal sans détruire l'intégrité de la couche cellulaire (Rescigno et *al.*, 2001). Une seconde voie, alternative, impliquerait la capture des parasites qui passent la barrière intestinale par les DCs. La dernière se fait via les entérocytes infectés qui entrent en apoptose et sont digérés par les DCs (Larsson et *al.*, 2001).

Le mécanisme de présentation par le CMH I impliquerait les transporteurs TAP (transporter associated with antigen processing). Des peptides parasitaires sécrétés hors de la vacuole parasitophore seraient pris en charge par les transporteurs TAP du cytoplasme vers le réticulum endoplasmique (Gubbels et *al.*, 2005; Goldszmid et *al.*, 2007).

Des études *in vitro* et *in vivo* utilisant des parasites transgéniques ont montré que la présentation des antigènes par le CMH II des DCs est capable d'activer des LTs CD4+ spécifiques et leur production d'IFN γ (Pepper et *al.*, 2004). Dans le sang des souris infectées, trois populations de DCs CD11c+ ont été caractérisées : une lymphoïde CD8 α +, une myéloïde CD11b+ et une plasmacytoïde (DCp) PDCA+. Suite à l'infection, seules les DCs CD8 α + et les DCp augmentent l'expression de leurs molécules de CMH II, jouant ainsi probablement un rôle important dans l'activation des LTs CD4+. De plus, seules les DCp voient leur expression de CD83 augmentée, marqueur de maturation. Ces cellules activées par le parasite produisent de grandes quantités d'IL12 (Pepper et *al.*, 2008).

I.3.2.3. Production d'IL12 par les cellules dendritiques

Le recrutement local des populations cellulaires précédentes déclenche une forte réponse cytokinique caractérisée par la synthèse d'IL12, cytokine initiatrice de la réponse cellulaire, et d'IFN γ , cytokine majeure de résistance à l'infection par *T. gondii*.

Trois voies de synthèse de l'IL12 par les DCs ont été décrites, la première pourrait impliquer les molécules de glycosylphosphatidyl inositol (GPI), des lipides présents à la surface du parasite et qui seraient les ligands de récepteurs TLR (Denkers, 2003). En effet, les TLR1, TLR2, TLR4 et TLR6 ont des ligands de nature lipidiques qui ne sont pas tous clairement identifiés (Kaisho et Akira, 2006). La deuxième voie implique la profiline qui est capable de

se lier au TLR11 (Plattner et *al.*, 2008). La troisième voie impliquerait également une protéine parasitaire : la cyclophiline-18, libérée par les tachyzoïtes extracellulaires, qui se lierait au récepteur CCR5 (Aliberti et *al.*, 2003), notamment chez les DCs CD8 α +, mais également faire impliquer MIP-1 β et RANTES (Aliberti et *al.*, 2000). D'autres travaux ont montré que la synthèse d'IL12 est dépendante d'une interaction entre deux populations DC et LT et requiert l'engagement du CD28 et du CD40L (Subauste et *al.*, 2000).

Plus récemment, une protéine de choc thermique de *T. gondii*, la HSP70, a montré sa capacité à induire la maturation de DCs humaines en 48 heures par une voie de signalisation MAPK (Kang et *al.*, 2004), et leur synthèse d'IL12 en impliquant la voie TLR4/MyD88 (Aosai et *al.*, 2006).

Ces DCs par leur sécrétion d'IL12 (mais aussi d'IL15), activent les NK, les NKT et les cellules T CD4+. Ces cellules après activation sécrètent de grande quantité d'IFN γ qui active les fonctions microbicides des entérocytes, des macrophages et des DCs (Aline et *al.*, 2002).

Les DCs CD8 α + sont le type cellulaire le plus important pour l'induction de la production d'IL12 dépendant de TLR en réponse à l'infection par *T. gondii* (Reis e Sousa et *al.*, 1997; Scanga et *al.*, 2002; Yarovinsky et *al.*, 2005; Mashayekhi et *al.*, 2011).

D'autres sous-groupes DCs et macrophages sont capables de produire de l'IL12 mais qu'après avoir été stimulée par l'IFN γ (Trinchieri, 2003).

Comme la production d'IL12 *in vivo* est essentiellement intacte en l'absence d'IFN γ (Scharton-Kersten et *al.*, 1996 ; Reis e Sousa et *al.*, 1997), on peut conclure que les DCs CD8 α + sont les principaux capteurs primaires de l'infection par *T. gondii* qui initie la résistance de l'hôte au parasite (Yarovinsky, 2014).

I.3.3. Système Monocytes/Macrophages

I.3.3.1. Monocytes

Les monocytes inflammatoires sont rapidement recrutés dans la cavité péritonéale des souris infectées et expriment les marqueurs CD11b, F4/80, CD68, CD115 et Gr-1 (Ly-6C) (Dunay et Sibley, 2010). Ils jouent un rôle important dans le contrôle de la multiplication parasitaire au niveau local produisant de l'IL12, du TNF α et d'oxyde nitrique au niveau de la lamina propria (Dunay et *al.*, 2008). Leur recrutement dépend de la chimiokine MCP-1 et de son récepteur CCR2 (Mordue et Sibley, 2003; Zaph et Artis, 2015). Les monocytes inflammatoires de LP peuvent également jouer un rôle immuno-modulateur par la production de l'IL10 et de médiateurs lipidiques comme prostaglandine E2 (PGE2) (Figure 12) (Grainger et *al.*, 2013).

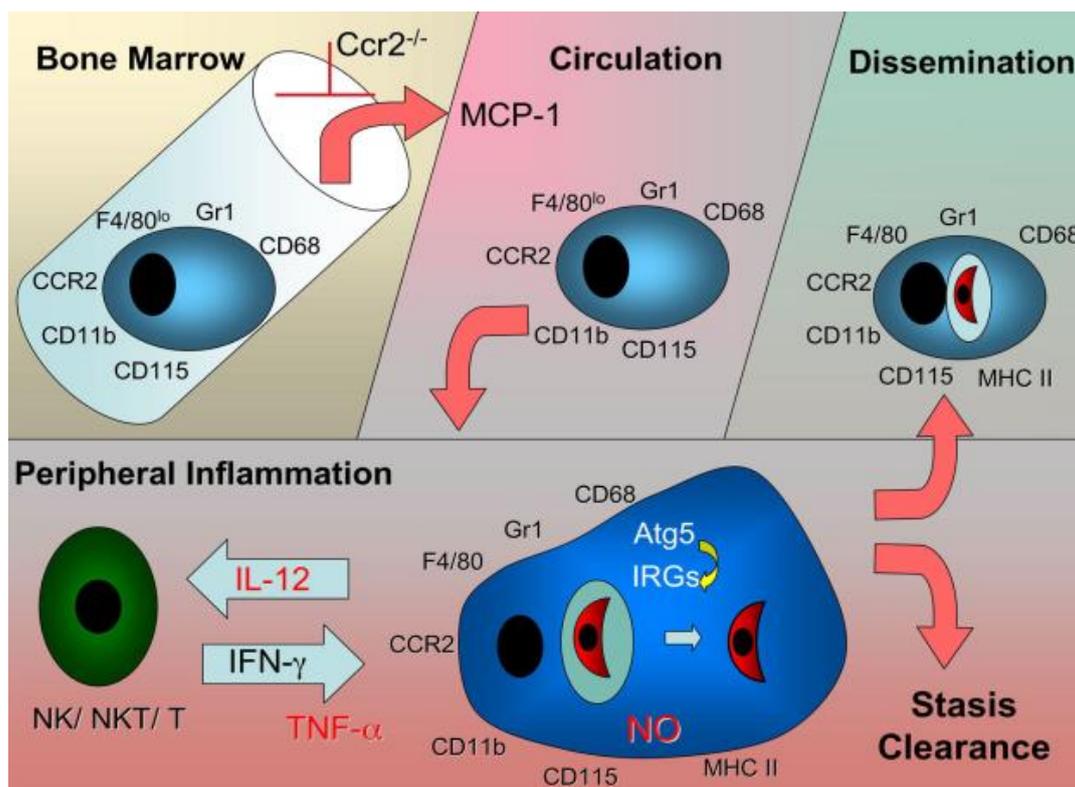


Figure 12 : Trafic des monocytes inflammatoires lors d'une infection par *T. gondii* (Dunay et Sibley, 2010).

I.3.3.2. Macrophages

Les macrophages sont également cruciaux dans l'immunité innée contre l'infection à *T. gondii*. Ils possèdent une fonction antimicrobienne puissante et traitent efficacement et présentent des antigènes peptidiques pour l'activation des lymphocytes T. L'IFN γ est le principal inducteur de l'activation classique des macrophages. Les macrophages de souris activés acquièrent des activités antimicrobiennes qui dépendent de la privation de tryptophane, qui survient après induction de l'indoleamine 2,3-dioxygénase, et de la production d'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) (Buzoni-Gatel et Kasper, 2007).

Les macrophages activés synthétisent le TNF α , avec celui produit par LT CD4⁺ de LP, améliore la production d'iNOS (Liesenfeld et al., 1999).

Les facteurs cellulaires qui sont nécessaires pour l'effet IFN γ sont largement inconnus, bien qu'IGTP et LRG-47, membres de la famille GTPases p47, soient nécessaires pour la résistance *in vivo* par inhibition de la croissance des parasites dans les macrophages (Butcher et al., 2005a). Les macrophages Gr1⁺ CD68⁺ produisent de l'IL12p40 et les macrophages activés par l'IFN γ génèrent des dérivés nitrogènes pendant la phase aiguë de l'infection, inhibant ainsi la multiplication des tachyzoïtes *in vivo* (Mordue et Sibley, 2003).

L'interaction CD40/CD154 intervient dans la régulation de la production par les macrophages d'IL12 et par les lymphocytes T de l'IFN γ , cette interaction est essentielle pour amorcer la réponse inflammatoire intestinale (Li et *al.*, 2002), et est cruciale dans la résistance (Reichmann et *al.*, 2000).

I.3.4. Polynucléaires neutrophiles

Suite à l'infection par *T. gondii*, les neutrophiles sont une source précoce d'IL12 et d'IFN γ (Bliss et *al.*, 1999, 2000; Sturge et *al.*, 2013). L'appauvrissement des neutrophiles au cours de l'infection par *T. gondii* entraîne une diminution de l'immunité et une pathologie systémique (Bliss et *al.*, 2001). Ces cellules sécrètent des cytokines (source importante d'IL12 et de TNF α) et chimiokines possédant un fort pouvoir attractant pour les cellules dendritiques immatures. Les neutrophiles seraient donc cruciales dans les premiers stades de l'infection à *T. gondii* pour le développement d'une réponse Th1 efficace (Bliss et *al.*, 2001; Bennouna et *al.*, 2003; Denkers, 2003, 2004).

Les neutrophiles sont des cellules phagocytaires capables de détruire les tachyzoïtes à la fois dans leur compartiment intracellulaire mais aussi par la sécrétion de facteurs microbicides (Thorne, 1983; Nichols, 1985). Leur trafic dépend de leur expression du récepteur CXCR2, qui se lie au chimiokine CXCL2 sécrétée par les entérocytes (Del Rio et *al.*, 2001).

Un dialogue décisif entre les neutrophiles et les DCs a récemment été prouvé. La culture *in vitro* de neutrophiles en présence d'extrait de *T. gondii* entraîne la synthèse des chimiokines MIP-1 α , MIP-1 β et RANTES qui sont de puissants attractants pour les DCs immatures, de même que la sécrétion de TNF α qui induit la maturation des DCs ainsi que leur production d'IL12 (Denkers et *al.*, 2004; Egan et *al.*, 2008).

La voie de synthèse de l'IL12 dans les neutrophiles implique la molécule adaptatrice MyD88, sans qu'un TLR particulier n'ait pu être identifié (Del Rio et *al.*, 2004).

Le tachyzoïte induit l'afflux de PN dans les tissus infectés et la libération de pièges extracellulaires (NETs), *in vitro* et *in vivo*, composés de chromatine et d'agents pathogènes extracellulaires (Mocsai, 2013) qui peuvent limiter la viabilité du pathogène et suggérant un rôle nouveau pour les neutrophiles dans l'immunité contre *T.gondii* (Abi Abdallah et Denkers, 2012). L'activité antimicrobienne des NETs dépend de leur structure car ils fournissent une forte concentration locale de protéines à activité anti-infectieuse à proximité directe des microorganismes piégés (Brinkmann et *al.*, 2004). Ces protéines comprennent des enzymes telles que le lysozyme ou les protéases, des peptides antimicrobiens (BPI et défensines par exemple) ainsi que des chélateurs d'ions comme la calprotectine. Les histones, protéines les

plus abondantes des NETs, possèdent également une forte capacité à tuer les microorganismes (Rose et *al.*, 1998 ; Li et *al.*, 2007).

I.3.5. Autres cellules immunitaires

Les cellules NK activées notamment par la voie de signalisation de STAT4 (Cai et *al.*, 2000) et stimulées par l'IL12, l'IL15 et le TNF α (Gazzinelli et *al.*, 1993), produisent de l'IFN γ qui augmente l'activité anti-microbienne des cellules M, des DCs et des IECs (Sher et *al.*, 1993). Les IELs exercent une activité cytotoxique vis-à-vis des IECs infectées et produisent du TGF β permettant de limiter les phénomènes immuno-pathologiques liés à l'IFN γ .

Les LT $\gamma\delta$ présentent également une activité cytotoxique *in vitro* contre les cellules infectées indépendante de la présentation de l'antigène par le CMH, et sécrètent de l'IFN γ , de l'IL2 et du TNF α (Subauste et *al.*, 1995). En raison de leur préférence de localisation pour l'intestin, ces cellules pourraient représenter une composante essentielle de la réponse immunitaire locale intestinale chez l'homme (Lepage et *al.*, 1998).

Très probablement les éosinophiles, ainsi que les mastocytes interviennent rapidement au site de l'infection et sont impliqués dans l'installation précoce de la réponse immunitaire non spécifique par l'intermédiaire de la production d'IL12 et de divers facteurs pro-inflammatoires (Bliss et *al.*, 2001). Enfin, les cellules non-hématopoïétiques (fibroblastes, cellules endothéliales,...) sont capables de réduire la prolifération du parasite par des mécanismes dépendants du fer, de l'iNOS, de l'IFN γ et du TNF α (Yap et Sher, 1999).

I.4. Rôle de l'IFN γ dans la réponse innée

I.4.1. Synthèse d'IFN γ

L'IFN γ est la cytokine majeure de lutte contre *T. gondii* (Suzuki et *al.*, 1988), qui est produit par différents types des cellules du système immunitaire. Les cellules NK produisent l'IFN γ dans la phase précoce de l'infection puis ce sont les lymphocytes T CD4 $^{+}$ et CD8 $^{+}$ qui sont les principales sources d'IFN γ (Suzuki et *al.*, 1988; Gazzinelli et *al.*, 1991; ScharonKersten et *al.*, 1997 et 1997a).

La production d'IFN γ par les macrophages peut être le fait d'une stimulation autocrine par leur IL12. Il en est de même pour les DCs. L'activation des macrophages et la maturation des DCs par l'IL12 induit la synthèse d'IFN γ par la voie de signalisation STAT4, *in vitro* comme *in vivo* (Figure 13) (Fukao et *al.*, 2001). Les cellules NK activées par l'IL12 synthétisent de l'IFN γ et participent ainsi à une immunité non spécifique contre *T. gondii* (Gazzinelli et *al.*, 1993), mais restent essentielles à l'activation des LT CD8 $^{+}$, dont le rôle est primordial dans la lutte anti-toxoplasme (Combe et *al.*, 2005).

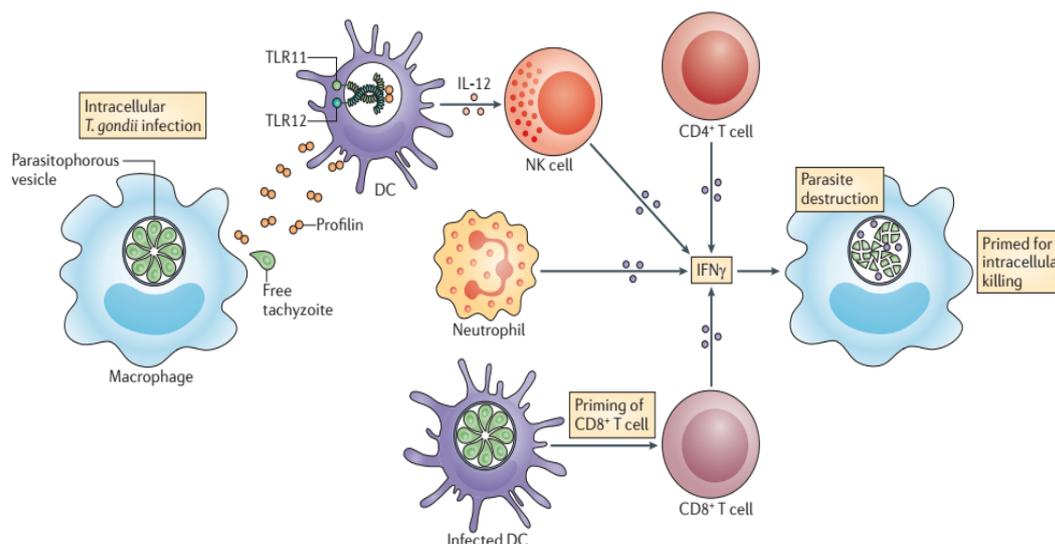


Figure 13: Sources cellulaires d'IFN γ durant l'infection à *T. gondii* (Yarovinsky, 2014).

I.4.2. Mécanismes de protection induits par l'IFN γ

L'IFN γ a de nombreuses fonctions qui conduisent à l'inhibition de la croissance du parasite intracellulaire. Les mécanismes intracellulaires directs comprennent l'induction de composés parasitocides tels que l'oxyde nitrique (NO), les espèces oxygénées réactives (ROS), les peptides antimicrobiens et les GTPases liées à l'immunité (IRG) ainsi que la dégradation des acides aminés nécessaires pour la croissance intracellulaire des parasites (Figure 14) (Yarovinsky, 2014).

L'IFN γ 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 et al., 2006).

Le NO joue un rôle dans la conversion du parasite d'un stade de multiplication rapide, les tachyzoïtes, à un stade de multiplication lente, les bradyzoïtes (Bohne et al., 1994). La synthèse des NO entraîne une privation d'arginine et bloque efficacement la réplication de *T. gondii* (Fox et al., 2004).

Les GTPases p47 s'attachent aux divers membranes cellulaires et perturbent leur intégrité, y compris celles du toxoplasme, qui se trouve exposé dans le cytosol à l'activité lytique des phagosomes, ce qui aboutit à sa lyse (Yap et al., 2006).

L'IFN γ stimule les macrophages et les DCs pour produire « Reactive Oxygen Intermediates » dont l'effet anti-microbien est un important mécanisme de l'immunité innée (Aline et al., 2002). Ces radicaux oxygénés sont instables et peuvent de ce fait réagir avec divers composants cellulaires (Murray et al., 1985). L'IFN γ est capable de limiter la disponibilité du

fer au niveau des entérocytes infectés et d'inhiber de ce fait la réplication du parasite (Dimier et Bout, 1998).

L'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) convertit le tryptophane dans les cellules phagocytaires et les cellules infectées en N-formylkynurénine, ce qui entraîne une famine cellulaire en raison de la carence de cette substance essentielle (Silva *et al.*, 2002; Kasper *et al.*, 2004).

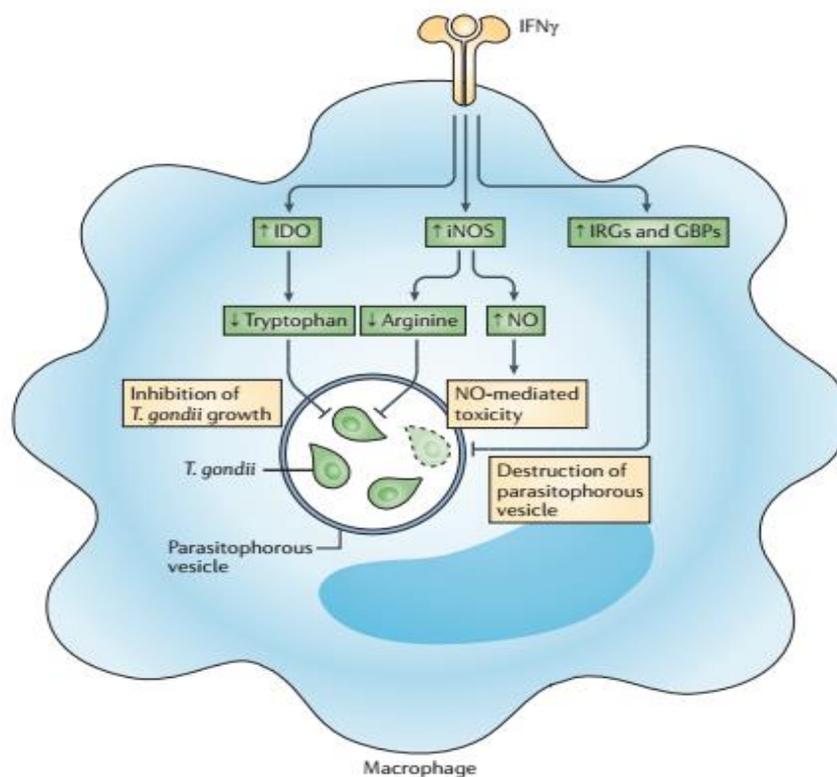


Figure 14: Mécanismes de résistance à *T.gondii* induits par l'IFN γ (Yarovinsky, 2014).

I.5. Subversion du système immunitaire inné par *T. gondii*

Les mécanismes d'évasion parasitaire sont de plusieurs types:

- le rôle de la vacuole parasitophore: la présence du parasite dans une vacuole parasitophore lui permet d'échapper aux défenses immunitaires humorales (AC, enzymes, protéolytiques et complément). La modification de la structure de la paroi par les protéines ROP et GRA empêche l'échange trans-membrane et la fusion des vacuoles lysosomales (Mordue *et al.*, 1999);
- les différents stades parasitaires garantissent le renouvellement des antigènes, nécessitant un ajustement du processus d'élimination immunologique de l'hôte. Le changement de stade tachyzoïte est favorisé par la présence de NO et se manifeste par des variations isoenzymatiques majeures (Tomavo, 2001);

- mimétisme moléculaire: le toxoplasme partage quelques epitopes avec son hôte, y compris les épitopes cérébraux (Birner et *al.*, 2000). Cela pourrait expliquer la capacité de *Toxoplasma* à rester indétectable dans les tissus du cerveau, mais pose le problème de l'apparition de maladies neurologiques, telles que la schizophrénie, suite à une infection par *Toxoplasma* (Yolken et *al.*, 2001);

- immunosuppression: cela concerne plus spécifiquement l'immuno-modulation de la réponse immunitaire.

Sous l'influence de l'IFN γ , le NO est capable de réduire la prolifération des lymphocytes (Candolfi et *al.*, 1994). Il en va de même pour IL10. Ceci est directement sous le contrôle des protéines *Toxoplasma*, telles que les protéines SAG1 et Microneme (MIC) (Neyer et *al.*, 1998). Mais cette suppression n'est exercée que sur les lymphocytes spléniques et mésentériques (Seng et *al.*, 1999). Au cours de l'infection par *Toxoplasma*, la production d'IL12 par les cellules dendritiques est réduite, alors que la production d'IL10 augmente (Reis e Sousa et *al.*, 1999). D'une certaine manière, ces mécanismes immunosuppresseurs empêchent le développement de phénomènes immunopathologiques (Mordue et *al.*, 2001). Ils assurent la survie de l'hôte, mais aussi celle du parasite;

- apoptose: le parasite induit l'apoptose des cellules CD4+ dans la phase aiguë (Khan et *al.*, 1996), contribuant ainsi partiellement à l'immunosuppression observée pendant la phase aiguë de la maladie. Cependant, l'infection d'une cellule par *Toxoplasma* inhibe ses capacités apoptotiques et garantit la survie de la cellule infectée en empêchant sa lyse via le système Fas (Goebel et *al.*, 2001).

Les parasites intracellulaires en règle générale et *T. gondii* en particulier résistent à l'activité enzymatique des lysosomes, et inhibent l'acidification du phagosome. Ce parasite interfère également dans la signalisation cellulaire de l'hôte ce qui lui permet de manipuler les cellules qu'il infecte (Sacks et Sher, 2002).

Le parasite est capable d'interférer avec la voie d'activation du NF- κ B dans les macrophages murins et l'HSP 70 des souches virulente (type I) a été impliquée dans la diminution de l'expression d'iNOS (Dobbin et *al.*, 2002).

Les ROP16 I/III induit une phosphorylation de STAT3 et STAT6 entraînant une activation prolongée et une régulation ultérieure de l'IL4 tout en antagonisant l'induction de l'IL12. La protéine GRA15II active TRAF6 et induit la libération de NF κ B après une dégradation protéasomique. NF κ B migre vers le noyau et entraîne la production d'IL12. ROP18I phosphoryle les GTPases liées à l'immunité (IRG), bloquant ainsi leur accumulation sur la vacuole et protégeant le parasite de la destruction. Le ROP18I phosphoryle également le

facteur de transcription de l'hôte ATF6 β , qui est impliqué dans la réponse des protéines dépliées et peut également être important pour une présentation efficace des antigènes par les DCs (Figure 15) (Hunter et Sibley, 2012).

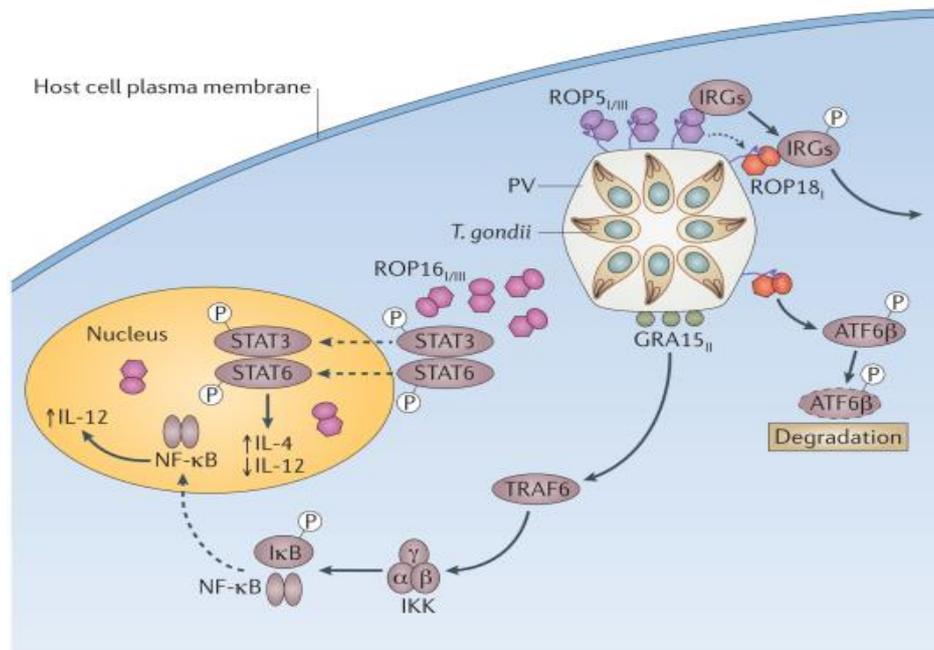


Figure 15: Modulation de la signalisation immunitaire de cellule hôte par *T. gondii* (Hunter et Sibley, 2012).

II. Réponse immunitaire adaptative anti-*T. gondii*

Les lymphocytes produisent une réponse cellulaire adaptative. Ces cellules ont besoin d'un temps de «priming» pour réagir contre les pathogènes. Une fois stimulées, ces cellules gardent la mémoire contre le pathogène. Lors d'une infection ultérieure avec le même pathogène, elles répondent rapidement pour éliminer le pathogène le plus tôt possible. L'infection par *T. gondii* induit une forte réponse cellulaire caractérisée par une activation des cellules T CD4⁺ et T CD8⁺ et une réponse de type Th1. Le contrôle de la toxoplasmose aussi bien en phase aiguë que chronique dépend principalement de la production d'IFN γ . Le rôle des cellules CD8⁺ est primordial dans la résistance à l'infection (Figure 16) (Guiton, 2008).

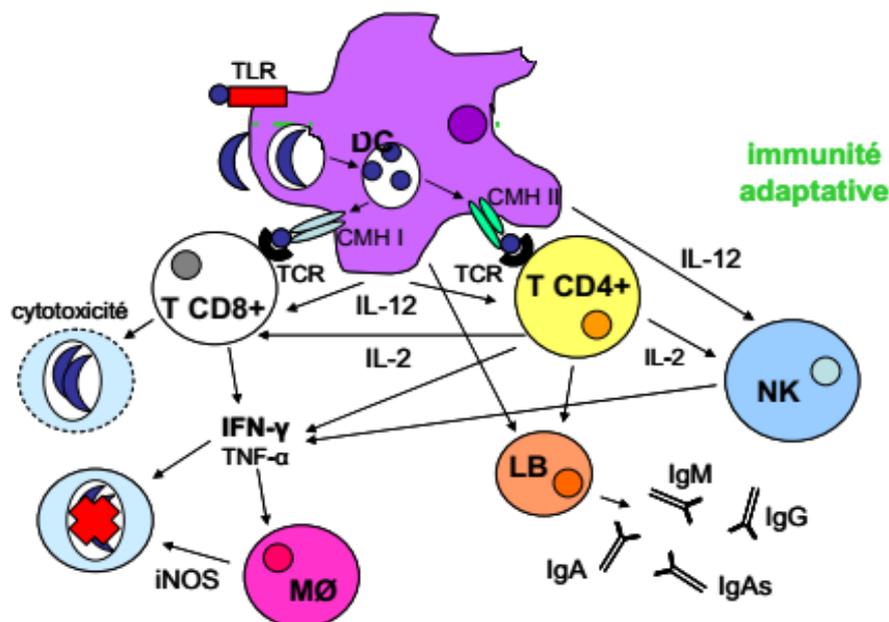


Figure 16: Représentation schématique de l'immunité adaptative anti-toxoplasmique (Guiton, 2008).

II.1. Réponse immunitaire cellulaire

II.1.1. Rôle des lymphocytes

Les deux types de lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ sont nécessaires pour le développement et le maintien d'une réponse protectrice contre la toxoplasmose (Gazzinelli et *al.*, 1991). Les lymphocytes CD4⁺ jouent un rôle important dans la régulation de la réponse alors que les lymphocytes CD8⁺ sont les effecteurs majeurs contre le parasite.

Le transfert de cellules spléniques T CD4⁺ et/ou T CD8⁺ issues de souris immunes, à des souris saines soumises à une infection virulente ultérieure, ont démontré que les lymphocytes T CD8⁺ sont les médiateurs majeurs de la résistance à l'infection aiguë mais que l'expression maximale de leur activité nécessite une action synergique des cellules T CD4⁺ (Suzuki et Remington, 1988; Parker et *al.*, 1991). Pendant la phase chronique, les LT CD4⁺ jouent un rôle primordiale pour maintenir la pression immune (Vollmer et *al.*, 1987). 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 (Buzoni-Gatel et *al.*, 1997). Les cellules T CD8⁺ jouent un rôle majeur dans le contrôle de la formation des kystes puisque le transfert de cellules T CD8⁺ immunes protège les souris receveuses contre le développement des kystes cérébraux (Brown et McLeod, 1990; Parker et *al.*, 1991).

II.1.1.1. Lymphocytes T CD8+

Les cellules T CD8+ produisent l'IFN γ et sont les effecteurs majeurs de la protection contre la toxoplasmose (Gazzinelli et *al.*, 1991). Leur activité protectrice s'exerce par une cytolysse spécifique par laquelle elles éliminent les cellules cibles infectées par le parasite et limitent la réactivation des kystes tissulaires dans la phase chronique (Brown et McLeod, 1990; Suzuki et *al.*, 1990; Suzuki et Remington, 1990).

Au niveau systémique, les LT CD8+ ont été identifiés comme les principaux effecteurs par la production d'une quantité importante d'INF γ . Leur activation peut faire intervenir la présentation antigénique par les DCs décrite précédemment (Guan et *al.*, 2007).

Plusieurs antigènes spécifiques de *T. gondii* ont été identifiés comme contenant des épitopes dominants présentés par les CPA et reconnus par les LT CD8+. Des peptides provenant des protéines GRA4 et GRA6, ROP7 et d'une protéine sécrétée Tgd057 ont été caractérisés (Jordan et Hunter, 2010). La cytotoxicité des LT CD8+ est l'une de leurs principales caractéristiques, bien que cette capacité apparaisse accessoire dans la lutte contre *T. gondii* par rapport à la synthèse d'IFN γ . L'IL12 est indispensable à la différenciation des LT CD8+ effecteurs et à leur production d'IFN γ , tandis que les T mémoires sont indépendants de l'IL12 (Wilson et *al.*, 2008). De plus, la neutralisation de la voie d'exocytose des granules (de granzyme) bloque la cytotoxicité de LT CD8+ envers des macrophages infectés, contrairement à la neutralisation du FasL, l'autre voie possible de cytotoxicité des LTc (Nakano et *al.*, 2001).

Des lymphocytes intraépithéliaux, ou IEL, CD8 $\alpha\alpha$ exprimant un TCR $\gamma\delta$ ont été décrits dans l'intestin des souris. Le rôle de ces lymphocytes reste inconnu en toxoplasmose (Chen et *al.*, 2002). Dans le cas d'une infection par voie orale, une population IEL CD8 $\alpha\beta$ recrutée et ainsi sensibilisée induit une protection lors d'un transfert passif *in vivo*. Elle est capable de produire de l'IFN γ et d'induire une activité cytotoxique contre des entérocytes infectés par le parasite *in vitro* (BuzoniGatel et *al.*, 1997; Lepage et *al.*, 1998; BuzoniGatel et *al.*, 2001).

Cette sous-population sensibilisée produit du TGF β en quantité importante, qui permet de protéger les souris de l'inflammation iléale létale (Schulthess et *al.*, 2008).

Des IEL TCR $\alpha\beta$ CD8 $\alpha\beta$ ont également montré une activité cytotoxique via la perforine ou le mécanisme Fas-FasL (Gelfanov et *al.*, 1996) avec production de l'IFN γ (Chardes et *al.*, 1994). Ils sont également capables de synthétiser des cytokines anti-inflammatoires, comme l'IL10 et TGF β , nécessaires au maintien de l'homéostasie intestinale. TGF β produit par les IEL activés inhibe la production d'IFN γ par les LT CD4+ de la lamina propria (Luangsay et *al.*, 2003; Kasper et *al.*, 2004). Les populations d'IEL peuvent présenter soit des effets protecteurs de

l'hôte, soit contribuer à une maladie inflammatoire dans le tractus gastro-intestinal (Figure 17) (Cheroutre et *al.*, 2011).

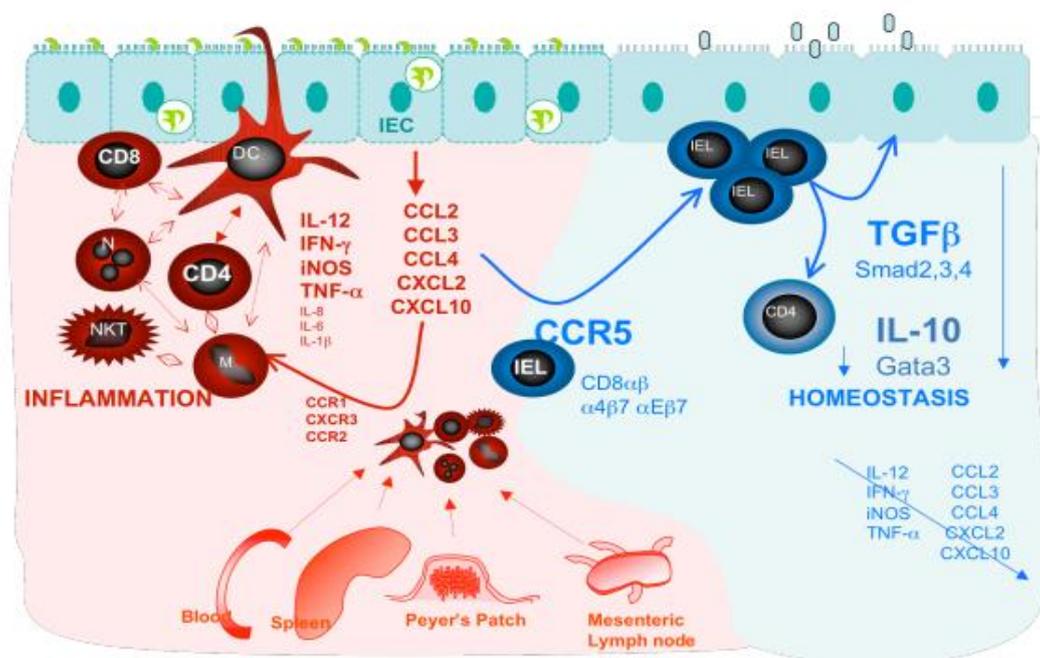


Figure 17: Mécanismes pro inflammatoires anti-*T. gondii* et régulation par les lymphocytes intra-épithéliaux (Kasper, 2004).

II.1.1.2. Lymphocytes T CD4+

II.1.1.2.1. Lymphocytes T CD4+ de la lamina propria

Les premiers lymphocytes T à intervenir sont les cellules résidentes du site de l'inflammation : les LT CD4+ de la lamina propria. Ces LT sont activés par les DCs et les macrophages ayant infiltré l'épithélium infecté par contribution d'IL12 (Liesefeld et *al.*, 1996).

Dans des souris C57BL/6, les LT CD4+ de LP d'animaux infectés synthétisent beaucoup d'IFN γ et de TNF α qui participent à la nécrose des villosités de l'intestin grêle, et augmentent la production de plusieurs chimiokines dont MIP-2, MCP-1, MIP-1 α et IP-10 par les entérocytes infectés. Cette réaction augmente alors l'attraction d'autres cellules inflammatoires (Mennechet et *al.*, 2002).

II.1.1.2.2. Lymphocytes T CD4+ effecteurs

Les lymphocytes T CD4+ peuvent intervenir par le biais de deux mécanismes : la cytotoxicité et la production de cytokines. L'activité cytotoxique 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 (Curiel et *al.*, 1993; Yang et *al.*, 1995).

Lors d'une infection naturelle à *T. gondii*, un afflux massif de cellules T CD4⁺ productrices d'IFN γ est produit dans la LP (Mennechet et al., 2002) après leur activation par les CPA au niveau des ganglions mésentériques, et leur recrutement par réduction l'expression de CCR7 et augmentation de CCR2, CCR5, CCR9 et CXCR3 qui interagissent avec les chimiokines produites par les cellules épithéliales infectées et par les APC activées (Graeler et al., 2002; Bachmann et al., 2006).

Pendant la phase chronique, les LT CD4⁺ jouent un rôle primordiale pour maintenir la pression immune (Vollmer et al., 1987). Plusieurs populations des cellules T CD4⁺ existent dont les cellules Th (T helper) et Treg. Entre les cellules Th, plusieurs sous populations ont été identifiées qui sont les Th1, Th2, Th17. Globalement, la réponse induite par *T. gondii* est du type Th1 (Zenewicz et al., 2009).

II.1.1.2.2.1. Lymphocytes Th1

La résistance à l'infection par *T. gondii* est étroitement liée à une réponse cellulaire Th1 favorisée par l'IFN γ et l'IL12 produits après activation des NK et des M Φ (Suzuki et al., 1988). Le rôle des CD4⁺ semble important dans la mise en place et surtout le maintien de la réponse effectrice T CD8⁺, par leur synthèse de l'IFN γ et de l'IL2, cytokines essentielles pour l'activation des LT CD8⁺. L'IFN γ permet la différenciation des précurseurs Th0 en Th1. L'IL2 joue un rôle primordial dans la résistance à la phase aiguë de l'infection (Suzuki et al., 1988; Gazzinelli et al., 1991, 1992; Casciotti et al., 2002).

Les cellules CD4⁺ ont aussi un rôle dans la réponse humorale contre la toxoplasmose, en phase chronique, comme cellules accessoires pour la production d'anticorps d'isotype particulier tel qu'IgG2a (Johnson et Sayles, 2002).

L'IFN γ est l'augmentation de l'expression des molécules CMH I par les CPA, ce qui induit l'activation des T CD8⁺ avec une activité cytotoxique spécifique de l'antigène (Boehm et al., 1997; Ely et al., 1999; Nakano et al., 2001). Comme lors de la réponse innée, l'IFN γ exerce un fort pouvoir anti-parasitaire (Dimier et Bout, 1998).

II.1.1.2.2.2. Lymphocytes Th2

Des études indiquent que *T. gondii* suscite des réponses Th2 dans certains contextes (Suzuki et al., 2000). L'absence totale de cytokines Th2 est mortelle au cours de l'infection par *T. gondii*, ce qui indique que le rôle des cytokines Th2 est principalement de moduler la forte réponse des cytokines Th1 (Singh et al., 2005).

Le profil Th2 implique la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL10 et l'IL4, capables de contrer les effets délétères d'une surproduction d'IFN γ . Le rôle crucial de l'IL10 est le plus décrit (Suzuki *et al.*, 2000).

- **IL10**

L'IL-10 possède une activité anti-inflammatoire dans de nombreuses pathologies associées à une forte production d'IFN γ , d'IL1 ou de TNF α (Van de Loo et Van den Berg, 2002) et est produite notamment par le placenta murin. Lors d'encéphalite chronique toxoplasmique, la neutralisation de l'IL10 conduit à une augmentation de l'infiltration leucocytaire dans le système nerveux central, indiquant un rôle de cette cytokine dans le contrôle de l'inflammation lors d'une infection à *T. gondii*. Des souris invalidées pour l'IL-10 ne sont pas capables de contrôler la réponse pro-inflammatoire et succombent à l'infection à *T. gondii* très tôt au cours de la phase aiguë suite à la production incontrôlée d'IFN γ et de TNF α (Suzuki *et al.*, 2000). L'induction d'IL10 par *T. gondii* pourrait être un des mécanismes d'échappement du parasite à la réponse immune (Wille *et al.*, 2001).

- **Lipoxine A4 (LXA4)**

Les lipoxines possèdent des propriétés anti-inflammatoires dans l'arthrite, les néphrites et autres pathologies inflammatoires. Leurs actions incluent l'inhibition des fonctions leucotriènes, des fonctions des cellules NK, de la migration leucocytaire, de la production de TNF α induit par les chimiokines, de la translocation de NF- κ B et de l'expression de récepteurs aux chimiokines et de molécules d'adhésion (Ohira *et al.*, 2004). Pour assurer de telles fonctions, ces agents se fixent sur deux récepteurs principaux : le récepteur à la lipoxine A4 (LXA4R) et le récepteur nucléaire AHR (Aryl Hydrocarbon Receptor) (Maddox *et al.*, 1997). Une étude réalisée chez des souris déficientes en IL10 et infectées par *T. gondii* a montré l'acquisition d'une protection conférée par l'injection de l'extrait STAg, 24 heures avant l'infection qui permet la synthèse de LXA4 inhibant la migration des DCs et la production d'IL12 et de CCR5 *in vivo* et *in vitro* (Figure 18) (Reis e Sousa *et al.*, 1999).

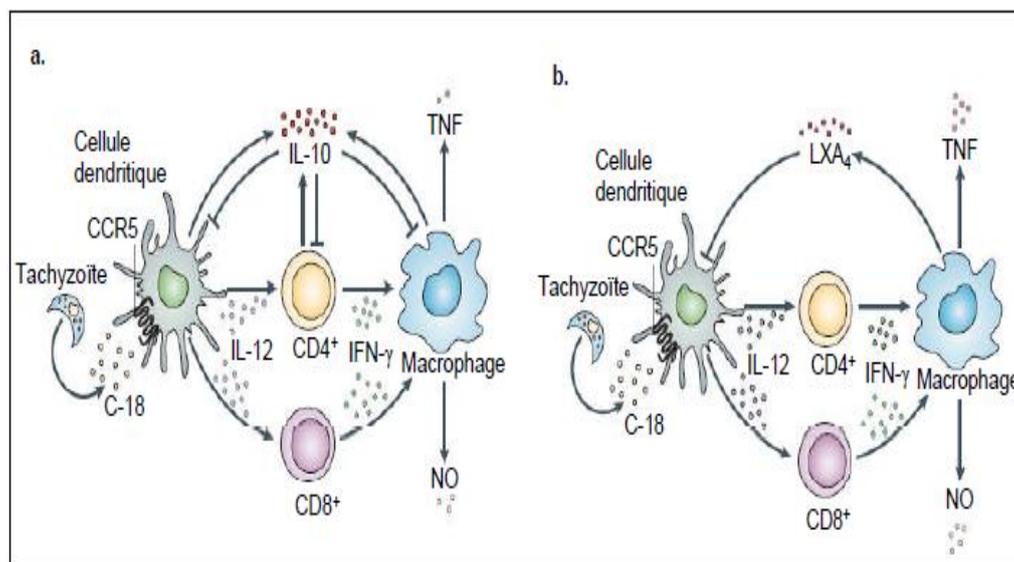


Figure 18 : Contrôle de la réponse pro-inflammatoire durant l'infection par *T. gondii* (Reis e Sousa et al., 1999).

II.1.1.2.2.3. Lymphocytes Th17

Enfin, une troisième sous-population de LT CD4+, les Th17 entrerait également dans la mise en place de la réponse anti-toxoplasmique (Kelly et al., 2005). Les cellules précurseur Th0 se différencient en cellules Th17 sous l'action combinée du TGFβ et d'IL6. L'IL23 sécrétée par les CPA est un facteur d'expansion et de survie des Th17. Ces lymphocytes produisent de l'IL17A et de l'IL17F, mais également des facteurs connus pour induire une réponse inflammatoire dont le TNFα, l'IL6 ou encore le GM-CSF (Kikly et al., 2006). Le principal rôle de l'IL17 est sa capacité à recruter les neutrophiles (Witowski et al., 2004).

II.1.1.2.2.4. Lymphocytes T régulateurs

Une quatrième sous-population de LT CD4+, appelée régulatrice (LT reg), a pour caractéristique l'expression du marqueur CD25 et/ou de Foxp3, en plus du CD4, a été identifiée, récemment, comme une population impliquée dans la toxoplasmose par production de l'IL10 (Ronet et al., 2005; Ge et al., 2008).

Les cellules Treg CD4+CD25+ sont impliquées dans la tolérance maternelle induite par les alloantigènes fœtaux. Ces données suggèrent que la perte fœtale provoquée par *T. gondii*, puisse être indépendante de la transmission verticale et que la diminution des cellules Treg CD4+CD25+ pendant l'infection pourrait représenter un mécanisme nouveau impliqué dans l'avortement provoqué par ce parasite (Ge et al., 2008).

II.2. Réponse immunitaire humorale

II.2.1. Détection et Cinétique de la réponse humorale

Les anticorps IgA et IgM sont produits pendant la première semaine (Trois à dix jours) après l'infection et atteignent un plateau en 1 mois (Figure 19). Des IgM spécifiques peuvent apparaître au cours d'une réactivation de toxoplasmose congénitale, il est possible de ce fait qu'ils persistent longtemps suite à une réactivation persistante des kystes de toxoplasme. Les niveaux d'IgM spécifiques diminuent habituellement après 1 à 6 mois, mais restent généralement détectables pendant un an ou plus (Del Bono et *al.*, 1989; Sibalic et *al.*, 1990; Gorgievski-Hrisoho et *al.*, 1996).

Les IgA sont sécrétés après les IgM et persistent jusqu'à six à sept mois après infection, leur sécrétion est induite par l'IL10 et le TGF β (DeFrance et *al.*, 1992). Ces IgA ont été détectées dans le lait maternel chez des femmes présentant aussi bien une phase aiguë que chronique. Ces IgA sont dirigées contre un large éventail d'antigènes dont le poids moléculaire varie de 14 à 100 kDa (Mack et McLeod, 1992).

Chez la souris, les IgA sont sécrétées dès deux semaines post-infection et persistent pendant au moins 17 semaines. Les réponses à IgG et IgM (sérum et lait) débutent en même temps que celles des IgA (Chardès et *al.*, 1990).

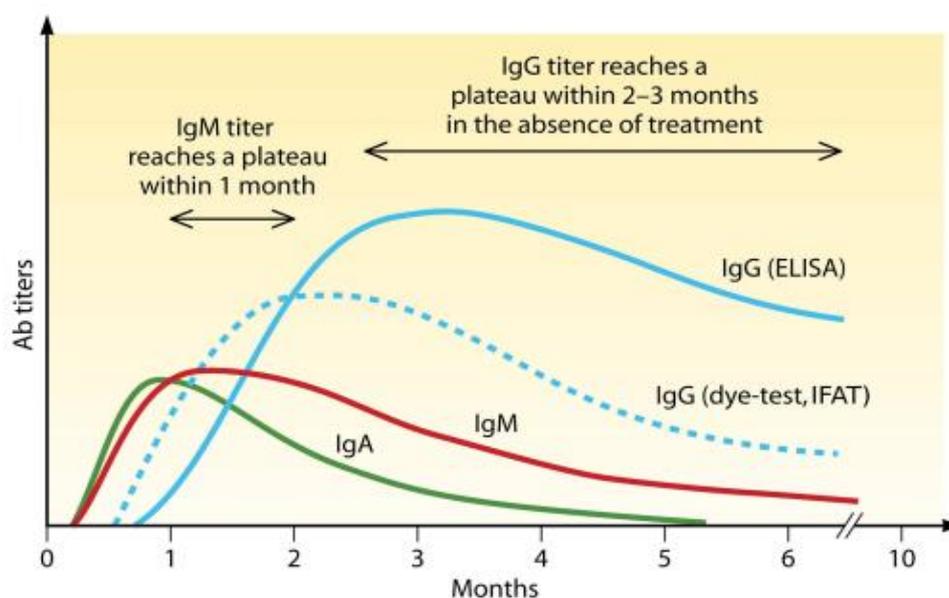


Figure 19: Cinétique de la réponse en anticorps chez l'homme infecté par *T.gondii* (Robert-Gagneux et Dardé, 2012).

Chez le chat, des IgA reconnaissant des antigènes de tachyzoïtes de 24, 34, 38 et 43 kDa ainsi qu'un antigène de sporozoïte de 24 kDa ont été détectés au niveau des sécrétions intestinales après leur infection par voie orale avec des kystes de *T. gondii* (Omata et al., 1997). Des IgG sont également présent au niveau du tractus intestinal du chat, et coopèrent avec les IgA pour prévenir l'infection (Omata et al., 1997). Comme pour l'homme, des IgA anti-*T. gondii* ont été détectées dans l'humeur aqueuse de chats présentant une toxoplasmose oculaire (Lappin et al., 1995).

La production des IgG survient après celle des IgM et IgA. Les souris produisent majoritairement des IgG2a et peu d'IgG1 contrairement à l'homme, par les cellules B activées par les cellules Th1 (Burke et al., 1994). Les IgG sont produits durant toute la vie de l'hôte et signent la phase chronique de l'infection. Les antigènes reconnus par les IgG sont plus nombreux, et dirigés essentiellement contre les antigènes membranaires de 30 kDa, 43 kDa et 97 kDa (Decoster et al., 1988, 1995).

Bien que la réponse cellulaire semble être celle qui confère le plus grand degré de protection lors d'une primo-infection, au cours des infections suivantes, la réponse humorale paraît essentielle pour bloquer précocement l'invasion du parasite dans les cellules de l'hôte (Innes et al., 2007).

II.2.2. Rôle des lymphocytes B

Le rôle des lymphocytes B (LB) n'est pas négligeable dans la lutte anti-toxoplasmique, tant par leur synthèse d'anticorps que par leur interaction avec les autres cellules du système immunitaire. Traditionnellement, on pense que la réponse immunitaire humorale joue un rôle subordonné au cours de la toxoplasmose car, en tant que parasite intracellulaire, *T. gondii* est relativement inaccessible aux anticorps (Nakayama, 1965). Les études de Taylor et Frenkel (1982) suggèrent que les anticorps ont peu d'effets pendant l'infection aiguë mais peuvent devenir importants pendant la phase chronique et pour une résistance à long terme (Kang et al., 2000).

Il a été reconnu depuis longtemps que lorsqu'on opsonise avec des anticorps anti-*Toxoplasma* spécifiques, les tachyzoïtes sont activement phagocytés et tués par les macrophages (Anderson et al., 1976; Sibley et al., 1985). De plus, l'opsonisation peut induire l'activation du complément et entraîner la mort de *T. gondii* (Schreiber et Feldman, 1980). Certains ont suggéré un effet direct des anticorps anti-*Toxoplasma* dans le blocage de la capacité des tachyzoïtes à infecter les cellules hôtes (Sayles et al., 2000).

Un rôle important des cellules B dans la protection contre l'infection à *T. gondii*, par leur action sur la fonction des macrophages et sur la réponse cellulaire T a été prouvé (Chen et al., 2003). Des cellules B-1 activées produisant de l'IL12 et de l'IFN γ suite à une infection par *T. gondii* ont déjà été identifiées (Harris et al., 2000). Par ailleurs, Ménard et al. (2007) ont montré que les cellules B issues de souris infectées, par leur TNF α membranaire, augmentent l'expression de l'IFN γ par les cellules T CD4+. Le contact direct entre ces deux populations est indispensable et nécessite des LB activés mais pas obligatoirement spécifiques de *T. gondii*. L'activation des LT CD8+ par les LB pourrait se faire par la cross-présentation des antigènes parasitaires via le CMH I (Ménard et al., 2007). Des chercheurs ont suggéré que les LB pourraient être directement impliquées dans la production d'IL12 ou indirectement soit en induisant l'expression de CD40L sur des lymphocytes T (Jaiswal et Croft, 1997) ou en exprimant eux-mêmes CD40L (Grammar et al., 1995; Wykes et al., 1998; Zhang et Denkers, 1999).

II.2.3. Rôle des anticorps anti-*T.gondii*

II.2.3.1. Réponse muqueuse

La réponse muqueuse est caractérisée par la sécrétion d'IgA sécrétoires. De tels anticorps sont retrouvés au niveau intestinal après une infection de souris par *T. gondii* (Chardès et Bout, 1993). Les femmes en phase aiguë de l'infection montrent les plus forts taux d'IgAs. Le rôle protecteur de ces IgAs a ensuite été déterminé par un test *in vitro*. Les résultats montrent une baisse significative, qui peut aller jusqu'à 50 %, de la réplication des tachyzoïtes lorsque les entérocytes sont infectés en présence de lait de mères en phase aiguë, par rapport à une infection en présence de lait de mères non infectées. En fait, l'observation microscopique des cultures a révélé qu'il y'a diminution à 75 % de l'infection des entérocytes mais pas la réplication du parasite intracellulaire mis au contact d'entérocytes (Mack et McLeod, 1992).

II.2.3.2. Réponse systémique

Les anticorps, seuls ou en coopération avec l'immunité cellulaire, n'ont jamais montré une efficacité totale contre le parasite mais occupent plutôt un rôle de soutien. Leur implication peut se faire selon trois modes ; la lyse des tachyzoïtes extracellulaires, la neutralisation de la pénétration des tachyzoïtes dans les cellules et le blocage de la multiplication intracellulaire (Omata et al., 1996).

Les IgM inhibent l'invasion cellulaire par les tachyzoïtes et diminuent la dissémination parasitaire dans la phase aiguë de la toxoplasmose (Couper et al., 2005).

La lyse des tachyzoïtes extracellulaires semble largement dépendante des IgM. Ces IgM non spécifiques, naturelles, se trouvent en grande quantité mais restent moins efficaces que des IgM spécifiques chez de patients infectés de façon aiguë ou chronique (Konishi et Nakao, 1992). Une étude plus récente sur des IgM naturelles issues de porcs, de lapins et de chiens sains a montré qu'elles étaient capables d'entraîner la lyse des tachyzoïtes extracellulaires de façon dépendante du complément. Cette lyse n'a pu être observée avec des IgM de chat, suggérant que *T. gondii* peut échapper à la lyse extracellulaire chez son hôte définitif (Kaneko et al., 2004). Des anticorps spécifiques dirigés contre des protéines de surface (SAG1) de granules denses (GRA2 et GR6) ou de rhoptries (ROP2) sont capables d'inhiber l'invasion du parasite (Mineo et al., 1993; Cha et al., 2001; Mishima et al., 2002; Couper et al., 2005).

Quelques études ont été menées sur l'inhibition de la réplication intracellulaire du tachyzoïte par les anticorps. En 1993, un anticorps monoclonal dirigé contre une protéine présente sur des structures vésiculaires cytoplasmiques du parasite a été testé. Les parasites extracellulaires seraient capables d'endocyter cet anticorps. Une fois dans les cellules-hôtes, le nombre de rosettes de parasites est fortement diminué, suggérant que l'incubation des tachyzoïtes avec cet anticorps limite leur réplication intracellulaire (Mineo et al., 1994).

Étude
Expérimentale

*Matériel et
méthodes*

I. Objectifs

Comme évoqué précédemment, la toxoplasmose est essentielle à étudier, d'une part parce qu'il s'agit d'une zoonose majeure avec impact remarquable sur les nouveaux nés et les immunodéprimés comme la femme enceinte, d'autre part, en raison de son importance économique significative en élevage caprin comme en élevage ovin.

Jusqu'à ce jour aucune investigation séro-épidémiologique sur la toxoplasmose caprine n'a été effectuée en Algérie. Ce présent travail a été réalisé à l'Est Algérien dans la région de Mila et avait comme objectif général, une contribution originale à la connaissance de l'infection par *T.gondii* chez le caprin.

Dans un premier temps, nous tenterons de connaître la situation spatiotemporelle de la Toxoplasmose chez les caprins à un moment donné et dans une région déterminée, pour avoir une idée sur la séroprévalence de cette affection. Déterminer aussi les différents facteurs d'exposition à *T.gondii* et les évaluer en tant que facteurs du risque ou facteurs protecteurs.

Dans un deuxième temps, nous évaluerons la performance de deux tests sérologiques le LAT (Latex Agglutination Test) et le test ELISA indirect (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) dans la détection de l'infection sur des sérums de caprins.

Enfin, les résultats obtenus nous permettront d'estimer l'impact sur la santé publique et de prescrire un système de surveillance de la maladie chez les caprins pour minimiser leurs effets néfastes.

II. Matériel et méthodes

II.1. Description de la région étudiée

La wilaya de Mila (prononcé [mi.la]) est une wilaya algérienne située dans le Nord-Est de l'Algérie en Kabylie orientale, elle est délimitée :

- au nord, par les wilayas de Jijel et de Skikda ;
- à l'est, par la wilaya de Constantine ;
- au sud, par les wilayas de Batna et d'Oum el Bouaghi ;
- à l'ouest, par la wilaya de Sétif

La wilaya se caractérise par un relief varié et présente deux grandes zones distinctes ; au nord, des montagnes et des collines : M'sid, Aicha, Zouagha et El-Halfa, et au sud, les plaines et les hauts plateaux.

Le climat est humide au Nord, subhumide à semi aride au centre et semi-aride au Sud. La pluviométrie varie entre 600 et 900 mm au nord de la wilaya (920 mm sur le mont de Msid Aicha), entre 400 et 600 au centre de la wilaya et moins de 400 mm au sud.

La wilaya abrite le plus grand barrage d'eau au niveau national barrage Beni-Haroun qui alimente une grande partie de l'Est algérien avec de l'eau potable et de l'eau d'irrigation.

La wilaya de Mila est créée lors de la division administrative algérienne de 1984, avec la ville de Mila comme chef-lieu de la wilaya, elle compte 13 daïras et 32 communes, avec une superficie de 348 100ha = 3 481 km².

Notre étude est menée dans deux communes de cette wilaya ; la commune de Terrai Bainen et celle de Zéghaïa. La première est localisée dans l'extrême nord de la wilaya de Mila, limitrophe de la wilaya de Jijel (Figure 20). Elle se trouve à flanc de montagne bordée au sud par le barrage de Beni Haroun.

La commune est dominée au nord par le djebel Anz El Arbi à 1 162 mètres, faisant partie de la chaîne montagneuse du Zouagha. Le nord de la commune abrite trois grandes forêts de chêne-liège. L'altitude est de 1 162 à 1 190 m, avec superficie de 81,70 km².

La commune de Zéghaïa est localisée au centre-est de la wilaya de Mila à 7 km de Mila par la RN79. Altitude de 185 à 615m au maximum, avec superficie de 60 km²

La ville de Zéghaïa est construite en pente nord-sud au pied d'une montagne, dite Essatour qui culmine à 615 mètres. Au nord se trouve le barrage de Beni Haroun qui recouvre le lit de l'Oued Endja. À l'ouest on trouve une large forêt d'exploitation.

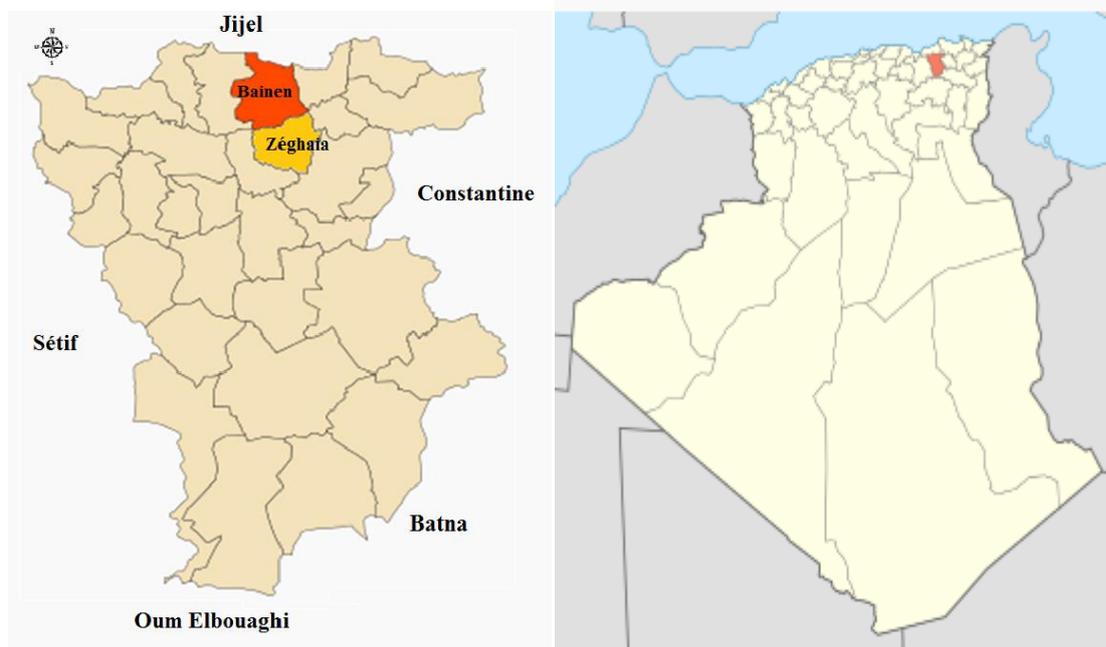


Figure 20: Localisation de la région d'étude (commune Zéghaïa et Terrai Bainen) au sein de la wilaya de Mila.

II.2. Description du cheptel caprin

Dans l'Est Algérien et précisément dans la wilaya de Mila, un effectif de 40 256 têtes de caprins est signalé par les autorités compétentes (DSA de Mila, 2015).

La région étudiée dispose de 8652 éleveurs détenant 2115 têtes de chèvre laitière (DSA de Mila, 2013). Le mode d'élevage est généralement de type semi-intensif voir extensif. Les animaux sont nourris au foin, au son et beaucoup plus à l'herbe pendant la saison de pâturage. Celle-ci va de Mars à Décembre avec des variations suivant les conditions climatiques, ces caprins se nourrissent presque exclusivement en dehors de l'étable. L'association de l'élevage des caprins et des ovins est très fréquente dans cette région.

II.3. Echantillonnage et prélèvements

Notre étude est de type transversal suivie d'une enquête épidémiologique descriptive au moyen d'un questionnaire bien structuré et adressé aux éleveurs caprins. L'étude a eu lieu durant la période allant de janvier au mois d'avril 2017, sur **cent quatre-vingt treize** caprins (**n=193**) issus de vingt-cinq élevages (n=25) sélectionnées au hasard.

L'échantillonnage est de type multi niveaux, débutant en premier lieu par le choix aléatoire de la wilaya de Mila dans l'Est Algérien, avec deux communes. Le choix des élevages a aussi été aléatoire en utilisant une liste de la totalité des éleveurs caprins de la région. Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude. Par ailleurs, le nombre de caprins à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total existant dans l'élevage: soit la ferme comprenait moins de 10 caprins et dans ce cas tous les caprins étaient prélevés, soit la ferme contenait plus de 10 caprins et dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. L'important est d'avoir un échantillon représentatif comptant au moins 10% de l'ensemble des individus présent dans chaque élevage visité.

Au moment du prélèvement, les chevreaux âgés de moins de 3 mois ont été écartés de l'étude afin d'éviter une éventuelle détection d'anticorps d'origine colostrale (OMACAP, 2015). Ce processus nous a permis de réaliser un échantillonnage aléatoire de 198 prélèvements sanguins de caprins âgées entre 4 mois à 08 ans provenant de 02 communes sélectionnées, et issus de 25 exploitations caprines (n=12 de Terrai Bainen et n=13 de Zéghaia). Si on se réfère au chiffre des Directions des services agricoles de 2015, le taux d'échantillonnage réalisé a été d'environ 0.48% pour les caprins (n=40256).

Nous avons décidé de calculer la taille d'échantillon requise pour notre étude sur la base d'une prévalence préliminaire. Cette prévalence préliminaire estimée à 20% nous a permis de

calculer à 210 le nombre d'échantillons de sérums caprins nécessaire pour notre étude selon la formule suivante:

$$n = [t^2 \times p (1-p)] / m^2 \text{ où:}$$

n = taille d'échantillon requise

t = niveau de confiance à 95% (valeur type de 1,96)

p =prévalence estimative de *T. gondii* chez les caprins

m = marge d'erreur à 5% (valeur type de 0,05)

Pour les prélèvements sanguins, la veine jugulaire a été ponctionnée a fin de recueillir le sang dans un tube à système vacutainer® sous vide (5 ml) (réf: 454092) pour récupérer du sérum après coagulation.

Les sérums obtenus ont été transférés immédiatement dans des tubes Eppendorf® et stockés dans un congélateur à -20°C. Les échantillons ont été transportés et acheminés vers le laboratoire de parasitologie-mycologie de l'ENSV dans une glacière à +4°C pour analyses sérologiques.

II.4. Établissement d'un questionnaire

Un questionnaire épidémiologique a été distribué à l'éleveur afin de révéler l'état des fermes visitées et les conditions d'élevage, aussi les caractéristiques des animaux.

Ce questionnaire comporte des éléments en relation avec les fermes visitées (type d'élevage et de production, présence d'avortement ou non, présence ou absence des chats), ainsi, ceux liés aux caprins prélevés (âge, sexe, race, trouble reproductif, signes cliniques...).

Les élevages prélevés ont été essentiellement constitués des caprins de races locales (100%). L'échantillon comprenait 129 femelles (70,10%) et 55 mâles (29,89%). Les animaux ont été répartis en trois classes d'âge : ≤12 mois (24,45%), 12 à 36 mois (29,34%) et plus de 36 mois (46,19%). Parmi les femelles sélectionnées, 56,58% (73) ont des antécédents d'avortement.

II.5. Analyses sérologiques

Une détection des anticorps anti-*T. gondii* a été réalisée au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger (ENSV). Après décongélation des sérums à température ambiante, nous avons procédé aux analyses sérologiques des 184 sérums en utilisant deux kits sérologiques commerciaux : un kit de type ELISA ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (IDvet, Grabels, France) et un kit

de type LAT, test d'agglutination au latex Toxo-Latex ® (SPINRER EACT, S. A. Ctra. Santa coloma, Espagne).

II.5.1. Latex Agglutination Test (LAT)

Le test d'agglutination au latex Toxo-Latex ® (SPINRER EACT, S. A. Ctra. Santa coloma, Espagne) a été utilisé pour révéler la présence des anticorps anti-*T. gondii* de façon qualitative et semi-quantitative.

Principe du test:

Le réactif TOXO-Latex est une suspension de particules de latex de polystyrène revêtues d'un antigène soluble de *Toxoplasma gondii*. Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps. Si la réaction se produit, la suspension de latex change et une agglutination claire devient évidente, en raison de la présence d'anticorps à une concentration supérieure à 4 UI/ml.

Réactifs Toxo-Latex:

- Réactif 1 ; Les particules de latex en suspension adsorbés avec de l'antigène soluble de *T. gondii*.
- Réactif 2 ; Contrôle positif sérums animal contenant au moins 4UI/ml d'anti corps anti *T. gondii*.
- Réactif 3 ; Contrôle négatif contenant le sérum animal.

Procédure:

Contrôler les réactifs jusqu'à ce qu'ils atteignent la température ambiante, puis secouer doucement, en particulier le réactif 1 pour disperser les particules du latex. 50 µl du sérum d'échantillon ont été pipetés dans un cercle de la glissière en plastique, 25 µl d'antigène *Toxoplasma* ont été ajoutés, mélangés et secoués pendant 4 minutes à l'aide d'un rotateur.

Lecture et interprétation:

Les résultats ont été lus comme suit:

Réaction négative: un aspect homogène doit être interprété comme l'absence d'anticorps.

Réaction positive : une agglutination claire doit être interprétée comme une présence d'IgG anti-*T. gondii*.

Un résultat positif se présente avec une formation d'un voile circulaire opaque dont le diamètre est égal ou supérieur à la moitié du diamètre du puits. Cette formation de voile s'explique par l'agglutination qui se crée entre les antigènes de surface de *T. gondii* et les anticorps spécifiques.

II.5.2. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Les anticorps IgG dirigés contre *T. gondii* dans les sérums ont été recherchés par le test ELISA en suivant les instructions du fabricant du kit ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (IDvet, Grabels, France).

Les réactifs ont été ramenés à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) et ont été homogénéisés avant leur utilisation. Les témoins négatifs et positifs sont fournis dans le kit. Un volume de 90 de Tampon de dilution 2 est distribué dans chaque puits, suivi de 10 μl de deux témoins Négatif et Positif est déposé dans les cupules A1, B1 et C1, D1 respectivement. Ainsi, un volume de 10 μl des échantillons à tester est distribué dans les autres puits de la plaque à 96 puits fournie dans le kit pour une incubation pendant 45 minutes à température ambiante. Trois lavages avec la solution de lavage sont effectués en évitant le dessèchement des cupules entre les lavages et 100 μl de conjugué 1X sont ensuite déposés dans chaque cupule puis la plaque est à nouveau incubée pendant 30 minutes à température ambiante. Trois nouveaux lavages avec la solution de lavage sont effectués comme précédemment avant de déposer 100 μl de solution de révélation dans chaque cupule et d'incuber la plaque pendant 15 minutes à l'obscurité. Au final, 100 μl de solution d'arrêt est déposée dans chaque cupule avant de mesurer et d'enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Le test ELISA détecte les anticorps IgG dirigés contre l'antigène P30 de *T. gondii*. Pour l'interprétation des résultats, le pourcentage S/P (S: Sample, P: Positive control) a été calculé avec la formule suivante :

$$\text{S/P \%} = (\text{DO de l'échantillon} / \text{DO du témoin positif}) \times 100.$$
 Si S/P est inférieur ou égal à 40%, le résultat est considéré comme négatif ; si S/P est compris entre 40% et 50%, le résultat est considéré comme douteux ; si S/P est supérieur ou égal à 50% et inférieur à 200%, le résultat est considéré comme positif ; si S/P est supérieur ou égal à 200%, le résultat est fortement positif. Le test est validé si la valeur moyenne de la DO du témoin positif est supérieure à 0,350 ($\text{DO} > 0,350$) et si le rapport entre la moyenne des DO des contrôles positifs (DO_{cp}) et la moyenne des DO des contrôles négatifs (DO_{cn}) est supérieure à 3,5.

II.6. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été effectuée en utilisant "Statistica 10.0" de Stat soft Inc., Tulsa, USA et "IBM SPSS Statistics 20.0," IBM Corp., USA. Le degré de signification du lien entre la séroprévalence et l'âge, le sexe, le type d'élevage, la présence ou non des chats, les communes étudiées et l'état abortif ou non chez les femelles a été réalisé par le test χ^2 ou Fischer Exact où les valeurs dans une ou plusieurs cellules sont ≤ 5 . Ces liens ont été considérés comme

significatifs pour $p < 0,05$. Le degré de dépendance de la maladie sur différents facteurs a été déterminé par les odds-ratios (avec intervalles de confiance).

La comparaison des résultats entre les différents tests a été réalisée par le test de McNemar avec détermination de la valeur Kappa. Introduit pour la première fois en 1947 par Quinn McNemar, ce test statistique est aujourd'hui utilisé dans les applications de la recherche médicale (Altman, 1991). Le coefficient Kappa a été utilisé pour estimer le niveau d'accord entre les tests pour la détection de *T. gondii* chez les caprins à partir des sérums.

Le coefficient k est toujours compris entre -1 et 1 (accord maximal). Habituellement, on utilise le « barème » suivant pour interpréter la valeur k obtenue :

< 0 Grand désaccord

0.00 – 0.20 Accord très faible

0.21 – 0.40 Accord faible

0.41 – 0.60 Accord moyen

0.61 – 0.80 Accord satisfaisant

0.81 – 1.00 Accord excellent

Résultats

III. Résultats

III.1. Étude de la séroprévalence vis-à-vis d'une infection par *Toxoplasma gondii*

Deux techniques sérologiques ont été utilisées, le test ELISA indirect et le test d'agglutination LAT.

Nous allons présenter pour chaque méthode sérologique la séroprévalence obtenue.

III.1.1. Étude de la séroprévalence par la technique ELISA indirect

Parmi les 184 caprins testés, 132 était positifs aux anticorps spécifiques de *T. gondii*, ce qui correspond à une séroprévalence de 71,73% (IC95%, 64%-79,4%) (Figure 21).

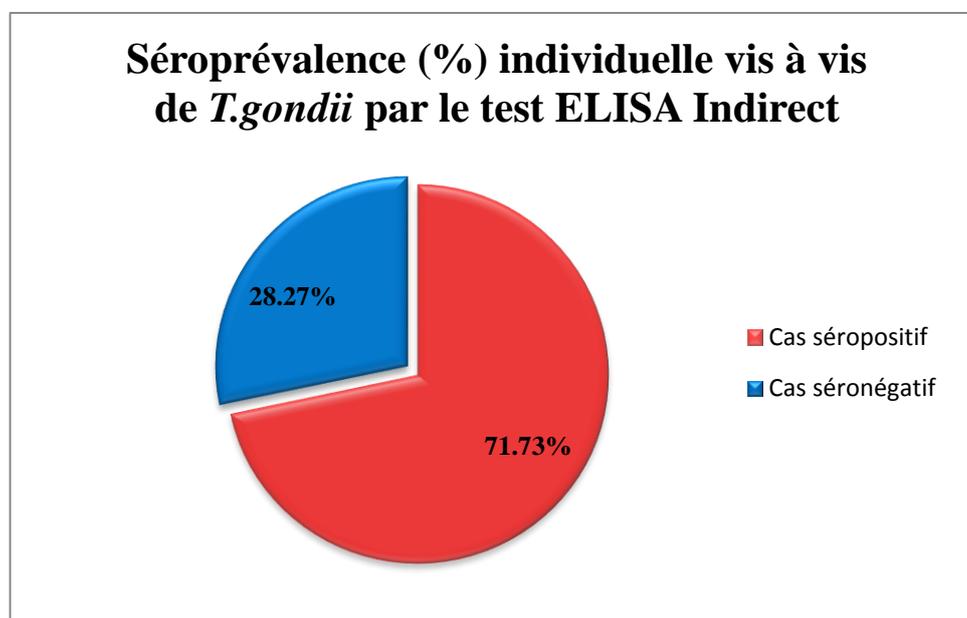


Figure 21 : Séroprévalence individuelle vis-à-vis de *T.gondii* en utilisant le test ELISA.

Parmi les 25 élevages visités, 24 présentaient au moins un animal séropositif à *T. gondii*, soit un taux d'exposition de 96% des troupeaux choisis (Figure 22).

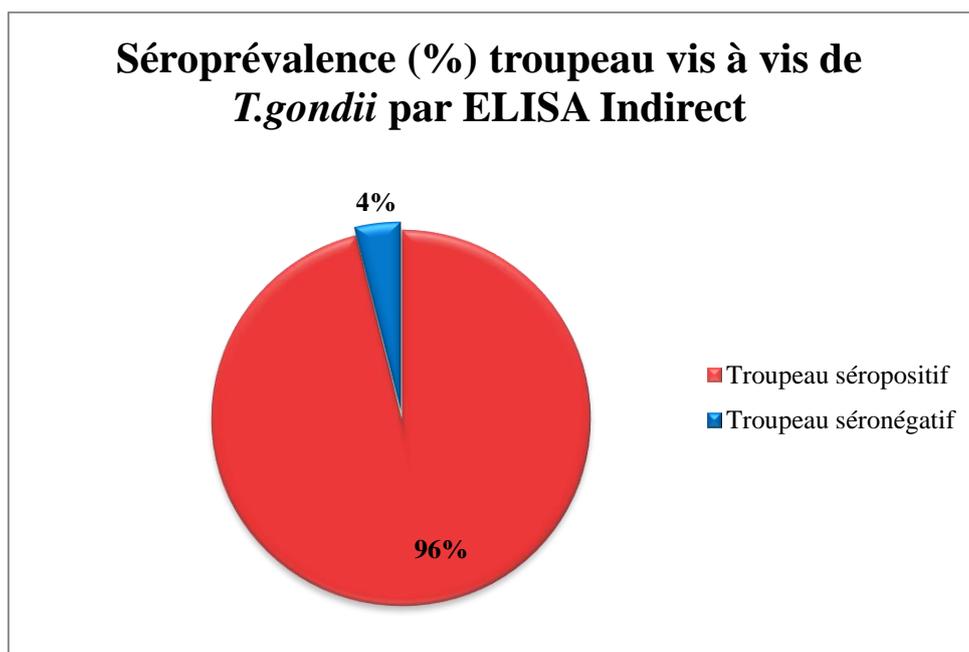


Figure 22 : Séroprévalence troupeau vis-à-vis *T. gondii* en utilisant le test ELISA Indirect.

Au sein des élevages séropositifs, la séroprévalence de *T. gondii* varie de 0% à 100% (Figure 23) (prévalence intra-troupeau). La majeure partie des troupeaux (29,16%) présente une séropositivité de 60 à 66,66%. Pour 6 élevages (25%), la totalité des individus se sont montrés positifs à *T.gondii* (100% séropositifs).

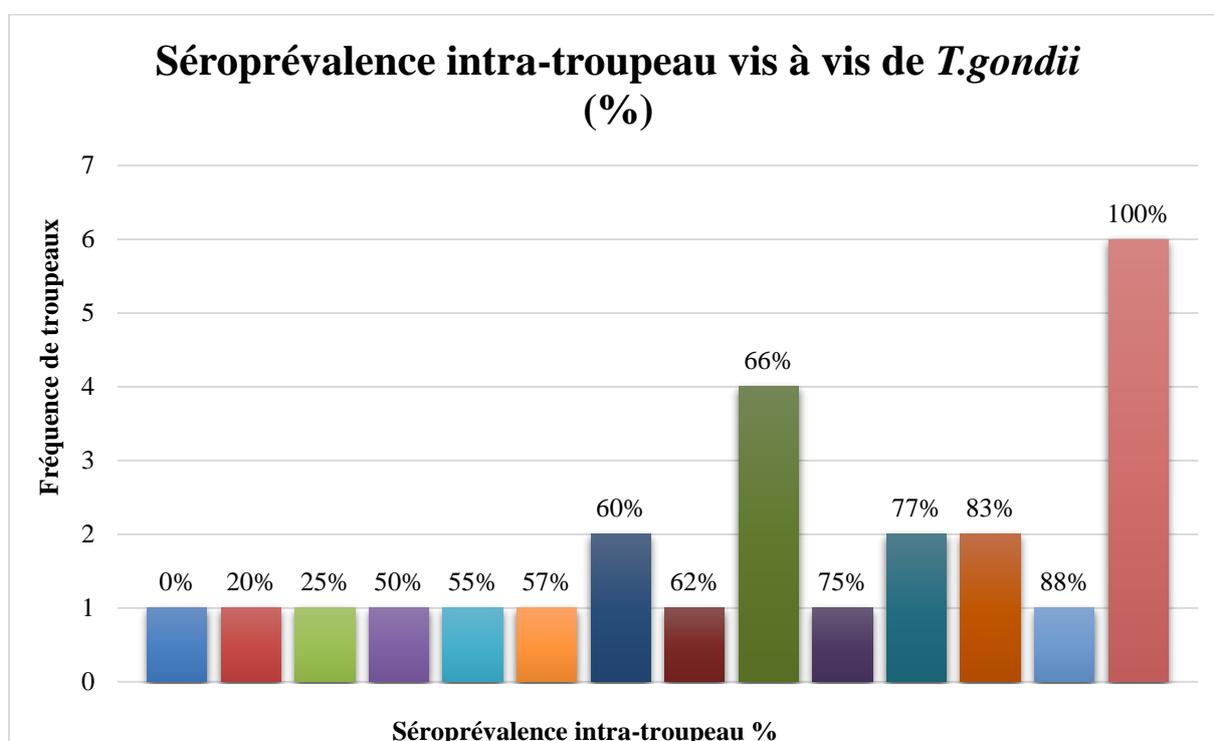


Figure 23 : Fréquence de distribution de la séroprévalence intra-troupeaux de *T. gondii* par le test ELISA.

En fonction des valeurs de densité optique (DO) obtenus par le lecteur ELISA, et suivant le pourcentage S/P% calculé, on pourrait diviser les sujets séropositifs en trois catégories selon le degré de positivité (Figure 24) ;

50% < S/P % < 79% ; faiblement positif (infection chronique),

80% ≤ S/P % < 119% ; moyennement positif (infection chronique),

120% ≤ S/P % < 200% ; fortement positif (infection peu récente).

D'après cette analyse, on constate que la plupart des sujets séropositifs (76,51%) présentent une infection chronique, où il y'a persistance d'anticorps anti-*T. gondii* (IgG) comme trace d'un contact antérieur avec le parasite. D'autres sujets présentent une valeur S/P% ≥ 120%, et qui peut aller jusqu'au 175% (qui est en relation avec le taux d'anticorps), subissent une infection plus au moins récente, révélant un contact récent avec le parasite ou une réactivation d'une infection ancienne suite à une pression sur le système immunitaire. La raison de cette constatation, c'est que le test ELISA détecte les deux classe d'anticorps IgG et IgM sans faire distinguer entre infection chronique réactivée et l'infection récente (non aigue). Dans notre étude, pas d'individus présentant une infection aigue (S/P % ≥ 200%).

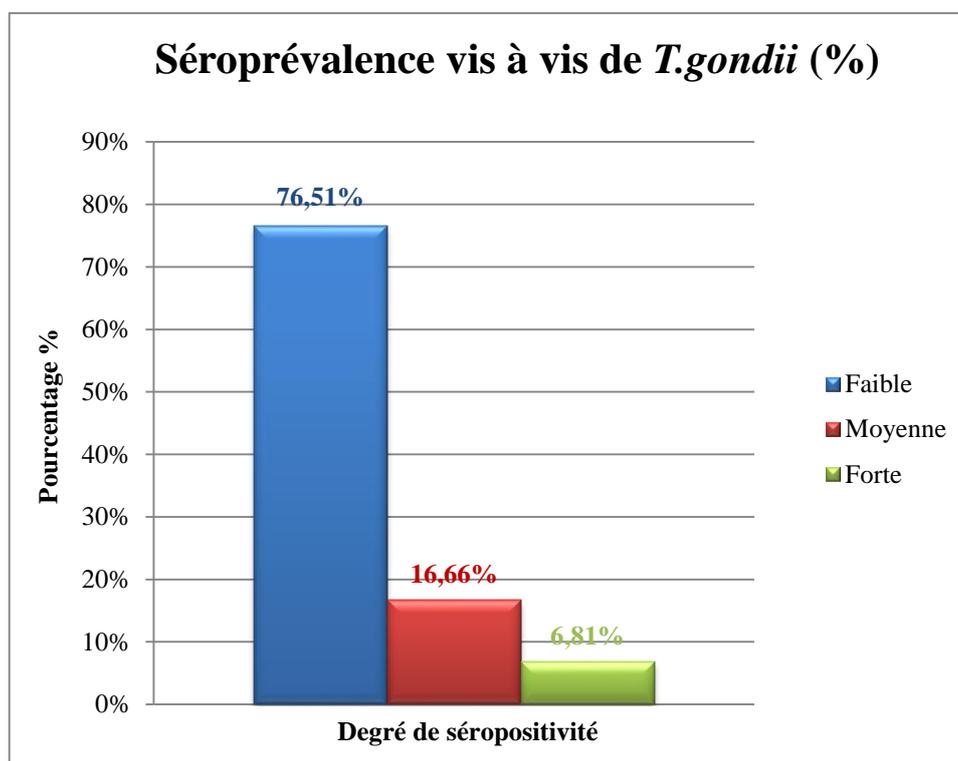


Figure 24: Variation de la séroprévalence de *T.gondii* en fonction du degré de séropositivité selon le test ELISA.

III.1.2. Étude de la séroprévalence par le test d'agglutination le LAT

Parmi les 184 caprins testés, 117 étaient positifs aux anticorps anti-*T.gondii*, ce qui correspond à une séroprévalence de 63,58% (IC95%, 56.43% - 70.20%) (Figure 25).

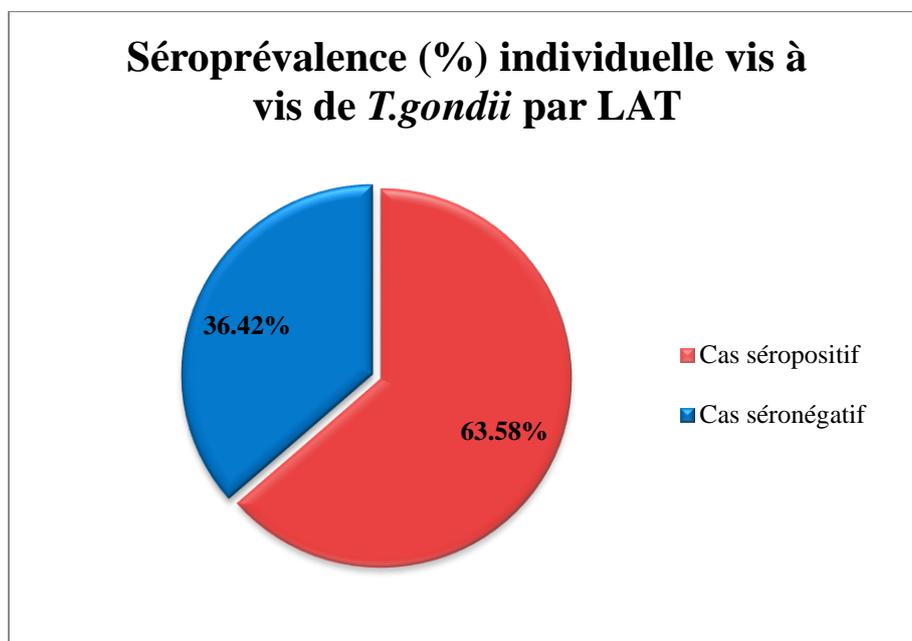


Figure 25: Séroprévalence individuelle vis-à-vis de *T. gondii* par le test LAT.

La totalité des élevages caprins visités possédaient au moins un animal séropositif, soit un taux d'exposition de 100% (Figure 26).

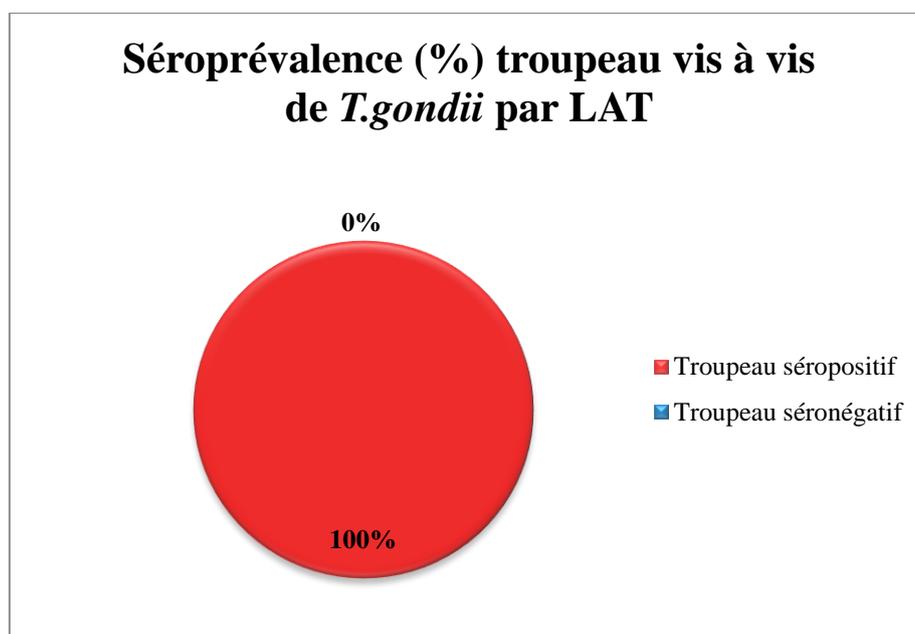


Figure 26: Séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* au niveau du troupeau par le test LAT.

Au sein des fermes séropositives, la séroprévalence de *T.gondii* variait de 20% à 90% (Figure 27) (prévalence intra-troupeau).

La majeure partie des troupeaux (24%) présentait une séropositivité de 80 à 90%, tandis que 20% des fermes montraient des taux de séroprévalence de 66,66%. En fin, 8 troupeaux (32%) présentaient un pourcentage de séropositivité inférieur ou égal à 50%.

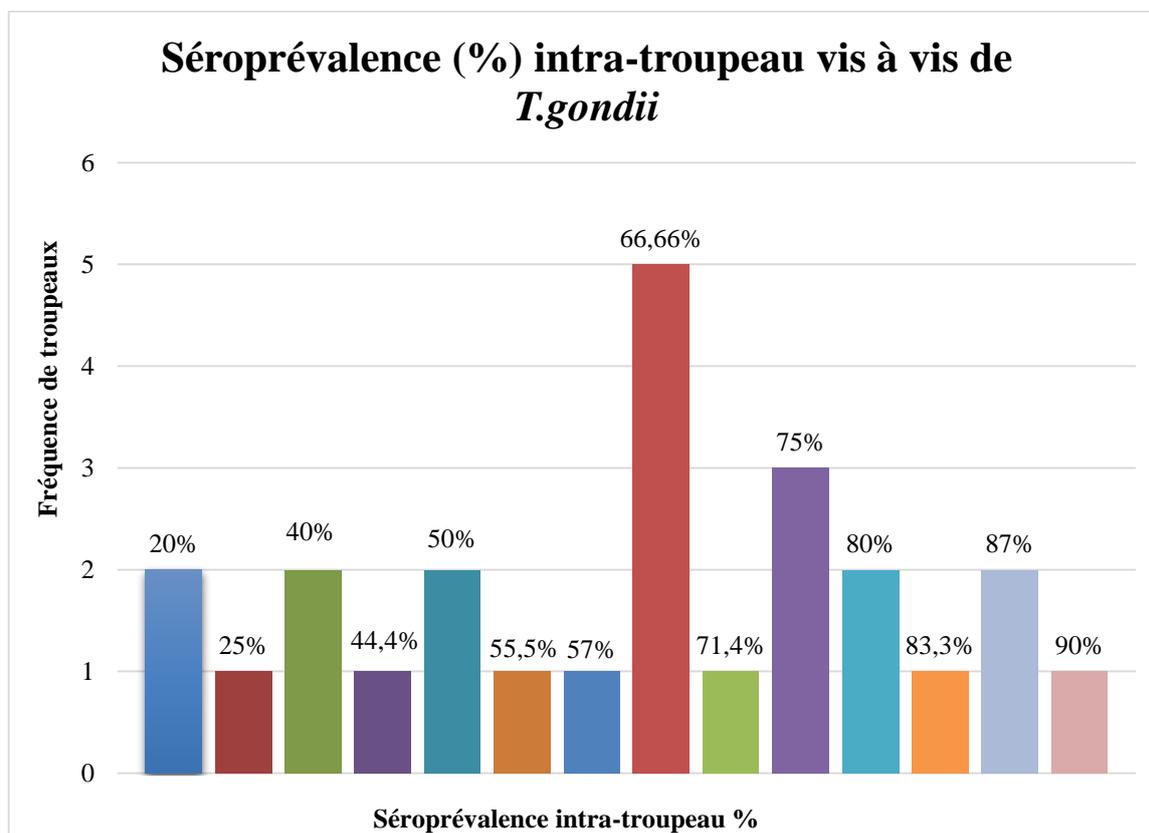


Figure 27 : Distribution de la séroprévalence intra-troupeau de *T.gondii* par le test LAT.

III.2. Étude des facteurs de risque

Nous avons étudié les facteurs de risque susceptibles d'être à l'origine d'une exposition à une infection par *T.gondii* chez le caprin. Les deux techniques sérologiques ont été considérées et les résultats sont les suivants :

III.2.1. Analyse des facteurs de risque avec le test ELISA

Le tableau suivant résume tous les résultats obtenus après l'analyse des facteurs d'exposition qui semblent jouer un rôle comme facteurs de risque liée à l'apparition et l'augmentation de la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* chez le caprin.

L'analyse détaillée des résultats montre que la séroprévalence de *T. gondii* ne varie pas de façon significative en fonction du sexe ($P=0,602$), de l'âge ($P=0,792$), du type d'élevage

(P=0,380), de la présence de chats (P=0,233) ou encore de la localité des animaux (commune) (P=0,419) (Tableau 2).

En revanche, la séroprévalence semble varier de façon significative en fonction de la présence ou de l'absence d'avortement (P=0,007) (Figure 28).

Tableau 2: Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'infection par *T. gondii* en tenant compte des résultats obtenus par la technique ELISA.

Variables	Catégories	Fréquences observées			Séroprévalence (%) (IC95%)	Valeur P	Signification
		Positif	Négatif	Total			
Sexe	Mâle	38	17	55	69,1 (55.97-79.72)	0,602	NS
	Femelle	94	35	129	72,9 (64.62-79.8)		
Âge	≤12 mois	31	14	45	68,9 (54.34-80.47)	0,792	NS
	12-36 mois	38	16	54	70,4 (57.17-80.86)		
	>36 mois	63	22	85	74,1 (63,91-82.24)		
Type d'élevage	Extensif	12	7	19	63,2 (41.04-80.85)	0,380	NS
	Semi-intensif	120	45	165	72,7 (65.48-78.95)		
Présence de chat	Oui	107	38	145	73,8 (65,5-82,1)	0,233	NS
	Non	25	14	39	64,1 (54,3-82,9)		
Commune	Zéghaia	70	31	101	69,3 (58,5-80,1)	0,419	NS
	Terrai	62	21	83	74,7 (63,9-85,5)		
	Bainen						
Avortement	Oui	60	13	73	82,2 (71.88-89.29)	0,007	S
	Non	34	22	56	60,7 (47.63-72.42)		

NS; Non Significatif, S; Significatif

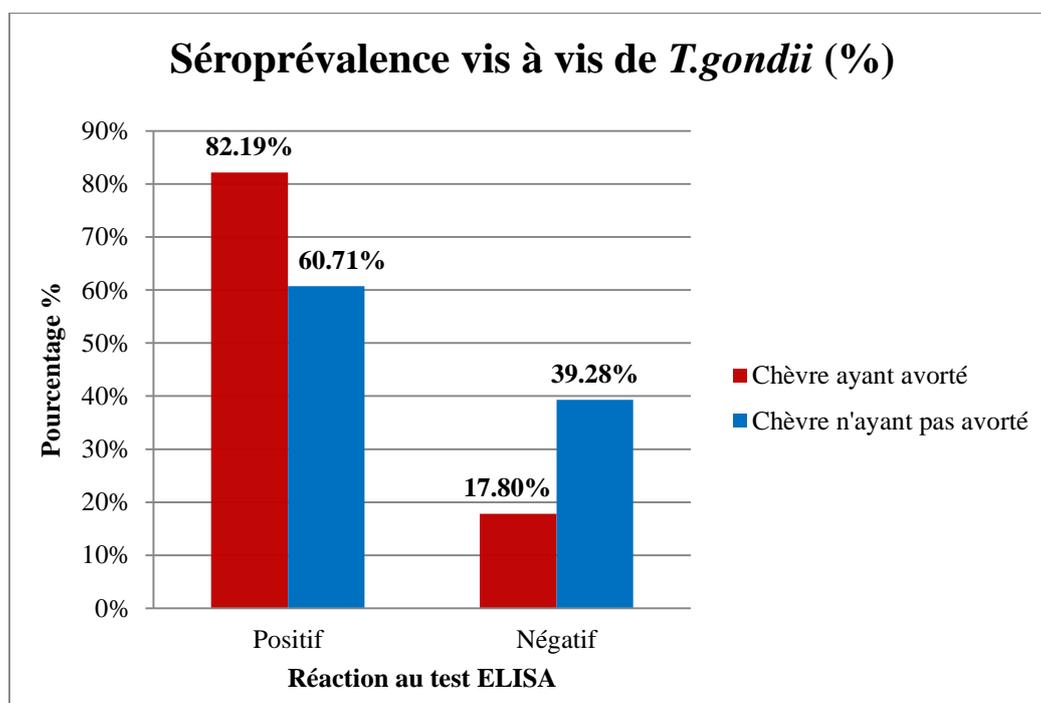


Figure 28: Variation de la séroprévalence de *T. gondii* en fonction du statut abortif de la chèvre analysée par le test ELISA.

III.2.2. Analyse des facteurs de risque avec le test d'agglutination le LAT

De la même façon, une analyse des facteurs de risque a été réalisée en tenant compte cette fois ci des résultats obtenus par le test LAT. Les résultats sont repris dans le tableau 3.

L'analyse ne montre aucune variation d'une façon significative de la séroprévalence de l'infection à *T.gondii* en fonction du sexe ($P=0,096$), de l'âge ($P=0,113$), du type d'élevage ($P=0,967$), de la présence de chats ($P=0,500$), de la localité (commune) ($P=0,945$) ou encore du risque d'avortement ($P=0,503$).

Tableau 3: Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'infection par *T.gondii* par le test LAT.

Variables	Catégories	Fréquences observées			Séroprévalence (%) (IC95%)	Valeur P	Signification
		Positif	Négatif	Total			
Sexe	Mâle	30	25	55	54,5 (41.53-66.98)	0,096	NS
	Femelle	87	42	129	67,4 (58.95-74.92)		
Âge	≤12 mois	23	22	45	51,1 (37-65.04)	0,133	NS
	12-36 mois	37	17	54	68,5 (55.26-79.32)		
	>36 mois	57	28	85	67,1 (56.52-76.12)		
Type d'élevage	Extensif	12	7	19	63,2 (41.04-80.85)	0,967	NS
	Semi-intensif	105	60	172	63,6 (53.6-68.02)		
Présence de chat	Oui	94	51	145	64,8 (53,6-73,2)	0,500	NS
	Non	23	16	39	59,0 (32,5-75,1)		
Commune	Zéghaia	64	37	101	63,4 (53.64-72.12)	0,945	NS
	Terrai	53	30	83	63,9 (53.12-73.37)		
	Bainen						
Avortement	Oui	51	22	73	69,9 (58.56-79.17)	0,503	NS
	Non	36	20	56	64,3 (51.20-75.55)		

NS; Non Significatif, S; Significatif

III.3. Étude de la comparaison des deux techniques sérologiques

Les performances de la méthode d'agglutination en latex (LAT) ont été évaluées en prenant comme test de référence ELISA indirect à la dilution 1/100.

Pour la technique LAT, la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), l'exactitude relative (Er), le coefficient kappa de Cohen (K) et le test de Mc Nemar ont été calculés en prenant ELISA indirect comme test de référence.

Les résultats obtenus ont montré les valeurs suivantes ;

- une valeur prédictive positive de 89,74%
- une valeur prédictive négative de 59,70%
- une sensibilité relative de 79,54%

- une spécificité relative de 76,92%
- l'exactitude relative 78,80%

Le calcul de la concordance entre les deux techniques (ELISA et LAT) par l'utilisation du test Kappa de Cohen a montré un coefficient K de 0,519 ($p=0,000$) appartenant à l'intervalle 0,41-0,60, ce qui correspond à un accord moyen entre ces deux techniques (Tableau 4).

Le résultat du test Mc Nemar (5,769) a montré que les deux techniques donnaient des résultats et des valeurs significativement différentes ($p=0,024$).

Tableau 4: Comparaison de la technique LAT avec l'ELISA indirect pris comme test de référence dans le dépistage de l'infection par *T.gondii* chez le caprin.

Test	ELISA indirect			
	+	-	Total	
LAT	+	105	12	117
	-	27	40	67
	Total	132	52	184
Valeurs intrinsèques		Se=79,54%	Sp=76,92%	Er=78,80%
K=0,519				
Test Mc Nemar (P<0,05)				

Se; Sensibilité, Sp; Spécificité, Er; Exactitude relative, K ; valeur Kappa

Discussion

IV. Discussion

De nombreuses études sur la séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* ont été réalisées chez les petits ruminants dans différentes régions du globe. Cependant, notre étude fournit, pour la première fois, des informations sur la séroprévalence et les facteurs de risques susceptibles d'influencer l'apparition d'une infection par *T.gondii* chez le caprin en Algérie. La mise en évidence des anticorps spécifiques de *T.gondii* témoigne d'une circulation fréquente du parasite parmi les élevages caprins.

IV.1. Protocole de l'étude et biais de conception

Avant de faire l'analyse des résultats obtenus dans cette étude, il nous paraît nécessaire de discuter le protocole général de l'enquête, afin de faire ressortir ses qualités et ses défauts.

IV.1.1. Méthode d'échantillonnage

L'étude réalisée est de type transversal rétrospectif, sur un effectif de 193 caprins sélectionnés, mais 184 uniquement subissaient les deux tests sérologiques tant que les deux plaques ELISA ne suffissent que pour 184 échantillon, dans une région qui en héberge environ $n=40256$ caprins (DSA de Mila, 2015), ce qui correspond à un taux d'échantillonnage de 0.48%. L'idéal aurait été de prélever 10% de la population caprine de la région pour obtenir une meilleure précision des résultats.

Malheureusement les difficultés d'accéder à toute la région et le coût cher des kits d'analyse (nombre limité des sérums à tester (par kit)) ont rendu difficile la réalisation d'un échantillonnage représentatif de la population caprine de la région.

Même si les élevages ont été sélectionnés de manière aléatoire, il nous fallait quand même l'accord des éleveurs pour prélever leurs animaux, certains ont carrément refusé de participer à l'étude. Par conséquent, ceci a créé un certain biais de sélection. D'autre part, pour le choix des caprins à prélever au sein de chaque ferme, nous pensions que dans un élevage donné, il serait relativement aisé de prélever au hasard n'importe quel caprin afin d'avoir au final une représentation homogène de l'effectif. Nous nous sommes rapidement rendu compte que la majorité des éleveurs ne veulent pas faire des prélèvements sur les petits caprins, ceci explique pourquoi dans notre étude, la classe des animaux qui ont moins de 6 mois était limité par rapport aux autres classes.

La collecte des prélèvements sanguins s'est effectuée dans le respect des règles d'hygiène et de conservation de la chaîne du froid, tout au long de l'enquête, depuis la récolte jusqu'à l'acheminement au laboratoire.

IV.1.2. Questionnaire épidémiologique

Le questionnaire a été rempli par les éleveurs des différents élevages. Les réponses aux questions sont basées en grande partie sur la mémoire des éleveurs. Par conséquent, peu de données objectives n'ont pu être synthétisées à partir des questionnaires. Aussi, le fait de demander des informations aux éleveurs sur les avortements constitue un autre biais en raison de non déclaration de ces derniers.

IV.1.3. Techniques sérologiques

Une variété de tests sérologiques ont été utilisés pour détecter les anticorps sériques dirigés contre *T.gondii*, incluant le test de colorant Sabin-Feldman (DT), le test d'agglutination directe (DAT), le test d'agglutination modifié (MAT), le test de hémagglutination indirecte (IHT), le test d'agglutination au latex (LAT), le test de fixation du complément (CFT), le test intra-dermique (IDT), l'essai immuno-enzymatique (ELISA), le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT) et la méthode du Western blot (WB) (Jacobs et *al.*, 1960; Lappin et *al.*, 1994; Silva et *al.*, 1997; Dubey, 2008; OIE, 2008; Rossi et *al.*, 2011).

Pour la détection des anticorps dirigés contre le parasite *T.gondii*, nous avons utilisé la technique ELISA et le test LAT.

L'ELISA est un outil de diagnostic utile et pratique pour tester les échantillons de sérums pour la présence d'anticorps anti-*T.gondii*. Ce dosage peut être sensible et peut être semi automatisé pour les tests à grande échelle, la lecture des résultats est moins subjective que celle d'autres tests comme l'IFAT ou le LAT (Hill et *al.*, 2006).

Le test de colorant Sabin-Feldman a été développé en 1948 par Albert Sabin et Harry Feldman (Dubey, 2008). Si on le compare avec la technique ELISA, le test DT est très sensible et spécifique sans preuve de faux résultats chez les humains, il est utilisé à des fins de diagnostic et considéré comme un test étalon. Le DT tout comme l'IFAT est plus sensible et spécifique comparé à l'IHT ou bien à l'ELISA (Jacobs et *al.*, 1960; Piergili, 2004).

L'ELISA a été adapté pour être utilisé chez la plupart des animaux domestiques, tels les moutons et les chèvres, pour la détection des troupeaux contaminés par *T.gondii* (Van der Puije et *al.*, 2000; Dubey, 2008, 2009). Il existe des tests ELISA spécifiques pour les sous-types IgM et IgG. Ces tests ELISA sont idéalement adaptés pour détecter un grand nombre d'échantillons et regarder le rapport IgM/IgG. Le rapport IgM/IgG peut être utilisé pour distinguer les infections aiguës et chroniques (Danemark et Chessum, 1978).

Ce test a une ou plusieurs limites telles l'exigence pour le conjugué spécifique à une espèce hôte et des performances variables chez différents hôtes (Van der Puije et *al.*, 2000).

Le test ELISA (ID Screen Toxoplasmosis Indirect Multi-espèces; ID.VET Innovative Diagnostics, France) est un test commercial utilisé pour déterminer la présence d'anticorps anti-P30 (SAG1) spécifiques de *T.gondii* dans des échantillons de sérum de différentes espèces animales y compris la chèvre. Il s'agit d'un test ELISA multi-espèces, avec une sensibilité et une spécificité de 86% et 99% respectivement chez les porcs infectés expérimentalement (Bokken et al., 2012) et une sensibilité entre 95% et 97% et une spécificité de 97% chez les chats domestiques (Györke et al., 2011). Klun et al. (2007), lui ont décrit une sensibilité et une spécificité respectivement de 58,3% et 96,1%.

Quant au test LAT utilisé aussi dans ce travail, il permet une détection rapide des anticorps IgG et IgM dirigés contre *T.gondii* dans des échantillons de sérum. Le test est basé sur le principe d'agglutination des particules de polystyrène revêtues de l'antigène soluble de *T.gondii*.

Le test LAT/*T.gondii* est disponible dans le commerce, il s'agit d'un test de diagnostic simple, rapide et fiable pour l'utilisation chez une grande variété d'espèces (OIE, 2008). Dans le test LAT, les particules revêtues d'antigène de polystyrène blanc agglutinent en présence d'anticorps, ce qui est visible à l'œil nu. En raison de l'efficacité diagnostique appropriée et d'une large utilisation dans l'étude sérologique avec diverses espèces animales (Ramzan et al., 2009; Bártoová et al., 2010; Ahmad et al., 2013; Machacova et al., 2014; Matsuo et al., 2014). Le LAT a été choisi et employé ainsi dans la présente étude.

En revanche, une limite de ce test c'est la dépendance à l'égard d'antigènes indigènes produits *in vitro* ou par des souris qui rend le coût élevé du kit. Dans la plupart des cas, les antigènes portent du matériel extra parasitaire, qui peut avoir une réactivité non spécifique avec les sérums d'essai. Un antigène de surface immunodominant SAG1(P30) de *T.gondii* est considéré comme un candidat important pour le développement de réactifs pour un diagnostic efficace (Handman et al., 1980). Aussi, parmi les limitations du test, c'est l'observation subjective de la réaction antigène-anticorps à l'œil nu, ce qui diffère d'une personne à une autre, et rend parfois le jugement du résultat difficile (Ramzan et al., 2009). Par ailleurs, ce test peut détecter une production intensive d'anticorps au jour 17 PI, qui diminue au jour 21 (références).

Les tests LAT et ELISA sont appropriés pour détecter une réponse humorale contre *T.gondii* chez des chèvres infectées expérimentalement; les tests IFAT et LAT arrivent à détecter une réponse d'anticorps avant d'être détectée par ELISA. Le diagnostic de l'infection par *T.gondii* est plus difficile pendant les 2 premières semaines (Nishi et al., 2001).

Des études antérieures ont montré que la technique ELISA est moins sensible que la technique d'agglutination (Packham et *al.*, 1998).

IV.2. Séroprévalence de l'infection par *T.gondii* chez le caprin

La toxoplasmose a une répartition géographique très large et est considérée comme l'une des infections parasitaires les plus courantes chez l'homme et les animaux à sang chaud. Les symptômes cliniques de la toxoplasmose ne sont pas spécifiques. En raison de la taille microscopique et de la localisation intracellulaire des formes prolifératives de ce parasite protozoaire et de la difficulté relative dans sa culture en laboratoire, le développement d'outils immunodiagnostiques tels que la sérologie et l'immunohistochimie sont essentiels pour la détection de l'infection (Uggla et Buxton, 1990). Par conséquent, l'évaluation des tests sérologiques devient importante pour utiliser des tests sensibles et spécifiques dans les études sérologiques (Uggla et *al.*, 1983 et Moreno et *al.*, 1991).

Il existe des variations considérables dans le comportement de différentes espèces de bétail aux différents tests diagnostiques. En outre, il n'existe aucun matériau de référence mondial typique à *T.gondii*, pour lequel, les différents tests de diagnostic peuvent être normalisés. La séroprévalence des anticorps IgG spécifiques de *Toxoplasma* peut être déterminée par diverses techniques de diagnostic chez les moutons et les chèvres (Masala et *al.*, 2003).

Dans l'étude actuelle, le test ELISA a été utilisé, il est approprié pour la détection d'anticorps IgG et IgM spécifiques de *T.gondii* (Ghazaei, 2005; Vesco et *al.*, 2007), il a été utilisé comme test de référence pour révéler les performances du test LAT, une technique couramment utilisée dans différentes régions de monde, l'idée était d'évaluer sa sensibilité et sa spécificité.

Notre enquête sérologique utilisant deux tests différents a montré une séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* de 71,73% par la technique ELISA Indirect et de 63,58% par le test LAT.

Les anticorps spécifiques de *T.gondii* ont été mis en évidence chez 48,5% des 107 chiens analysés (Dubey et *al.*, 2008), chez 30,6% des 75 animaux domestiques et 27,7% des 101 chats sauvages analysés (Dubey et *al.*, 2009), 0,8% de 238 rats sauvages (Dubey et *al.*, 2006) et 41,1% des 102 poulets sauvages (Dubey et *al.*, 2005). *T.gondii* viable a été isolé de 35 poulets et 1 rat (Dubey et *al.*, 2005, 2006). Ces études ont indiqué que les infections à *T.gondii* sont endémiques chez les animaux domestiques et sauvages testés.

La séroprévalence mondiale estimée de la toxoplasmose chez le bétail est de 9% (Bovins), 30% (moutons) et 15% (chèvres). Dans différentes parties du monde, le taux de séropositivité vis à vis de *T.gondii* a été trouvé très varié de 11,6 à 96% chez les caprins. Ainsi, la prévalence la plus élevée a été décrite en Amérique du Sud et dans certains pays européens,

alors que la plus faible a été signalée en Inde, en Amérique du Nord et au Royaume-Uni (Dubey et Beattie, 1988; Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010). En Afrique, la séroprévalence varie de 6.4 % (Djibouti) à 81.6 % (Nigeria) chez les caprins (Chantal *et al.*, 1994; Arene, 1984).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par d'autres auteurs dans d'autres régions du monde (Ben Rachid et Blaha, 1979; Arene, 1984; Zain Eldin *et al.*, 1985; Patton *et al.*, 1990; Antonis *et al.*, 1998; Slosarkova *et al.*, 1999; Figueiredo *et al.*, 2001; Klun *et al.*, 2005).

À l'échelle internationale, les séroprévalences obtenues dans cette étude par les deux tests utilisés se sont montrées plus élevées que la moyenne mondiale (Fayer, 1981; Dubey 2004; Clun *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2008).

En revanche quelque soit la technique utilisée, nos séroprévalences étaient plus faibles à celle rapportée au Brésil (92,4%) (Gondim *et al.*, 1999). La même image est donnée (80.61%) par Karaca *et al.* (2007) et Beyhan *et al.* (2013) (95,24%) dans leurs rapports sur les caprins en Turquie en faisant recours au test Sabin Feldman (SFDT).

Si on tient compte de la séroprévalence obtenue par la technique ELISA, on constate qu'elle est proche à celles déclarées par Hove et ses collaborateurs (2005) en Zimbabwe (68,59%) en utilisant la technique IFAT, contrairement à la technique LAT qui a montré une séroprévalence plus faible. En fin, on a révélé une séroprévalence très proche de celle (74.8%) déclarée par Teshale *et al.* 2007 en Éthiopie.

Chez 364 caprins, un taux de positivité de 59,8% a été obtenu avec le test IHAT dans la région de Stara Zagora, en Bulgarie (Prelezov *et al.*, 2008), taux inférieur à celui obtenu dans cette étude.

En Égypte (Giza), Barakat *et al.* (2009) ont montré un taux de séroprévalence de 59,4%, valeur assez similaire à celle obtenue dans notre étude par le test LAT (63,58%). Au Soudan, Ibrahim *et al.* (2015) ont révélé chez des femelles adultes une séroprévalence assez proche (64%) de la notre en utilisant le test LAT. Même constat réalisé aux îles Canaries (63,3%) (Rodriguez Ponce *et al.*, 1995).

Des taux de séropositivité de 51 à 52%, ont été déjà signalés respectivement par Sanad et Al-Ghaban (2007) en Arabie Saoudite, et par Tasawar *et al.* (2011) au Pakistan en appliquant le test LAT comme test de dépistage.

En Turquie, une séroprévalence de 50% a été obtenue pour *T.gondii* chez le caprin en utilisant le test IHAT (Sevinc *et al.*, 2000) et en Roumanie, un taux de 52,8% obtenu par le test ELISA (Iovu *et al.*, 2012). Ces taux étaient assez proches de notre séroprévalence lorsque les sérums étaient analysés par le test LAT.

En utilisant différents tests sérologiques (LAT, IHAT et ELISA), en Égypte, Younis et al. (2015) ont pu montrer un taux de séroprévalence vis à vis de la toxoplasmose de 49,4%, 64,2% et 50,6% respectivement.

À Grenade et à Carriacou (West Indies), des sérum ont été analysés par le test d'agglutination modifié (MAT) pour détecter les anticorps anti-*T.gondii*, des séroprévalences de 44,1% et de 42,8% ont été détectés chez les moutons et les caprins respectivement (Chikweto et al., 2011). Au Brésil, une séroprévalence de 46,0% a été obtenue par le test IFAT chez le caprin (Carneiro et al., 2009), et un taux de 39% a été rapporté en Égypte par le test ELISA (Kandil et Abou-Zeina, 2000).

Dans notre étude, et quel que soit le test appliqué, le taux de séropositivité est généralement plus élevé que celui rapporté par d'auteurs chez des caprins de différentes régions du monde; un taux de 39% au Brésil par le test IFAT (Anderlini et al., 2011), 35% au Sud de la Tunisie par le test MAT (Lahmar et al., 2015), 31% en Ouganda (Bisson et al., 2000), 30% en Iran par le test IFAT (Sharif et al., 2007), 28,9% au Brésil par le test LAT (Pita Gondim et al., 1999; Bisson et al., 2000), 27,9% dans la province de Satun, Thiland (Jittapalapong et al., 2005), 26,8% à Ghana par le test ELISA (van der Puije, 2000), 25,4% au Pakistan (Ramzan et al., 2009), 19,3% en Iran (Hashemi-Fesharki, 1996), 5,9% et 33% au Venezuela (Nieto et Melendez, 1998; Figueiredo et al., 2001), 19,7% en Éthiopie (Zewdu et al., 2013), 14,1% en Chine (Zhao et al., 2011), 12% en Arabie saoudite (Al Mohammed, 2011).

Une faible séroprévalence de la toxoplasmose a été rapportée par Figueiredo et al. (2001) au Brésil (18,4%) en utilisant le test IHAT, au Ghana, en utilisant le test ELISA (32,2%) chez les moutons et 26,8% chez les caprins rapportés par Puije et al. (2000)

Sharma et al. (2003) ont réalisé un suivi sérologique et ont détecté une prévalence de 30% sur une période de 4 ans par le test IHAT. Cette différence de valeurs est probablement liée à la durée d'étude et les caractéristiques de la technique appliquée. Arnaudov (1971, 1973) a observé que 32,65% des moutons étudiés et 27,16% des chèvres étaient positifs pour la toxoplasmose.

A Punjab, au Pakistan, une détection des anticorps anti-*T.gondii* (IgG et IgM) a été faite en soumettant un nombre de sérums plus élevé que le nôtre à la même technique ELISA, ils ont révélé un pourcentage assez faible de 14,32% (Ahmad et al., 2015). Samad et al. (1993) ont révélé un taux de positivité vis-à-vis de *T.gondii* assez faible par le test LAT chez des caprins (12,09%). Hashemi-Fesharki (1996) a testé des sérums de 3311 moutons et 638 caprins et ont pu obtenir des taux de 24,50% et 19,25% respectivement.

Ainsi, la synthèse de tous ces derniers résultats montrent que nos séroprévalences sont plus importantes. Dans notre région d'étude, le caprin est l'un des animaux important pour la production de viande et de lait, nous devrions faire attention au lait ainsi qu'à la viande provenant de ces animaux car ils sont considérés comme une source potentielle de la toxoplasmose humaine (Skinner et *al.*, 1990).

Pandy et Van Knapen (1992) ont trouvé une prévalence fortement faible (2,9%) dans les différentes parties de Zimbabwe, en utilisant la technique ELISA, ceci peut être expliqué par le climat semi aride avec le système extensif des élevages testés. Derakhshan et Mousavi (2014), en Iran, ont révélés un taux extrêmement faible de 1,7% par le test IFAT.

Au Botswana, une séroprévalence de 10% a été détectée (référence), des taux encore plus faibles situés entre 4,3 et 5,6 % en utilisant les tests IFAT et ELISA respectivement ont été signalés en Afrique du Sud (Abu Samraa et *al.*, 2007).

En plus des raisons citées plus haut, les différences dans les séroprévalences décrites par toutes ces études, pourraient être expliquées aussi par les traditions d'élevage, par l'âge de l'hôte, par la race, le sexe de l'animal, les conditions environnementales, la taille de la ferme, le nombre de chats présents mais encore du style de vie des habitants et des pratiques d'élevages (ArkoMensah et *al.*, 2000; Van der Puije et *al.*, 2000; Ghazaei, 2006 ; Olivier et *al.*, 2007). Ainsi, elles pourraient être attribuées aux différentes zones géographiques, mais les résultats montrent de manière convaincante que la toxoplasmose est une protozoose largement répandue et qu'une partie considérable d'animaux est en contact avec l'agent infectieux.

Les taux de prévalence varient considérablement dans les différentes parties du monde, principalement en raison de la différence dans la gestion des exploitations agricoles, du climat et les conditions hygiéniques (Dubey et Beattie, 1988; Tenter et *al.*, 2000, Zhao et *al.*, 2011). En outre, cela diffère en raison de la différence dans les tests de sérodiagnostic utilisés (Vesco et *al.*, 2007), tel que le MAT qui présente une performance supérieure et meilleure par rapport aux autres tests sérologiques comme décrit Klun et *al.* (2005).

Dans cette étude, la forte séroprévalence des anticorps anti-*T.gondii* observés chez les caprins (71,7% ou 63,58%) peut être mise en relation avec la présence de chats dans la quasi-totalité des élevages étudiés. Dans les rares cas où les agriculteurs n'avaient pas de chats, ces derniers étaient présents dans le quartier et avaient accès à l'eau et à l'alimentation du bétail. Les chats infectés excrètent des oocystes non sporulés de *T.gondii* qui, après sporulation, deviennent infectieux pour l'homme et les animaux, en préservant cette capacité de résistance et de contaminer pendant plus de 18 mois dans l'environnement (Gorbani et *al.*, 1983; Weilland et

Dalchow, 1970; Dubey, 1994). On peut donc expliquer l'importante séroprévalence rapportée dans cette étude par l'activité et le mouvement des oocystes sporulés.

Fayer (1981) a indiqué que les différences dans la prévalence de la toxoplasmose chez les différentes espèces animales s'expliquent par une différence de susceptibilité à l'infection par *T. gondii* et cette vision est également soutenue par le travail de Dubey et Streitl (1976). Cette variation de la sensibilité des espèces peut être attribuée à la différence des conditions environnementales et écologiques, ce qui affecte la biologie du parasite ou le système de reproduction et les mesures d'hygiène dans les fermes.

De même, les taux de prévalence plus élevés de la toxoplasmose dans les zones chaudes et humides comparés aux régions froides et sèches (Fayer, 1981) sont attribués à la viabilité plus longue des oocystes de *T.gondii* dans des environnements humides, ainsi que dans les zones forestières (Fleck, 1972; Dickson et Benneh, 1988) régions qui se rapprochent fort dans les conditions à notre région d'étude.

La variabilité des tests sérologiques et les seuils de positivité (cut-off) ainsi que le type d'antigène utilisé influent sur la séroprévalence mis obtenue dans les différentes études. Par exemple, le test MAT est considéré comme le meilleur test en terme de sensibilité et de spécificité pour la détection des anticorps anti-*T.gondii* (Desmonts et Remington, 1980; Dubey et Desmonts, 1987).

Dans cette étude, pratiquement toutes les exploitations (96 à 100%, selon la technique ELISA et LAT respectivement) ont présenté au moins un animal séropositif, ce qui va dans le sens d'une forte contamination de l'environnement par des oocystes sporulés de *T.gondii*. L'inverse a été observé en Maroc par EL Jai et ses collaborateurs (2003) avec un taux d'exposition au parasite de 12% uniquement. Cela est à mettre en relation avec le climat semi-aride à aride de la région étudiée dans leur étude, qui est moins favorable à la survie des oocystes (Dubey, 1994). Enfin, cette dissémination importante du parasite parmi les troupeaux caprins pourrait être expliquée par la présence permanente des chats et leur accès à l'alimentation et à l'eau du bétail.

IV.3. Analyse des facteurs de risque associés à une infection par *T.gondii*

La connaissance des facteurs de risque susceptibles d'influencer positivement ou négativement la prévalence d'une infection par *T.gondii* est nécessaire pour une bonne compréhension de son épidémiologie, ainsi que leurs implications en termes de stratégies de contrôle adaptées aux conditions locales.

Séroprévalence en fonction du sexe

Aucune différence significative n'a pu être démontrée entre la séropositivité des mâles et celle des femelles vis-à-vis de *T.gondii* ($p > 0,05$) et ce par les deux tests sérologiques utilisés (ELISA et LAT). Ce constat est compatible avec ce qui a été rapporté par Bisson et al. (2000) et Carneiro et al. (2009).

En revanche, d'autres travaux tels ceux de Martin (2000); Kelly et al., (2001) et Swai et Kaaya (2012) ont montré que les femelles étaient plus infectées que les mâles. Aussi, Younis et al. (2015) ont révélé que l'infection par *T.gondii* était significativement plus élevée (valeur $P < 0,01$) chez les chèvres (62,5%) que chez les boucs (24,0%). Au Ghana, une prévalence très élevée des anticorps anti-*T.gondii* a été observée chez les femelles caprines (35,8%) ($P < 0,01$) (van der Puije et al., 2000). Même constat était rapporté par Hajialilo et al. (2010), Al-mabruk et al. (2013) et Dubey et al. (2014).

Au cours d'une étude réalisée par Tasawar et ses collaborateurs en 2011, les résultats ont montré que les caprins femelles ont une prévalence significativement différente ($P < 0,05$) (supérieure à 55%) comparée au sexe masculin. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures (Ramzan et al., 2009).

Enfin, il semble important de signaler que les résultats de certains travaux n'ont pas coïncidé avec ceux d'Esmat (1997) et Boughattass et al. (2011).

Ils ont expliqué ce constat par le fait que l'immunité chez la femelle est beaucoup plus réduite par divers facteurs tels que la gestation, la nutrition et l'allaitement (Martin, 2000; Kelly et al., 2001). En outre, les réponses immunitaires innées sont améliorées chez les mâles (Kittas et al., 1984).

Teshale et al. (2007) ont défini le sexe comme un facteur de susceptibilité accrue vis-à-vis *T.gondii* ($P = 0,0007$) comme indique aussi des rapport antérieurs (Okoh et al., 1981; Tamiru et al., 2004), une constatation qui ne soit pas conclue par d'autre (Tilaye et Getachew, 2002). De même, Li et ses collaborateurs (2016) ont indiqués que les chèvres soient plus prédisposées que les boucs ($P < 0,05$).

Il est à signaler que généralement la susceptibilité aux infections par les parasites protozoaires est plus importante chez les femelles que chez les mâles (Alexander et Stinson, 1988; Gebremedhin et al., 2013a et b).

En effet, les différences hormonales entre les mâles et les femelles jouent un rôle important dans la détermination de la susceptibilité à une infection parasitaire. Il est maintenant largement admis que de nombreuses hormones, y compris les hormones associées au sexe, influencent directement le système immunitaire (Roberts et al., 2001). Il a été rapporté que

l'œstrogène améliore la production d'anticorps et que l'androgène supprime les réponses immunitaires des cellules T et des cellules B (Da Silva, 1999), mais l'immunité chez les femelles peut être altérée en raison de divers facteurs tels que l'âge et l'environnement.

Séroprévalence en fonction d'âge

Après l'analyse statistique de nos résultats, les caprins testés ne présentent aucune susceptibilité accrue ou un risque élevé à l'infection par *T. gondii* en fonction des tranches d'âge, ce qui indique une chance égale à contracter l'agent infectieux quelque soit l'âge de l'animal ($p > 0,05$).

Chikweto et al. (2011) ont signalé que la séoprévalence a augmenté avec l'âge chez plus de 20% de porcs, de moutons et de chèvres, ce qui indique l'acquisition postnatale de *T. gondii*.

Ahmad et collaborateurs (2015) ont rapporté une augmentation de la prévalence de l'infection avec l'âge chez les petits ruminants. La prévalence élevée obtenue chez les plus âgés est due à l'exposition aux facteurs de risque pendant une période plus longue que celle des jeunes, à mesure que ces animaux vieillissent, ils sont de plus en plus susceptibles d'être exposés à une infection par ingestion d'oocystes infectants dans l'environnement. (O'Donoghue et al., 1987; Puije et al., 2000). Des constatations similaires sont également été discutées par Vesco et al. (2007), Lashari et Tasawar (2010) et Tasawar et al. (2011).

Tout comme les travaux de Figueiredo et al. (2001), Boughattass et al. (2011) et Al-mabruk et al. (2013), une équipe de recherche, en Égypte, a confirmé à travers des études sérologiques, chez différentes espèce animales de la ferme, que l'âge supérieur à 5 ans était associé à un dédoublement du risque d'infection par rapport au jeune âge (< 2 ans) (80,7% vs 41,6%) (Younis et al., 2015).

Teshale et al. (2007) ont trouvé une différence significative entre les différentes tranches d'âge ($p < 0.0002$) en faisant lien avec l'effet cumulatif d'âge et la longue période d'exposition aux oocystes dans l'environnement.

La relation entre l'âge et la toxoplasmose chez les chèvres a révélé que le parasite avait une prévalence la plus élevée 77,27% dans le groupe d'âge de 60 à 75 mois et la plus faible prévalence 39,32% dans le groupe d'âge de 12 à 27 mois. La prévalence a augmenté lorsque l'âge de l'animal a augmenté. L'augmentation progressive de *T. gondii* avec l'âge suggère une exposition continue de l'organisme dans l'environnement comme indiqué précédemment (Jittapalapong et al., 2005; Ivana et al., 2006; Sharif et al., 2006). Dubey et Adams (1990) ont signalé que la séroprévalence augmentait avec l'âge des chèvres ; 3,7% des 54 chèvres de six mois étaient séropositifs (supérieur ou égal à 1:40) contre 17,8% des 218 chèvres d'un an.

Jittapalapong et al. (2005) ont étudié la séroprévalence d'anticorps anti *T.gondii* chez les chèvres domestiques de la province de Satun en Thaïlande avec des kits commerciaux d'agglutination au latex. Au total, 631 sérums de chèvre ont été examinés pour détecter les anticorps contre la toxoplasmose. Les chèvres plus âgées étaient plus séropositives que les jeunes de moins de 1 an (Teshale et al., 2007).

Ibrahim et al. (2015) ont indiqué que la prévalence des anticorps anti-*T.gondii* était significativement plus élevée chez les chèvres plus âgées, ce qui est en accord avec les résultats rapportés par Arko-Mensah (2000), Van der Puije et al. (2000), et Clementino et al. (2007). Cela peut être expliqué en se basant sur le fait que les animaux plus âgés soient moins résistants à la toxoplasmose en raison d'une faible immunité (vieillesse du système immunitaire) (Roberts et al., 2001).

En outre, plusieurs références ont indiqué que l'âge et même la race n'ont aucun effet sur la séroprévalence de la toxoplasmose, mais les animaux adultes sont plus significativement séropositifs que les jeunes (Dubey et Kirkbride, 1989; Dubey et al., 1992; Clun et al., 2006; Bahrieni et al., 2008; Gebremedhin et al., 2013).

Séroprévalence en fonction de type d'élevage

L'étude réalisée sur la séroprévalence de l'infection par *T.gondii* chez les moutons et les chèvres au Zimbabwe a montré que ceux provenant de fermes commerciales avaient une séroprévalence 8 fois plus faible (10%) que ceux provenant de zones rurales (80%) (Hove et al., 2005). Abu Samara et al. (2007) ont mentionné qu'il y a eu une séroprévalence significativement plus élevée dans les exploitations agricoles commerciales ($P < 0,01$).

Un autre facteur qui augmente le risque d'exposition à *T. gondii* est le système de gestion d'élevage. Plant et al. (1974) ont suggéré que la prévalence de l'infection était encore plus influencée par les facteurs de gestion que par les facteurs environnementaux. Dans leur étude, une prévalence plus élevée a été enregistrée chez les ovins comme chez caprins dans des systèmes de gestion plus intensifs et ils n'ont pas trouvé d'association positive entre la séroprévalence de *T. gondii* et les différentes zones géographiques.

Ainsi, les études épidémiologiques antérieures ont révélé que les infections à *T.gondii* sont plus fréquentes chez les petits ruminants élevés dans des systèmes intensifs ou semi-intensifs (Riemann et al., 1977 ; Waldeland, 1976). Van der Puije et al. (2000) ont associé la séroprévalence plus élevée de *T. gondii* chez les moutons au système agricole intensif et semi-intensif. Une association entre la gestion et la prévalence a également été observée en

Norvège (Skjerve et *al.*, 1998), aux États-Unis (Riemann et *al.*, 1977) et en Tasmanie (Munday, 1975).

En Afrique du Sud, même statut est observé dans le système d'élevage caprin semi-intensif ou intensif, ceci pourrait être due aux chats domestiques qui vivent probablement plus près des magasins d'alimentation dans ces fermes, où ils sont utilisés pour contrôler les rongeurs, ce qui augmente la fréquence d'exposition aux oocystes excrétés de *T.gondii* (Abu Samraa et *al.*, 2007).

Une étude expérimentale a été réalisée par Plant et *al.* où une épidémie de toxoplasmose congénitale ovine a été simulée en alimentant des grains de mouton contaminés par des fèces de chat. Leur étude a confirmé que dans un système agricole intensif, où les chats sont habituellement conservés dans les fermes, les aliments pourraient facilement être contaminés par les oocystes et être responsables d'une propagation rapide de l'infection dans un troupeau. De même, parmi les facteurs de risque statistiquement significatifs chez les caprins étaient la pratique agricole (OR = 2.25, $p < 0.05$) et la taille du troupeau (Ahmad et *al.*, 2011).

Comme l'a montré notre étude, une investigation faite par Ahmad et *al.* (2015) a révélé une séroprévalence plus élevée chez les animaux en système de gestion extensif et semi-intensif. Une gestion extensive chez les moutons et les chèvres présente un risque accru d'infection à *T.gondii*. En outre, l'utilisation d'aliments en vrac ou de pâturages pose également une menace d'obtenir une toxoplasmose. Les deux pratiques permettent aux animaux de se rapprocher des oocystes excrétés par des félinés sauvages et domestiques. Les animaux élevés intensivement sont habituellement entravés et ont peu de chance d'ingérer des aliments et/ou de l'eau contaminés par les oocystes (Anderlini et *al.*, 2011). Des résultats similaires ont été rapportés chez des moutons ghanéens et brésiliens élevés extensivement (Puije et *al.*, 2000, Lopes et *al.*, 2010). L'augmentation de la prévalence de la toxoplasmose dans une gestion extensive est également retrouvée plus récemment chez les moutons et les chèvres du nord-est de la Chine (Wang et *al.*, 2011).

Par rapport au système intensif (absent dans notre étude), des résultats similaires ont été signalés chez les bovins et les moutons en Serbie (Klun et *al.*, 2006). Plus récemment, l'augmentation de la prévalence de l'infection par *T.gondii* avec une grande taille de troupeau est également rapportée dans une étude brésilienne (Anderlini et *al.*, 2011).

La toxoplasmose a été fortement augmentée chez les moutons et les chèvres qui ont été exploités dans le système intensif (76,4% et 56,8%) ($P < 0,01$) que ceux élevés en extensif (46,5% et 33,3%) et en semi-intensif (62,1% et 46,4%), présentant une susceptibilité élevée de 2,6 fois (Younis et *al.*, 2015). Cette variation peut être liée à une présence d'un nombre

incontrôlé de chats errants dans les fermes. Ces résultats ont coïncidé avec ceux enregistrés par Neto et al. (2008), Tzanidakis et al. (2012) et Al-mabruk et al. (2013).

Séroprévalence en fonction de la Localité

Les différentes séroprévalences rapportées dans les différentes régions de monde pourraient être attribuées aux variations de température et d'humidité. En Afrique du Sud, il a été révélé que le climat humide s'associe significativement à une séroprévalence élevée par rapport aux autres types de climat. La même étude a indiqué une corrélation significative entre la séroprévalence de *T.gondii* et la température quotidienne moyenne minimale (13°C) ($P < 0,05$) (Abu Samara et al., 2007).

Dans la présente étude, la différence non significative entre les deux localités (Terrai Bainen et Zéghaia) s'associe à une uniformité de climat qui est doux et humide, offrant de bonnes conditions pour la sporulation des oocystes de *T.gondii*. Cela peut expliquer ainsi le taux très faible (2,7%) de moutons infectés dans la wilaya de Djelfa, qui comprend principalement des prairies avec un climat semi-aride et des températures moyennes minimales faibles, susceptibles d'être défavorables à la sporulation des oocystes. Même statut est observé par Ahmed e al. (2015) à Punjab au Pakisan, en effet aucune différence statistiquement significative de séroprévalence n'a été observée chez les moutons et les chèvres de différents districts suggérant une uniformité du climat et des pratiques de gestion dans la zone d'étudiée.

Des études épidémiologiques antérieures ont révélé que les infections chez les moutons étaient plus fréquentes dans les zones fraîches et humides que dans les zones chaudes et sèches. Hove et al. (2005) ont trouvé des résultats similaires à l'étude réalisée au Zimbabwe: une séroprévalence significativement plus élevée dans les régions de Mt Darwin et Bikita du Zimbabwe, qui reçoivent une pluviométrie plus élevée, que les zones plus arides de Mudzi et Gwanda.

Van der Puije et al. (2000) ont justifié la prévalence élevée observée dans la savane côtière humide et les zones forestières humides du Ghana, en tant que facteur responsable de la prévalence plus élevée dans ces régions, en particulier par rapport à la savane guinée plus sèche. Comme les variations d'humidité sont également corrélées à la séroprévalence de *T.gondii*, les pluies relativement faibles en Afrique australe pourraient justifier une prévalence globale beaucoup plus faible de *T.gondii* chez les moutons en Afrique du Sud (Abu Samara et al., 2007).

Précisément, comme a été signalé par certain auteurs (Ahmad et *al.*, 2015), la source d'eau extérieure était un facteur de risque putatif pour les chèvres mais pas pour les moutons, cela s'explique peut-être par le fait selon lequel les chèvres sont principalement infectées par l'eau potable contaminée. Les chances d'obtenir une infection par la nourriture sont faibles car elles consomment habituellement les feuilles qui sont loin du sol. D'autre part, les moutons broutent près du sol et ont de meilleures chances d'être infectés par la nourriture et l'eau contaminés (Waldeland, 1976).

Van der Puije et al. (2000) ont constaté dans leurs travaux que les animaux échantillonnés dans les zones forestières, comme les zones choisies dans notre étude, avaient une prévalence de 39,1%, ce qui était significativement plus élevé ($P < 0,01$) que la prévalence enregistrée pour la zone la plus sèche (20%).

Des taux plus élevés de cas de toxoplasmose dans les zones chaudes et humides comparés aux zones froides et sèches (Fayer, 1981) sont attribués à la viabilité plus longue des oocystes de *T.gondii* dans des environnements humides (Fleck, 1972). Cela peut expliquer la séroprévalence plus élevée de la toxoplasmose dans les zones côtières et forestières et une prévalence nettement plus faible dans la zone plus sèche (Dickson et Benneh, 1988).

Toutes ces constatations renforcent l'explication proposée de notre part, en jugeant le facteur localité et essentiellement climat, comme facteur qui prédispose et favorise une haute susceptibilité à l'infection par le protozoaire *T.gondii*. L'humidité élevée et la couverture végétale importante caractérisant la région étudiée protègent les oocystes de la dessiccation et promouvoir leur survie et leur sporulation.

Ainsi, des prévalences généralement élevées chez les chèvres et les moutons dans des villages communs surpeuplés sont probablement dues aux pressions animales, végétales et humaines exercées sur la terre, tant que la région reçoive une pluviométrie élevée, soit plus cultivables et a plus de ménages par unité de surface et, par conséquent, a probablement un pourcentage plus élevé de chats domestiques qui augmentent les risques de contamination l'environnement par les oocystes de *T.gondii*. Également, la multiplicité des espèces animales (herbivore, carnivore et oiseaux) trouvées dans la région étudiée assure une amplification et continuité parfaite de cycle évolutif du parasite dans la nature.

Des observations similaires ont été rapportées par Clun et al. (2006) sur le facteur d'emplacement de la ferme. L'effet de la source d'eau (canaux communs) et de la source de fourrage était également significatif, ces derniers ne sont pas étudié dans la courante recherche.

Vesco et al. (2007), Ibrahim et al. (2015), ont déclaré que l'utilisation d'eau de surface pour boire et la source des aliments étaient des facteurs associés à la séropositivité de *T.gondii* en Italie et au Soudan. *T.gondii* a été démontré dans l'eau de surface et les eaux souterraines par l'amplification de l'ADN en France (Villena et al., 2004).

Également, une probabilité croissante d'infection sans association statistiquement significative ($p > 0,05$) a été trouvée avec des facteurs de risque comme la localité (Ibrahim et al., 2015). L'influence de l'environnement et de la faune sauvage dans l'épidémiologie de la toxoplasmose a été documenté par plusieurs auteurs (Frenkel, 1990; Tenter et al., 2000; Dubey, 2004).

Séroprévalence en fonction de la présence de chats

Premièrement, la forte prévalence de *T.gondii* chez les caprins laisse supposer que les oocystes et les réservoirs sont largement dispersés dans l'environnement et représentent ainsi un risque pour l'homme dans la région de Mila.

Comme l'a montré notre étude, une probabilité croissante d'infection sans association statistiquement significative ($p > 0,05$) a été trouvée avec des facteurs de risque comme la présence de chats errants par Ibrahim et ses collaborateurs au Soudan (2015).

Ce constat est en accord avec Santos et al. (2009), cependant, d'autres travaux ont montré le contraire (Dubey, 1980; Dubey et Bettie, 1988; Vesco et al., 2007) décrivant la présence des chats comme significativement associés à la séropositivité vis-à-vis de *T.gondii*.

Soares et al., 2009 n'ont pu démontrer aucune association significative entre la présence de chats et la séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* chez des troupeaux de moutons. En effet, les moutons qui ont réagi positivement aux anticorps anti-*T.gondii* ne cohabitaient pas avec des chats.

Dans ce travail, la forte séroprévalence de *T.gondii* chez les caprins pourrait être expliquée par la présence de chats dans les fermes, il s'agit probablement de jeunes chatons qui éliminent des oocystes en grande quantité (Weiland et Dalchow, 1970; Dubey, 1994). Les chats infectés excrètent des oocystes de *T.gondii* qui préservent la capacité infectieuse pendant plus de 18 mois dans l'environnement (Gorbani et al., 1983). Cette forte séroprévalence observée est une preuve de contamination environnementale remarquable par les oocystes.

La présence de chats a contribué de façon significative à augmenter la probabilité d'infection chez les moutons et les chèvres au Pakistan (Ahmad et al., 2015). Les chats sont les hôtes définitifs du parasite et jouent un rôle vital dans l'infection d'autres animaux en éliminant les oocystes dans l'environnement (Lopes et al., 2010). Une étude menée en Pologne a montré

que la présence de chats libres est un facteur de risque important dans la transmission de l'infection chez les chèvres (Neto et *al.*, 2008). Des résultats similaires ont également été rapportés dans d'autres études chez des animaux de bétail (Puije et *al.*, 2000; Chaudary et *al.*, 2006; Lopes et *al.*, 2010; Ahmad et Qayyum, 2014).

Les seuls hôtes et transmetteurs définitifs de la toxoplasmose dans l'environnement sont les représentants de la famille des Félidés, le cycle sexuel ne se produit qu'en présence de ces espèces (Frenkel et *al.*, 1970). Dans une étude, Kostova et *al.* (1999) n'ont pas pu mettre en évidence les oocystes de *T. gondii* dans aucun des 120 chats domestiques testés, au point où il serait supposé que les chats semi-domestiqués ainsi que les félidés sauvages jouent un rôle plus essentiel dans l'épidémiologie de la toxoplasmose que les chats domestiques (*Felis domesticus*).

À Grenade, des enquêtes épidémiologiques sur des chats domestiques ont indiqué que 29% étaient séropositifs à *T. gondii* et que l'environnement était contaminé par des oocystes (Dubey et *al.*, 2009). Bien que n'ayant aucune donnée sur les chats présents dans les locaux où se trouvait le bétail, l'infection est probablement plus importante chez ces derniers, car au moins 63,58% des caprins testés étaient séropositifs et l'ingestion d'oocystes est la principale source d'infection des herbivores.

Le contact avec les chats domestiques est donc difficile de le qualifier comme étant un facteur de risque. Peut-on penser à l'intervention des félidés sauvages dans notre région d'étude ?, par manque d'informations pertinentes sur la densité et les différentes espèces de chat sauvages présents dans la région de Mila, on ne peut pas juger avec certitude du rôle de ces derniers dans la contamination de l'environnement et par conséquent celle des caprins, même si quelques cas ont été signalés par les habitants.

Cependant, afin de confirmer cette information, il serait très intéressant d'obtenir plus d'informations sur la séoprévalence de *T. gondii* chez les chats domestiques et sauvages et le rôle qu'ils joueraient dans l'épidémiologie de la toxoplasmose.

Tenter (2000) répertorie 17 espèces de félidés sauvages capables d'émettre des oocystes de *T. gondii*. Les enquêtes disponibles fournissent des prévalences sérologiques comprises entre 9 % et 100 % selon l'espèce.

Des études dans le monde ont confirmé le rôle de félidés sauvages dans la transmission de *T. gondii*. Une enquête sérologique récente a montré que la prévalence féline vis à vis de *T. gondii* est très élevée (55 à 75 %) (Lopes et *al.*, 2013). Le rôle joué par les félidés sauvages (chat de Libye (*Felis lybica*), serval (*Leptailurus serval*) et caracal (*Caracal caracal*)), est peu connu.

Au Zimbabwe, Hove et al. (2005) ont pu démontrer le taux élevé de *T.gondii* sur un site fréquenté par un grand nombre de chats sauvages.

Dans le Nord et le Centre du Portugal, les animaux sauvages présentent une séropositivité de 61,1% vis à vis de *T.gondii* ce qui supporte le scénario d'une présence considérable d'oocystes sporulés pouvant infecter une multiplicité d'hôtes intermédiaires ainsi que l'environnement (Lopes et al., 2011). Les oocystes de *T.gondii* ont été trouvés chez 23,2% des chats au Costa Rica, d'où le taux d'infection très élevé retrouvé chez les rongeurs et les oiseaux (Ruiz et Frenkel, 1980a).

L'excrétion d'oocystes dans les matières fécales présente donc une voie de contamination majeure de l'environnement ce qui complique la prévention et le contrôle de la toxoplasmose (Dubey, 2009; Halos et al., 2010; Stormoen et al., 2012; Glor et al., 2013). La transmission de *T.gondii* a lieu lors de l'ingestion d'oocystes éliminés dans l'environnement (Cenci-Goga et al., 2013). Les petits ruminants peuvent alors consommer de l'herbe de pâture, de l'eau ou une partie de la ration ainsi contaminée. D'après Dubey (2009), il suffirait qu'un petit ruminant ingurgite 100 oocystes viables pour s'infecter avec des répercussions sur une gestation en cours.

Il faut insister à ce que les chats soient tenus à l'écart des animaux ou du moins que leurs excréments ne se retrouvent pas dans l'alimentation des animaux d'élevage (Reynal, 2004; Buxton et al., 2007; Dubey et Hill, 2008)

Il semblerait que le chat infecté soit capable d'excréter des millions d'oocystes dans l'environnement trois à dix jours après sa contamination. Cette excrétion peut durer 20 jours et les oocystes sporulent durant un à cinq jours dans le milieu extérieur (Dubey et Beattie, 1988). Selon les conditions environnementales, les oocystes pourraient persister pendant des mois (12 à 18 mois) sous forme viable, voire pendant des années dans le sol particulièrement en région humide et tropicale, et constituent une source importante d'infection pour les animaux de pâturage (Tenter et al., 2000; Innes, 2009).

Dans des conditions de laboratoire, les chats peuvent excréter plus de 500 millions d'oocystes après avoir ingéré une souris infectée par *T.gondii* (Dubey et Frenkel, 1972). Des millions d'oocystes ont été éliminés par des chats nourris avec seulement quelques bradyzoïtes (Dubey, 2001). Jusqu'à 13 millions d'oocystes de *T.gondii* étaient présents par gramme de selles de chat (Schares et al., 2008).

Il a été rapporté qu'à un moment donné, environ 1% des chats ont excrété des oocystes pendant environ une semaine (Dubey, 1995, 2004).

En outre, bien que seuls quelques chats puissent éliminer des oocystes de *T.gondii* à un moment donné, l'énorme quantité produite et leur résistance assurent une contamination généralisée de l'environnement (Dubey, 2004).

Des réactivations ou des reprises d'élimination d'oocystes sont observées lors de réinfections par d'autres coccidies ou à la suite de traitements avec des corticoïdes (Tenter, 2000).

Peu de données sont disponibles sur la prévalence de la toxoplasmose en fonction de l'âge des chats. Ils peuvent se contaminer tout au long de leur vie et la séroprévalence augmente avec l'âge (Fernandez, 1995; Wallace, 1971). Cependant, compte tenu de l'immunité acquise à la suite d'une première infection, ce sont avant tout les jeunes chatons qui sont excréteurs d'oocystes, mais des ré-excrétions sont toujours possibles, à tout âge.

En effet, les chats peuvent s'infecter en raison de mauvaises conditions d'hygiène à la ferme, par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminées par des oocystes, ainsi, ils consomment souvent de la viande crue contenant des kystes à bradyzoïtes notamment des restes d'abattage, des petits rongeurs, voire des oiseaux, et même par cannibalisme (Dubey et Beattie, 1988; Dubey et Jones, 2008; Innes et al., 2009). Ces animaux sont présents dans la région étudiée et sont en contact étroit avec les chats et avec d'autres espèces animales tels les caprins. Les chats sont aussi susceptibles d'ingérer de la terre ou de l'eau contenant des oocystes sporulés (Dubey et Jones, 2008).

Les taux d'infection chez les chats sont en grande partie déterminés par le taux d'infection dans la localité des populations d'oiseaux et de rongeurs, qui servent de source de nourriture (Ruiz et Frenkel, 1980a). Ceci doit être pris en considération dans la région d'étude où il y a une fréquence élevée d'oiseaux, ainsi que des petits rongeurs.

Dans les villages de la région étudiée, il y a de nombreux chats qui cohabitent dans les mêmes concessions que l'homme, les chiens et les autres animaux. Ainsi, la présence systématique de volailles, notamment de poules, joue certainement un rôle dans la dissémination des oocystes, tant que les poulets sont abattus à la maison et les viscères sont laissés aux chats.

En revanche, un chat infecté n'excrète qu'une fois dans sa vie puisqu'il s'immunise après la primo-infection (Reynal, 2004).

Ce qui suggère, pour qu'il y ait une forte contamination de l'environnement par les oocystes, une densité importante de la population de chats domestiques est nécessaire, ce qui a été le cas dans notre région d'étude. Ainsi, la présence des chatons qui peuvent s'infecter facilement et excréter une énorme quantité d'oocystes que les chats plus âgés ou mûrs (par la faible réponse immunitaire tant que leur système immunitaire est moins développé et immature) pourrait jouer un rôle non négligeable dans la contamination du milieu extérieur et de caprin (Dubey et

Beattie, 1988; Jackson et Hutchison, 1989). Aussi, les chatons infectés de manière congénitale peuvent aussi excréter des oocystes (Dubey et Carpenter, 1993), et être considéré comme une source du parasite. La haute séroprévalence observée peut être associée à la présence de chats dans presque chaque élevage visité, en plus, les chatons nouveau-nés sont plus dangereux que les vieux chats (Dubey, 1994; Buxton et Rodger, 2008).

D'autre part, la séroprévalence considérable observée chez les caprins pourrait être due au type d'élevage. En effet, les animaux sont élevés à l'extérieur et pourraient donc avoir plus de contact avec les oocystes d'autant plus qu'ils pâturent quotidiennement au même endroit. Aussi, le contact avec les oocystes est devenu plus important en raison de l'activité et du mouvement plus élevés des caprins au cours du pâturage.

Il convient également de mentionner que Oued k'bir et barrage de Beni Haroune assurent une abondance de l'eau, une biodiversité marquée avec les systèmes d'irrigation traditionnels développés par les habitants. Dans ce cas, l'humidité maximale et la couverture végétale importante (prairies et forêts) protègent les oocystes contre la dessiccation qui favorise leur survie et leur sporulation. En outre, il semblerait que les animaux ont été plus touchés pendant les mois de culture au moment de l'abondance de l'eau d'irrigation et donc la culture des herbes, que pendant l'hiver et l'été, où les animaux mangent des aliments secs qui limitent la transmission du parasite. En outre, les oocystes peuvent se propager mécaniquement dans l'environnement par les mouches, les cafards, les coléoptères et les vers de terre (Kniel et al., 2002; Dubey, 2004).

Malgré leur comportement préhensif sélectif, il est possible, mais dans de rares cas, que les caprins se contaminent suite à l'ingestion de liquide ou produits fœtaux ou de lait cru contaminé. Une excrétion de tachyzoïtes dans le lait des chèvres naturellement infectées a été rapportée (Chiari et Neves, 1984; Reynal, 2004). Ceci inclurait donc une excrétion même faible de *T.gondii* dans le lait et produits de mise bas. Cette excrétion dans le lait a d'ailleurs été évoquée dans une étude menée par Dubey (2009) au cours de laquelle, de l'ADN de *T.gondii* avait été retrouvé sur quatre des dix laits analysés par PCR et une sérologie avait permis la détection d'anticorps sur 91 des 117 échantillons de lait prélevés. C'est pour cette raison que la possibilité de transmission horizontale de *T.gondii* par le lait de chèvre à ces chevreaux est envisageable, principalement lorsque la chèvre s'infecte dans une période autour de la mise bas où le système immunitaire est déprimé, présentant une parasitémie d'une durée de dix jours, qui s'associe à l'excrétion de tachyzoïtes dans le lait, avec très peu d'anticorps ayant une faible affinité à *T.gondii*, ce qui ne protège pas convenablement le

chevreau. Ainsi, un chevreau peut ingérer du lait d'une autre mère (présentant le même statut évoqué précédemment) par la tétée directe ou par l'intervention de l'éleveur (biberon).

De plus, d'après Reynal (2004), *T.gondii* pourrait être isolé dans les fluides corporels comme la salive, les larmes, l'urine, les sécrétions vaginales mais le rôle dans une éventuelle transmission n'a pas été prouvé. De même, le parasite pourrait être transitoirement mis en évidence dans le sperme de bélier mais là encore, cette voie d'excrétion ne semble pas majeure pour la contamination des brebis (Lopes et *al.*, 2009; De Moraes et *al.*, 2010), le même statut est possible chez le bouc infecté expérimentalement (Dubey et Sharma, 1980). Malgré ça, la transmission via ces produits n'est pas prouvée lors d'une infection naturelle, cette voie de transmission doit être envisageable.

Finalement, la haute séroprévalence observée dans ce travail peut être due à plusieurs facteurs en association induisant ainsi une forte contamination de l'environnement ; tels la densité de chats domestiques dans la région, la résistance des oocystes excrétés par ces chats dans la nature en forte association avec les conditions climatiques favorables à la sporulation et la survie assurant une longue période de viabilité de cette forme infectieuse, et d'autre part, le contact répété et long des caprins avec le parasite (en rapport avec le mode de pâturage fréquent). Enfin, n'oubliant pas le rôle éventuel de chats sauvages et des autres espèces hôtes impliquées dans la multiplicité du cycle évolutif.

IV.4. Séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* et Avortement

En général, chez les moutons et les chèvres, la toxoplasmose entraîne la mort fœtale, l'avortement, la mort néonatale et la momification qui ont à l'origine de graves pertes économiques (Dubey, 2009; Asgari et *al.*, 2011; Tasawar et *al.*, 2011; Abu-Dalbouh et *al.*, 2012).

Chez les petits ruminants, la toxoplasmose est une source majeure d'avortement, de naissances prématurée et de décès néonataux, mais une infection subclinique peut également se produire chez les animaux adultes (Buxton, 1990; Hassig et *al.*, 2003). La transmission congénitale se produit lorsque les femelles sont infectées pendant la gestation où les tachyzoïtes peuvent traverser le placenta (lors d'infection aiguë) et se multiplier dans les tissus fœtaux, entraînant un développement anormal et un avortement (Dubey et Beattie, 1988; Tenter et *al.*, 2000).

La toxoplasmose acquise chez les ovins, les caprins et les équins est subclinique, mais la fièvre, l'ataxie, la dégénérescence rétinienne et l'encéphalomyélite peuvent se développer. La gravité de la toxoplasmose chez les moutons et les chèvres est associée au stade de gestation. L'infection au stade précoce peut entraîner la mort, la résorption et l'avortement fœtale, alors

que l'infection au stade ultérieur peut ne pas avoir d'effet clinique et les nouveaux nés sont généralement infectés mais immunisés (Dubey et Beattie, 1988 et Buxton *et al.*, 2007).

Une séroprévalence significativement plus élevée a été trouvée chez les brebis gravides ($P < 0,01$) et une séroprévalence non significative chez les chèvres gestantes ($P > 0,05$) (Ahmad *et al.*, 2011). Une prévalence plus élevée de la toxoplasmose chez les chèvres a été également rapportée par Tasawar *et al.* (2011).

Une constatation importante a été rapportée par Younis *et al.* (2015), ces derniers ont remarqué une augmentation non significative de l'incidence de la toxoplasmose chez des chèvres avec troubles de mise bas (83,3%) comparées à celles présentant une parturition normale (60,0%). Ces observations peuvent être attribuées à la multiplication de *T.gondii* dans le placenta et à la libération d'antigènes dans la circulation maternelle. Ces résultats étaient en désaccord avec ceux rapportés par Aktas *et al.* (2000), Sevinc *et al.* (2000b) et Hussein *et al.* (2011).

T.gondii est l'une des causes les plus importantes d'avortements infectieux chez l'homme et le bétail dans tous les continents (Huong *et al.*, 1998; Dubey 2004; Taylor *et al.*, 2007; Weiss et Kim, 2007; Innes, 2011).

IV.5. Étude de la comparaison de deux tests ELISA et LAT

L'évaluation de tests sérologiques devient de plus en plus importante afin de pouvoir utiliser des tests sensibles et spécifiques dédiées aux enquêtes épidémiologiques, puisque en général, de nombreux animaux infectés sont asymptomatiques.

Très peu d'études ont été consacrées à l'évaluation des tests sérologiques notamment aux tests LAT et ELISA.

Dans cette étude, nous avons tenté d'évaluer les performances du test LAT pour la détection des anticorps spécifiques de *T.gondii* en prenant le test ELISA Indirect comme référence.

Le calcul du coefficient de kappa de Cohen a montré une valeur de 0,59 témoignant d'une concordance entre les deux tests. Le test LAT a montré une spécificité et une sensibilité de 76,92% et 79,54% respectivement.

O'Donoghue *et al.* (1987) ont trouvé chez des moutons, en Australie du Sud, une corrélation significative entre le taux de positivité obtenu par l'IFAT (7,4%) et ELISA (9,2%). Lors de l'utilisation des tests IFAT et ELISA pour la détection des anticorps anti-*T.gondii* chez les petits ruminants (732 ovins et 526 caprins) au Ghana, Van der Puije *et al.* (2000) ont démontré que la technique ELISA est à la fois très sensible (92%) et spécifique (91%) par rapport à l'IFAT, qui a été considéré comme test de référence.

Les séroprévalences élevées obtenues par les deux tests suggèrent une mauvaise gestion des conditions d'élevage, comme la contamination des aliments et de la présence d'une densité importante de chats (Dubey, 1996).

Les tests MAT et ELISA ont détecté une proportion semblable, avec concordance parfaite, d'anticorps anti-*T.gondii* dans des sérums chez les caprins et les ovins. Ce qui montre que les deux tests sont fiables comme tests de dépistage à l'échelle de la population (Negash et al., 2004).

L'immunoglobuline M (IgM) est le principal sous-type d'anticorps détectés par le test d'agglutination au latex. Les anticorps IgM apparaissent tôt après l'infection et, par la suite, tomber après 1 mois environ (Yin et Liu, 1998). L'intensité de la réaction d'agglutination induite par les anticorps IgM est plusieurs centaines de fois plus forte que celle induite par les anticorps IgG (Yu et al., 1998).

Ainsi, le test LAT est apte à détecter les IgG bien que le test ELISA soit plus sensible pour détecter les IgG que le LAT chez les porcelets infectés expérimentalement (Jiang et al., 2008). Le test MAT et le test ELISA ont été comparés dans leur capacité de détecter les anticorps dirigés contre *T.gondii* chez des porcs infectés. Le test ELISA s'est montré légèrement meilleur que le MAT dans la détection d'anticorps dirigés contre *T.gondii* chez les porcs infectés (une sensibilité de 88,6% et de 85,7% pour l'ELISA et le MAT respectivement). Par contre, la spécificité de l'ELISA était mieux (98,0%) par rapport au test MAT (94,6%) (Gambel et al., 2005).

Dubey et al. (1995), utilisant de truies infectées naturellement, ont trouvé que le MAT était supérieur en performance que le test ELISA. Les résultats de cette étude ont été fondés en partie sur des essais biologiques menés sur des souris, une méthode qui a une sensibilité plus faible par comparaison avec les essais biologiques chez les chats.

Le test LAT est largement utilisé comme test de référence (Matsuo et al., 2014) et le test iELISA à base de TgGRA7 a été validée pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose dans différents pays à travers le monde (Wang et al., 2014a, 2014b; Gu et al., 2015; Ichikawa-seki et al., 2015).

En Égypte, Younis et al. (2015) ont décrit les hautes performances du test LAT et le test iELISA TgGRA7, avec des valeurs kappa et de la concordance fiables, indiquant leur excellent potentiel d'utilisation dans les études de séroprévalence chez différentes espèces animales.

Younis et al. (2015) ont révélé, par une comparaison entre les résultats des tests sérologiques et les résultats des essais biologiques sur des chats, une sensibilité chez les moutons de 100%

et 87,5% pour les tests ELISA et LAT respectivement. Aussi la spécificité de l'ELISA chez le mouton était de 100%, tandis que la spécificité du LAT était de 76,5%. Ces résultats corroborent avec celles détectées par Figueiredo et al. (2001), qui ont déclaré qu'il y avait une haute corrélation positive et significative de l'IHAT par rapport à l'ELISA, et ELISA par rapport à l'IFAT, Mcload et Remington, (1996) et Puije et al. (2000) ont indiqué que le test ELISA était très sensible et spécifique (de 92% et 91%) par rapport à l'IFAT qui a été utilisé comme test de référence.

La réponse immunitaire a été détectée par l'IFAT et LAT au jour 10 PI et par ELISA au jour 14 PI. Tous les caprins infectés expérimentalement étaient séropositifs au jour 17 PI, et les niveaux d'anticorps ont augmentés jusqu'au jour 21 PI, et sont restés élevés jusqu'à la fin de l'expérience (Nishi et al., 2001). Chhabra et al. (1982) ont détecté des anticorps circulants chez des chèvres infectées par des oocystes du jour 15 au jour 22 PI par l'hémagglutination indirecte (IHAT). En inoculant des tachyzoïtes de *T.gondii* par voie sous-cutanée, Vitor et al. (1999) ont détecté des anticorps chez les chèvres infectées du jour 5 au jour 12 PI à l'aide des tests ELISA et IHAT. Les différences dans le type d'inoculum et la manière d'infection semblent influencer la dynamique de la maladie et de la réponse humorale de l'hôte. Cependant, l'infection par ingestion d'oocystes, utilisé dans la présente expérience, imite de plus près la situation sur le terrain.

Les tests IFAT, LAT, et ELISA ont permis de détecter une réponse humorale contre *T. gondii* chez des chèvres ; les tests IFAT et LAT ont détecté une réponse aux anticorps avant qu'elle soit détectée par le test ELISA. Le LAT a détecté une production intensive d'anticorps au jour 17 PI, qui a diminué au bout de 21 jours (Nishi et al., 2001). Le choix du test dépendra de la disponibilité de l'équipement, des conditions de laboratoire et de la quantité d'échantillons à analyser.

Conclusion

Conclusion

Dans cette étude et pour la 1^{ère} fois en Algérie, des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* ont été mis en évidence en appliquant des tests sérologiques tels la technique ELISA et le test LAT chez l'espèce caprine. Le parasite n'a jamais été incriminé dans les troubles de la reproduction observés dans les élevages, car aucune recherche n'a été menée auparavant sur le parasite.

La forte séroprévalence rapportée dans cette étude 71,73% par la technique ELISA et 63,58% par le test LAT sont en faveur d'une implication très probable de *T.gondii* dans l'apparition de certains signes cliniques en rapport avec les troubles de la reproduction.

Une sérologie positive du bétail favoriserait la contamination de leurs produits et par conséquent l'apparition d'une forte séroprévalence humaine.

Quelque soit la séroprévalence obtenue, il convient d'accorder une attention particulière au risque d'infection humaine par la consommation de viande insuffisamment cuite ou de lait cru de chèvre et de brebis.

Ces résultats préliminaires suggèrent que le risque d'infection toxoplasmique est fort avec la consommation de la viande caprine, pour éviter un tel risque, le consommateur doit faire cuire la viande à une température interne supérieure à 70 °C dans toutes les parties de la viande, pour détruire les kystes à bradyzoïtes de *T.gondii* éventuellement présents.

Enfin, il est important de quand même de signaler qu'il reste difficile d'évaluer avec une forte certitude le risque d'infection toxoplasmique, car les tests sérologiques en général manquent de sensibilité, de spécificité et de concordance entre eux.

D'autres recherches épidémiologiques approfondies ainsi que des essais d'isolement et de génotypage des souches de toxoplasmes sont nécessaires.

Bibliographie

- ABI ABDALLAH, D.S., C.E. EGAN, B.A. BUTCHER, AND DENKERS. EY., (2011).** Mouse neutrophils are professional antigen-presenting cells programmed to instruct Th1 and Th17 T-cell differentiation. *Int Immunol.* 23:317-326.
- ABI ABDALLAH, DS., C. LIN, CJ. BALL, M.R. KING, GE. DUHAMEL, DENKERS. EY., (2012).** *Toxoplasma gondii* triggers release of human and mouse neutrophil extracellular traps. *Infect Immun.* 80:768-777.
- ABI ABDALLAH, DS., DENKERS EY., (2012).** Neutrophils cast extracellular traps in response to protozoan parasites. *Front Immunol.* 3:382-390.
- ABU-DALBOU, MA., ABABNEH, MM., GIADINIS, ND., LAFI, SQ., (2010).** Ovine and Caprine Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*). *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, Vol. 2, No. 2.*
- ADAMS, L. B., J. B. HIBBS, JR., R. R. TAINTOR, AND J. L. KRAHENBUHL., (1990).** Microbiostatic effect of murine-activated macrophages for *Toxoplasma gondii*. Role for synthesis of inorganic nitrogen oxides from L-arginine. *J Immunol.* 144: 2725-2729.
- 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. 199-205
- AHMAD N, IQBAL, Z, MUKHTAR M, MUSHTAQ M, KHAN KM, QAYYUM M., (2015).** Seroprevalence and associated risk factors of toxoplasmosis in sheep and goats in Pothwar region, Northern Punjab, Pakistan. *Pak J Zool;* 1: 161-167.
- AHMED YF, SOKKAR SM, DESOUKY HM, SOROR AH., (2008).** Abortion due to toxoplasmosis in small ruminants. *Global Veterinaria J;* 6: 337-342.
- AJIOKA, JW. SOLDATI, D., (2007).** in: **AJIOKA, J. W. & SOLDATI, D.** (ed.), *Toxoplasma Molecular and Cellular Biology. Horizon Bioscience Norfolk, UK.* p. xiii-xviii.
- ALEXANDER J, JEBBARI H, BLUETHMANN H, BROMBACHER F, ROBERTS CW., (1998).** The role of IL-4 in adult acquired and congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 28: 113-120.
- ALEXANDER, J., STINSON, WH., (1988).** Sex hormones and the course of parasitic infection. *Parasitology Today* 4: 189-193.
- ALIBERTI J, VALENZUELA JG, CARRUTHERS VB, HIENY S, ANDERSEN J, CHAREST H, REIS E SOUSA C, FAIRLAMB A, RIBEIRO JM, SHER A., (2003).** Molecular mimicry of a CCR5 binding-domain in the microbial activation of dendritic cells. *Nat. Immunol.* 4: 485-490.
- ALIBERTI, J., (2005).** Host persistence: exploitation of anti-inflammatory pathways by *Toxoplasma gondii*. *Nat Rev Immunol.* 15 (2); 162-170.
- ALIBERTI, J., REIS E SOUSA, C., SCHITO, M., HIENY, S., WELLS, T., HUFFNAGLE, G. B. & SHER, A. (2000).** CCR5 provides a signal for microbial induced production of IL-12 by CD8 alpha+ dendritic cells. *Nat Immunol* 1, 83-87.
- ALIBERTI, J., SERHAN, C., ET AL., (2002).** "Parasite-induced lipoxin A4 is an endogenous regulator of IL-12 production and immunopathology in *Toxoplasma gondii* infection." *J Exp Med.* 196(9): 1253-62.
- ALINE, F., D. BOUT, AMIGORENA S, ROINGEARD P, DIMIER-POISSON I., (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.
- AL-KHALIDI, N. W., WEISBRODE, S. E. DUBEY, J. P. (1980),** Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts to ponies. *Am J Vet Res* 41(9), 1549-1551.
- ALLEZ, M. MAYER, L., (2004).** Regulatory T cells: peace keepers in the gut. *Inflamm. Bowel Dis.* 10; 666-676.
- ALMYROUDIS, NG., GRIMM, M.J. DAVIDSON, BA., ROHM, M., URBAN, CF., SEGAL, BH., (2013).** NETosis and NADPH oxidase: at the intersection of host defense, inflammation, and injury. *Front Immunol.* 4:45-54.
- ANDRADE, R.M., WESSENDARP, M., PORTILLO, J.A. ET AL., (2005).** TNF receptor-associated factor 6-dependent CD40 signaling primes macrophages to acquire antimicrobial activity in response to TNF- α . *J. Immunol.* 175; 6014-6021.
- ANDRADE, WA., (2013).** Combined action of nucleic acid sensing Toll-like receptors and TLR11/TLR12 heterodimers imparts resistance to *Toxoplasma gondii* in mice. *Cell Host Microbe* 13; 42-53.
- AOSAI F, RODRIGUEZ PENA MS, MUN HS, FANG H, MITSUNAGA T, NOROSE K, KANG HK, BAE YS, YANO A., (2006).** *Toxoplasma gondii*-derived heat shock protein 70 stimulates maturation of murine bone marrow-derived

dendritic cells via Toll-like receptor 4. *Cell Stress Chaperones*. 11 : 13-22.

ASGARI, Q., SARNEVESHT, J., KALANTARI, M., SADAT, SJ., MOTAZEDIAN, MH., SARKARI, B., (2011). Molecular survey of *Toxoplasma* infection in sheep and goat from Fars province, Southern Iran. *Trop Anim Health Prod*. 43(2):389–392.

ATAIL, HB., IBRAHAEM, HH., SHUAIB, YA., MOHAMED, AK., SULIMAN, SE., IDRIS, SH., ABDALLA, MA., (2017). Sero-prevalence of toxoplasmosis in sheep and goats in El-Gadarif state. *J of Adv Vete and Animal Res*. 4(2): 207-213.

BACON, C. M., E. F. PETRICOIN, RD, ET AL., (1995). Interleukin 12 induces tyrosine phosphorylation and activation of STAT4 in human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92(16): 7307-11.

BALENGA, NA., (2007). "Human TLR11 gene is repressed due to its probable interaction with profilin expressed in human." *Med Hypotheses* 68(2): 456.

BARAKAT FM, MCDONALD V, DI SANTO JP & KORBEL DS., (2009). Roles for NK cells and an NKcell-independent source of intestinal gamma interferon for innate immunity to *Cryptosporidium parvum* infection. *Infect Immun*. 77: 5044–5049.

BARIL L, ANCELLE T, GOULET V, TIRARD V, CARME B., (1996). Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez les femmes enceintes. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*. 16: 73-75.

BARIL L, ANCELLE T, GOULET V., (1999). Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy : A case control study in France. *Scand. J. Infect. Dis*. 31: 305-9.

BARRAGAN, A. L. D. SIBLEY (2002). "Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence." *J Exp Med* 195(12): 1625-33.

BARRAGAN, A., L. D. SIBLEY. (2003). Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. *Trends Microbiol* 11:426-430.

BARRIENTOS, L., (2013). Modulation fonctionnelle des cellules dendritiques par les " Neutrophil Extracellular Traps ". Agricultural sciences. Université Paris Sud - Paris XI,. French. NNT : 2013PA114833.

BAUM, J., A. T. PAPPENFUSS, et al. (2006). "Regulation of apicomplexan actin-based motility." *Nat Rev Microbiol* 4(8): 621-8.

BAWM, S., MAUNG, W.Y., WIN, M.Y., THU, M.J., CHEL, H.M., KHAING, T.A., WAI, S.S., HTUN, L.L., MYAING, T.T., TIWANANTHAGORN, S., IGARASHI, M., KATAKURA, K., (2016). Serological survey and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Myanmar. *Scientifica*. Article ID 4794318.

BAWM, S., MAUNG, W.Y., WIN, M.Y., THU, M.J., CHEL, H.M., KHAING, T.A., WAI, S.S., HTUN, L.L., MYAING, T.T., TIWANANTHAGORN, S., IGARASHI, M., KATAKURA, K., (2016). Serological survey and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Myanmar. *Scientifica*. Article ID 4794318.

BEAMAN, M., REMINGTON, J., (1992). Cytokines and resistance against *Toxoplasma gondii*: evidence from *in vivo* and *in vitro* studies. 111-119.

BEATTY, W. L., SIBLEY, L. D. (2010), Phosphorylation of immunity-related GTPases by a *Toxoplasma gondii*-secreted kinase promotes macrophage survival and virulence. *Cell Host Microbe*. 8 (6), 484-495.

BEHNKE, MS., (2012).The polymorphic pseudokinase ROP5 controls virulence in *Toxoplasma gondii* by regulating the active kinase ROP18. *PLoS Pathog*. 8, 8-15.

BEKELE, T., AND KASALI, O.B., (1989). Toxoplasmosis in sheep, goats and cattle in central Ethiopia. *Veterinary Research Communication* 13:371–375.

BENEVIDES L, MILANEZI CM, YAMAUCHI LM, BENJAMIM CF, SILVA JS & SILVA NM., (2008). CCR2 receptor is essential to activate microbicidal mechanisms to control *Toxoplasma gondii* infection in the central nervous system. *Am J Pathol*. 173: 741–751.

BENNOUNA S, BLISS SK, CURIEL TJ, DENKERS EY., (2003). Cross-talk in the innate immune system: neutrophils instruct recruitment and activation of dendritic cells during microbial infection. *J. Immunol*. 171: 6052-6058

BENSUSSAN N & BUZONI-GATEL D, (2008). Mucosal Immunity in *Toxoplasma gondii* Infection *Parasite*. 15; 389-395.

BERDOY M, WEBSTER JP, MACDONALD DW., (2000). Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267: 1591-1594.

BESSIÈRES, M. H.; BERREBI, A.; ROLLAND, M.; BLOOM, M. C.; ROQUES, C.; CASSAING,

- S.; COURJAULT, C. & SÉGUÉLA, J. P. (2001)**, Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 94(1); 37-45.
- BEVERLEY J.K., WATSON W.A., PAYNE J.M., (1971)**. The pathology of the placenta in ovine abortion due to toxoplasmosis, *Vet. Rec.* 88; 124-128.
- BISSON, A., MALEY, S., RUBAIRE-AKIIKI, C.M., WASTLING, J.M., (2000)**. Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic goats in Uganda. *Acta Tropica*, 76; 33-38.
- BLEWETT D.A., MILLER J.K., HARDING J., (1983)**. Simple technique for the direct isolation of toxoplasma tissue cysts from foetal ovine brain, *Vet. Rec.* 12; 120-128.
- BLEWETT D.A., TEALE A.J., MILLER J.K., SCOTT G.R., BUXTON D., (1982)**. Toxoplasmosis in rams: possible significance of venereal transmission, *Vet. Rec.* III 73-75.
- BLEWETT, D. A., BRYSON, C. E., AND MILLER, J. K., (1983)**. Studies of antibody titres in experimentally induced ovine toxoplasmosis. *Res Vet Sci.* 34, 163-6.
- BLISS, S. K., GAVRILESCU, L. C., ALCARAZ, A. & DENKERS, E. Y. (2001)**. Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic pathology. *Infect Immun.* 69, 4898-4905.
- BLISS, S. K., MARSHALL, A. J., ZHANG, Y. DENKERS, EY., (1999)**. Human polymorphonuclearleukocytes produce IL-12, TNF-alpha, and the chemokines macrophage-inflammatoryprotein-1 alpha and -1 beta in response to *Toxoplasma gondii* antigens. *J Immunol.* 162 (12), 7369-7375.
- BLISS, S. K., ZHANG, Y. DENKERS, EY., (1999a)**. Murine neutrophil stimulation by *Toxoplasma gondii* antigen drives high level production of IFN-gamma-independent IL-12, *J Immunol.* 163 (4), 2081-2088.
- BOEHM, U., T. KLAMP, ET AL., (1997)**. "Cellular responses to interferon-gamma." *Annu Rev Immunol.* 15: 749-95.
- BOHNE, W.; HEESEMANN, J. GROSS, U., (1994)**. Reduced replication of *Toxoplasma gondii* is necessary for induction of bradyzoite-specific antigens: a possible role for nitric oxide in triggering stage conversion. *Infect Immun.* 62 (5), 1761-1767.
- BOKKEN, G.C.A. M., BERGWERFF, A. A., VAN KNAPEN, F., (2012)**. A novel bead-based assay to detect specific antibody responses against *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* simultaneously in sera of experimentally infected swine. *BMC Vet. Res.* 8.
- BOOTHROYD, J. C., BLACK, M., BONNEFOY, S., HEHL, A., KNOLL, L. J., MANGER, I. D., ORTEGA-BARRIA, E., AND TOMAVO, S. (1997)**. Genetic and biochemical analysis of development in *Toxoplasma gondii*. *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 352(1359): 1347-1354.
- BOURATBINE, A., SIALA, E., CHAHED, MK., (2001)**. Sero-epidemiologic profile of toxoplasmosis in northern Tunisia. *Parasite.* 8(1):61-66.
- BROWN CR, MCLEOD R., (1990)**. Class I MHC genes and CD8+ T cells determine cyst number in *Toxoplasma gondii* infection. *J. Immunol.* 145: 3438-3441.
- BROWN M, LAPPIN MR, BROWN JL et al. (2005)**. Exploring the ecologic basis for extreme susceptibility of Pallas's cats (*Otocolobus manul*) to fatal toxoplasmosis. *J. of Wildl. Dis.*, 41(4): 691-700.
- BRUNET, LR., (2001)**. "Nitric oxide in parasitic infections." *Int Immunopharmacol.* 1(8): 1457-67.
- BURG, J. L., D. PERELMAN, L. H. KASPER, P. L. WARE, J. C. BOOTHROYD. (1988)**. Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 141:3584-3591.
- BUTCHER BA, FOX BA, ROMMEREIM LM., (2011)**. *Toxoplasma gondii* rhoptry kinase ROP16 activates STAT3 and STAT6 resulting in cytokine inhibition and arginase-1- dependent growth control. *PLoS Pathog.* 7: e1002236.
- BUTCHER, B. A., R. I. GREENE, ET AL., (2005)**. "p47 GTPases regulate *Toxoplasma gondii* survival in activated macrophages." *Infect Immun.* 73(6): 3278-86.
- BUXTON D., (1991)**. Toxoplasmosis, in: Martin W.B., Aitken I.D. (Eds.), *Diseases of Sheep*, 2nd edn, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 49-58.
- BUXTON D., BLEWETT D.A., TREES A.J., MCCOLGAN C., FINLAYSON J., (1988)**. Further studies in the use of monensin in the control of experimental ovine toxoplasmosis, *J. Comp. Pathol.* 98; 225-236.
- BUXTON D., GILMOUR J.S., ANGUS K.W., BLEWETT D.A., MILLER J.K., (1982)**.

Perinatal changes in toxoplasma infected lambs, *Res. Vet. Sci.* 32; 170-176.

BUXTON, D. AND J. FINLAYSON (1986). "Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus." *J Comp Pathol.* 96; (3): 319-33.

BUXTON, D., (1998). Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances. *Vet. Res.* 29, 289–310.

BUXTON, D., MALEY, S.W., WRIGHT, S.E., RODGER, S., BARTLEY, P., INNES, E.A., (2007). *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. *Vet Parasitol.* 149, 25–28

BUXTON, D., THOMSON, K. M., MALEY, S., WASTLING, J. M., INNES, E. A., PANTON, W. R., ANDNICOLL, S., (1994). Primary and secondary responses of the ovine lymph node to *Toxoplasma gondii*: cell output in efferent lymph and parasite detection. *J Comp Pathol.* 111; 231-41.

BUZONI-GATEL, D. AND WERTS, C., (2006). "Toxoplasma gondii and subversion of the immune system." *Trends Parasitol.* 22(10): 448-52.

BUZONI-GATEL, D., A. C. LEPAGE, I. H. DIMIER-POISSON, D. T. BOUT, AND KASPER, L.H., (1997). Adoptive transfer of gut intraepithelial lymphocytes protects against murine infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 158:5883-5889.

BUZONI-GATEL, D., DEBBABI, H., MENNECHET, F. J., MARTIN, V., LEPAGE, A. C., SCHWARTZMAN, J. D. & KASPER, L. H. (2001). Murine ileitis after intracellular parasite infection is controlled by TGF- β -producing intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology.* 120, 914-924.

BUZONI-GATEL, D., H. DEBBABI, M. MORETTO, I. H. DIMIER-POISSON, A. C. LEPAGE, D. T. BOUT, AND KASPER, L.H., (1999). Intraepithelial lymphocytes traffic to the intestine and enhance resistance to *Toxoplasma gondii* oral infection. *J Immunol.* 162:5846-5852.

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.

BUZONI-GATEL, D., KASPER, L.H., (2007). Innate Immunity in *Toxoplasma gondii* Infection. 593-607.

CAI, G., RADZANOWSKI, T., VILLEGAS, E. N., KASTELEIN, R. & HUNTER, C. A. (2000). Identification of STAT4-dependent and independent mechanisms of resistance to *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 165, 2619-2627.

CALAMEL, M, GIAUFFRET, A., (1975). Une enzootie de toxoplasmose caprine abortive. *Bull Acad Vet.* 48:41-51.

CANADA, N.; MEIRELES, C. S.; ROCHA, A.; DA COSTA, J. M. C.; ERICKSON, M. W. DUBEY, J. P. (2002), Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. *J Parasitol* 88(6), 1247-1248.

CANDOLFI, E., HUNTER, C. A. REMINGTON, J. S. (1994). Mitogen- and antigen-specific proliferation of T cells in murine toxoplasmosis is inhibited by reactive nitrogen intermediates. *Infect Immun* 62, 1995-2001.

CANFIELD PJ, HARTLEY J, DUBEY JP. (1990). Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. *J Comp Path.*, 103: 159-67.

CARNEIRO, A.C.A.V., CARNEIRO, M., GOUVEIA, A.M.G., GUIMARAES, A.S., MARQUES, A.P.R., VILASBOAS, L.S. AND VITOR, R.W.A., (2009). Seroprevalence and risk factors of caprine toxoplasmosis in Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 160: 225–229.

CARRUTHERS VB. (2002). Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop.* 81 :111-122.

CARRUTHERS, V. B. L. D. SIBLEY., (1997). "Sequential protein secretion from three distinct organelles of *Toxoplasma gondii* accompanies invasion of human fibroblasts." *Eur J Cell Biol* 73(2): 114-23.

CASCIOTTI, L.; ELY, K. H.; WILLIAMS, M. E. & KHAN, I. A., (2002). CD8(+)-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* can be induced but not maintained in mice lacking conventional CD4(+) T cells. *Infect Immun.* 70(2); 434-443.

CAVALCANTE, A., CARNEIRO, M., GOUVEIA, A., PINHEIRO, R. AND VITOR, R., (2008). Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 60; 36-41.

CENCI-GOGA, BT., CIAMPELLI, A., SECHI, P., VERONESI, F., MORETTA, I., CAMBIOTTI V, A., (2013). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep in

- Grosseto district, Tuscany, Italy. *BMC Vet. Res.* 9, 25.
- CEREDE, O., J. F. DUBREMETZ, et al. (2002).** "The *Toxoplasma gondii* protein MIC3 requires pro-peptide cleavage and dimerization to function as adhesin." *Embo J* 21(11): 2526-36.
- CEREDE, O., J. F. DUBREMETZ, et al. (2005).** "Synergistic role of micronemal proteins in *Toxoplasma gondii* virulence." *J Exp Med* 201(3): 453-63.
- CHA DY, SONG IK, LEE GS, HWANG OS, NOH HJ, YEO SD, SHIN DW, LEE YH., (2001).** Effects of specific monoclonal antibodies to dense granular proteins on the invasion of *Toxoplasma gondii* in vitro and in vivo. *Korean J. Parasitol.* 39 : 233-240.
- CHANG, H. R., PECHERE, JC., (1989).** Macrophage oxidative metabolism and intracellular *Toxoplasma gondii*. *Microb Pathog.* 7(1): 37-44.
- CHANNON, J. Y., SEGUIN, R. M. KASPER, L. H., (2000).** Differential infectivity and division of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood leukocytes. *Infect Immun.* 68(8); 4822-4826.
- CHANTON-GREUTMANN H, THOMA R, CORBOZ L, BOREL N, POSPISCHIL A., (2002).** Abortion in small ruminants in Switzerland: investigations during twolambing seasons (1996-1998) with special reference to chlamydial abortions. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 144: 483-92.
- CHAO, C. C., G. GEKKER, ET AL., (1994).** Human microglial cell defense against *Toxoplasma gondii*. The role of cytokines. *J Immunol.* 152(3): 1246-52.
- CHAO, CC., ANDERSON, WR., ET AL., (1993).** Activated microglia inhibit multiplication of *Toxoplasma gondii* via a nitric oxide mechanism. *Clin Immunol Immunopathol.* 67(2): 178-83.
- CHARDÈS T, BOURGUIN I, MÉVÉLEC MN, DUBREMETZ JF, BOUT D., (1990).** Antibody responses to *Toxoplasma gondii* in sera, intestinal secretions, and milk from orally infected mice and characterization of target antigens. *Infect. Immun.* 58: 1240-1246.
- CHARDES T, BOUT D., (1993).** Mucosal immune response in toxoplasmosis. *Res. Immunol.* 144 : 57-60.
- CHARDES, T., D. BUZONI-GATEL, ET AL. (1994).** *Toxoplasma gondii* oral infection induces specific cytotoxic CD8 alpha/beta+ Thy-1+ gut intraepithelial lymphocytes, lytic for parasite-infected enterocytes. *J Immunol.* 153(10): 4596-603.
- CHARTIER, C., BEZIAUD, E., BUZONI-GATEL, D., BOUT, D., CALAMEL, M., RUSSO, P., PEPIN, M., MALLEREAU, MP., LENFANT, D., DUFOUR., (1997).** Enquête séro-épidémiologique sur les avortements infectieux des caprins en région Poitou-Charentes. *Rev Med Vet.* 148: 489 -96.
- CHEN H, CHEN G, ZHENG H, GUO H., (2003).** Induction of immune responses in mice by vaccination with liposome entrapped DNA complexes encoding *Toxoplasma gondii* SAG1 and ROP1 genes. *Chin. Med. J.* 116: 1561-1566.
- CHEN Y, CHOU K, FUCHS E, HAVRAN WL, BOISMENU R., (2002).** Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial $\gamma\delta$ T cells. *PNAS.* 99: 14338-14343.
- CHHABRA M.B., GAUTAM O.P., (1984).** Caprine abortion and neonatal mortality associated with toxoplasmosis in India, in: Les maladies de la chèvre, Niort (France) Les Colloques de l'Inra, No. 28, pp. 719-726.
- CHHABRA MB, MAHAJAN RC., (1979).** Occurrence of *Toxoplasma gondii* in slaughter pigs in India. *Trop Geogr Med.* 31:123-6.
- CHHABRA, M. B., S. K. MAHAJAN, S. L. GUPTA, AND O. P. GAUTAM., (1982).** Experimental toxoplasmosis in pregnant goats. *Indian Journal of Animal Sciences.* 52: 661-664.
- CHIARI, CA., NEVES, DP., (1984).** Human toxoplasmosis acquired by ingestion of goat's milk. *Mem I Osw Cruz.* 79:337-40.
- CHIKWETO A, KUMTHEKAR S, TIWARI K, NYACK B, DEOKAR MS, ET AL., (2011).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs, sheep, goats, and cattle from Grenada and Carriacou, West Indies. *J Parasitol* 97: 950-951.
- CHRISTOPHER, A., HUNTER1, L., AND SIBLEY, D., (2012).** Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nat Rev Microbiol.* 10(11): 766-778.
- CHUMPITAZI, B. F., SIMON, J., POLACK, B., PEYRON, F., PICOT, S., RICARD, J. AMBROISE-THOMAS, P. (1998).** Human platelet inhibition of *Toxoplasma gondii* growth. *Clin Exp Immunol* 111, 325-333.
- CIANTI, F., NARDONI, S., D'ASCENZI, C., PEDONESE, F., MUGNAINI, L., FRANCO, F., PAPINI, R., (2013).** Seroprevalence detection of DNA in blood and milk and genotyping of *Toxoplasma gondii* in a goat population in Italy. *BioMed Res. Int.* 905326.

- CLEVERS HC & BEVINS CL., (2013).** Paneth cells: maestros of the small intestinal crypts. *Annu Rev Physiol.* 75: 289–311.
- COHEN SB, MAURER KJ, EGAN CE, OGHUMU S, SATOSKAR AR & DENKERS EY., (2013).** CXCR3- dependent CD4⁺ T cells are required to activate inflammatory monocytes for defense against intestinal infection. *PLoS Pathog.* 9: e1003706.
- COHEN, SB., DENKER, EY., (2015).** The gut mucosal immune response to *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunology.* 37; 108–117.
- COLEMAN, JW., (2001).** Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol.* 1(8): 1397-406.
- COMBE, C. L.; CURIEL, T. J.; MORETTO, M. M. & KHAN, I. A., (2005).** NK cells help to induce CD8(+)-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* in the absence of CD4(+) T cells. *Infect Immun.* 73(8), 4913-4921.
- COOMBES JL, CHARARSAR BA, HAN SJ., (2013).** Motile invaded neutrophils in the small intestine of *Toxoplasma gondii*-infected mice reveal a potential mechanism for parasite spread. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110:E1913–E1922.
- COPPENS, I., J. D. DUNN, et al. (2006).** "Toxoplasma gondii sequesters lysosomes from mammalian hosts in the vacuolar space." *Cell* 125(2): 261-74.
- COSENDEY-KEZENLEITE, R.I., DE OLIVEIRA, F.C., FRAZAO-TEIXEIRA, E., DUBEY, J.P., DE SOUZA, G.N., FERREIRA, A.M., LILENBAUM, W., (2014).** Occurrence and risk factors associated to *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Rio de Janeiro, Brazil. *Trop. Anim. Health. Prod.* 46, 1463–1466.
- COSTA, A. J.; ARAUJO, F. G.; COSTA, J. O.; LIMA, J. D. & NASCIMENTO, E. (1977).** Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 63(2), 212-218.
- COUPER, K. N.; ROBERTS, C. W.; BROMBACHER, F.; ALEXANDER, J. & JOHNSON, L. L., (2005).** *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin M limits parasite dissemination by preventing host cell invasion. *Infect Immun.* 73(12), 8060-8068.
- CURIEL, TJ., KRUG, E.C., ET AL., (1993).** "Cloned human CD4⁺ cytotoxic T lymphocytes specific for *Toxoplasma gondii* lyse tachyzoite-infected target cells." *J Immunol* 151(4): 2024-31.
- DARDE, M. L., BOUTEILLE, B. & PESTRE-ALEXANDRE, M. (1987).** Differentiation iso-enzymatique de 7 souches de *Toxoplasma gondii* par iso-electrofocalisation en gel de polyacrylamide. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* 5:33–39.
- DARDÉ, M.L., BOUTEILLE, B., PERSTREAL, M., (1992).** Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiologic implications. *J. Parasitol.* 78, 909–912.
- DAVID ARTIS., (2015).** Institute for Immunology, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA.
- DAVIDSON MG, ROTTMAN JB, ENGLISH RV et al. (1993),** Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am.J.Pathol.* 143:1486-1497
- DE GODOI, F. S. L.; NISHI, S. M.; DE JESUS PENA, H. F. & GENNARI, S. M. (2010),** *Toxoplasma gondii*: diagnosis of experimental and natural infection in pigeons (*Columba livia*) by serological, biological and molecular techniques. *Rev Bras Parasitol Vet* 19(4), 238-243.
- DEBIERRE-GROCKIEGO, F.; AZZOUZ, N.; SCHMIDT, J.; DUBREMETZ, J.-F.; GEYER, H.; GEYER, R.; WEINGART, R.; SCHMIDT, R. R. & SCHWARZ, R. T., (2003).** Roles of glycosylphosphatidylinositols of *Toxoplasma gondii*. Induction of tumor necrosis factor- α production in macrophages. *J Biol Chem.* 278(35); 32987-32993.
- DEBIERRE-GROCKIEGO, F.; CAMPOS, M. A.; AZZOUZ, N.; SCHMIDT, J.; BIEKER, U.; RESENDE, M. G.; MANSUR, D. S.; WEINGART, R.; SCHMIDT, R. R.; GOLENBOCK, D. T.; GAZZINELLI, R. T. & SCHWARZ, R. T., (2007).** Activation of TLR2 and TLR4 by glycosylphosphatidylinositols derived from *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 179(2); 1129-1137.
- DECONINCK P., PANGUI L.J., AKAKPO J., GARROUSTE A., OUATTARA L., ROGER F., TIBAYRENC, R. & DORCHIES P., (1996).** Sero-epidemiology of toxoplasmosis in sheep and goats from Africa. *Revue de Médecine Vétérinaire,* 147, 377-378.
- DECONINCK, P., PANGUI, L. AND AKAKPO, J., (1996).** Prévalence de la toxoplasmose chez les petits ruminants en Afrique tropicale: résultats d'une enquête séroépidémiologique sur 1042 animaux. *Revue de Médecine Vétérinaire.* 147,377-378.
- DECOSTER, A.; GONTIER, P.; DEHECQ, E.; DEMORY, JL. DUHAMEL, M., (1995).** Detection of anti-toxoplasma immunoglobulin A antibodies by Platelia-Toxo IgA directed against

- P30 and by IMx Toxo IgA for diagnosis of acquired and congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 33(8) ; 2206-2208.
- DEFRANCE, T., B. VANBERVLIET, ET AL., (1992).** Interleukin 10 and transforming growth factor beta cooperate to induce anti-CD40-activated naive human B cells to secrete immunoglobulin A. *J Exp Med.* 175(3): 671-82.
- DEL BONO, V., CANESSA, A., ET AL., (1989).** Significance of specific immunoglobulin M in the chronological diagnosis of 38 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. *J Clin Microbiol.* 27(9): 2133-5.
- DEL RIO, L., (2004).** *Toxoplasma gondii* triggers myeloid differentiation factor 88-dependent IL-12 and chemokine ligand 2 (monocyte chemoattractant protein 1) responses using distinct parasite molecules and host receptors. *J. Immunol.* 172 ; 6954–6960.
- DELBAC, F., A. SANGER, et al. (2001).** "Toxoplasma gondii myosins B/C: one gene, two tails, two localizations, and a role in parasite division." *J Biol* 155(4): 613-23.
- DENKERS EY, BUTCHER BA, DEL RIO L, BENNOUNA S., (2004).** Neutrophils, dendritic cells and *Toxoplasma*. *Int. J. Parasitol.* 34: 411-421.
- DENKERS EY, SCHARTON-KERSTEN T, BARBIERI S, CASPAR P, SHER A., (1996).** A role for CD4+NK1.1+ T lymphocytes as major histocompatibility complex class II independent helper cells in the generation of CD8+ effector function against intracellular infection. *J. Exp. Med.* 184: 131-139.
- DENKERS EY, YAP G, SCHARTON-KERSTEN T., (1997).** Perforin-mediated cytolysis plays a limited role in host resistance to *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 159: 1903–1908.
- DENKERS EY., (2003).** From cells to signaling cascades : manipulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 39 : 193-203.
- DENKERS, EY., BUTCHER, B. A., DEL RIO, L. BENNOUNA, S. (2004).** Neutrophils, dendritic cells and *Toxoplasma*. *Int J Parasitol* 34, 411-421.
- DENKERS, EY., GAZZINELLI, RT., (1998)** .Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 569-588.
- DENKERS, EY., SCHNEIDER, AG., COHEN, SB., BUTCHER, BA., (2012).** Phagocyte Responses to Protozoan Infection and How *Toxoplasma gondii* Meets the Challenge. *PLoS Pathog.* 8(8): e1002794.
- DENKERS, EY.; KIM, L. & BUTCHER, B. A., (2003).** In the belly of the beast: subversion of macrophage proinflammatory signalling cascades during *Toxoplasma gondii* infection. *Cell Microbiol.* 5(2), 75-83.
- DENMARK, I. CHESSUM, B., (1978).** Standardization of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the detection of *Toxoplasma* antibody. *Medical Laboratory Science.* 35; 227-232.
- DENTON, H., ROBERTS, C. W., ALEXANDER, J., THONG, K. W., COOMBS, G. H. (1996).** Enzymes of energy metabolism in the bradyzoites and tachyzoites of *Toxoplasma gondii*. *FEMS Microbiol.Lett.* 137(1): 103-108.
- DESMONTS G., REMINGTON J.S., (1980).** Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity, *J. Clin. Microbiol.* 1 562-568.
- DIMIER, IH., BOUT, DT., (1998).** Interferon-gamma-activated primary enterocytes inhibit *Toxoplasma gondii* replication : a role for intracellular iron. *Immunology.* 94: 488-495.
- DIVANOVIC, S., (2012).** Opposing biological functions of tryptophan catabolizing enzymes during intracellular infection. *J. Infect. Dis.* 205, 152–161.
- DOBROWOLSKI, J. M., I. R. NIESMAN, et al. (1997).** "Actin in the parasite *Toxoplasma gondii* is encoded by a single copy gene, ACT1 and exists primarily in a globular form." *Cell Motil Cytoskeleton* 37(3): 253-62.
- DOBROWOLSKI, J. M., V. B. CARRUTHERS, et al. (1997).** "Participation of myosin in gliding motility and host cell invasion by *Toxoplasma gondii*." 26(1): 163-173.
- DUBEY J.P., (1984).** Experimental toxoplasmosis in sheep fed *Toxoplasma gondii* oocysts, *Int. Goat Sheep Res.* 2; 93-104.
- DUBEY JP., (1981a).** Epizootic toxoplasmosis associated with abortion in dairy goats in Montana, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178; 661-670.
- DUBEY JP., (1995).** Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol.* 81: 410-415.
- DUBEY JP., (2002).** A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasitol.* 106: 121-153.
- DUBEY JP., HILL DE. (2008).** Toxoplasmosis, in: **KAHN, C.M., LINE, S. (Éd.),** *Le Manuel Vétérinaire Merck.*, MERCK and CO., INC. WHITEHOUSE STATION, N.J., U.S.A., p. 547-549.

- DUBEY JP., SHARMA S.P., (1980a).** Parasitaemia and tissue infection in sheep fed a. *Toxoplasma gondii* oocysts, *J. Parasitol.* 66; 111-114.
- DUBEY JP., SHARMA S.P., (1980b).** Prolonged excretion of *Toxoplasma gondii* in semen of goats, *Am. J. Vet. Res.* 4; 794-795.
- DUBEY JP., SUNDBERG J.P., MATIUCK S.W., (1981).** Toxoplasmosis associated with abortion in goats and sheep in Connecticut, *Am. J. Vet. Res.* 42; 1624-1626.
- DUBEY JP., DESMONTS G., ANTUNES F., MCDONALD C., (1985).** Serologic diagnosis of toxoplasmosis in experimentally infected pregnant goats and transplacentally infected kids, *Am. J. Vet. Res.* 46; 1137-1140.
- DUBEY, J P. (2003).** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals, *Korean J Parasitol.* 41(1), 1-16.
- DUBEY, JP. (1985).** Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of equids fed oocysts. *Am J Vet Res* 46(8), 1753-1754.
- DUBEY, JP. (1990).** Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. *J Am Vet Med Assoc.* 196:259-62
- DUBEY, JP. (2004).** Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol.* 126: 57–72.
- DUBEY, JP. (2008),** The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. *J Eukaryot Microbiol* 55(6), 467-475.
- DUBEY, JP. BEATTIE, C. P., (1988).** Toxoplasmosis of Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, FL. 1–220.
- DUBEY, JP. FRENKEL JK., (1972).** "Cyst-induced toxoplasmosis in cats." *J Protozool* 19(1): 155-77.
- DUBEY, JP. S. P. SHARMA, C. W. G. LOPES, J. F. WILLIAMS, C. S. F. WILLIAMS, S.E. WEISBRODE., (1980).** Caprine toxoplasmosis: Abortion, clinical signs and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *American Journal of Veterinary Research.* 41: 1072–1076.
- DUBEY, JP., (1980).** Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine levers and public health significance of toxoplasmosis in goats. *Journal of American Veterinary Medical Association* 177, 1203-1207.
- DUBEY, JP., (1985).** Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, goats, pigs, bison, and elk in Montana. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186, 969–970.
- DUBEY, JP., (1989).** Lesions in goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Veterinary Parasitology.* 32: 133–144.
- DUBEY, JP., (1995).** Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *Journal of Parasitology.* 81; 410-415.
- DUBEY, JP., (1996).** Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.* 82:957–960.
- DUBEY, JP., (1998).** *Toxoplasma gondii* Oocyst Survival under Defined Temperatures. *J Parasitol.* 84,862–865.
- DUBEY, JP., (2007).** The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: **Weiss, L. M. & Kim, K. (ed.),** *Toxoplasma gondii.* The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods. Academic Press, New York. p. 1–17.
- DUBEY, JP., (2008).** The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. *Journal of Eukaryotic Microbiology.* 55; 467-475.
- DUBEY, JP., (2009).** Toxoplasmosis in sheep—the last 20 years. *Vet. Parasitol.* 163, 1-14.
- DUBEY, JP., (2010).** Toxoplasmosis of Animals and Humans, second ed. *CRC Press*, Boca Raton, Florida, 1–313.
- DUBEY, JP., JONES, J.L., (2008).** *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 38, 1257–1278.
- DUBEY, JP., LINDSAY, D.S. SPEER, CA., (1998).** Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:267–299.
- DUBEY, JP., RAJENDRAN, C., FERREIRA, L.R., MARTINS, J., KWOK, O.C., HILL, D.E., VILLENA, I., ZHOU, H., SU, C., JONES, J.L., (2011).** High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. *Int. J. Parasitol.* 41, 827–833.
- DUBEY, JP., RAJENDRAN, C., FERREIRA, L.R., MARTINS, J., KWOK, O.C., HILL, D.E., VILLENA, I., ZHOU, H., SU, C., JONES, J.L., (2011).** High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. *Int. J. Parasitol.* 41; 827–833.
- DUBEY, JP., SU, C., (2009).** Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and here did they come from. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 104; 190–195.
- DUBEY, JP.; LINDSAY, D. S.; SAVILLE, W. J.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E. &**

- SPEER, CA., (2001).** A review of Sarcocystis neurona and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Vet Parasitol* 95(2-4), 89-131.
- DUBEY, JP.; SCHARES, G. & ORTEGA-MORA, L. M. (2007),** Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 20(2), 323-367.
- DUBREMETZ, J. F., A. ACHBAROU, et al. (1993).** "Kinetics and Pattern of Organelle Exocytosis During Toxoplasma-Gondii/Host-Cell Interaction." *79(5):* 402-408.
- DUBREMETZ, J. F., N. GARCIA-REGUET, et al. (1998).** "Apical organelles and host cell invasion by Apicomplexa." *Int J Parasitol* 28(7): 1007-13.
- DUNAY IR, DAMATTA RA, FUX B., (2008).** Gr1 (+) inflammatory monocytes are required for mucosal resistance to the pathogen *Toxoplasma gondii*. *Immunity*. 29: 306-317.
- DUNAY, IR., FUCHS, A., SIBLEY, LD., (2010).** Inflammatory monocytes but not neutrophils are necessary to control infection with *Toxoplasma gondii* in mice. *Infect Immun*. 78: 1564-1570.
- DUNAY, IR., SIBLEY, LD., (2010).** Monocytes mediate mucosal immunity to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin Immunol*. 22(4). 461-466.
- DUPOUY-CAMET, J.; BOUGNOUX, M. E.; DE SOUZA, S. L.; THULLIEZ, P.; DOMMERGUES, M.; MANDELBROT, L.; ANCELLE, T.; TOURTE-SCHAEFER, C. BENAROUS, R. (1992),** Comparative value of polymerase chain reaction and conventional biological tests for the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis, *Annales de Biologie Clinique* 50(5), 315-319.
- DZIERSZINSKI, F., M. MORTUAIRE, et al., (2000).** "Targeted disruption of the glycosylphosphatidylinositol-anchored surface antigen SAG3 gene in *Toxoplasma gondii* decreases host cell adhesion and drastically reduces virulence in mice." *Mol Microbiol* 37(3):574-82.
- DZIERSZINSKY F, PEPPER M, STUMHOFER JS, LAROSA DF, WILSON EH, TURKA LA, HALONEN SK, HUNTER CA, ROOS DS., (2007).** Presentation of *Toxoplasma gondii* antigens via the endogenous major histocompatibility complex class I pathway in nonprofessional and professional antigen-presenting cells. *Infect. Immun*. 75: 5200-5209.
- EGAN, CE., CRAVEN, MD., LENG, J., MACK, M., SIMPSON, KW., DENKERS, EY., (2009).** CCR2-dependent intraepithelial lymphocytes mediate inflammatory gut pathology during *Toxoplasma gondii* infection. *Mucosal Immunol*. 2: 527-535.
- EL HAJJ, H., M. LEBRUN, et al., (2007).** "ROP18 is a rhoptry kinase controlling the intracellular proliferation of *Toxoplasma gondii*." *PLoS Pathog* 3(2): e14.
- ELLIS J.T., (1997).** Prospects for diagnosis and control using molecular methods, in: Control of Coccidiosis into the Next Millenium, Proceedings of the VII International Coccidiosis Conference and European Union COST 820 Workshop, I-5 September, Oxford, pp. 80-811.
- EPIPHANIO S, SINHORINI L, CATAO-DIAS JL., (2003).** Pathology of toxoplasmosis in captive New Wold Primates. *J. Comp. Path.*, 129: 196-204.
- EYLES, D. E. COLEMAN, N. (1953),** The relative activity of the common sulfonamides against experimental toxoplasmosis in the mouse. *Am J Trop Med Hyg* 2(1), 54-63.
- FANG H, MUN HS, KIKUMURA A, SAYAMA Y, NOROSE K, YANO A, AOSAI F., (2008).** *Toxoplasma gondii*-derived heat shock protein 70 induces lethal anaphylactic reaction through activation of cytosolic phospholipase A and platelet-activating factor via Toll-like receptor 4/myeloid differentiation factor 88. *Microbiol. Immunol*. 52 : 366-374.
- FAYER, R., (1981).** Toxoplasmosis update and public health implications. *Can. Vet. J.* 22, 344-352.
- FENG, CG., (2008).** The immunity-related GTPase Irgm1 promotes the expansion of activated CD4+ T cell populations by preventing interferon- γ -induced cell death. *Nature Immunol*. 9: 1279-1287.
- FENTRESS, S. J.; BEHNKE, M. S.; DUNAY, I. R.; MASHAYEKHI, M.; ROMMEREIM, L. M.; FOX, B. A.; BZIK, D. J.; TAYLOR, G. A.; TURK, B. E.; LICHTL, C. F.; TOWNSEND, R. R.; QIU, W.; HUI, R.; FERGUSON, D. J. HUTCHISON, W. M., (1987).** An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. *Parasitol.Res.* 73(6): 483-491.
- FIGLIUOLO, L.P.C., RODRIGUES, A.A.R., VIANA, R.B., (2004).** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from Sao Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Research*. 55: 29-32.
- FLECK D.G.. KWANTES W., (1980).** The Laboratory Diagnosis of Toxoplasmosis, Public Health Laboratory Service, London Monograph series 13.

- FOUDRINIER F, et al. (2003).** Clinical value of specific immunoglobulin E detection by enzyme-linked immunosorbent assay in cases of acquired and congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 41:1681–1686.
- FOUREAU DM, MIELCARZ DW, MENARD LC., (2010).** TLR9-dependent induction of intestinal alpha-defensins by *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 184: 7022–7029
- FRENKEL, J.K., (1990).** Toxoplasmosis in human beings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196; 240-246.
- FRENKEL, JK., DUBEY, JP., MILLER, NL., (1970).** *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.* 167(3919):893–896.
- FREYRE A, BONINO J, FALCON J, CASTELLS D, CORREA O, CASARETTO A. (1999).** The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. *Vet. Parasitol.*; 81 : 85-88.
- FRICKER-HIDALGO, H.; PELLOUX, H.; RACINET, C.; GREFFENSTETTE, I; BOSTBRU, C.; GOULLIER-FLEURET, A. & AMBROISE-THOMAS, P. (1998),** Detection of *Toxoplasma gondii* in 94 placentae from infected women by polymerase chain reaction, in vivo, and in vitro cultures. *Placenta* 19(7), 545-549.
- FUKAO T, FRUCHT DM, YAP G, GADINA M, O'SHEA JJ, KOYASU S., (2001).** Inducible expression of Stat4 in dendritic cells and macrophages and its critical role in innate and adaptive immune responses. *J. Immunol.* 166 : 4446-4455.
- GARCÍA-BOCANEGRA I, CABEZÓN O., HERNÁNDEZ E., MARTÍNEZ-CRUZ MS., MARTÍNEZ-MORENO Á., (2013).** *Toxoplasma gondii* in ruminant species (cattle, sheep, and goats) from southern Spain. *Journal of Parasitology* 99: 438-440.
- GARCIA-REGUET, N., M. LEBRUN, et al. (2000).** "The microneme protein MIC3 of *Toxoplasma gondii* is a secretory adhesin that binds to both the surface of the host cells and the surface of the parasite." *Cell Microbiol* 2(4): 353-64.
- GAVRILESCU, L. C., E. Y. DENKERS. (2001).** IFN-gamma overproduction and high level apoptosis are associated with high but not low virulence *Toxoplasma gondii* infection. *J Immunol* 167:902-909.
- GAZZINELLI RT, HIENY S, WYNN TA, WOLF S, SHER A., (1993).** Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte independent induction of interferon γ by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. *PNAS.* 6115-6119.
- GAZZINELLI, R., XU, Y., HIENY, S., CHEEVER, A. & SHER, A. (1992).** Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 149, 175-180.
- GAZZINELLI, RT., WYSOCKA, M., HAYASHI, S., DENKERS, EY., HIENY, S., CASPAR, P., TRINCHIERI, G. SHER, A., (1994).** Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 153, 2533-2543.
- GEBREMEDHIN EZ, AGONAFIR A, TESSEMA TS, TILAHUN G, MEDHIN G, VITALE M, DI MARCO V., (2013).** Some risk factors for reproductive failures and contribution of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats of Central Ethiopia: a cross sectional study. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 894–900.
- GHARBI, M., ZRIBI, L., JEDIDI, M., CHAKKHARI, H., HAMDY, S., R'HAYEM, S., ZRIBI, N., SOULI, M., DARGHOUTHMA., (2013).** Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Tunisian sheep. *Bull Soc Pathol Exot.* 106(3):184–187
- GHAZAEI, C., (2005).** Serological survey of antibodies to *Toxoplasma*. *The Internet Journal of Veterinary Medicine*, 2, n°1.
- GHONEIM, NH., SHALABY, S.I., HASSANAIN, N.A., ZEEDAN, G.S., SOLIMAN, Y.A., ABDALHAMED, A.M., (2010).** Comparative study between serological and molecular methods for diagnosis of toxoplasmosis in women and small ruminants in Egypt. *Foodborne Pathog. Dis.* 7, 17–22.
- GIADINIS, N., TERPSIDIS, K., DIAKOU, A., SIARKOU, V., KARATZIAS, H. ANDPAPAZAHARIADOU, M., (2009).** Treatment of sheep toxoplasmosis with sulfadimidine. In: *Proceedings of the World Sheep Veterinary Congress*, Stavanger, Norway.
- GIGLEY, JP., FOX, BA., BZIK, D. J., (2009a).** Cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii* develops primarily by local Th1 host immune responses in the absence of parasite replication. *J Immunol.* 182(2); 1069-1078.
- GLOR, SB., EDELHOFER, R., GRIMM, F., DEPLAZES, P., BASSO, W., (2013).** Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of

antibodies against *Toxoplasma gondii* in serum, plasma and meat juice from experimentally and naturally infected sheep. *Parasit Vectors.*, 6, 85.

GONDIM, L.F.P., JÚNIOR, H.V., FILHO, C.H.A.R., SAEKI, H., (1999). Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 82; 273–276.

GOPAL R., BIRDSELL D. MONROY FP., (2011). Regulation of chemokine responses in intestinal epithelial cells by stress and *Toxoplasma gondii* infection Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ, USA. *Parasite Immunology.* 33; 12–24.

GRAS L, GILBERT RE, WALLON M, PEYRON F, CORTINA-BORJA M., (2004). Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol. Infect.* 132:541–548.

GREGG B, TAYLOR BC, JOHN B., (2013). Replication and distribution of *Toxoplasma gondii* in the small intestine after oral infection with tissue cysts. *Infect Immun.* 81:1635–1643.

GRIMWOOD, J., SMITH, JE., (1996). *Toxoplasma gondii*: the role of parasite surface and secreted proteins in host cell invasion. *Int J Parasitol.* 26(2): 169-73.

GUAN, H.; MORETTO, M.; BZIK, D. J.; GIGLEY, J. & KHAN, I. A., (2007), NK cells enhance dendritic cell response against parasite antigens via NKG2D pathway. *J Immunol.* 179(1), 590-596.

GUITON R, VASSEUR V, CHARRON S., (2010). Interleukin 17 receptor signaling is deleterious during *Toxoplasma gondii* infection in susceptible BL6 mice. *J Infect Dis.* 202: 427–435.

GUTIERREZ, J., O'DONOVAN, J., WILLIAMS, E., PROCTOR, A., BRADY, C., MARQUES, PX., (2010). Detection and quantification of *Toxoplasma gondii* in ovine maternal and foetal tissues from experimentally infected pregnant ewes using real-time PCR. *Vet. Parasitol.* 172; 8-15.

GYÖRKE, A., OPSTEEGH, M., MIRCEAN, V., IOVU, A., COZMA, V., (2011). *Toxoplasma gondii* in Romanian household cats: evaluation of serological tests, epidemiology and risk factors. *Prev. Vet. Med.* 102, 321–328.

HAIG, D. M. (1998). Poxvirus interference with the host cytokine response. *Vet Immunol Immunopathol* 63, 149-156.

HAJJ, H. E.; LEBRUN, M.; AROLD, S. T.; VIAL, H.; LABESSE, G. & DUBREMETZ, J. F., (2007). ROP18 is a rho-trypanin kinase controlling the intracellular proliferation of *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog* 3(2), e14.

HAKANSSON, S., H. MORISAKI, et al. (1999). "Time-lapse video microscopy of gliding motility in *Toxoplasma gondii* reveals a novel, biphasic mechanism of cell locomotion." *Mol Biol Cell* 10(11): 3539-47.

HALOS L, THÉBAULT A, AUBERT D, THOMAS M, PERRET C, GEERS R., (2010). An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *Int. J. Parasitol.* 40; 193-200.

HAMILTON, C.M., KATZER, F., INNES, E.A., KELLY, PJ., (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in small ruminants from four Caribbean islands. *Parasit Vectors.* 7; 449.

HANDMAN, E., GODING, J.W., REMINGTON, J.S., (1980). Detection and characterization of membrane antigens of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 124, 2578–2583.

Haroon AKBAR, 2011

HARRIS, D. P., L. HAYNES, ET AL., (2000). Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nat Immunol.* 1(6): 475-82.

HARTLEY W.J., KATER J.C., (1963). The pathology of *Toxoplasma* infection in the pregnant ewe. *Res. Vet. Sci.* 4; 326-332.

HASHEMI-FESHARKI, R., (1996). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. *Veterinary Parasitology.* 61; 1-3.

HAUSER, WE., REMINGTON, JS., (1981). Effect of monoclonal antibodies on phagocytosis and killing of *Toxoplasma gondii* by normal macrophages. *Infect Immun.* 32(2): 637-40.

HAYASHI, S., CHAN CC., GAZZINELLI, R., ROBERGE, FG., (1996). Contribution of nitric oxide to the host parasite equilibrium in toxoplasmosis. *J Immunol.* 156:1476-1481.

HE, X. L., M. E. GRIGG, et al. (2002). "Structure of the immunodominant surface antigen from the *Toxoplasma gondii* SRS superfamily." *Nat Struct Biol* 1: 1.

HILL D, DUBEY JP., (2002). *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect Dis.* 8: 634-640.

HILL DE, DUBEY JP., (2013). *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United

- States. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 107–113.
- HILL, D.E., CHIRUKANDOTH, S., DUBEY, J.P., (2005).** Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim. Health Res. Rev.* 6; 41–61.
- HISAEDA, H., NAGASAWA, H., MAEDA, K., MAEKAWA, Y., ISHIKAWA, H., ITO, Y., GOOD, R. A. & HIMENO, K. (1995).** Gamma delta T cells play an important role in hsp65 expression and in acquiring protective immune responses against infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 155, 244-251.
- HITZIGER, N., I. DELLACASA, et al. (2005).** Dissemination of *Toxoplasma gondii* to immunoprivileged organs and role of Toll/interleukin-1 receptor signalling for host resistance assessed by in vivo bioluminescence imaging. *Cell Microbiol* 7(6): 837-48.
- HOTEZ, P.J., SAVIOLI, L., FENWICK, A., (2012).** Neglected tropical diseases of the Middle East and North Africa: review of their prevalence, distribution, and opportunities for control. *PLoS Negl Trop Dis.* 6(2):e1475.
- HOU, B., BENSON, A., KUZMICH, L., DEFRANCO, AL. YAROVINSKY, F., (2011).** Critical coordination of innate immune defense against *Toxoplasma gondii* by dendritic cells responding via their Toll-like receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 108; 278–283.
- HOVE T, LIND P, MUKARATIRWA S., (2005).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats and sheep in Zimbabwe. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 72(4):267–272.
- HOVE, T., LIND, P. AND MUKARATIRWA, S., (2005).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs reared under different management systems in Zimbabwe. *Onde. J. Vet. Res.* 72: 231-237.
- HUGHES, H. P. (1988).** Oxidative killing of intracellular parasites mediated by macrophages. *Parasitol Today* 4, 340-347.
- HUNTER, C. A., L. ELLIS-NEYER, ET AL. (1997).** The role of the CD28/B7 interaction in the regulation of NK cell responses during infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 158(5): 2285-93.
- HUNTER, CA., ABRAMS, JS., ET AL., (1993).** Cytokine mRNA in the central nervous system of SCID mice infected with *Toxoplasma gondii*: importance of T-cell-independent regulation of resistance to *T. gondii*." *Infect Immun.* 61(10): 4038-44.
- HUNTER, CA., BERMUDEZ, L., ET AL., (1995).** Transforming growth factor-beta inhibits interleukin-12-induced production of interferon-gamma by natural killer cells: a role for transforming growth factor-beta in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. *Eur J Immunol.* 25(4): 994-1000.
- HUNTER, CA., CANDOLFI E., ET AL., (1995).** Studies on the role of interleukin-12 in acute murine toxoplasmosis. *Immunology.* 84(1): 16-20.
- HUNTER, CA., CHIZZONITE, R., REMINGTON, JS., (1995).** IL-1 beta is required for IL-12 to induce production of IFN-gamma by NK cells. A role for IL-1 beta in the T cell-independent mechanism of resistance against intracellular pathogens. *J Immunol.* 155: 4347–4354.
- HUNTER, CA., SIBLEY, LD., (2012).** Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nature Rev. Microbiol.* 10 ; 766–778
- HUYNH, M. H. AND V. B. CARRUTHERS., (2006).** "Toxoplasma MIC2 is a major determinant of invasion and virulence." *PLoS Pathog* 2(8): e84.
- HUYNH, M. H., C. OPITZ, et al. (2004).** "Transgenera reconstitution and complementation of an adhesion complex in *Toxoplasma gondii*." *Cell Microbiol* 6(8): 771-82.
- IBRAHIM, H.M., HUANG, P., SALEM, T.A., TALAAT, R.M., NASR, M.I., XUAN, X., NISHIKAWA, Y., (2009).** Short report: prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in northern Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 80; 263–267.
- ILDIKO, R. DUNAYI, AND SIBLEY, LD., (2010).** Monocytes Mediate Mucosal Immunity to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin Immunol.* 22(4): 461–466.
- inflammatory intestinal disease." *J Am Vet Med Assoc* 199(4): 473-6.
- INNES, E. A. (2010),** A brief history and overview of *Toxoplasma gondii*. *Zoonoses Public Health* 57(1), 1-7.
- INNES, E. A., BARTLEY, P. M., MALEY, S. W., WRIGHT, S. E., AND BUXTON, D., (2007).** Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. *Vaccine.* 25; 5495-503.
- INNES, E., (2009).** A brief history and overview of *Toxoplasma gondii*. *Zoonoses Public Health.* 57, 1-7.

- INNES, E.A., BARTLEY, P.M., BUXTON, D., KATZER, F., (2009). Ovine toxoplasmosis. *Parasitology*. 136, 1887–1894.
- INNES, EA., (1997). Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 20; 131-8.
- INNES, EA., PANTON, WR., SANDERSON, A., THOMSON, KM., WASTLING, JM., MALEY, S., ANDBUXTON, D., (1995a). Induction of CD4+ and CD8+ T cell responses in efferent lymph responding to *Toxoplasma gondii* infection: analysis of phenotype and function. *Parasite Immunol*. 17; 151-60.
- INNES, EA., WASTLING, JM., (1995b). Analysis of *in vivo* Immune Responses during *Toxoplasma gondii* Infection using the technique of Lymphatic Cannulation. *Parasitol Today*. 11: 268-271.
- IOVU, A., GYORKE, A., MIRCEAN, V., GAVREA, R., COZMA, V., (2012). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania. *Vet. Parasitol*. 186, 470–474.
- JACOBS M R, MASON P R., (1978). Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in southern Africa. *South African Medical Journal*, 53: 619–621.
- JENSEN KDC, HU K, WHITMARSH RJ., (2013). *Toxoplasma gondii* rhoptry 16 kinase promotes host resistance to oral infection and intestinal inflammation only in the context of the dense granule protein GRA15. *Infect Immun*. 81: 2156–216792.
- JENSEN KDC, WANG Y, WOJNO EDT., (2011). *Toxoplasma* polymorphic effectors determine macrophage polarization and intestinal inflammation. *Cell Host Microbe*. 9: 472–483.
- JITTAPALAPONG, S., SANGVARANOND, A., PINYOPANUWAT, N., CHIMNOI, W., KHACHAERAM, W., KOIZUMI S., AND SOICHI, M., (2004). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. *Veterinary Prasilology*. 127(1); 17–22.
- JONES, J.L., KRUSZON-MORAN, D., WILSON, M., MCQUILLAN, G., NAVIN, T., MCAULEY, J.B., (2001). *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am. J. Epidemiol*. 154; 357–365.
- JONES, T. C., S. YEH, et al. (1972). "The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells."
- JU CH, CHOCKALINGAM A LEIFER CA., (2009). Early response of mucosal epithelial cells during *Toxoplasma gondii* infection. *J Immunol*. 183: 7420–7427.
- KAMANI, J., MANI, A. AND EGWU, G., (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic sheep and goats in Borno state, Nigeria. *Tropical Animal Health and Production*. 21; 134-137.
- KANEKO Y, TAKASHIMA Y, XUAUN X, IGARASHI I, NAGASAWA H, MIKAMI T, OTSUKA H., (2004). Natural IgM antibodies in sera from various animals but not the cat kill *Toxoplasma gondii* by activating the classical complement pathway. *Parasitology*. 128 : 123-129.
- KANG HK, LEE HY, LEE YN, JO EJ, KIM JI, AOSAI F, YANO A, KWAK JY, BAEYS., (2004). *Toxoplasma gondii*-derived heat shock protein 70 stimulates the maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 322 : 899-904.
- KANG, H., REMINGTON, JS., SUZUKI, Y., (2000). Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN-gamma, TNF-alpha, and inducible nitric oxide synthase. *J Immunol*. 164(5); 2629-2634.
- KARACA, M., BABUR, C., CELEBI, B., AKKAN, H.A., TUTUNCU, M., KELES, I., USLU, B.A., KILIC, S., (2007). Investigation on the Seroprevalence of Toxoplasmosis, Listeriosis and Brucellosis in Goats living in the region of Van, Turkey. *Yyu Vet Fak Derg*. 18: 45–49.
- KASPER, L., COURRET, N., DARCHE, S., LUANGSAY, S., MENNECHET, F., MINNS, L., RACHINEL, N., RONET, C., BUZONIGATEL, D., (2004). *Toxoplasma gondii* and mucosal immunity. *Int J Parasitol*. 34:401-409.
- KASPER, L.H., BRADLEY, M.S., PFEFFERKORN, E.R., (1984). Identification of stage-specific sporozoite antigens of *Toxoplasma gondii* by monoclonal antibodies. *J. Immunol*. 132, 443.
- KASPER, LH., KHAN, IA., (1993). Role of P30 in host immunity and pathogenesis of *T. gondii* infection. *Res Immunol*. 144 ; 45-8.
- KAUFMAN, H. E., J. S. REMINGTON, L. JACOBS., (1958). Toxoplasmosis: the nature of virulence. *Am J Ophthalmol* 46:255-260; discussion 260-251.
- KAUFMAN, H. E., M. L. MELTON, J. S. REMINGTON, L. JACOBS., (1959). Strain

- differences of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 45:189-190.
- KEELEY, A. D. SOLDATI, (2004).** "The glideosome: a molecular machine powering motility and host-cell invasion by Apicomplexa." *Trends Cell Biol* 14(10): 528-32.
- KELLY, MN., KOLLS, JK., HAPPEL, K., SCHWARTZMAN, JD., SCHWARZENBERGER, P., COMBE, C., MORETTO, M., KHAN, IA., (2005).** Interleukin-17/interleukin-17 receptor-mediated signaling is important for generation of an optimal polymorphonuclear response against *Toxoplasma gondii* infection. *Infect Immun.* 73(1): 617-621.
- KENNY DE, LAPPIN MR, KNIGHTLY F., (2002).** Toxoplasmosis in Pallas' cats (*Otocolobus felis*) at the Denver zoological gardens. *J. Zoo Wildl. Med.*, 33(2): 131-138.
- KESSLER, H., A. HERM-GOTZ, et al., (2008).** "Microneme protein 8--a new essential invasion factor in *Toxoplasma gondii*." *J Cell Sci* 121(Pt 7): 947-56.
- KETZ-RILEY CJ, RITCHEY JW, HOOVER JP et al., (2003).** Immunodeficiency associated with multiple concurrent infections in captive Pallas' cats (*Otocolobus manul*). *J. of zoo and wildlife medicine*, 34(3): 239-245.
- KHALIL, M.M., ELRAYAH, I.E., (2011).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in farmanimals (camels, cattle, and sheep) in Sudan. *J. Med. Anim. Health.* 3; 36-39.
- KHAMINETS, A., (2010).** Coordinated loading of IRG resistance GTPases on to the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole. *Cell. Microbiol.* 12; 939-961.
- KHAN, A.; BÖHME, U.; KELLY, K. A.; ADLEM, E.; BROOKS, K.; SIMMONDS, M.; MUNGALL, K.; QUAIL, M. A.; ARROWSMITH, C.; CHILLINGWORTH, T.; CHURCHER, C.; HARRIS, D.; COLLINS, M.; FOSKER, N.; FRASER, A.; HANCE, Z.; JAGELS, K.; MOULE, S.; MURPHY, L.; O'NEIL, S.; RAJANDREAM, M.-A.; SAUNDERS, D.; SEEGER, K.; WHITEHEAD, S.; MAYR, T.; XUAN, X.; WATANABE, J.; SUZUKI, Y.; WAKAGURI, H.; SUGANO, S.; SUGIMOTO, C.; PAULSEN, I.; MACKAY, A. J.; ROOS, D. S.; HALL, N.; BERRIMAN, M.; BARRELL, B.; SIBLEY, L. D. & AJIOKA, J. W. (2006),** Common inheritance of chromosome Ia associated with clonal expansion of *Toxoplasma gondii*. *Genome Res* 16(9), 1119-1125.
- KHAN, A.; FUX, B.; SU, C.; DUBEY, J. P.; DARDE, M. L.; AJIOKA, J. W.; ROSENTHAL, B. M. SIBLEY, L. D. (2007).** Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(37), 14872-14877.
- KHAN, I. A. (2007).** Toll road for *Toxoplasma gondii*: the mystery continues. *Trends Parasitol* 23, 1-3.
- KHAN, I. A., M. MORETTO, X. Q. WEI, M. WILLIAMS, J. D. SCHWARTZMAN, AND F. Y. LIEW., (2002).** Treatment with soluble interleukin-15 α exacerbates intracellular parasitic infection by blocking the development of memory CD8⁺ T cell response. *J Exp Med.* 195:1463-1470.
- KHAN, I. A., MATSUURA, T. KASPER, LH., (1996).** Activation-mediated CD4⁺ T cell unresponsiveness during acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Int Immunol.* 8(6); 887- 896.
- KHAN, I. A.; ELY, K. H. & KASPER, L. H., (1994).** Antigen-specific CD8⁺ T cell clone protects against acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J Immunol.* 152(4); 1856-1860.
- KHAN, I. A.; GREEN, W. R.; KASPER, L. H.; GREEN, K. A. & SCHWARTZMAN, J. D., (1999).** Immune CD8⁺ T cells prevent reactivation of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompromised host, *Infect Immun.* 67; 5869-5876.
- KHAN, I. A.; MURPHY, P. M.; CASCIOTTI, L.; SCHWARTZMAN, J. D.; COLLINS, J.; GAO, J. L. & YEAMAN, G. R., (2001).** Mice lacking the chemokine receptor CCR1 show increased susceptibility to *Toxoplasma gondii* infection. *J Immunol.* 166(3); 1930-1937.
- KHAN, I. A.; SCHWARTZMAN, J. D.; MATSUURA, T. KASPER, LH., (1997).** A dichotomous role for nitric oxide during acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94(25); 13955-13960.
- KIK MJL., (2007).** (Un)usual protozoal parasites in different host species. *Verh. ber. Erkr. Zootiere,* 43: 221-225.
- KIM, L., BUTCHER, B.A., LEE, CW., UEMATSU, S., AKIRA, S., DENKERS, EY., (2006).** *Toxoplasma gondii* genotype determines MyD88-dependent signaling in infected macrophages. *J Immunol.* 177; 2584-91.
- KLUN I, DJURKOVIC-DJAKOVIC O, KATIC-RADIVOJEVIC S, NIKOLIC A., (2006).** Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in

cattle, sheep and pigs in Serbia: seroprevalence and risk factors. *Vet. Parasitol.* 135 : 121-131.

KLUN I., DJURKOVIC-DJAKOVIC O., KATIC-RADIVOJEVIC S. & NIKOLIC A. (2005). Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* in Serbia. *Vete Parasitol.* 135; 121-131.

KOBAYASHI, M.; AOSAI, F.; HATA, H.; MUN, H. S.; TAGAWA, Y.; IWAKURA, Y., YANO, A., (1999). *Toxoplasma gondii*: difference of invasion into tissue of digestive organs between susceptible and resistant strain and influence of IFN-gamma in mice inoculated with the cysts perorally. *J Parasitol.* 85(5); 973-975.

KOBLANSKY, AA., (2013). Recognition of profilin by Toll-like receptor 12 is critical for host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity.* 38; 119–130.

KOO, L. YOUNG, L. H. (2006). Management of ocular toxoplasmosis, *Int Ophthalmol Clin.* 46(2), 183-193.

KYAN, H., TAIRA, M., YAMAMOTO, A., INABA, C., ZAKIMI, S., (2012). Isolation and characterization of *Toxoplasma gondii* genotypes from goats at an abattoir in Okinawa. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65, 167–170.

LABRUYERE, E., M. LINGNAU, et al. (1999). "Differential membrane targeting of the secretory proteins GRA4 and GRA6 within the parasitophorous vacuole formed by *Toxoplasma gondii*." *Mol Biochem Parasitol* 102(2): 311-24.

LACROIX-LAMANDE, S., MANCASSOLA, R., NACIRI, M., LAURENT, F., (2002). Role of gamma interferon in chemokine expression in the ileum of mice and in a murine intestinal epithelial cell line after *Cryptosporidium parvum* infection. *Infect Immun.* 70: 2090–2099.

LAHMAR I, LACHKHEM A, SLAMA D, SAKLY W, HAOUAS N., (2015). Prevalence of Toxoplasmosis in Sheep, Goats and Cattle in Southern Tunisia. *J Bacteriol Parasitol.* 6: 245.

LALIBERTE, J. V. B. CARRUTHERS., (2008). "Host cell manipulation by the human pathogen *Toxoplasma gondii*." *Cell Mol Life Sci* 65(12): 1900-15.

LAMBERT, H. & BARRAGAN, A., (2010). Modelling parasite dissemination: host cell subversion and immune evasion by *Toxoplasma gondii*. *Cell Microbiol.* 12(3); 292-300.

LAMBERT, H.; HITZIGER, N.; DELLACASA, I.; SVENSSON, M. & BARRAGAN, A., (2006). Induction of dendritic cell migration upon

Toxoplasma gondii infection potentiates parasite dissemination. *Cell Microbiol.* 8(10); 1611-1623.

LANGERMANS, JA., NIBBERING, PH., VAN VUREN-VAN DER HULST, ME., VAN FURTH, R., (2001). Transforming growth factor-beta suppresses interferon-gamma-induced toxoplasmatatic activity in murine macrophages by inhibition of tumour necrosis factor-alpha production. *Parasite Immunol.* 23(4): 169-75.

LAPPIN, M.R., BUSH, D.J., REDUKER, D.W., (1994). Feline serum antibody responses to *Toxoplasma gondii* and characterization of target antigens. *J. Parasitol.* 80; 73–80.

LAPPIN, MR., BURNEY, DP., ET AL., (1995). Detection of *Toxoplasma gondii*-specific IgA in the aqueous humor of cats. *Am J Vet Res.* 56(6): 774-8.

LASHARI MH, TASAWAR, Z., (2010). Seroprevalence of toxoplasmosis in sheep in Southern Punjab, Pakistan. *Pak Vet J;* 30: 91-94.

LASHARI MH, TASAWAR, Z., (2010). Seroprevalence of toxoplasmosis in sheep in Southern Punjab, Pakistan. *Pak Vet J;* 30: 91-94.

LEBECH, M.; ANDERSEN, O.; CHRISTENSEN, N. C.; HERTEL, J.; NIELSEN, H. E.; PEITERSEN, B.; RECHNITZER, C.; LARSEN, S. O.; NØRGAARD-PEDERSEN, B. & PETERSEN, E. (1999), Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. *Lancet* 353(9167), 1834-1837.

LECORDIER, L., C. MERCIER, et al., (1999). "Transmembrane insertion of the *Toxoplasma gondii* GRA5 protein occurs after soluble secretion into the host cell." *Mol Biol Cell* 10(4): 1277-87.

LEKUTIS, C., D. J. FERGUSON, et al., (2000). "Toxoplasma gondii: identification of a developmentally regulated family of genes related to SAG2 [In Process Citation]." *Exp Parasitol* 96(2): 89-96.

LEKUTIS, C., D. J. FERGUSON, et al., (2001). "Surface antigens of *Toxoplasma gondii*: variations on a theme." *Int J Parasitol* 31(12): 1285-92.

LENG, J., B. A. BUTCHER E. Y. DENKERS., (2009). Dysregulation of macrophage signal transduction by *Toxoplasma gondii*: past progress and recent advances. *Parasite Immunology.* 31; 717–728.

LEONA GABRYŠOVÁ, ASHLEIGH HOWES, MARGARIDA SARAIVA AND ANNE O'GARRA in; S. FILLATREAU AND A. O'GARRA (eds.), Interleukin-10 in Health and Disease, *Current Topics in Microbiology and*

- Immunology* 380, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2014.
- LEPAGE, A. C., BUZONI-GATEL, D., BOUT, D. T. KASPER, L. H. (1998).** Gut-derived intraepithelial lymphocytes induce long term immunity against *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 161, 4902-4908.
- LI F, WANG S-P, WANG C-J, HE S-C, WU X & LIU G-H., (2016).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in goats in Hunan province, China. *Parasite*. 23; 44.
- LI, W., BUZONI-GATEL, D., DEBBABI, H., HU, MS., MENNECHET, FJ., DURELL, BG., NOELLE, RJ., KASPER, LH., (2002).** CD40/CD154 ligation is required for the development of acute ileitis following oral infection with an intracellular pathogen in mice. *Gastroenterology*. 122:762-773.
- LIEBERMAN LA, CARDILLO F, OWYANG AM, RENNICK DM, CUA DJ, KASTELEIN RA, HUNTER CA., (2004).** IL-23 provides a limited mechanism of resistance to acute toxoplasmosis in the absence of IL-12. *J. Immunol*. 173: 1887-1893.
- LIEBERMAN, LA. HUNTER, CA., (2002).** The role of cytokines and their signaling pathways in the regulation of immunity to *Toxoplasma gondii*. *Int Rev Immunol* .21(4-5): 373-403.
- LIEBERMAN, LA., VILLEGAS, EN., HUNTER, CA., (2004).** Interleukin-15-deficient mice develop protective immunity to *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun*.72:6729-6732.
- LIESENFELD, O., (1999).** Immune responses to *Toxoplasma gondii* in the gut. *Immunobiology*. 201:229-239.
- LIESENFELD, O., KANG, H., PARK, D., NGUYEN, TA., PARKHE, CV., WATANABE, H., ABO, T., SHER, A., REMINGTON, JS., SUZUKI, Y., (1999).** TNF-alpha, nitric oxide and IFN-gamma are all critical for development of necrosis in the small intestine and early mortality in genetically susceptible mice infected perorally with *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol*. 21(7); 365-376.
- LIESENFELD, O.; KOSEK, JC. SUZUKI, Y., (1997).** Gamma interferon induces Fas-dependent apoptosis of Peyer's patch T cells in mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun*. 65(11); 4682-4689.
- LIN, P. W., P. O. SIMON, JR., A. T. GEWIRTZ, A. S. NEISH, A. J. OUELLETTE, J. L. MADARA, AND W. I. LENCER., (2004).** Paneth cell cryptidins act in vitro as apical paracrine regulators of the innate inflammatory response. *J Biol Chem*. 279:19902-19907.
- LINDSAY, D.S., RIPPEY, N.S., POWE, T.A., SARTIN, E.A., DUBEY, J.P., BLAGBURN, B.L., (1995).** Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res*. 56; 1176-1180.
- LIU ZK, LI JY, PAN H., (2015).** Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. *Preventive Veterinary Medicine*, 118(4), 488-492.
- LIU, BS., LI, YB., WANG, QQ., WANG, ZH., GUO, JX., YANG, WR., (2003).** Investigation of causes of caprine abortion in Honghe Prefecture of Yunnan Province, China. *Vet Technol*. 33:31-36.
- LIU, C.-H.; TING FAN, Y.; DIAS, A.; ESPER, L.; CORN, R. A.; BAFICA, A.; MACHADO, F. S. & ALIBERTI, J., (2006).** Cutting edge: dendritic cells are essential for in vivo IL-12 production and development of resistance against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J Immunol*. 177 (1), 31-41.
- LIU, Q., WANG, ZD., HUANG, SY., ZHU, XQ., (2015).** Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & Vectors*, 8; 292.
- LOPES, A., CARDOSO, L. AND RODRIGUES, M., (2008).** Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Vete Parasitol*. 155; 184-189.
- LOPES, A.P., DUBEY, J.P., NETO, F., RODRIGUES, A., MARTINS, T., RODRIGUES, M., CARDOSO, L., (2013).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the north of Portugal for human consumption. *Vet Parasitol*. 193, 266-269.
- LOPES, W., DA COSTA, A., SANTANA, L., DOSSANTOS, R., ROSSANESE, W., LOPES, W., COSTA, G., SAKAMOTO, C. AND DOSSANTOS, T., (2009).** Aspects of *Toxoplasma* Infection on the Reproductive System of Experimentally Infected Rams (*Ovis Aries*). *Journal of Parasitology Research*. 1155 ; 1-6.
- LUANGSAY, S., L. H. KASPER, N. RACHINEL, L. A. MINNS, F. J. MENNECHET, A. VANDEWALLE, AND D. BUZONI-GATEL., (2003).** CCR5 mediates specific migration of *Toxoplasma gondii* primed CD8 lymphocytes to inflammatory intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. . 125:491-500.

- LUDER, C. G., T. LANG, ET AL., (1998).** Down-regulation of MHC class II molecules and inability to up-regulate class I molecules in murine macrophages after infection with *Toxoplasma gondii*. *Clin Exp Immunol.* 112(2): 308-16.
- LUDER, CG., ALGNER, M., LANG, C., BLEICHER, N., GROSS, U., (2003).** Reduced expression of the inducible nitric oxide synthase after infection with *Toxoplasma gondii* facilitates parasite replication in activated murine macrophages. *Intl J. Parasitol.* 33; 833-844.
- LUDER, CG., LANG, C., ET AL., (2003).** *Toxoplasma gondii* inhibits MHC class II expression in neural antigen-presenting cells by down-regulating the class II transactivator CIITA. *J Neuroimmunol.* 134(1-2): 12-24.
- LÜTJEN, S.; SOLTEK, S.; VIRNA, S.; DECKERT, M. & SCHLÜTER, D., (2006).** Organ- and disease-stage specific regulation of *Toxoplasma gondii*-specific CD8-T-cell responses by CD4 T cells. *Infect Immun.* 74(10); 5790-5801.
- LYONS, R. E., MCLEOD, R., AND ROBERTS, C. W., (2002).** *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. *Trends Parasitol.* 18(5): 198-201.
- MACK, D. G. MCLEOD, R., (1992).** Human *Toxoplasma gondii*-specific secretory immunoglobulin A reduces *T. gondii* infection of enterocytes in vitro. *J Clin Invest.* 90(6), 2585-2592.
- MADDOX, J. F., HACHICHA, M., TAKANO, T., PETASIS, N. A., FOKIN, V. V. & SERHAN, C. N. (1997).** Lipoxin A4 stable analogs are potent mimetics that stimulate human monocytes and THP-1 cells via a G-protein-linked lipoxin A4 receptor. *J Biol Chem* 272, 6972-6978.
- MALEY S.W., THOMSON K.M., BOS H.J., BUXTON D., (1997).** Serological diagnosis of toxoplasmosis in sheep following vaccination and challenge, *Vet. Rec.* 140 558-559.
- MANGER, I. D., A. B. HEHL, et al. (1998).** "The surface of *Toxoplasma* tachyzoites is dominated by a family of glycosylphosphatidylinositol-anchored antigens related to SAG1." *Infect Immun* 66(5): 2237-44.
- MARTENS, S., I. PARVANOVA, ET AL., (2005).** Disruption of *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuoles by the mouse p47-resistance GTPases. *PLoS Pathog.* 1(3): e24.
- MARTIN, A. M., T. LIU, et al. (2007).** "The *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole membrane: transactions across the border." *J Eukaryot Microbiol* 54(1): 25-8.
- MASALA, G., PORCU, R., MADAU, L., TANDA, D., IBBA, B., SATTÀ, G., TOLA, S., (2003).** Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assay in Sardinia, Italy. *Vete Parasitol.* 117:15-21.
- MASHAYEKHI M, SANDAU MM, DUNAY IR., (2011).** CD8alpha (+) dendritic cells are the critical source of interleukin-12 that controls acute infection by *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Immunity.* 35: 249-259.
- MASON, N. J., FIORE, J., KOBAYASHI, T., MASEK, K. S., CHOI, Y. & HUNTER, C. A. (2004).** TRAF6- dependent mitogen-activated protein kinase activation differentially regulates the production of interleukin-12 by macrophages in response to *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun* 72, 5662-5667.
- MATSUO, K., HUSIN, D., (1996).** A survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in goats and cattle in Lampung province, Indonesia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 27; 554-555.
- MATSUO, K., KAMAI, R., UETSU, H., GOTO, H., TAKASHIMA, Y., NAGAMUNE, K., (2014).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, horses, pigs and chickens in Japan. *Parasitol. Int.* 63, 638-639.
- MCCOLGAN, C.; BUXTON, D. & BLEWETT, D. A. (1988),** Titration of *Toxoplasma gondii* oocysts in non-pregnant sheep and the effects of subsequent challenge during pregnancy, *Vet Rec.* 123(18), 467-470.
- MCKEE AS, DZIERSZINSKI F, BOES M, ROOS DS, PEARCE EJ., (2004).** Functional inactivation of immature dendritic cells by the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 173: 2632-2640.
- MCLEOD, R.; ESTES, R. G.; MACK, D. G. & COHEN, H., (1984).** Immune response of mice to ingested *Toxoplasma gondii*: a model of toxoplasma infection acquired by ingestion. *J Infect Dis.* 149(2), 234-244.
- MEISSNER, M., M. REISS, et al. (2002).** "A family of transmembrane microneme proteins of *Toxoplasma gondii* contain EGF-like domains and function as escorts." *J Cell Sci* 115(Pt3): 563-74.
- MÉNARD LC, MINNS LA, DARCHE S, MIELCARZ DW, FOUREAU DM, ROOS D, DZIERSZINSKI F, KASPER LH, BUZONIGATEL D., (2007).** B cells amplify IFN- γ production by T cells via a TNF- α -mediated mechanism. *J. Immunol.* 179 : 4857-4866.

- MENARD, R. (2001).** "Gliding motility and cell invasion by Apicomplexa: insights from the Plasmodium sporozoite." *Cell Microbiol* 3(2): 63-73.
- MENNECHET, F. J., KASPER, L. H., RACHINEL, N., LI, W., VANDEWALLE, A. & BUZONI-GATEL, D. (2002).** Lamina propria CD4+ T lymphocytes synergize with murine intestinal epithelial cells to enhance proinflammatory response against an intracellular pathogen. *J Immunol* 168, 2988-2996.
- MENNECHET, F. J., L. H. KASPER, N. RACHINEL, L. A. MINNS, S. LUANGSAY, A. VANDEWALLE, BUZONI-GATEL, D., (2004).** Intestinal intraepithelial lymphocytes prevent pathogen-driven inflammation and regulate the Smad/T-bet pathway of lamina propria CD4+ T cells. *Eur J Immunol*. 34:1059-1067.
- MENZIES, PI., (2011).** Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Vet.Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 27; 81-93.
- METS MB, CHHABRA MS., (2008).** Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness. *Surv. Ophthalmol.* ; 53 : 95-111.
- MEVELEC, M.-N.; DUCOURNAU, C.; ISMAEL, A. B.; OLIVIER, M.; SECHE, E.; LEBRUN, M.; BOUT, D. DIMIER-POISSON, I. (2010),** Mic1-3 Knockout *Toxoplasma gondii* is a good candidate for a vaccine against T. gondii-induced abortion in sheep. *Vet Res* 41(4), 49.
- MILLER, C. M., N. R. BOULTER, ET AL., (2008).** The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*. 12; 654-661.
- MINEO JR, KHAN IA, KASPER LH., (1994).** *Toxoplasma gondii*: a monoclonal antibody that inhibits intracellular replication. *Exp. Parasitol*. 79: 351-361.
- MINEO JR, MCLEOD R, MACK D, SMITH J, KHAN IA, ELY KH, KASPER LH., (1993).** Antibodies to *Toxoplasma gondii* major surface protein (SAG-1, P30) inhibit infection of host cells and are produced in murine intestine after peroral infection. *J. Immunol*. 150: 3951-3964.
- MINNS, L. A., MENARD, L. C., FOUREAU, D. M., DARCHE, S., RNET, C., MIELCARZ, D. W., BUZONI-GATEL, D. KASPER, L. H. (2006).** TLR9 is required for the gut-associated lymphoid tissue response following oral infection of *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 176, 7589-7597.
- MONTOYA JG, LIESENFELD O. (2004).** Toxoplasmosis. *Lancet* 363:1965–1976.
- MONTOYA, JG., LOWE, KE., ET AL., (1996).** Human CD4+ and CD8+ T lymphocytes are both cytotoxic to *Toxoplasma gondii*-infected cells. *Infect Immun*. 64(1): 176-81.
- MORDUE, D. G., F. MONROY, M. LA REGINA, C. A. DINARELLO, AND L. D. SIBLEY. (2001).** Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. *J Immunol* 167:4574-4584.
- MORDUE, D. G., N. DESAI, et al. (1999).** "Invasion by *Toxoplasma gondii* Establishes a Moving Junction That Selectively Excludes Host Cell Plasma Membrane Proteins on the Basis of Their Membrane Anchoring." *J Exp Med* 190(12): 1783-1792.
- MORDUE, DG., SIBLEY, LD., (1997).** Intracellular fate of vacuoles containing *Toxoplasma gondii* is determined at the time of formation and depends on the mechanism of entry. *J Immunol*. 159(9): 4452-9.
- MORDUE, DG., SIBLEY, LD., (2003).** A novel population of Gr-1+ activated macrophages induced during acute toxoplasmosis. *J Leukoc Biol*. 74(6); 1015-1025.
- MORENO B, COLLANTES-FERNÁNDEZ E, VILLA A, NAVARRO A, REGIDOR-CERRILLOJ, ORTEGA-MORA LM. (2012).** Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet. Parasitol.*, 187; 312-318.
- MORISAKI, J. H., J. E. HEUSER, ET AL., (1995).** Invasion of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell. *J Cell Sci*. 108 (Pt 6): 2457-64.
- MUN HS, AOSAI F, NOROSE K., (2003).** TLR2 as an essential molecule for protective immunity against *Toxoplasma gondii* infection. *Int Immunol*; 15: 1081–1087.
- MUNDAY B L., (1975).** Prevalence of toxoplasmosis in Tasmanian meat animals. *Australian Veterinary Journal*. 51: 315–316.
- MUNDAY B.L., MASON R.W., (1979).** Toxoplasmosis as a cause of perinatal mortality in goats, *Aust. Vet. J.* 55; 485-487.
- MURRAY, H. W., B. Y. RUBIN, ET AL., (1985).** "Human mononuclear phagocyte antiprotozoal mechanisms: oxygen-dependent vs oxygen-independent activity against intracellular *Toxoplasma gondii*." *J Immunol*. 134(3): 1982-8.
- NAGINENI CN, DETRICK B, HOOKS JJ., (2002).** Transforming growth factor-beta expression in human retinal pigment epithelial cells is

- enhanced by *Toxoplasma gondii*: a possible role in the immunopathogenesis of retinochoroiditis. *Clin Exp Immunol.* 128(2):372-8.
- NAKAAR, V., H. M. NGO, et al. (2003).** "Pleiotropic effect due to targeted depletion of secretory rho-try protein ROP2 in *Toxoplasma gondii*." *J Cell Sci* 116(Pt 11): 2311-20.
- NAKANO Y, HISAEDA H, SAKAI T, ZHANG M, MAEKAWA Y, ZHANG T, NISHITANI M, ISHIKAWA H, HIMENO K., (2001).** Granule-dependent killing of *Toxoplasma gondii* by CD8+ T cells. *Immunology.* 104: 289-298.
- NASCIMENTO FS, SUZUKI LA, ROSSI CL. (2008).** Assessment of the value of detecting specific IgA antibodies for the diagnosis of a recently acquired primary *Toxoplasma* infection. *Prenat. Diagn.* 28:749–752.
- NEGASH, T., TILAHUN, G., PATTON, S.T., PREVOT, F., AND DORCHIES, PH., (2004).** Serological survey on toxoplasmosis in sheep and goats in Nazareth, Ethiopia. *Revue de Medicne Veterinaire.* 155:10:486–487.
- NEYER, L. E., G. GRUNIG, M. FORT, J. S. REMINGTON, D. RENNICK, AND C. A. HUNTER., (1997).** Role of interleukin-10 in regulation of T-cell-dependent and T-cell-independent mechanisms of resistance to *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun* 65:1675-1682.
- NGUYEN, T. D.; BIGAIGNON, G.; MARKINE-GORIAYNOFF, D.; HEREMANS, H.; NGUYEN, T. N.; WARNIER, G.; DELMEE, M.; WARNY, M.; WOLF, S. F.; UYTENHOVE, C.; SNICK, J. V. & COUTELIER, J.-P., (2003).** Virulent *Toxoplasma gondii* strain RH promotes T-cell-independent overproduction of proinflammatory cytokines IL12 and gamma-interferon. *J Med Microbiol.* 52(Pt 10), 869-876.
- NIETFELD JC. (2008).** Avortement chez les grands animaux, in: Kahn, C.M., Line, S. (Éd.), *Le Manuel Vétérinaire Merck.*, MERCK and CO., INC. WHITEHOUSE STATION, N.J., U.S.A., p.1101-1104.
- NISHI S. M., KASAI N., AND GENNARI S. M., (2001).** Antibody Levels in Goats Fed *Toxoplasma gondii* Oocysts. *J. Parasitol.*, 87(2); 445–447.
- NORMAZNAH Y, SANIAH K, FUZINA NOOR H, NASEEM K, KHATIJAH M., (2004).** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* among farmers and cattle in Gombak District, Selangor, Malaysia - a preliminary report. *Trop. Biomed.*; 21 : 157-159.
- NTAFIS, V., XYLOURI, E., DIAKOU, A., SOTIRAKOGLU, K., KRITIKOS, I., GEORGAKILAS, E., MENEGATOS, I., (2007).** Serological survey of antibodies against *Toxoplasma gondii* in organic sheep and goat farms in Greece. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society.* 58: 22–33.
- NURSE G.H., LENGHAUS C., (1986).** An outbreak of *Toxoplasma gondii* abortion, mummification and perinatal death in goats, Aust. Vet. J. 63; 27-29.
- OBENDORF, D., STATHAM, P. AND MUNDAY, B., (1990).** Resistance to *Toxoplasma* abortion in female goats previously exposed to *Toxoplasma* infection. *Australian Veterinary Journal.* 67; 233-234.
- OFFICE INTERNATIONALE DES ÉPIZOOTIES (OIE). (2004).** Toxoplasmosis in: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 2, 10-12.
- OHIRA, T., BANNENBERG, G., ARITA, M., TAKAHASHI, M., GE, Q., VAN DYKE, T. E., STAHL, G. L., SERHAN, C. N. & BADWEY, J. A. (2004).** A stable aspirin-triggered lipoxin A4 analog blocks phosphorylation of leukocyte-specific protein 1 in human neutrophils. *J Immunol* 173, 2091-2098.
- OMER, F. M., J. A. KURTZHALS, ET AL., (2000).** "Maintaining the immunological balance in parasitic infections: a role for TGF-beta? *Parasitol Today.* 16(1): 18-23.
- ONG, Y.-C.; REESE, M. L. BOOTHROYD, J. C. (2010),** *Toxoplasma* rho-try protein 16 (ROP16) subverts host function by direct tyrosine phosphorylation of STAT6. *J Biol Chem* 285(37), 28731-28740.
- OPEL U., CHARLESTON W.A.G., POMROY W.E., ROMMEL M., (1991).** A survey of the prevalence of *Toxoplasma* infection in goats in New Zealand and a comparison of the latex agglutination and indirect fluorescence tests, *Vet. Parasitol.* 40; 181-186.
- OPITZ, C. D. SOLDATI., (2002).** "The glideosome: a dynamic complex powering gliding motion and host cell invasion by *Toxoplasma gondii*." *Mol Microbiol* 45(3): 597-604.
- OVIDO-BOYSO, J., VALDEZ-ALARCON, J. J., CAJERO-JUAREZ, M., OCHOA-ZARZOSA, A., LOPEZ-MEZA, J. E., BRAVO-PATINO, A., AND BAIZABAL-AGUIRRE, V. M., (2007).** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J Infect.* 54; 399-409.

- OWEN, M. R., CLARKSON, M. J., AND TREES, A. J. (1998). Acute phase toxoplasma abortions in sheep. *Vet Rec* 142, 480-2.
- P**ACKHAM AE, SVERLOW KW, CONRAD PA, LOOMIS EF, ROWE JD., (1998). A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*.5:467-473.
- PARKER, S.J., ROBERTS CW., ET AL., (1991). CD8+ T cells are the major lymphocyte subpopulation involved in the protective immune response to *Toxoplasma gondii* in mice. *Clin Exp Immunol*. 84(2): 207-12.
- PATTON S., JOHNSON S.S., PUCKETT K., (1990). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in nine populations of dairy goats: compared titers using modified direct agglutination and indirect hemagglutination, *J. Parasitol*. 76; 74-77.
- PAVLOVIC, I., IVANOVIC, S., (2005). Toxoplasmosis of goats and its role and importance in pathology of goat production. *J Anim Sci Biotechnol* . 21:123-126.
- PEPPER M, DZIERSZINSKY F, WILSON E, TAIT E, FANG Q, YAROVINSKY F, LAUFER TM, ROOS D, HUNTER CA., (2008). Plasmacytoid dendritic cells are activated by *Toxoplasma gondii* to present antigen and produce cytokines. *J. Immunol*. 180: 6229-6236.
- PINON, J. M.; DUMON, H.; CHEMLA, C.; FRANCK, J.; PETERSEN, E.; LEBECH, M.; ZUFFEREY, J.; BESSIERES, M. H.; MARTY, P.; HOLLIMAN, R.; JOHNSON, J.; LUYASU, V.; LECOLIER, B.; GUY, E.; JOYNSON, D. H.; DECOSTER, A.; ENDERS, G.; PELLOUX, H. & CANDOLFI, E. (2001). Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol* 39(6), 2267-2271.
- PITA GONDIM LF, BARBOSA HV, RIBEIRO FILHO CH, SAEKI H., (1999). Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. *Vet Parasitol.*;82:273-6.
- PLANT J W, RICHARDSON N, MOYLE G G., (1974). *Toxoplasma* infection and abortion in sheep associated with feeding of grain contaminated with cat faeces. *Australian Veterinary Journal*. 50: 19-21.
- PLATTNER F, YAROVINSKY F, ROMERO S, DIDRY D, CARLIER MF, SHER A, SOLDATI-FAVRE D., (2008). *Toxoplasma* profilin is essential for host cell invasion and TLR11-dependent induction of an interleukin-12 response. *Cell Host Microbe*. 3 : 77-87.
- PORTER, EM., BEVINS CL, GHOSH D., GANZ T., (2002). The multifaceted Paneth cell. *Cell Mol Life Sci*. 59:156-170.
- PRELEZOV, P., KOINARSKI, V. AND GEORGIEVA, D., (2008). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goats in the Stara Zagora Region. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 11: 113-119.
- PRIGIONE, I., FACCHETTI, P., LECORDIER, L., DESLEE, D., CHIESA, S., CESBRON-DELAUW, M. F. & PISTOIA, V. (2000). T cell clones raised from chronically infected healthy humans by stimulation with *Toxoplasma gondii* excretory-secretory antigens cross-react with live tachyzoites: characterization of the fine antigenic specificity of the clones and implications for vaccine development. *J Immunol* 164, 3741-3748.
- PUIJI WNA, KM, BOSOMPEN, EA CANACOO JM WASTLING, AKANMORI, BD., (2000). The prevalence of anti *Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Tropica*, 76: 21-26.
- PURNER, M. B., BERENS, R. L., NASH, P. B., VAN LINDEN, A., ROSS, E., KRUSE, C., KRUG, E. C., CURIEL, TJ., (1996). CD4-mediated and CD8-mediated cytotoxic and proliferative immune responses to *Toxoplasma gondii* in seropositive humans. *Infect Immun* 64 ; 4330-8.
- R**EGO, W.M.F., PAULA, N.R.O., VITOR, R.W.A., SILVA, R.A.B., DINIZ, B.L.M., SOUSA, M.M., COELHO, W.A.C., PINHEIRO, R.R., ALVES, F.S.F., CAVALCANTE, A.C.R., CARDOSO, J.F.S., (2016). Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in goats and sheep raised in the State of Piauí in northeast Brazil. *Small Ruminant Research*. 13 ; 156-165.
- RACHINEL, N., D. BUZONI-GATEL, et al. (2004). "The induction of acute ileitis by a single microbial antigen of *Toxoplasma gondii*." *J Immunol* 173(4): 2725-35.
- RADKE, J. R., B. STRIEPEN, M. N. GUERINI, M. E. JEROME, D. S. ROOS, M. W. WHITE. (2001). Defining the cell cycle for the tachyzoite

- stage of *Toxoplasma gondii*. *Mol Biochem Parasitol* 115:165-175.
- RAETZ, M., (2013).** Cooperation of TLR12 and TLR11 in the IRF8-dependent IL-12 response to *Toxoplasma gondii* profilin. *J. Immunol.* 191; 4818–4827.
- RAETZ, M., HWANG, S.H., WILHELM, C.L., KIRKLAND, D., BENSON, A., STURGE, C.R., MIRPURI, J., VAISHNAVA, S., HOU, B., DEFRANCO, A.L., GILPIN, C.J., HOOPER, L.V., YAROVINSKY, F., (2013).** Parasite-induced TH1 cells and intestinal dysbiosis cooperate in IFN-gamma-dependent elimination of Paneth cells. *Nat. Immunol.* 14; 136–142.
- RAGOZO AM, YAI LE, OLIVEIRA LN, DIAS RA, GONÇALVES HC, AZEVEDO SS, DUBEY JP, GENNARI SM., (2009).** Isolation of *Toxoplasma gondii* from goats from Brazil. *J Parasitol* 95:323-326.
- RAGOZO, A.M.A., YAI, L.E.O., OLIVEIRA, L.N., DIAS, R.A., DUBEY, J.P., GENNARI, S.M., (2008).** Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from sheep from São Paulo State, Brazil. *J. Parasitol.* 94; 1259–1263.
- RAKOFF-NAHOUM, S., PAGLINO, J., ESLAMI-VARZANEH, F., EDBERG, S. & MEDZHITOV, R. (2004).** Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 118, 229-241.
- RAMZAN M, AKHTAR M, HUSSAIN I, MUHAMMAD F, HISZCZYNSKA-SAWICKAA E, HAQ AU, MAHMOOD MS., (2009).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in the area of Rahim Yar Khan (Punjab). *Trop Anim Health Prod*; 41:1225-1229.
- REID H.W., BUXTON D., GARDINER A.C., POW I, FINLAYSON J., MACLEAN M.J., (1982).** Immunesuppression in toxoplasmosis: studies of lambs and sheep infected with louping-ill virus, *J.Comp. Pathol.* 92; 181-190.
- REIS E SOUSA C, HIENY S, SCHARTON-KERSTEN T, JANKOVIC D, CHAREST H, GERMAIN RN, SHER A., (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: 1819-1829.
- REIS E SOUSA C, YAP G, SCHULZ O, ROGERS N, SCHITO M, ALIBERTI J, HIENY S, SHER A., (1999).** Paralysis of dendritic cell IL-12 production by microbial products prevents infection-induced immunopathology. *Immunity.* 11 : 637-647.
- REIS E SOUSA, C., HIENY, S., SCHARTON-KERSTEN, T., JANKOVIC, D., CHAREST, H., GERMAIN, R. N. & SHER, A. (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; 1819-1829.
- REMINGTON JS. (1969).** The present status of the IgM fluorescent antibody technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J. Pediatr.* 75: 1116–1124.
- RENUKARADHYA GJ, ISLOOR S, RAJASEKHA, M., (2002).** Epidemiology, zoonotic aspects, vaccination and control/eradication of brucellosis in India. *J Vet Microbiol*; 90: 183-195.
- AL-MAJALI AM., (2005).** Seroepidemiology of caprine brucellosis in Jordan. *Small Rum Res*; 58: 13-18.
- RENUKARADHYA GJ, ISLOOR S, RAJASEKHA, M., (2002).** Epidemiology, zoonotic aspects, vaccination and control/eradication of brucellosis in India. *J Vet Microbiol*; 90: 183-195.
- REYNAL J-A. (2004).** Etude sérologique de maladies abortives non règlementées chez les isards et les ovins de la réserve de chasse et de faune sauvage d'Orlu., Thèse Méd. Vét., Toulouse, 202 p.
- RIEMANN H P, WILLADSEN C M, BERRY L J, BEHYMER D E, GARCIA Z V, FRANTI C E, RUPPANNER R., (1977).** Survey for *Toxoplasma* antibodies among sheep in Western United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 171(12): 1260–1264.
- RIEMANN, H.P., MEYER, M.E., THEIS, J.H., KELSO, G., BEHYMER, D.E., (1975).** Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *J. Pediatr.* 87; 573–576.
- ROBBEN, P. M.; MORDUE, D. G.; TRUSCOTT, S. M.; TAKEDA, K.; AKIRA, S. & SIBLEY, L. D., (2004).** Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. *J Immunol.* 172(6); 3686-3694.
- ROBERT-GANGNEUX, F.; COMMERCE, V.; TOURTE-SCHAEFER, C. & DUPOUY-CAMET, J. (1999),** Performance of a Western blot assay to compare mother and newborn anti-*Toxoplasma* antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18(9), 648-654.

- ROBERTS, C.W. GAZZINELLI, R.T. KHAN, I.A. NOWAKOWSKA, D., (2007).** Adaptive Immunity and Genetics of the Host Immune Response. *Esquivel and R. McLeod* 609- 720 CH 23.
- RODGER, S., BUXTON, D. (2006).** Toxoplasmosis in Sheep. *The Moredun Foundation, News Sheet* 4.
- RODGER, S.M., MALEY, S.W., WRIGHT, S.E., MACKELLAR, A., WESLEY, F., SALES, J., BUXTON, D., (2006).** Ovine toxoplasmosis: the role of endogenous transmission. *Vet. Rec.* 159, 768–772.
- RODRIGUEZ, P.E., MOLINA, J.M. HERNANDEZ, S., (1995).** Seroprevalence of goat toxoplasmosis on Grand Canary Island (Spain). *Preventive Veterinary Medicine.* 24: 229–234.
- ROERS A, SIEWE L, STRITTMATTER E, DECKERT M, SCHLÜTER D, STENZEL W, GRUBER AD, KRIEG T, RAJEWSKY K, MÜLLER W., (2004).** T cell-specific inactivation of the interleukin 10 gene in mice results in enhanced T cell responses but normal innate responses to lipopolysaccharide or skin irritation. *J Exp Med.* 200(10):1289–1297.
- RONET, C.; DARCHE, S.; DE MORAES, M. L.; MIYAKE, S.; YAMAMURA, T.; LOUIS, J. A.; KASPER, L.H. & BUZONI-GATEL, D., (2005).** NKT cells are critical for the initiation of an inflammatory bowel response against *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 175(2); 899-908.
- ROSSI, G.F., CABRAL, D.D., RIBEIRO, D.P., PAJUABA, A.C.A.M., CORREA, R.R., MOREIRA, R.Q., MINEO, T.W.P., MINEO, J.R., SILVA, D.A.O., (2011).** Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlandia, Minas Gerais, Brazil, by different serological methods. *Vet. Parasitol.* 175, 252–259.
- ROZETTE, L., DUMETRE, A., COUQUET, C. Y. ET DARDE, M. L. (2005).** Séroprévalence de la toxoplasmose chez des ovins et des bovins en Haute-Vienne. *Epidémiol. et santé anim.* 48:97-99
- SACKS, D., SHER, A., (2002).** "Evasion of innate immunity by parasitic protozoa." *Nat Immunol.* 3(11): 1041-7.
- SAEIJ, J.P.J.; BOYLE, J.P.; COLLER, S.; TAYLOR, S.; SIBLEY, L.D.; BROOKE-POWELL, E.T.; AJIOKA, J.W. BOOTHROYD, J.C., (2006).** Polymorphic secreted kinases are key virulence factors in toxoplasmosis. *Science* 314(5806), 1780-1783.
- SAEIJ, J. P. J.; COLLER, S.; BOYLE, J. P.; JEROME, M. E.; WHITE, M. W. & BOOTHROYD, J. C. (2007).** Toxoplasma co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature* 445(7125), 324-327.
- SAGUE, S.L., TATO, C., PURE, E., HUNTER, C.A., (2004).** The regulation and activation of CD44 natural killer (NK) cells and its role in the production of IFN-gamma. *J. Interf. Cytokine Res.* 24; 301–309.
- SAKSOUK., N., (2005).** Etude des mécanismes épigénétiques impliquées dans la kystogénèse chez le pathogène humain *Toxoplasma gondii*. Biochimie [q-bio.BM]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, Français.
- SALAMI M. AL., SIMPSON-MORGAN M.W., MORRIS B., (1985).** Haemopoiesis and the development of immunological reactivity in the sheep foetus, in: Morris B., Miyasaka M. (Eds.), *Immunology of Sheep*, Editiones (Roche), Basle, pp. 19-36.
- SALEK-ARDAKANI, S., ARRAND, J. R. & MACKETT, M. (2002).** Epstein-Barr virus encoded interleukin-10 inhibits HLA-class I, ICAM-1, and B7 expression on human monocytes: implications for immune evasion by EBV. *Virology* 304, 342-351.
- SAMRA, NA., MCCRINDLE, CME., PENZHORN, BL., CENCI-GOGA, B., (2007).** Seroprevalence of toxoplasmosis in sheep in South Africa. *J S Afr Vet Assoc.* 78(3):116-120.
- SANAD, M.M., AL-GHABBAN, A.J., (2007).** Serological survey on toxoplasmosis among slaughtered sheep and goats in Tabouk, Saudi Arabia. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 37, 329–340.
- SAYLES, P. C., RAKHMILEVICH, A. L. & JOHNSON, L. L. (1995).** Gamma delta T cells and acute primary *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J Infect Dis* 171, 249-252.
- SAYLES, P.C., GIBSON, G.W., NSON, L.L., (2000).** B cells are essential for vaccination induced resistance to virulent *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun.* 68(3), 1026-1033.
- SCANGA, C. A., J. ALIBERTI, D. JANKOVIC, F. TILLOY, S. BENNOUNA, E. Y. DENKERS, R. MEDZHITOV, AND A. SHER. (2002).** Cutting edge: MyD88 is required for resistance to *Toxoplasma gondii* infection and regulates parasite-induced IL-12 production by dendritic cells. *J Immunol.* 168:5997-6001.
- SCHARTON-KERSTEN, T. M.; YAP, G.; MAGRAM, J. SHER, A., (1997a).** Inducible nitric oxide is essential for host control of persistent but

- not acute infection with the intracellular pathogen *Toxoplasma gondii*. *J Exp Med*. 185(7); 1261-1273.
- SCHARTON-KERSTEN, T., CONTURSI, C., MASUMI, A., SHER, A. OZATO, K. (1997).** Interferon consensus sequence binding protein-deficient mice display impaired resistance to intracellular infection due to primary defect in interleukin 12 p40 induction. *J Exp Med* 186, 1523-1534.
- SCHLUTER, D., DECKERT-SCHLUTER, M., LORENZ, E., MEYER, T., ROLLINGHOFF, M. BOGDAN, C. (1999).** Inhibition of inducible nitric oxide synthase exacerbates chronic cerebral toxoplasmosis in *Toxoplasma gondii*-susceptible C57BL/6 mice but does not reactivate the latent disease in *T. gondii*-resistant BALB/c mice. *J Immunol* 162, 3512-3518.
- SCHULER, H. K. MATUSCHEWSKI., (2006).** "Regulation of apicomplexan microfilament dynamics by a minimal set of actin-binding proteins." *Traffic* 7(11): 1433-9.
- SCHULTHESS J., FOURREAU D., DARCHE S., MERESSE B., KASPER L, CERF--SHAHIDUZZAMAN, M., ISLAM, R., KHATUN, M.M., BATANOVA, T.A., KITO, K., TAKASHIMA, Y., (2011).** *Toxoplasma gondii* seroprevalence in domestic animals and humans in Mymensingh District, Bangladesh. *J. Vet. Med. Sci.* 73; 1375–1376.
- SCHULTHESS J., FOURREAU D., DARCHE S., MERESSE B., KASPER L, CERF-BENSUSSAN N. BUZONI-GATEL D., (2008).** Mucosal immunity in *Toxoplasma gondii* infection. *Parasite*. 15; 389-395.
- SCHWARTZMAN, J. D. L. D. AND SAFFER., (1992).** "How *Toxoplasma gondii* gets into and out of host cells."
- SCOTT, P. HUNTER, C. A., (2002).** Dendritic cells and immunity to leishmaniasis and toxoplasmosis. *Curr Opin Immunol*. 14(4); 466-470.
- SHAAPAN, R.M., EL-NAWAWI, F.A., TAWFIK, M.A.A., (2008).** Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. *Vet. Parasitol*. 153, 359–362.
- SHAHIDUZZAMAN, M., ISLAM, R., KHATUN, M.M., BATANOVA, T.A., KITO, K., TAKASHIMA, Y., (2011).** *Toxoplasma gondii* seroprevalence in domestic animals and humans in Mymensingh District, Bangladesh. *J. Vet. Med. Sci.* 73; 1375–1376.
- SHAO L, SERRANO D., MAYER L., (2001).** The role of epithelial cells in immune regulation in the gut. *Semin Immunol*. 13: 163–176.
- SHARIF M, GHOLAMI S, ZIAEI H, DARYANI A, LAKTARASHI B, ZIAPOUR SP, RAFIEI A, VAHEDI M. (2007).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. *Vet. J.* 174 : 422-424.
- SHARIF M, GHOLAMI SH, ZIAEI H, DARYANI A. LAKTARASHI B, ZIAPOUR S.P, RAFIEI A AND VAHEDI M., (2006).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep, and goats slaughtered for food in Mazandaran Province, Iran. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 5 (3); 188–190.
- SHARIF, M., GHOLAMI, SH., ZIAEI, H., DARYANI, A., LAKTARASHI, B., ZIAPOUR, SP., RAFIEI, A., VAHEDI, M., (2007).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. *Vet J.* 174: 422–424.
- SHARMA S, SANDHU KS, BAL MS, KUMAR H, VERMA S, DUBEY JP., (2008).** Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep, cattle and buffaloes in Punjab, India. *J Parasitol*. 94: 1174-1175.
- SHARMA S.P., BAIPOLEDI E.K., NYANGE J.F.C. TLAGAE L., (2003).** Isolation of *T. gondii* from goats with a history of reproductive disorders and the prevalence of *Toxoplasma* and chlamydial antibodies. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 70, 65-68.
- SHER, A., COLLAZZO, C., SCANGA, C., JANKOVIC, D., YAP, G. ALIBERTI, J., (2003).** Induction and regulation of IL-12- dependent host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunol. Res*. 27; 521–528.
- SHER, A., OSWALD, I. P., HIENY, S. & GAZZINELLI, R. T. (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, 3982-3989.
- SHEVACH, E. M. (2009).** Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity*. 30(5), 636-645.
- SIBLEY, L. D., ADAMS, L. B. & KRAHENBUHL, J. L. (1993).** Macrophage interactions in toxoplasmosis. *Res Immunol* 144, 38-40.

- SIBLEY, L. D., E. WEIDNER, et al. (1985).** "Phagosome acidification blocked by intracellular *Toxoplasma gondii*."
- SIBLEY, L. D., I. R. NIESMAN, ET AL. (1995).** "Regulated secretion of multi-lamellar vesicles leads to formation of a tubulovesicular network in host-cell vacuoles occupied by *Toxoplasma gondii*." 108(Part 4): 1669-1677.
- SIBLEY, LD., DG. MORDUE, C. SU, PM. ROBBEN, DK. HOWE., (2002).** Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357:81-88.
- SIBLEY, LD., WEIDNER, E., KRAHENBUHL, JL., (1985).** Phagosome acidification blocked by intracellular *Toxoplasma gondii*. *Nature*. 315; 416–419.
- SILVA, N. M.; RODRIGUES, C. V.; SANTORO, M. M.; REIS, L. F. L.; ALVAREZ-LEITE, J. I. &GAZZINELLI, R. T., (2002).** Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1. *Infect Immun*. 70(2); 859-868.
- SINGH, U., BREWER, J. L., AND BOOTHROYD, J. C., (2002).** Genetic analysis of tachyzoite to bradyzoite differentiation mutants in *Toxoplasma gondii* reveals a hierarchy of gene induction. *Mol.Microbiol*. 44(3): 721-733.
- SKINNER L.J., TIMPERLEY A.C., WIGHTMAN D., CHATTERTON J.M.W., HOYEN D.O., (1990).** Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goat owner's family, *Scand. J. Infect Dis* 22 359-3611. .
- SKJERVE E, WALDELAND H, NESBAKKEN T, KAPPERUD G., (1998).** Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Preventive Veterinary Medicin*. 35(3): 219–222.
- SOARES, H.S., AHID, S.M.M., BEZERRA, A.C.D.S., PENA, H.F.J., DIAS, R.A., GENNARI, S.M., (2009).** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Vet. Parasitol*. 160; 211–214.
- SOLDATI, D., J. F. DUBREMETZ, et al. (2001).** "Microneme proteins: structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*." *Int J Parasitol* 31(12): 1293-302.
- SON, E. S., SONG, K. J., SHIN, J. C. & NAM, H. W. (2001).** Molecular cloning and characterization of peroxiredoxin from *Toxoplasma gondii*. *Korean J Parasitol* 39, 133-141.
- SPEAR, W., D. CHAN, ET al. (2006).** "The host cell transcription factor hypoxia-inducible factor 1 is required for *Toxoplasma gondii* growth and survival at physiological oxygen levels." *Cell Microbiol* 8(2): 339-52.
- SPEER, C. A., CLARK, S. DUBEY, JP., (1998).** Ultrastructure of the oocysts, sporocysts and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol*. 84:505–512.
- STALHEIM, O. H.; HUBBERT, W. T.; BOOTHE, A. D.; ZIMMERMANN, W. J.; HUGHES, D. E.; BARNETT, D.; RILEY, J. L. & FOLEY, J. (1980).** Experimental toxoplasmosis in calves and pregnant cows. *Am J Vet Res* 41(1), 10-13.
- STEINFELDT, T.; KÖNEN-WAISMAN, S.; TONG, L.; PAWLOWSKI, N.; LAMKEMEYER, T.; SIBLEY, L. D.; HUNN, J. P. & HOWARD, J. C. (2010),** Phosphorylation of mouse immunity-related GTPase (IRG) resistance proteins is an evasion strategy for virulent *Toxoplasma gondii*. *PLoS Biol* 8(12), e1000576.
- STORMOEN, M., THARALDSEN, J., HOPP, P., (2012).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Norwegian dairy goats. *Acta Vet. Scand*. 54-75.
- STURGE, C.R., BENSON, A., RAETZ, M., WILHELM, C.L., MIRPURI, J., VITETTA, E.S., YAROVINSKY, F., (2013).** TLR-independent neutrophil-derived IFN γ is important for host resistance to intracellular pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110; 10711–10716.
- SU, C.; HOWE, D. K.; DUBEY, J. P.; AJIOKA, J. W. & SIBLEY, L. D. (2002),** Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(16), 10753-10758.
- SUBAUSTE C, KONIARIS A, REMINGTON J., (1991).** Murine CD8+ cytotoxic T lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii* infected cells. *J Immunol*. 147(11):3955-9.
- SUBAUSTE, C. S., CHUNG, J. Y., DO, D., KONIARIS, A. H., HUNTER, C. A., MONTROYA, J. G., PORCELLI, S. & REMINGTON, J. S. (1995).** Preferential activation and expansion of human peripheral blood gamma delta T cells in response to *Toxoplasma gondii* in vitro and their cytokine production and

- cytotoxic activity against *T. gondii*-infected cells. *J Clin Invest* 96, 610-619.
- SUKTHANA, Y., CHINTANA, T., SPATANAPONG, W., SIRIPHAN, C., LEKKLA, A., CHEABCHALRAD, R., (2001).** Predictive value of latex agglutination test in serological screening for *Toxoplasma gondii*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health.* 32; 314-318.
- SUZUKI Y, ORELLANA MA, SCHREIBER RD, REMINGTON JS., (1988).** Interferon- γ : the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science.* 240: 516-518.
- SUZUKI Y, SHER A, YAP G, PARK D, NEYER LE, LIESENFELD O, FORT M, KANG H, GUFWOLI E., (2000).** IL-10 is required for prevention of necrosis of the small intestine and mortality in both genetically resistant BALB/c and susceptible C57BL/6 mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 164: 5375-5382.
- SUZUKI Y, YANG Q, YANG SM, NGUYEN N, LIM S, LIESENFELD O, KOJIMA T, REMINGTON JS., (1996).** IL-4 is protective against development of toxoplasmic encephalitis. *J. Immunol.* 157: 2564-2569.
- TAIT, ED.; JORDAN, KA.; DUPONT, CD.; HARRIS, TH.; GREGG, B.; WILSON, E. H.; PEPPER, M.; DZIERSZINSKI, F.; ROOS, DS. HUNTER, CA., (2010).** Virulence of *Toxoplasma gondii* is associated with distinct dendritic cell responses and reduced numbers of activated CD8+ T cells. *J Immunol.* 185(3); 1502-1512.
- TAMIRU N., GETACHEW T., PATTON S., PREVOT F. & DORCHIES P., (2004).** Serological survey of toxoplasmosis in sheep and goats in Nazareth, Ethiopia. *Revue de Médecine Vétérinaire.* 155; 486-487.
- TANAKA T, RAHMAN MM, BATTUR B., (2010).** Parasitocidal activity of human alpha-defensin-5 against *Toxoplasma gondii* in vitro. *Cell Dev Biol Anim.* 46: 560-565
- TASAWAR Z, LASHARI MH, HANIF M, HAYAT CS., (2011).** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic goats in Multan, Punjab, Pakistan. *Pak J Sci;* 9: 24-27.
- TAYLOR, G. A., (2000).** Pathogen-specific loss of host resistance in mice lacking the IFN γ -inducible gene IGTP. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 97; 751-755.
- TAYLOR, GA., FENG, CG., SHER, A., (2004).** p47 GTPases: regulators of immunity to intracellular pathogens. *Immunol.* 4, 100-109.
- TAYLOR, S.; BARRAGAN, A.; SU, C.; FUX, B.; FENTRESS, S. J.; TANG, K.; BEATTY, W. L.; HAJJ, H. E.; JEROME, M.; BEHNKE, M. S.; WHITE, M.; WOOTTON, J. C. & SIBLEY, L. D. (2006),** 'A secreted serine-threonine kinase determines virulence in the eukaryotic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Science* 314(5806), 1776-1780.
- TENTER, .M., HECKEROTH, AR. WEISS, LM., (2000).** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30; 1217-1258.
- TENTER, A.M., (2009).** *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,* 104; 364-9.
- TESHALE S, DUMÈTRE A, DARDÉ ML, MERGA B, DORCHIES P., (2007).** Serological survey of caprine toxoplasmosis in Ethiopia: prevalence and risk factors. *Parasite* 14: 155-159.
- TOMAVO, S., (2001).** The differential expression of multiple isoenzyme forms during stage conversion of *Toxoplasma gondii*: an adaptive developmental strategy. *Int J Parasitol.* 31(10): 1023-31.
- TREES A.J., CROZIER S.J., BUXTON D., BLEWETT D.A., (1989).** Serodiagnosis of ovine toxoplasmosis: an assessment of the latex agglutination test and the value of IgM specific titres after experimental oocyst-induced infection, *Res. Vet. Sci.* 46 67-72.
- TRINCHIERI, G. (2003).** Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 3, 133-146.
- TUTUNCU, M., E. AYAZ, M. YAMAN & H. A. AKKAN., (2003).** The prevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep, goats and cattle detected by indirect haemagglutination (IHA) test in the region of Van, Turkey. *Indian Veterinary Journal.* 80; 401-403.
- TZANIDAKIS, N., MAKSIMOV, P., CONRATHS, F.J., KIOSSIS, E., BROZOS, C., SOTIRAKI, S., SCHARES, G., (2012).** *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices. *Vet. Parasitol.* 190, 340-348.
- UGGLA A., SJ6LAID L., DUBEY J.P., (1987).** Immunohistochemical demonstration of toxoplasmosis in fetuses and fetal membranes of sheep, *Am. J. Vet. Res.* 48 348-3511.

- UGGLA, A., BUXTON, D., (1990). Immune responses against *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infection in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. *Revue scientifique et technique*. 9; 441–462.
- URBAN JF JR, FAYER R, CHEN SJ, GAUSE WC, GATELY MK & FINKELMAN FD., (1996). IL-12 protects immunocompetent and immunodeficient neonatal mice against infection with *Cryptosporidium parvum*. *J Immunol*.156: 263–268.
- VAN DE LOO, F. A. & VAN DEN BERG, W. B. (2002). Gene therapy for rheumatoid arthritis. Lessons from animal models, including studies on interleukin-4, interleukin-10, and interleukin-1 receptor antagonist as potential disease modulators. *Rheum Dis Clin North Am* 28, 127-149.
- VAN DER PUJJE, WNA., BOSOMPEN, KM., CANACOO, EA., WASTLING, JM., AKANMORI, BD., (2000). The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Trop*. 76, 21–26.
- VANWORMER E, FRITZ H, SHAPIRO K, MAZET JA, CONRAD PA., (2013). Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human-animal-environment interface. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 36(3); 217–231.
- VAROL, C., ZIGMOND, E., JUNG, S., (2010). Securing the immune tightrope: mononuclear phagocytes in the intestinal lamina propria. *Nat Rev Immunol*. 10: 415–426.
- VERMEIL C, MAURIN J. (1953). Toxoplasmose et virus chorio-méningitique chez le caméléon (*Chamaelo vulgaris d.*). *Ann Parasitol Hum Comp.*, 28(5-6): 333-8.
- VILLEGAS, E. N., ELLOSO, M. M., REICHMANN, G., PEACH, R. & HUNTER, C. A. (1999). Role of CD28 in the generation of effector and memory responses required for resistance to *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 163, 3344-3353.
- VILLENA, I.; AUBERT, D.; BRODARD, V.; QUEREUX, C.; LEROUX, B.; DUPOUY, D.; REMY, G.; FOUADRINIER, F.; CHEMLA, C.; GOMEZ-MARIN, J. E. & PINON, J. M. (1999), Detection of Specific Immunoglobulin E during Maternal, Fetal, and Congenital Toxoplasmosis, *Journal of Clinical Microbiology* 37(11), 3487-3490.
- VITOR, R. W. A., A. M. FERREIRA, B. FUX., (1999). Antibody response in goats experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*. 81: 259–263.
- VOLLER, A., D. E. BIDWELL, A. BARTLETT, D. G. FLECK, M. PERKINS, AND B. OLADEHIN., (1976). A microplate enzyme-immunoassay for *Toxoplasma* antibody. *Journal of Clinical Pathology*. 29: 150–153.
- WALDELAND H., (1976). Toxoplasmosis in sheep. The reliability of a microtitre system in Sabin and Feldman's Dye Test. *Acta Veterinaria Scandinavica* 17: 426–431
- WALLACE. GD. (1972). Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. *J. Infect. Dis*. 126:545-7.
- WALLACE. GD., (1973). Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 22:956-64.
- WALLACE.GD., (1971). Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by fifth-flies. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 20:411-3.
- WALLON M, KODJIKIAN L, BINQUET C, GARWEG J, FLEURY J, QUANTIN C, PEYRON F., (2004). Long-term ocular prognosis in children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 113 : 1567-1572.
- WALLON, M.; LIOU, C.; GARNER, P. & PEYRON, F., (1999a). Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ* 318(7197), 1511-1514.
- WANG, Z., GE, W., HUANG, S.Y., LI, J., ZHU, X.O., LIU, Q., (2014a). Evaluation of recombinant granule antigens GRA1 and GRA7 for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infections in dogs. *BMC Vet. Res*. 10, 158
- WASTLING J.M., NICOLL S., BUXTON D., (1993). Comparison of two gene amplification methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in experimentally infected sheep, *J. Med. Microbiol*. 38; 360-365.
- WEI S, MARCHES F, BORVAK J, ZOU W, CHANNON J, WHITE M, RADKE J, CESBRON-DELAUW MF, CURIEL TJ., (2002). *Toxoplasma gondii*-infected human myeloid dendritic cells induce T-lymphocyte dysfunction and contact-dependent apoptosis. *Infect. Immun* 70: 1750-1760.
- WEISS, LM., KIM, K. (2000). The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. *Front Biosci*. 5D391-D405.
- WEISS, LM., KIM, K., (2007). *Toxoplasma gondii*. The Model Apicomplexan—Perspectives and

Methods. Elsevier Ltd. ISBN-13: 978-0-12-369542-0.

WERK, R. S. FISCHER (1982). "Short communication: Attempts to infect plant protoplasts with *Toxoplasma gondii*." 211-3.

WILHELM CL., YAROVINSK, F., (2014). Apicomplexan infections in the gut. *Parasite Immunology*. 36; 409-420.

WILLE, U., NISHI, M., LIEBERMAN, L., WILSON, EH., ROOS, DS., HUNTER, CA., (2004). IL-10 is not required to prevent immune hyperactivity during memory responses to *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol*. 26(5), 229-236.

WILLE, U., VILLEGAS, E. N., STRIEPEN, B., ROOS, D. S. HUNTER, C. A. (2001). Interleukin-10 does not contribute to the pathogenesis of a virulent strain of *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 23, 291-296.

WILSON EH, WILLE-REECE U, DZIERSZINSKI F, HUNTER CA., (2005). A critical role for IL-10 in limiting inflammation during toxoplasmic encephalitis. *J. Neuroimmunol*. 165: 63-74.

WILSON, DC.; MATTHEWS, S. YAP, GS., (2008). IL-12 signaling drives CD8+ T cell IFN γ production and differentiation of KLRG1+ effector subpopulations during *Toxoplasma gondii* Infection. *J Immunol*. 180(9), 5935-5945.

WITOWSKI J, KSIAZEK K, JÖRRES A., (2004). Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses. *Cell. Mol. Life Sci*. 61: 567-579.

WOLFE B., (2003). Toxoplasmosis. In: Fowler ME, Zoo and Wild Animal Medicine 5Th ed. WB Saunders company. 782p: 745-749.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE), (2012). Principles of validation of diagnostic assays for infectious disease. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. OIE, Paris, France, pp. 1-18.

XU, P., LI, X., TANG, F., LIU, YH., KOU, X., ZHAO, ML., LI, B., GUO, L., LIU, XG., ZHAO, Q., (2015). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in Jinzhou, Northeastern. China. *Tropical Biomedicine*, 32(3); 563-567.

YAMAMOTO, M.; STANDLEY, D. M.; TAKASHIMA, S.; SAIGA, H.; OKUYAMA, M.; KAYAMA, H.; KUBO, E.; ITO, H.; TAKAURA, M.; MATSUDA, T.; SOLDATI-FAVRE, D. & TAKEDA, K. (2009), A single

polymorphic amino acid on *Toxoplasma gondii* kinase ROP16 determines the direct and strain-specific activation of Stat3. *J Exp Med* 206(12), 2747-2760.

YANG, TH., F. AOSAI, ET AL., (1995). "Enhanced cytotoxicity of IFN- γ -producing CD4+ cytotoxic T lymphocytes specific for *T. gondii*-infected human melanoma cells." *J Immunol*. 154(1): 290-8.

YAP, G. S. SHER, A. (1999). Effector cells of both nonhemopoietic and hemopoietic origin are required for interferon (IFN)- γ - and tumor necrosis factor (TNF)- α dependent host resistance to the intracellular pathogen, *Toxoplasma gondii*. *J Exp Med* 189, 1083-1092.

YAP, GS. SHER., A., (1999). Cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii*: initiation, regulation and effector function. *Immunobiology*. 201(2): 240-7.

YAP, GS., SHAW, MH., LING, Y., SHER, A., (2006). Genetic analysis of host resistance to intracellular pathogens: lessons from studies of *Toxoplasma gondii* infection. *Microbes Infect*. 8; 1174-8.

YAROVINSKY F, KANZLER H, HIENY S, COFFMAN RL, SHER A., (2006). Toll-like receptor recognition regulates immunodominance in an antimicrobial CD4+ T cell response. *Immunity*. 25: 655-664.

YAROVINSKY F, ZHANG D, ANDERSEN JF, BANNENBERG GL, SERHAN CN, HAYDEN MS, HIENY S, SUTTERWALA FS, FLAVELL RA, GHOSH S, SHER A., (2005). TLR11 activation of dendritic cells by protozoan profilin-like protein. *Science*. 308: 1626-1629.

YAROVINSKY F., (2008). Toll-like receptors and their role in host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunol. Lett*. 119: 17-21.

YAROVINSKY F., (2014). Innate Immunity To *Toxoplasma gondii* Infection. *Nature Reviews*. 109-121.

YAROVINSKY, F., SHER, A., (2006). Toll-like receptor recognition of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* .36; 255-9.

YE P, RODRIGUEZ FH, KANALY S, STOCKING KL, SCHURR J, SCHWARZENBERGER P, OLIVER P, HUANG W, ZHANG P, ZHANG J, SHELLITO JE, BAGBY GJ, NELSON S, CHARRIER K, PESCHON JJ, KOLLS JK., (2001). Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating

factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J. Exp. Med.* 194: 519-527.

YOUNIS, E.E., ABOU-ZEID, N.Z., ZAKARIA, M., MAHMOUD, M.R., (2015). Epidemiological studies on toxoplasmosis in small ruminants and equines in Dakahlia governorate, Egypt. *Assiut Vet. Med. J.* 61; 22–31.

YU J, XIA Z, LIU Q, LIU J, DING J, ZHANG W., (2007). Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. *Vet. Parasitol* 143 :79-85.

ZHANG, D., WANG, Z., FANG, R., NIE, H., FENG, H., ZHOU, Y., ZHAO, J., (2010). Use of protein AG in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in four species of animals. *Clin. Vaccine Immunol.* 17; 485–486.

ZHANG, Y., REINBERG, D., (2001). Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev.* 15(18): 2343-2360.

ZHANG, Y., DENKERS, EY., (1999). Protective role for interleukin-5 during chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Infect. Immun.* 67; 4383–4392.

ZHAO, GH., ZHANG, MT., LEI, LH., SHANG, CC., CAO, DY., TIAN, TT., LI, J., XU, JY., YAO, YL., CHEN, DK., ZHU, XQ., (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in dairy goats in Shaanxi Province, Northwestern China. *Parasit Vectors*; 4: 47-51.

ZHAO, YO., KHAMINETS, A., HUNN, JP. HOWARD, JC., (2009). Disruption of the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole by IFN γ -inducible immunity-related GTPases (IRG proteins) triggers necrotic cell death. *PLoS Pathog.* 5; 6-13.

ZHOU P, CHEN Z, LI HL, ZHENG H, HE S, LIN RQ, ZHU XQ., (2011). *Toxoplasma gondii* infection in humans in China. *Parasites & Vectors*, 4, 165.

ZIA-ALI N, FAZAEI A, KHORAMIZADEH M, AJZENBERG D, DARDE M, KESHAVARZ-VALIAN H., (2007). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from different hosts in Iran. *Parasitol Res.* 101(1):111–115.

ZOU, F., YU, X., YANG, Y., HU, S., CHANG, H., YANG, J., DUAN, G., (2015). Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in buffaloes, sheep and goats in Yunnan province, Southwestern China. *Ira J of Parasitol.* 10(4); 648–651.

Annexe

Annexe I : Fiche de renseignement sur l'animal prélevé

Date : Wilaya :

Commune : N° d'élevage :

Identification de l'animal et symptômes :

Code de l'animale : Race :

Sexe : Age :

Origine de l'animale : acheté natif

Gestation : Oui Non

Avortement (femelle) : Oui Non

Annexe II : Questionnaire à l'intention des éleveurs

Date :

Willaya :

Commune :

N° d'élevage :

Nom d'éleveur : Adresse :

N° Tel :

Description d'élevage

Type d'élevage : intensif extensif semi intensif

Présence de chats : Oui Non

Alimentation : Foin Son Pâturage

Cas d'avortement : Oui Non

Annexe III : Examen sérologique des sérums par ELISA indirect

ID Screen[®] Toxoplasmosis Indirect Multi-species (IDvet, Grabels, France).

TOXOS-MS ver 1014 FR

Réactifs:

Microplaques (de 96 puits) sensibilisées avec l'antigène P30 (SAG1) spécifique de *Toxoplasma gondii*

Conjugué concentré (10X) (marqué à la peroxydase HRP)

Contrôle positif

Contrôle négatif

Tampon de dilution 2

Tampon de dilution 3

Solution de lavage concentrée (20X)

Solution de révélation

Solution d'arrêt (0,5 M)



Figure : Différents composants de kit iELISA pour *T. gondii*

Protocole

- Distribuer 90µl de Tampon de dilution 2 dans chaque puits
- Distribuer :

10µl de Contrôle positif dans les cupules C1 et D1

10µl de Contrôle négatif dans les cupules A1 et B1

10µl de chaque échantillon à tester dans les autres cupules

- Incuber 45 min à 21°C

- Laver 3 fois chaque cupule avec 300µl de solution de lavage
- Distribuer 100µl de conjugué 1X dans chaque cupule (après dilution de conjugué 10X dans le tampon de dilution 3)
- Incuber 30 min à 21°C
- Laver 3 fois chaque cupule avec 300µl de solution de lavage
- Distribuer 100µl de solution de révélation dans chaque cupule
- Incuber 15 min à 21°C à l'obscurité
- Distribuer 100µl de solution d'arrêt dans chaque cupule
- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.



Figure : Distribution des échantillons dans les cupules.

Validation

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0,350
- Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DO_{CP}) et la moyenne des contrôles négatifs (DO_{CN}) est supérieur à 3,50.

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage S/P

$$S/P\% = (DO_{\text{échantillon}} / DO_{CP}) \times 100$$

Résultat	Statut
$S/P\% \leq 40\%$	Négatif
$40\% < S/P\% < 50\%$	Douteux
$50\% \leq S/P\% < 200\%$	Positif
$S/P\% \geq 200\%$	Infection Aigue

Annexe IV : Examen sérologique des sérums par LAT

Toxo-Latex ® (SPINRER EACT, S. A. Ctra. Santa coloma, Espagne)

Réactifs Toxo-Latex:

- Réactif 1 ; Les particules de latex en suspension adsorbés avec de l'antigène soluble de *T. gondii*.
- Réactif 2 ; Contrôle positif sérums animal contenant au moins 4UI/ml d'anti corps anti *T. gondii*.
- Réactif 3 ; Contrôle négatif contenant le sérum animal.

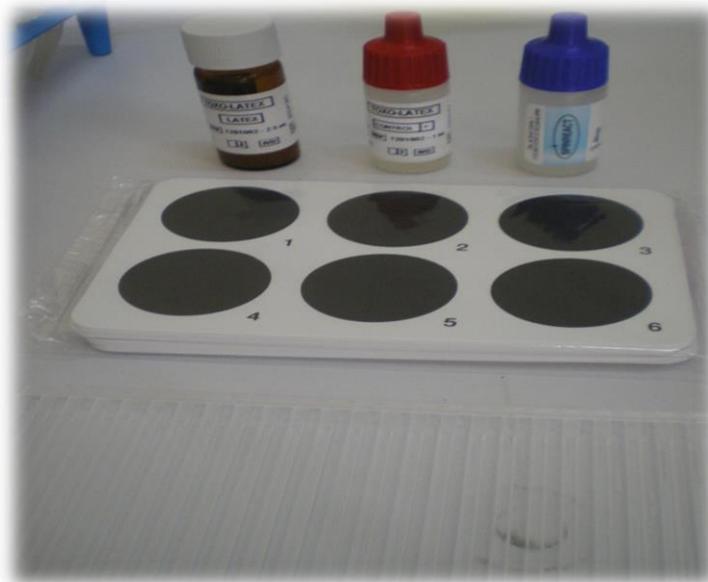


Figure : Différents composants du kit TOXO-Latex.

Procédure:

Contrôler les réagents jusqu'à ce qu'ils atteignent la température ambiante, puis secouer doucement, en particulier le réactif 1 pour disperser les particules de latex. 50 µl du sérum d'échantillon ont été pipetés dans un cercle de la glissière en plastique, 25 µl d'antigène *Toxoplasma* ont été ajoutés, mélangés et secoués pendant 4 minutes à l'aide d'un rotateur.

Lecture et interprétation:

Les résultats ont été lus comme suit:

Réaction négative: un aspect homogène doit être interprété comme l'absence d'anticorps.

Réaction positive: une agglutination claire doit être interprétée comme une présence d'anticorps anti-*Toxoplasma*.

Un résultat positif se présente avec une formation d'un voile circulaire opaque dont le diamètre est égal ou supérieur à la moitié du diamètre du puits. Cette formation de voile

s'explique par l'agglutination qui se crée entre les antigènes de surface de *T. gondii* et les anticorps spécifiques.

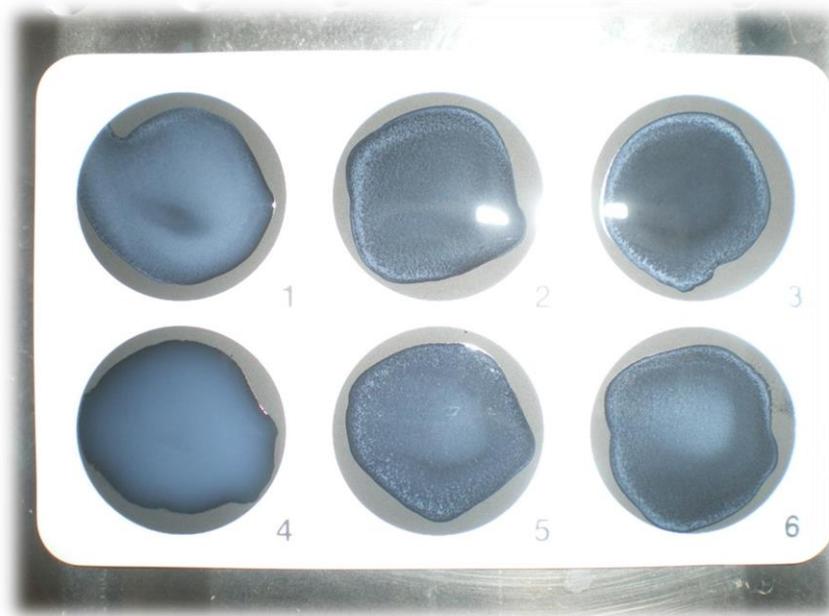


Figure : Formation d'agglutinats dans des sérums positifs (Contrôle négatif n°4)