

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

École Nationale Supérieure Vétérinaire

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences

En Sciences Vétérinaires

Thème :

Etude épidémiologique de l'exposition à *Toxoplasma gondii* chez les chevaux en Algérie et son impact sur la santé publique

Présentée par : OUSLIMANI Sabrina Fazia

Soutenue le : 08/10/2020

Membres du jury :

Président :
Directrice de thèse
Examineur
Examineur

Pr M. AISSI
Pr F. GHALMI
Pr R. TRIKI YAMANI
Dr A. LAATAMNA

Professeur
Professeur
Professeur
MCA

ENSV-Alger.
ENSV-Alger
ISV-Blida 1
Université de Djelfa

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Il me sera très difficile de nommer tous ceux qui de loin ou de près m'ont aidée à mener cette thèse à son terme. Qu'ils soient tous remerciés ici, même si leurs noms ne sont pas mentionnés.

Je voudrais tout d'abord remercier grandement ma Directrice de thèse, le Professeur Ghalmi Farida, pour toute son aide, son appui scientifique, son soutien et ses précieux conseils au cours de l'élaboration de cette thèse.

Mes remerciements vont également au professeur AISSI Meriem pour le privilège et l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider notre jury de thèse.

Je remercie également le professeur TRIKI YAMANI Rachid et le docteur LAATAMNA Abdelkarim pour avoir accepté de juger notre travail et d'avoir pris le temps de le lire et d'y avoir accordé du temps.

Je remercie vivement le personnel de l'INMV pour m'avoir aidée à réaliser mes analyses au sein de leur laboratoire.

Il m'est impossible d'oublier le Professeur Harhoura Khaled pour m'avoir aidée à accéder à l'INMV afin de réaliser les manipulations, mais aussi pour m'avoir toujours encouragée à soutenir au plus tôt. Merci encore.

Mes remerciements vont également à la direction et à l'ensemble de mes collègues qui ont toujours été là pour moi en particulier Sofiane Boudjallaba pour son aide précieuse.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes parents à qui je dois tout, qui m'ont toujours accompagnée dans ma vie, qui ont su me guider et me conseiller, qui ne m'ont jamais rien refusé. Je prie Dieu tous les jours pour qu'il les garde auprès de moi. Je vous aime.

A ma sœur qui a toujours été là pour moi, ma jackbalou à moi.

A mon amour de mari qui me soutient dans tout ce que j'entreprends.

A mon fils Rayan, prunelle de mes yeux.

A mon beau-frère et à mes petites nièces adorées.

A tous mes proches, ma belle-famille, mes collègues et amis (es) qui m'ont toujours épaulée et soutenue.

Résumé:

Le présent travail s'est donné comme objectif principal d'apporter une contribution originale à la connaissance de l'infection par *Toxoplasma gondii* chez le cheval en Algérie ainsi que les facteurs de risque associés. Au total, 736 échantillons de sang ont été prélevés sur des chevaux de races, de sexes, de couleurs de robes et d'âges différents. Tous les chevaux de cette étude provenaient de diverses fermes, hippodromes et centres équestres. La séroprévalence a été étudiée par trois méthodes sérologiques différentes: l'immunofluorescence indirecte (IFAT) comme méthode de référence, le dosage immuno-enzymatique (ELISA) et le test d'agglutination au latex (LAT). Sur les 736 sérums, 178 (24,18%, IC 95% : 21.02 - 27.34) étaient positifs par le test IFAT, 133 (18,07%, IC 95% : 15.23 - 20.91) par le test LAT et 317 (43,07%, IC 95% : 39.42 - 46.72) par la technique ELISA. La différence dans les séroprévalences obtenues a été statistiquement significative ($p < 0,05$).

Pour chaque méthode la sensibilité, la spécificité, la concordance et le coefficient kappa de Cohen ont été calculés par rapport à la technique IFAT à la dilution 1/64 prise comme référence. Les résultats ont montré que pour la technique ELISA, la sensibilité était de 100% et la spécificité de 75.1%. Quant au test LAT, la sensibilité s'est révélée plus faible (73%) alors que la spécificité s'est montrée plus élevée (99,5%). Sur base de ces résultats, on constate que si on prend en compte à la fois la sensibilité et la spécificité de chaque méthode sérologique, on conclut que le test ELISA s'est avéré être le plus sensible alors que le test du LAT est plus spécifique.

L'analyse de la concordance entre les trois tests a révélé que l'IFAT et le test LAT donnaient une meilleure concordance (kappa 0,79). Ce résultat indique que la méthode LAT et la méthode IFAT avaient des capacités similaires dans la détection des anticorps anti- *T. gondii* provenant de sérums de chevaux naturellement infectés.

L'analyse statistique des facteurs de risque basée sur les résultats du test IFAT a permis d'identifier un certain nombre de facteurs susceptibles d'influencer la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* comme l'habitat des chevaux, l'âge, le sexe, la robe, la race ou encore le dispositif d'abreuvement.

En conclusion, les résultats obtenus dans notre étude ont indiqué que *T. gondii* est présent chez les chevaux dans toute l'Algérie et représente donc un risque pour la santé humaine et animale, ce qui souligne la nécessité d'augmenter la vigilance et les mesures préventives contre cette maladie non seulement pour protéger les chevaux mais aussi pour limiter la propagation du parasite.

Mots clés : Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, Chevaux, ELISA, IFAT, LAT, séroprévalence, facteurs de risque

Abstract:

The main objective of this work is to make an original contribution to understanding the infection by *Toxoplasma gondii* in horses in Algeria as well as the associated risk factors. A total of 736 blood samples were taken from horses of different breeds, gender, coat colors and ages. All the horses in this study came from various farms, racing courses, and equestrian centers. Seroprevalence was studied by three different serological methods: indirect immunofluorescence (IFAT) as the reference method, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and latex agglutination test (LAT). Of the 736 sera, 178 (24.18%, CI 95%: 21.02 - 27.34) were positive by the IFAT test, 133 (18.07%, CI 95%: 15.23 - 20.91) by the LAT test and 317 (43, 07%, CI 95%: 39.42 - 46.72) by the ELISA technique. The difference in the seroprevalences obtained was statistically significant ($p < 0.05$).

For each method, sensitivity, specificity, concordance and Cohen's kappa coefficient were calculated relative to the IFAT technique at the 1/64 dilution taken as a reference. The results showed that for the ELISA technique, the sensitivity was 100% and the specificity was 75.1%. As for the LAT test, the sensitivity was found to be lower (73%) while the specificity was higher (99.5%). Based on these

results, we see that if we take into account both the sensitivity and the specificity of each serological method, we see that the ELISA test has been shown to be the most sensitive while the LAT test is more specific.

Analysis of the agreement between the three tests revealed that the IFAT and the LAT test gave a better agreement (κ 0.79). This result indicates that the LAT method and the IFAT method had similar capacities in the detection of anti-*T. gondii* antibodies from sera from naturally infected horses.

The statistical analysis of the risk factors based on the results of the IFAT test made it possible to identify a certain number of factors likely to influence the seroprevalence in relation to *T. gondii* such as the habitat of the horses, the age, gender, colors, breed or even the type of watering.

In conclusion, the results obtained in our study indicated that *T. gondii* is present in horses throughout Algeria and therefore represents a risk for human and animal health, which underlines the need to increase vigilance and measures preventive measures against this disease not only to protect horses but also to limit the spread of the parasite.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, Horses, ELISA, IFAT, LAT, seroprevalence, risk factors

ملخص:

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقديم مساهمة أصلية في معرفة الإصابة بالتوكسوبلازما جوندي لدى الخيول في الجزائر بالإضافة إلى عوامل الخطر المرتبطة بها. تم أخذ ما مجموعه 736 عينة دم من خيول من سلالات، جنس، ألوان، وأعمار مختلفة. جاءت جميع الخيول في هذه الدراسة من مختلف المزارع، مضامير السباق ومراكز الفروسية. تمت دراسة الانتشار المصلي بثلاث طرق مصلية مختلفة: التآلق المناعي غير المباشر (IFAT) كطريقة مرجعية، قياس التركيز المناعي الإنزيمي (ELISA) واختبار تلامص اللاتكس (LAT). من بين 736 مصلاً، كان 178 (24,18%، 21.02 - 27.34 IC 95% : 21.02 - 27.34) إيجابياً باختبار IFAT، 133 (18,07%، 15.23 - 20.91 IC بواسطة اختبار LAT و 317 (43,07%، 39.42 - 46.72 IC بتقنية ELISA). كان الاختلاف في الانتشار المصلي ذو دلالة إحصائية ($P < 0.05$).

لكل طريقة، تم حساب الحساسية، النوعية، التوافق ومعامل كابا كوهين بالنسبة لتقنية IFAT عند التخفيف 64/1 الذي تم اعتماده كمرجع. أظهرت النتائج أن حساسية تقنية ELISA كانت 100% والنوعية 75.1%. أما اختبار LAT فقد وجد أن الحساسية كانت أقل (73%) بينما كانت النوعية أعلى (99.5%). بناءً على هذه النتائج، نرى أنه إذا أخذنا في الاعتبار كل من حساسية وخصوصية كل طريقة مصلية، فإننا نستنتج أن اختبار ELISA قد ثبت أنه الأكثر حساسية بينما يكون اختبار LAT أكثر تحديداً.

كشف تحليل التوافق بين الاختبارات الثلاثة أن IFAT واختبار LAT أعطيا توافقاً أفضل (κ 0.79). تشير هذه النتيجة إلى أن طريقة LAT وطريقة IFAT لهما قدرات مماثلة في اكتشاف الأجسام المضادة لـ *T. gondii* من الأمصال المأخوذة من الخيول المصابة بشكل طبيعي.

أتاح التحليل الإحصائي لعوامل الخطر بناءً على نتائج اختبار IFAT إمكانية تحديد عدد معين من العوامل التي من المحتمل أن تؤثر على الانتشار المصلي لـ *T. gondii* مثل موطن الخيول، العمر، الجنس، اللون، السلالة أو حتى جهاز الشرب.

في الخلاصة، أشارت النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا إلى أن *T. gondii* موجود في الخيول في جميع أنحاء الجزائر وبالتالي يمثل خطراً على صحة الإنسان والحيوان، مما يؤكد الحاجة إلى زيادة اليقظة والتدابير وقائية ضد هذا المرض ليس فقط لحماية الخيول ولكن أيضاً للحد من انتشار الطفيلي.

الكلمات الرئيسية: داء المقوسات، التوكسوبلازما جوندي، الخيول، ELISA، IFAT، LAT، *T. gondii*، الانتشار المصلي، عوامل الخطر

Sommaire

Introduction	1
I Étude du parasite	3
I.1 Définition et importance	3
I.2 Historique	4
I.3 Classification	5
I.4 Caractères morphologiques	5
I.4.1 Tachyzoites (Forme végétative)	6
I.4.2 Bradyzoïte (Forme d'enkystement)	6
I.4.3 Sporozoïte :	7
I.5 Cycle évolutif	8
I.5.1 Phase asexuée	8
I.5.2 Phase sexuée	9
I.5.3 Phase libre	10
I.6 Génotypes et virulence	11
I.6.1 Génotype I	11
I.6.2 Génotype II	11
I.6.3 Génotype III	11
I.6.3.1 Cultures cellulaires (in vitro)	13
II Épidémiologie	15
II.1 Épidémiologie descriptive	15
II.2 Épidémiologie analytique	15
II.2.1 Sources de parasites	15
II.2.2 Facteurs de réceptivité	16
II.2.2.1 Espèce	16
II.2.2.2 Âge	16
II.2.2.3 Immunodépression	16
II.2.3 Facteurs favorisants	16
II.2.3.1 Présence de félinés	16
II.2.3.2 Mode de vie et alimentation	17
II.2.3.3 Effets du climat	17
II.2.3.4 Modes de contamination et de transmission	17

II.2.3.4.1	Contamination par ingestion d’oocystes _____	18
II.2.3.4.2	Contamination via les bradyzoïtes contenus dans les kystes _____	19
II.2.3.4.3	Contamination par les tachyzoïtes _____	19
II.2.3.5	Viabilité et stabilité _____	20
II.3	Physiopathologie de la toxoplasmose _____	23
II.4	Réponse immunitaire _____	24
II.4.1	Réponse cellulaire _____	24
II.4.2	Réponse humorale _____	25
III	<i>Incidence de la toxoplasmose</i> _____	26
III.1	Incidence chez l’homme _____	26
III.2	Incidence chez l’animal _____	27
III.2.1	Ruminants _____	27
III.2.2	Équidés _____	30
IV	<i>Toxoplasmose clinique</i> _____	31
IV.1	Toxoplasmose humaine _____	31
IV.1.1	Toxoplasmose acquise post-natale du sujet immunocompétent _____	31
IV.1.2	Toxoplasmose acquise chez l’immunodéprimé _____	32
IV.1.3	Toxoplasmose cérébrale _____	32
IV.1.4	Localisation oculaire _____	33
IV.1.5	Localisation pulmonaire _____	33
IV.1.6	Toxoplasmose congénitale _____	33
IV.2	Toxoplasmose animale _____	34
IV.2.1	Chez les félins _____	34
IV.2.2	Toxoplasmose chez les petits ruminants _____	36
IV.2.3	Toxoplasmose chez les bovins _____	36
IV.2.4	Toxoplasmose chez la volaille _____	37
IV.2.5	Toxoplasmose chez les rongeurs _____	37
IV.2.6	Toxoplasmose chez le porc _____	37
IV.2.7	Toxoplasmose chez le cheval _____	38
IV.2.7.1	Risques liés à la consommation de viande chevaline _____	39
V	<i>Diagnostic de la toxoplasmose</i> _____	40
V.1	Diagnostic étiologique _____	40

V.2	Diagnostic clinique	40
V.3	Diagnostic de laboratoire	41
V.3.1	Diagnostic parasitologique	41
V.3.1.1	Examen direct	41
V.3.1.2	Inoculation à la souris ou bio-essai	42
V.3.1.3	Biologie moléculaire	43
V.3.1.4	Examen coprologique	43
V.3.2	Diagnostic sérologique	43
V.3.2.1	Dye test : test de lyse (test de Sabin et Feldman)	44
V.3.2.2	Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT)	44
V.3.2.3	Réactions d'agglutination	45
V.3.2.3.1	Agglutination directe classique	46
V.3.2.3.2	Agglutination directe sensibilisée IgG	46
V.3.2.3.3	Agglutination directe haute sensibilité (ADHS)	46
V.3.2.3.4	Réaction ISAGA (Immuno-Sorbent Agglutination Assay)	47
V.3.2.4	ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)	47
V.3.2.5	Techniques d'agglutination indirecte	48
V.3.2.5.1	Héماغglutination passive= indirecte	48
V.3.2.5.2	Agglutination de particules de latex :	48
V.3.2.6	Western Blot (WB)	48
VI	<i>Prophylaxie de la toxoplasmose</i>	50
VI.1	Prophylaxie sanitaire	50
VI.1.1	Chez les animaux	50
VI.1.2	Chez les humains	51
VI.1.2.1	Prévention primaire	51
VI.1.2.2	Prévention secondaire	53
VI.2	Prophylaxie médicale	53
VI.2.1	Chez les animaux	53
VI.2.2	Chez l'homme	54
VII	<i>Traitement</i>	55
VII.1	Macrolides	55
VII.2	Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique	55

VII.2.1	Inhibiteurs de la déshydrofolate réductase	55
VII.2.1.1	Pyriméthamine (Malocide®) :	55
VII.2.1.2	Triméthoprim :	56
VII.2.1.3	Sulfamides :	56
VII.2.2	Associations :	56
Matériel et méthodes		58
I.1	Plan d'échantillonnage et étude de zone :	58
I.2	Prélèvement de sang :	60
I.3	Animaux et facteurs de risque :	61
I.4	Analyses sérologiques :	64
I.4.1	Indirect fluorescent antibody test IFAT (HOME) :	64
I.4.1.1	Culture <i>in vitro</i> de <i>T. gondii</i>	64
I.4.1.1.1	Préparation des Tachyzoïtes :	64
Objectif		64
Matériel		64
Méthode :		65
I.4.1.2	Déroulement de la méthode IFAT	66
Principe		66
Matériel requis		67
Méthode utilisée		67
I.4.2	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA)	68
Procédure :		68
Lecture et interprétations		68
I.4.3	Test d'agglutination au latex (LAT) :	69
Principe du test		69
Réactifs Toxo-Latex:		70
Procédure		70
Lecture et interprétation :		70
I.5	Analyses statistiques :	70
I	Séroprévalence selon la méthode sérologique	73
Comparaison des méthodes sérologiques :		76
		.
		78

II Séroprévalence et facteurs de risques :	78
1. Séroprévalence selon habitat	80
2. Séroprévalence selon l'âge	81
3. Séroprévalence selon le sexe	82
4. Séroprévalence selon la race	83
5. Séroprévalence selon la robe	84
6. Séroprévalence selon l'eau de boisson	86
7. Séroprévalence selon les wilayas	87
Discussion	90
Conclusion	99

Liste des Figures

Figure 1 : Le scientifique Charles Nicolle (1866-1936) impliqué dans la découverte de <i>Toxoplasma gondii</i> .	4
Figure 2 : Le rongeur <i>Ctenodactylus gundi</i> .	4
Figure 3 : Le scientifique Alfonso Splendore (1871-1953).	4
Figure 4 : Ultrastructure du tachyzoïte de <i>Toxoplasma gondii</i> .	6
Figure 5 : Kystes de <i>Toxoplasma</i> . (A) Observation en immunofluorescence indirecte de la paroi d'un kyste issu d'un cerveau de souris infectée depuis deux mois par le toxoplasme. (B) Observation en microscopie électronique à balayage d'un kyste de cerveau de souris infectée. La paroi du kyste a été partiellement détruite et les bradyzoïtes contenus dans le kyste sont donc visibles.	7
Figure 6 : Oocystes sporulés de <i>Toxoplasma gondii</i> . Oocystes obtenus à partir des matières fécales de chat après inoculation expérimentale.	7
Figure 7 : Oocystes non-sporulés.	8
Figure 8 : Cycle évolutif de <i>Toxoplasma gondii</i> .	10
Figure 9 : Effet cytopathogène de <i>T.gondii</i> maintenu sur cellules Vero (X 200).	14
Figure 10 : Voies de transmission de <i>Toxoplasma gondii</i> . Un hôte peut s'infester horizontalement par ingestion d'oocystes ou de kystes tissulaires, ou encore verticalement par transmission transplacentaire.	18
Figure 11 : adénopathie cervicale chez un sujet immunocompétent.	31
Figure 12 : Toxoplasmose cérébrale chez un patient de 36 ans atteint du VIH. Les lésions multiples sont mises en évidence par un balayage à résonance magnétique.	33
Figure 13 : manifestation lors de toxoplasmose congénitale.	34
Figure 14 : Cytologie d'une ponction à l'aiguille fine chez un chat présentant une toxoplasmose pulmonaire avec consolidation pulmonaire : présence de nombreux tachyzoïtes et kystes intra et extracellulaires.	35
Figure 15 : Chat atteint de toxoplasmose et présentant une myosite liée à la présence de kystes de <i>T. gondii</i> . Le chat présentait un décubitus latéral, une incapacité à se lever et une sévère hyperesthésie musculaire.	35
Figure 16 : Fœtus momifié après contamination de la maman par <i>T.gondii</i> .	36
Figure 17 : Uvéïte chez un cheval.	38
Figure 18 : Stades de <i>T. gondii</i> visualisés par microscopie optique. A. Tachyzoïtes extracellulaires du péritoine d'une souris sept jours après l'infection, colorées par H&E. (63x) B. Réplication des parasites à l'intérieur d'un monocyte, colorée avec H&E. (63x) C. Bradyzoïtes trouvés dans le cerveau d'une souris infectée de façon chronique, colorée avec H&E. (40x) D. Kyste non coloré d'homogénat cérébral (40x).	41
Figure 19 : Deux kystes dans un broyat de cerveau (grossissement 10 X 10).	42
Figure 20 : Images représentant le Kit ELISA.	48
Figure 21 : Carte de l'Algérie sur laquelle sont visibles les 3 principales régions de l'étude. Les étoiles indiquent les régions dans lesquelles les chevaux ont été prélevés.	58
Figure 22 : Agrandissement de la carte de l'Algérie. Les étoiles indiquent l'emplacement des chevaux prélevés.	60
Figure 23 : Variation des séroprévalences de <i>T. gondii</i> obtenues par différentes techniques sérologiques (ELISA, IFAT et LAT).	74
Figure 24 : variation des séroprévalences de <i>T. gondii</i> en fonction du test sérologique utilisé dans différentes régions prélevées.	76
Figure 25 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de <i>T. gondii</i> en fonction de l'habitat des chevaux.	81
Figure 26 : Séroprévalence vis-à-vis de <i>T.gondii</i> en fonction de l'âge.	82
Figure 27 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction du sexe de l'animal.	83
Figure 28 : Variation de la séroprévalence par <i>T.gondii</i> en fonction de la race.	84
Figure 29 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction de la robe.	85
Figure 30 : Séroprévalence vis-à-vis de <i>T.gondii</i> en fonction du système d'abreuvement des chevaux.	87

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Survie des oocystes sporulés de toxoplasme dans l'eau et les matrices solides (El Bouhali, 2012).	22
Tableau 2 : Survie des oocystes sporulés de toxoplasme dans l'eau et les matrices solides (El Bouhali, 2012).	227
Tableau 3 : Incidence de la toxoplasmose dans le monde	29
Tableau 4 : Séroprévalence de T. gondii chez les chevaux à partir de 2007(Aroussi, 2015)	30
Tableau 5 : Synthèse actualisée des recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte (Afssa, 2005).	52
Tableau 6 : Wilayas faisant partie de notre étude ainsi que le nombre de chevaux prélevés dans celles-ci.	59
Tableau 7: Facteurs de risques liés à l'infection à T.gondii.	62
Tableau 8 : Variation de la Séroprévalence de T. gondii en fonction des méthodes sérologiques (ELISA, IFAT, et LAT).	73
Tableau 9 : Variation de la séroprévalence de T. gondii en fonction de la méthode sérologique utilisée par région	74
Tableau 10 : Différentes dilutions testées pour l'IFAT	76
Tableau 11 : Différentes dilutions testées pour le LAT	77
Tableau 12 : évaluation des différentes méthodes utilisées.	77
Tableau 13 : Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de T.gondii.	78
Tableau 14 : Séroprévalence vis-à-vis de T.gondii dans les différentes wilayas étudiées.	88

|

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AQPS : Autre que Pur- Sang.

ELISA: Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay.

FELV : Virus de la Leucose Féline.

FIV : Virus de l'Immunodéficience Féline.

HIV : Virus de L'immunodéficience Humaine.

IC : Intervalle de Confiance.

IFAT : Indirect Fluorescent Antibody Test.

IgA : Immunoglobuline A.

IgE : Immunoglobuline E.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : Immunoglobuline M.

KWPN : Koninklijke Vereniging Warmbloed Paardenstamboek Nederland.

LAT : Latex Agglutination Test.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

T.gondii : *Toxoplasma gondii*.

UI : Unité internationale.

Introduction

Introduction

La toxoplasmose est une zoonose commune à l'animal et à l'homme. C'est une parasitose cosmopolite dont l'agent pathogène est un protozoaire intracellulaire nommé *Toxoplasma gondi* (Xing et al., 2018). Le cycle du parasite est dixène facultatif. Les félinés sauvages et domestiques sont les hôtes définitifs, alors que de nombreuses espèces animales y compris l'homme sont les hôtes intermédiaires (Dubey, 1998).

L'infection peut provoquer des avortements et des lésions embryonnaires chez la femme enceinte, la brebis, la chèvre, et plus rarement, chez d'autres espèces animales. Les hôtes intermédiaires présentent parfois aussi des troubles neuromusculaires (Dia, 1992). La gravité de la toxoplasmose est également liée au risque différé de réactivation d'une infection antérieurement acquise sous l'effet d'une immunodépression (Essaoudi, 2015). En effet, chez les malades immunodéprimés (SIDA, greffe de moelle principalement) les complications cérébrales et oculaires sont les plus fréquentes. Chez l'immunocompétent, la toxoplasmose est une infection le plus souvent bénigne ou asymptomatique (Messerer, 2015). Actuellement, on estime qu'un tiers de la population mondiale est infecté par *Toxoplasma gondii* (Kellaci, 2016).

Tous les animaux à sang chaud sont réceptifs à *Toxoplasma gondii*, cependant, la prévalence de la toxoplasmose est très variable selon les espèces ; elle est toujours plus élevée chez les petits ruminants que chez les autres animaux domestiques (Stelzer et al., 2019).

Même si le cheval est considéré comme l'espèce la moins sensible à l'effet pathogène de *T.gondii*, une fois infecté, il peut toutefois présenter de l'encéphalomyélite ou des troubles oculaires (Alerte, 2008). Par ailleurs, comme il s'agit d'un hôte intermédiaire potentiel de *T.gondii*, il peut aussi être une source de contamination pour l'hôte définitif ainsi que pour l'homme consommateur de viande chevaline contenant des kystes tissulaires du parasite. En Algérie, la viande chevaline est très prisée par une certaine catégorie de citoyens ; celle des individus atteints d'anémie sévère, les femmes enceintes et ceux contraints à suivre une diète sévère. Il est vrai que cette viande peu grasse, riche en fer héminique et en vitamines n'est pas massivement consommée comme les autres viandes, mais elle reste très bénéfique pour l'organisme vu ses atouts nutritionnels considérables (Papini et al., 2015).

Par ailleurs, la viande chevaline en tant que viande maigre se consomme plutôt saignante afin de préserver ses qualités gustatives, ce qui expose davantage ses consommateurs au risque de contracter la toxoplasmose par ingestion de kystes tissulaires.

Bien qu'il existe plusieurs enquêtes sérologiques sur l'infection par *T.gondii* chez les chevaux à travers le monde (Dubey, 2010 ; Tassi, 2007), très peu de connaissances sont disponibles actuellement sur la distribution et la séroprévalence de la toxoplasmose équine en Algérie ainsi que sur la nature des facteurs de risque déterminant sa transmission. Seule une étude en Algérie a été menée par Mohamed Cherif et al., en 2015, dans une seule wilaya du pays «Tiaret» (Mohamed-Cherif et al.,2015).

C'est dans ce contexte qu'il nous a paru intéressant de mener une étude épidémiologique. L'objectif principal est de faire un état des lieux de la situation vis-à-vis de cette pathologie dans les régions nord, sud et les hauts plateaux du pays, afin de situer le rôle du cheval comme réservoir potentiel zoonotique de la toxoplasmose humaine et d'estimer le poids réel de cette infection dans le pays.

Le travail a visé donc à fournir des informations sur la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* par des techniques sérologiques (ELISA, LAT et IFAT) chez différentes populations de chevaux asymptomatiques en Algérie. Il a été judicieux aussi d'apporter une contribution originale à la connaissance des mécanismes et des facteurs de risque de transmission du parasite.

Enfin, ce travail nous a permis d'évaluer les performances des kits sérologiques commerciaux utilisés (Le test ELISA ID Screen Toxoplasmosis Indirect Multi-species et le test LAT Toxo-Latex Slide agglutination), en considérant le test IFAT Home comme méthode de référence.

Revue
bibliographique sur la
toxoplasmose

I Étude du parasite

I.1 Définition et importance

La toxoplasmose est une zoonose ubiquitaire largement répandue dans le monde. Elle est de plus en plus préoccupante dans le domaine de la médecine humaine et vétérinaire, causée par un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire, *Toxoplasma gondii*. Elle est devenue ces dernières années une maladie opportuniste majeure.

Cette affection 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 de pertes économiques majeures chez toutes les catégories de bétail en particulier chez les moutons (Buxton, 1990).

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, les chèvres et les chevaux 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, d'aliments souillés par de la terre contenant des oocystes sporulés de *T. gondii* 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 rétinobulbite (Luft et Remington, 1992).

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, elle est plus faible dans les pays Nordiques tels que la Suède ou la Norvège (5-10%) (Jenum, 1998). La France, avec une séroprévalence de l'ordre de 55%, fait figure d'exception. La forte séroprévalence observée est probablement due à des habitudes alimentaires, notamment la consommation de viande saignante (Zuber et al., 1995; Berger et al., 2007).

Dans le continent Américain, la séroprévalence de *T. gondii* reste limitée aux États-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 et al., 2003 ; Bahia-Oliveira et al., 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 et al., 2004).

I.2 Historique

Toxoplasma gondii est un protozoaire intracellulaire obligatoire pathogène qui a été décrit pour la première fois en 1908 par Nicolle (Figure 1) et Manceaux travaillant à l'institut Pasteur de Tunis, chez un rongeur nord-africain, le *gondii* (*Ctenodactylus gundi*) (Figure 2) et par Splendore (Figure 3) au Brésil, chez un lapin (Black et Boothroyd, 2000). Le *gondii* est suspecté d'être impliqué dans la transmission du « bouton d'Orient » (Leishmaniose cutanée) ; un parasite très semblable à des Leishmanies. Ils le dénommèrent tout naturellement *Leishmania gondii* mais décidèrent, suite à leur impossibilité de le cultiver *in vitro* et en référence à sa forme arquée, de créer un nouveau genre, *Toxoplasma gondii*. (Du grec *Toxon* : arc et *Plasma*: forme) (Beauchamps, 1999).

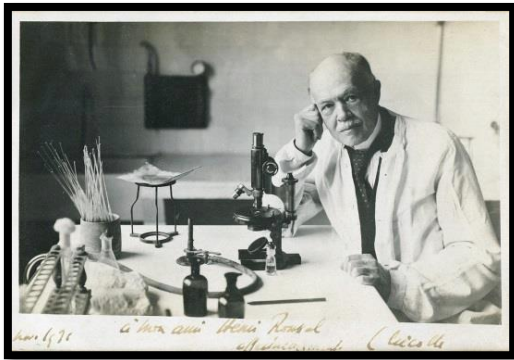


Figure 1 : Le scientifique Charles Nicolle (1866-1936) impliqué dans la découverte de *Toxoplasma gondii*. (Galal, 2018)



Figure 2 : Le rongeur *Ctenodactylus gundi* (Leroy, 2016).



Figure 3: Le scientifique Alfonso Splendore (1871-1953) (Galal, 2018).

Par la suite, *Toxoplasma gondii* a été observé chez de nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux mais ce n'est que dans les années 1920, que les premiers cas de toxoplasmose humaine ont été décrits. Les données sur la toxoplasmose et son épidémiologie, ont été acquises très progressivement. La mise au point des premiers tests sérologiques (Dye Test par Sabin et Feldmann) dans les années 1940 a révélé la forte prévalence de la toxoplasmose humaine. Le cycle biologique de ce parasite et la compréhension de son mode de transmission n'ont été établis que dans les années 1960 par Hutchison, d'une part et par Frenkel et Dubey d'autre part (El Bouhali, 2012).

I.3 Classification

Toxoplasma gondii est un protozoaire intracellulaire obligatoire appartenant au phylum des *Apicomplexa* (Tenter et al., 2000). Ce phylum est caractérisé par la présence d'un «complexe apical» permettant l'entrée active du parasite dans les cellules hôtes. Il appartient au super-phylum des *Alveolata* dont la caractéristique principale est la présence de saccules membranaires à l'intérieur de la cellule parasitaire et est décrit sous le nom de « complexe membranaire interne » (Bittame, 2011). Le parasite a été rattaché à la Classe des *Coccidia* grâce à des études de microscopie électronique, plus précisément aux Coccidies formant des kystes tissulaires (Barta, 2001; Tenter et al., 2002), à la famille des *Sarcocystidae*, à la Sous-famille des *Toxoplasmatinae*, au genre *Toxoplasma* et à l'espèce : *gondii* (El Bouhali, 2012).

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*

I.4 Caractères morphologiques

Toxoplasma gondii est une coccidie à développement intracellulaire obligatoire. Il présente au cours de son cycle trois stades infectieux : le tachyzoïte, le bradyzoïte et le sporozoïte (Dubey, 1998).

I.4.1 Tachyzoïtes (Forme végétative)

Le tachyzoïte est la forme libre proliférative et infectieuse chez l'hôte intermédiaire. Il a une forme de croissant, mesurant 6 à 10 μm de long sur 2 à 3 μm de large (Beauchamps, 1999). Il est asymétrique et possède à son extrémité le complexe apical qui lui permet de pénétrer activement dans tout type de cellules. Le complexe apical comprend le conoïde, les rhoptries, les micronèmes et les granules denses (Figure 4). A l'intérieur des cellules du système phagocytaire mononucléé, les tachyzoïtes s'entourent d'une vacuole parasitophore qui les protège de la lyse intracellulaire. Les tachyzoïtes se multiplient dans les cellules par endodyogénie (processus de reproduction asexuée) jusqu'à ce qu'elles soient remplies de parasites. A ce stade, les tachyzoïtes sortent pour envahir de nouvelles cellules. En 48h, la cellule hôte peut contenir jusqu'à une cinquantaine de tachyzoïtes ; elle devient globuleuse et forme un pseudo-kyste au sein duquel les tachyzoïtes se multiplient de plus en plus lentement, se transformant en bradyzoïtes (Armengol, 2016).

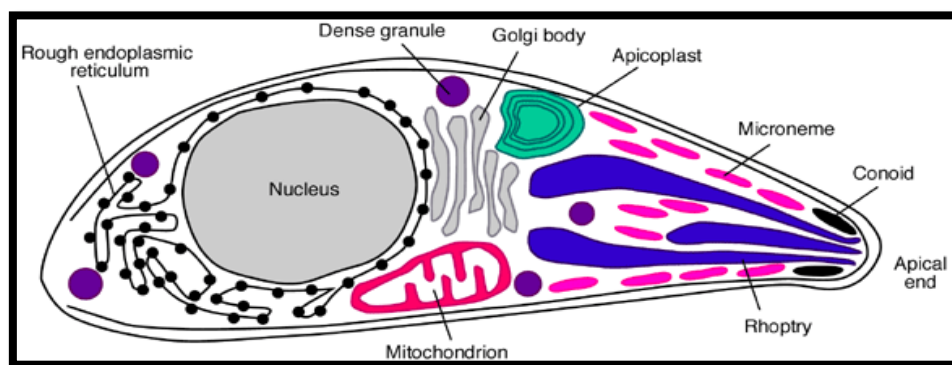


Figure 4 : Ultrastructure du tachyzoïte de *Toxoplasma gondii* (Ajioka et al., 2001).

I.4.2 Bradyzoïte (Forme d'enkystement)

Semblables aux tachyzoïtes, les bradyzoïtes sont contenus dans des kystes toxoplasmiques de 5 à 100 μm de diamètre (Figure 5). Ils se forment au cours de l'évolution de la réponse immunitaire de l'organisme 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. L'immunité cellulaire mise en place prévient théoriquement de toute réinfection (Alerte, 2008).

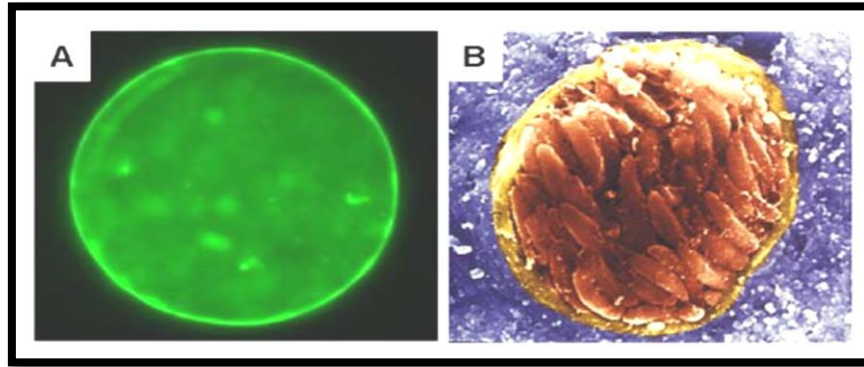


Figure 5 : Kystes de *Toxoplasma*. (A) Observation en immunofluorescence indirecte de la paroi d'un kyste issu d'un cerveau de souris infectée depuis deux mois par le toxoplasme. (B) Observation en microscopie électronique à balayage d'un kyste de cerveau de souris infectée. La paroi du kyste a été partiellement détruite et les bradyzoïtes contenus dans le kyste sont donc visibles (Bittame, 2011).

I.4.3 Sporozoïte :

Ce sont les éléments infectants présents dans les oocystes (ookystes) sporulés (figure 6) et issus de la reproduction sexuée du parasite chez l'hôte définitif. Les Félinés, seuls hôtes définitifs connus, excrètent dans leurs fèces des oocystes non sporulés (figure 7) contenant un seul sporoblaste qui, après sporogonie, formera deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes (Alerte, 2008).

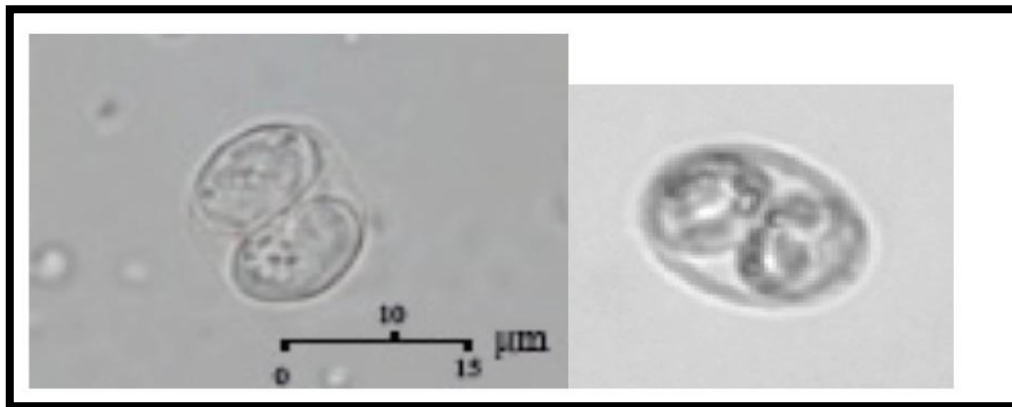


Figure 6 : Oocystes sporulés de *Toxoplasma gondii*. Oocystes obtenus à partir des matières fécales de chat après inoculation expérimentale (Blaga et al., 2015).

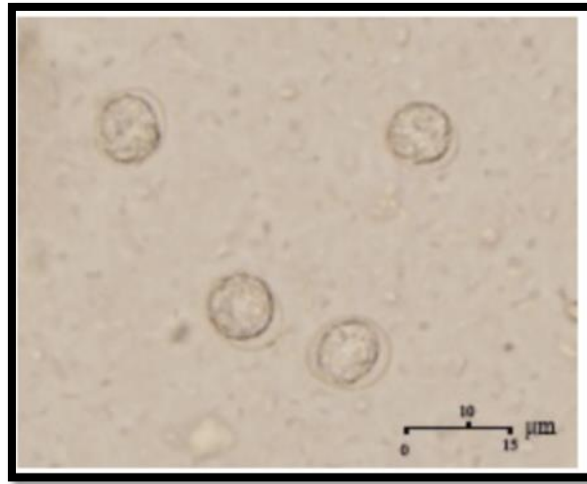


Figure 7 : Oocystes non-sporulés (Blaga et al., 2015).

I.5 Cycle évolutif

Alors que la plupart des *Apicomplexa* ont une gamme restreinte d'hôtes, *Toxoplasma gondii* se singularise par sa capacité à infecter tous les mammifères à sang chaud, les oiseaux ainsi que l'homme, qui constituent ses hôtes intermédiaires (Figure 8). *Toxoplasma gondii* y développe un cycle évolutif incomplet, composé uniquement d'une phase asexuée. Chez l'hôte définitif, le chat et les félidés, *Toxoplasma gondii* peut par contre, développer un cycle évolutif complet comprenant une phase sexuée et une phase asexuée (El Bouhali, 2012). La particularité du toxoplasme au sein des autres coccidies est la possibilité de transmission du parasite par carnivorisme entre hôtes intermédiaires par un processus de multiplication asexuée (Afssa, 2005).

I.5.1 Phase asexuée

Chez les hôtes intermédiaires, l'infection se fait essentiellement par voie orale, après l'ingestion soit d'oocystes matures provenant d'aliments souillés, soit de kystes contenus dans des viandes infectées peu ou pas cuites (Bittame, 2011). Après digestion de la paroi des oocystes ou des kystes dans l'estomac et le duodénum, les formes parasitaires infectantes, sporozoïtes ou bradyzoïtes, sont libérées et se différencient rapidement en tachyzoïtes (El Bouhali, 2012). Ceux-ci se disséminent dans l'organisme par voie sanguine et lymphatique (Jutard, 2016), ce qui correspond à la phase aiguë de la maladie. Capables d'infecter tous les types cellulaires, les tachyzoïtes gagnent les différents tissus tels que les muscles et le système nerveux central (Bittame, 2011). A l'intérieur des cellules, le parasite se multiplie par endodyogénie, processus au cours duquel deux cellules filles se forment à l'intérieur de la cellule mère. La cellule hôte

est ensuite lysée, libérant les tachyzoïtes. Cette forme est également capable d'infecter le fœtus, en cas de contamination primaire d'une femme au cours de sa grossesse (Bittame, 2011). Sous le contrôle de la réponse immunitaire de l'hôte, les tachyzoïtes se différencient ensuite en bradyzoïtes, formes dormantes, contenues dans des kystes tissulaires qui marquent la phase chronique de l'infection. On retrouve principalement ces kystes dans les tissus nerveux et musculaires : le système nerveux central, la rétine, ainsi que les muscles squelettiques ou cardiaques (Tenter et al., 2000 ; Doliwa, 2012).

Les bradyzoïtes ont la possibilité de se transformer en tachyzoïtes, notamment lors d'une faiblesse immunitaire de l'hôte, c'est ce processus qui explique la réactivation de l'infection acquise de façon antérieure par les personnes immunodéprimées les bradyzoïtes peuvent conduire à une infection lorsqu'ils sont ingérés par un hôte, intermédiaire ou définitif (Bertranpetit, 2017).

A l'intérieur des kystes tissulaires, les bradyzoïtes se multiplient lentement : cette étape constitue le stade terminal chez l'hôte intermédiaire, elle peut persister à vie chez la plupart d'entre eux et être source de contamination pour un nouvel hôte intermédiaire.

1.5.2 Phase sexuée

Il se déroule uniquement dans le système digestif de l'hôte définitif lorsqu'il s'infeste en ingérant des kystes contenus dans les tissus de ses proies. Les chats peuvent également être infectés en ingérant des oocystes présents dans l'environnement mais qui sont cependant peu infectieux pour lui : plusieurs millions d'oocystes sont en effet nécessaires pour entraîner une infection chez le chat (Afonso, 2007).

Les parasites latents contenus dans les kystes sont libérés et pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal (Doliwa, 2012). Certains bradyzoïtes intracellulaires se différencient en mérozoïtes qui se multiplient dans les entérocytes par schizogonie. La rupture des schizontes aboutit à la libération des mérozoïtes qui peuvent à leur tour envahir de nouveaux entérocytes et initier une nouvelle schizogonie ou se différencier en gamétocytes mâles et femelles par gamétogonie (un seul gamétocyte par entérocyte parasité). Le gamétocyte femelle produit un macrogamète. Le gamétocyte mâle engendre plusieurs microgamètes fusiformes, flagellés et mobiles, libérés dans la lumière intestinale. Chaque microgamète peut alors féconder un macrogamète intracellulaire pour former un oocyste non sporulé diploïde (Romanet, 2017). 3

à 5 jours après l'infection, sur une période de 7 à 15 jours, le féliné va éliminer des millions d'oocystes via ses déjections, qui vont contaminer l'environnement (Galal, 2018).

I.5.3 Phase libre

Elle correspond à la maturation ou sporulation des oocystes. Elle se déroule dans le milieu extérieur, aboutissant à la formation des sporozoïtes, stades infectants (par division du noyau du zygote), ils contiennent alors 8 sporozoïtes (Messerer, 2015). Les oocystes immatures non sporulés deviennent infectieux (formation des sporozoïtes) de 1 à 5 jours en fonction de l'humidité et de la teneur en oxygène. Ces oocystes sporulés sont rapidement disséminés et conservent leur pouvoir infectant dans le sol et l'eau pendant plusieurs mois (Bertranpetit, 2017).

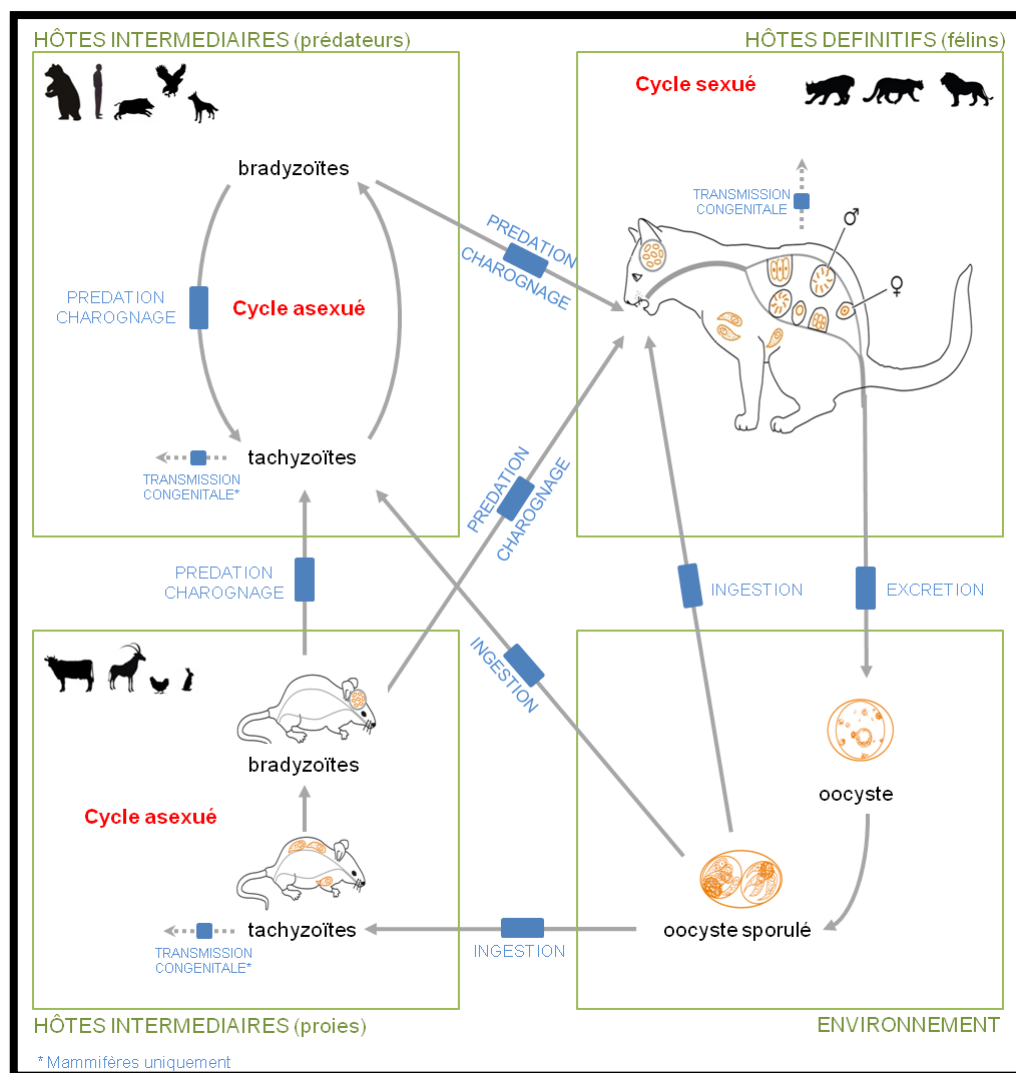


Figure 8 : Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii* (Mercier, 2010).

I.6 Génotypes et virulence

Toxoplasma gondii possède un génome d'environ 65 Mb constitué de 14 chromosomes et de 8322 gènes codant pour des protéines (Bertranpetit, 2017). Le genre *Toxoplasma* ne contient qu'une seule espèce, et les isolats étaient historiquement considérés comme fortement similaires. Les études moléculaires ont montré une clonalité très marquée, notamment en Amérique du Nord et en Europe, où trois lignées clonales, nommées type I, II et III, regroupaient la grande majorité des isolats (Howe et Sibley, 1995).

I.6.1 Génotype I

Les souches de type I, représentées par la souche RH (communément utilisée en laboratoire), sont des souches très virulentes pour la souris. Elles ont été isolées par Sabin en 1941, à partir d'un cas d'encéphalite humaine aigüe. Il a une DL₁₀₀ de 1 ou 2 tachyzoïtes chez la souris. Les tachyzoïtes se multiplient rapidement *in vitro* et se transforment peu en bradyzoïtes. En conséquence, peu de kystes sont formés *in vitro* ou chez la souris. La capacité de migration et de transmigration des tachyzoïtes de cette souche à travers les barrières biologiques *ex vivo* est supérieure à celle des tachyzoïtes des types II et III (Bittame, 2011).

I.6.2 Génotype II

Les souches de type II sont représentées par les souches ME49, 76K ou Prugniaud. Le type II est le type le plus fréquemment isolé lors d'infections humaines puisque 80% des souches issues de toxoplasmoses congénitales humaines en Europe et aux Etats-Unis (Howe et Sibley, 1995 ; Howe et al. 1996) sont de type II. Les parasites de ce type sont moins virulents pour la souris (DL $50 \geq 103$ tachyzoïtes) et déterminent une infection chronique avec persistance de kystes intracérébraux. 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).

I.6.3 Génotype III

Le type III (souche M7741) est largement confiné aux animaux (Grigg et al., 2001; Sibley, 2003). La souche VEG en est un exemple. La virulence des souches de type III pour la souris est intermédiaire (DL₅₀ ≥ 103 parasites). Concernant la toxoplasmose humaine, les atteintes congénitales sont possibles mais peu fréquentes. Il existe enfin des génotypes dits «atypiques», qui sont inclassables dans les génotypes classiques, et sont probablement issus de

recombinaisons multiples. Lorsqu'ils sont isolés chez l'homme, ils sont toujours associés à des toxoplasmoses graves (Romanet, 2017).

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 dérivent 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.

I.6.3.1 Cultures cellulaires (in vitro)

De tous les Apicomplexa, *Toxoplasma* est celui qui se cultive le plus facilement in vitro. La souche RH de *T. gondii* peut être facilement cultivée *in vivo* et *in vitro*, avec un système de culture pouvant fournir des tachyzoïtes de haute qualité qui serviront à l'étude du parasite (Chatterton et al., 2002). En outre, elle possède une vitesse de multiplication intracellulaire la plus active comparée aux autres souches de *T. gondii*. Le test de coloration Sabin-Feldman a été longtemps considéré comme la référence en matière de tests sérologiques pour la détection de l'infection à *T. gondii*. Cependant, il s'agit du test le plus difficile à réaliser en raison de la nécessité de maintenir les tachyzoïtes viables. Cela a été rendu possible grâce à la culture *in vitro* de *T. gondii* (Evans et al., 1999).

La production de tachyzoïtes est également importante pour les études sur des modèles expérimentaux (Roos et al., 1994; Chatterton et al., 2002), thérapeutiques (Bunetel et al., 1995), génétiques (Sibley et Boothroyd, 1992), voies biochimiques (Fichera et al., 1995), l'isolement (Derouin et al., 1987; Calico et al., 1991) et le développement de tests sérologiques (Ashburn et al., 2000).

Les tachyzoïtes de *Toxoplasma gondii* peuvent être cultivés et maintenus dans divers systèmes de culture et lignées cellulaires (Madin-Darby bovine kidney, fibroblastes humains, cellules Vero...) (De Meerschman et al., 2002 ; Ashburn et al., 2002). Des méthodes *in vitro*, utilisant des fibroblastes MRC5 complétés par du FCS (foetal calf serum), ont été menées pour de petites études évaluant l'effet des agents antimicrobiens sur *T. gondii* (Benoit-Vical et al., 2000 ; Derouin et al., 1988; Gozalbes et al., 2000). D'autres études ont utilisé des lignées cellulaires continues telles que HeLa, LLC et Vero, qui se sont également avérées adaptées à la propagation de tachyzoïtes de *T. gondii* (Evans et al., 1999; De Meerschman et al., 2002). Récemment, des études ont montré que les cellules Vero étaient un excellent hôte pour la multiplication rapide des tachyzoïtes de *T. gondii* (Saadatnia et al., 2010).

En général, la propagation des tachyzoïtes en culture cellulaire est plus économique (Diab et El-Bahy, 2008). Les tachyzoïtes se répliquent dans les cellules en 6 à 9 heures in vitro (saadania et al 2010). Après avoir augmenté en nombre à 64-128 parasites par cellule, la cellule hôte se rompt et infecte les cellules voisines (Radke et White, 1998). De plus, les systèmes de culture

cellulaire peuvent être utilisés dans la formation de kystes de *T. gondii* (Salimi et al., 2016). Les tachyzoïtes produits de cette manière sont infectieux pour l'animal même après 8 années de passages continus (Dubey et Lindsay, 1996).

La cryopréservation des tachyzoïtes ne pose aucun problème particulier. La culture in vitro s'accompagne d'un effet cytopathogène marqué (Figure 9). Cette action cytopathogène se retrouve in vivo et explique sans doute, du moins en partie, les lésions observées au niveau du système nerveux central et des autres tissus.

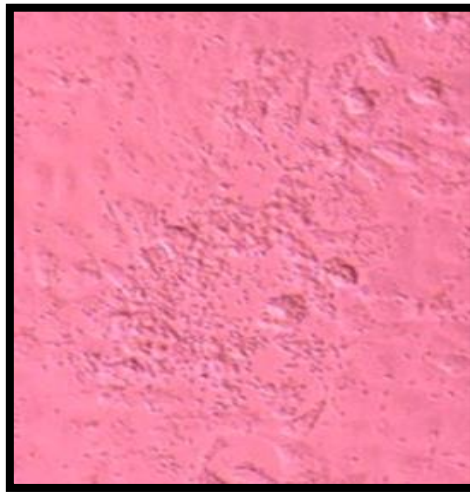


Figure 9 : Effet cytopathogène de *T.gondii* maintenu sur cellules Vero (X 200)
(Demeersman, 2005).

II Épidémiologie

II.1 Épidémiologie 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 et Maurin, 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 (Alerte, 2008).

II.2 Épidémiologie analytique

II.2.1 Sources de parasites

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).

II.2.2 Facteurs de réceptivité

II.2.2.1 Espèce

Toutes les espèces de mammifères et d'oiseaux sont sensibles à la toxoplasmose. Certaines le sont cependant plus que d'autres. Ainsi, chez les animaux domestiques, le hamster et le lapin sont des espèces particulièrement sensibles. Les Lémuriens, les singes du nouveau monde, les marsupiaux australiens ou les chats Manuls en captivité se sont également révélés être sensibles à l'infection. Enfin, chez les Oiseaux, des cas de toxoplasmoses sévères ont été rapportés chez le pigeon et le canari (Dubey, 2002). En revanche, le caprins, les ovins et l'homme sont plus sensibles que les équins et les bovins ; ces deux dernières espèces sont considérées comme étant les plus résistantes à la maladie toxoplasmique (Mohamed Cherif, 2019).

II.2.2.2 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 alors que chez un adulte sain elle reste asymptomatique (Alerte, 2008).

II.2.2.3 Immunodépression

Une étude expérimentale chez le chat immunodéprimé, co-infecté par le virus de la leucose féline (FeLV) ou de l'immunodéficience féline (FIV), 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 et al., 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).

II.2.3 Facteurs favorisants

II.2.3.1 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. De même, concernant la contamination humaine, la possession d'un chat et le nettoyage quotidien de la litière ne sont pas retenus dans les études comme les facteurs de risque les plus importants (Baril et al., 1999).

II.2.3.2 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.

II.2.3.3 Effets du climat

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).

II.2.3.4 Modes de contamination et de transmission

Toxoplasma. gondii peut être transmis verticalement par des tachyzoïtes transmis au fœtus via le placenta (Tenter et al., 2000), mais aussi horizontalement par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminée par des oocystes présents dans les excréments de félinés ou l'ingestion de kystes tissulaires présents dans de la viande crue ou insuffisamment cuite ;ces derniers sont les deux principaux modes de transmission postnatale de *T.gondii* (Dubey,1998).

La continuité du cycle de *T. gondii* peut donc passer par plusieurs hôtes d'une manière facultative : si le parasite peut être transmis du chat à l'hôte intermédiaire, il peut également

n'être transmis qu'entre chats par ingestion d'oocystes, ou entre hôtes intermédiaires dans le cas de prédation, carnivorisme, ou encore de transmission verticale (Figure 10) (Afonso, 2007).

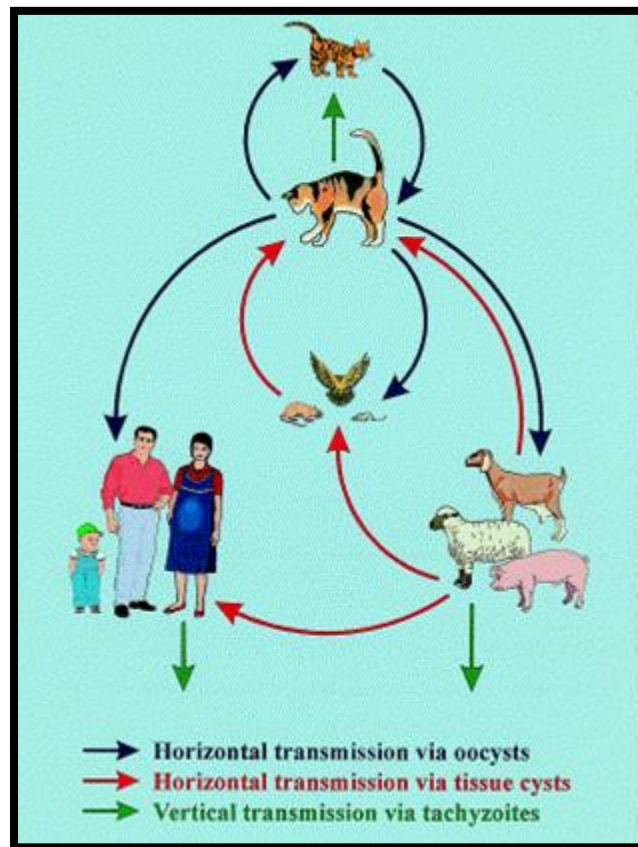


Figure 10 : Voies de transmission de *Toxoplasma gondii*. Un hôte peut s'infester horizontalement par ingestion d'oocystes ou de kystes tissulaires, ou encore verticalement par transmission transplacentaire (Tenter et al., 2000).

II.2.3.4.1 Contamination par ingestion d'oocystes

Les chats et les félinés sauvages sont responsables de la dissémination de *Toxoplasma gondii* dans l'environnement (Tenter, 2009). Ils peuvent s'infester par *T. gondii* en ingérant des oocystes infectieux dans l'environnement ou des kystes tissulaires contenus dans les hôtes intermédiaires ; par exemple, les chats peuvent ingérer des tissus kystes lorsqu'ils se nourrissent de restes contenant de la viande ou viscères d'animaux d'élevage ou de gibier ou encore après avoir chassé et s'être nourrit de carcasses de petits mammifères ou d'oiseaux infectés par *T. gondii* (Tenter et al., 2000). Les félinés sont les seuls à pouvoir, à la suite de leur infestation, éliminer pendant quelques jours dans leurs matières fécales, de très grandes quantités

d'oocystes (Dubey and Jones, 2008). Des études ont permis d'établir le nombre d'oocystes émis par un chat et qui est de 94 to 4671 oocysts par mètre carré (Motarjemi et al., 2014). Les hommes, les animaux herbivores ou omnivores vont se contaminer en ingérant de l'eau, des végétaux ou des fruits souillés par les excréments de félinidés contenant ces oocystes sporulés (Afssa, 2005 ; Tenter et al., 2000 ; Tenter, 2009).

II.2.3.4.2 Contamination via les bradyzoïtes contenus dans les kystes

La consommation de kystes tissulaires de *T. gondii* contenus dans la viande, les produits dérivés de la viande ou les abats est une importante source de contamination pour l'homme (Tenter, 2009). Les kystes tissulaires peuvent se développer dès le 6^{ème} ou 7^{ème} jours après l'infection des hôtes intermédiaires après ingestion d'oocystes ou d'autres kystes tissulaires (Dubey et al., 1998). Les professionnels tels que les travailleurs des abattoirs, les bouchers et les chasseurs peuvent également être infectés lors de l'éviscération et la manipulation de la viande (Dubey, 1991).

Lors de greffe d'organe, la transplantation d'un organe provenant d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose peut transmettre des kystes à un receveur non immunisé contre la toxoplasmose. Le risque ne sera pas le même en fonction de l'organe transplanté. Le cœur étant un lieu privilégié de logement des kystes, les transplantés cardiaques sont plus à risque que les transplantés rénaux ou hépatiques (Jutard, 2016).

Les carnivores peuvent s'infester par prédation des herbivores ou omnivores porteurs du parasite (Afssa, 2005).

II.2.3.4.3 Contamination par les tachyzoïtes

Les tachyzoïtes étant sensibles aux conditions environnementales, meurent généralement très rapidement en dehors de l'hôte. La transmission de *T. gondii* via les tachyzoïtes n'est probablement pas significative du point de vue épidémiologique (Tenter, 2009). Les tachyzoïtes de *T. gondii* ont déjà été détectés dans les fluides corporels tels que la salive, les expectorations, l'urine, les larmes, le sperme et le lait de plusieurs hôtes intermédiaires. En effet, d'après les données de la littérature, il existe de nombreuses preuves que les tachyzoïtes présents dans le colostrum ou le lait maternel peuvent infecter les nourrissons par l'allaitement des mères qui ont une infection primaire à *T. gondii* (Pereira et al., 2010). Riemann et al. avaient rapporté un cas de toxoplasmose chez un enfant nourri au lait de chèvre non pasteurisé (Riemann et al., 1975). Les tachyzoïtes sont également responsables de rares cas de contamination lors de greffes

de moelle si le donneur est en pleine phase de parasitémie (Alvarado-Esquivel et al., 2019). Il a été rapporté également 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).

La Toxoplasmose congénitale survient généralement lorsqu'une femme est nouvellement infectée avec *T. gondii* pendant la grossesse (Remington et al., 2006), *T. gondii* peut alors être transmis au fœtus ; le mécanisme de transmission verticale n'est pas encore compris. Un scénario probable est que la parasitémie temporaire chez une femme enceinte principalement infectée peut entraîner l'invasion du placenta par les tachyzoïtes qui se multiplient ensuite dans les cellules du placenta. Finalement, certains d'entre eux traverseraient le placenta et entreraient dans la circulation fœtale ou les tissus du fœtus (Remington et al., 2004).

Cas de réactivation :

Des études ont été menées chez des chats et des chiens souffrant d'insuffisance rénale au stade terminal et à qui ils ont greffé des reins ; après la mort des animaux greffés, des kystes protozoaires, ainsi que des tachyzoïtes, ont été identifiés dans d'autres organes mais pas dans les allogreffes, ce qui suggère que la réactivation d'une infection latente après immunosuppression serait la cause la plus probable de toxoplasmose disséminée (Bernsteen, 1999). Une réactivation a également été évoquée chez les femmes immunodéprimées atteintes de lupus érythémateux disséminé (LED) ou syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), où la réactivation d'une infection acquise avant la grossesse peut conduire à une toxoplasmose congénitale (Tenter et al., 2000).

II.2.3.5 Viabilité et stabilité

- Sensibilité aux médicaments : Bien qu'il soit impossible de cibler les kystes tissulaires avec précision, bon nombre de médicaments sont utilisés contre les autres formes morphologiques, notamment la pyriméthamine et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (160 mg/800 mg), l'association pyriméthamine-sulfadoxine (75 mg/1 500 mg) et l'association sulfadiazine-pyriméthamine, avec ou sans administration d'acide folinique (Patrat-Delon et al., 2010).
- Résistance du parasite : Les oocystes sont résistants à la congélation et ne sont inactivés que par de très fortes températures. Ils survivent préférentiellement dans des milieux

humides plutôt que secs. Ils sont résistants à la majorité des détergents usuels, dont l'eau de Javel.

- Sensibilité aux désinfectants : Les tachyzoïtes et les kystes tissulaires sont sensibles aux détergents, notamment à l'hypochlorite de sodium à 1 % et à l'éthanol à 70 % (Petersen et al., 2010).
- Résistance aux désinfectants : Les oocystes sont résistants à la plupart des désinfectants, mais leur viabilité diminue grandement lorsqu'ils sont en contact avec de la formaline à 10 % (Villegas et al. 2010). Un traitement par hypochlorite de sodium à 1,3 % permet de détruire le revêtement externe des oocytes. Les bradyzoïtes sont résistants à la digestion chlorhydropepsique (Dubey et al., 1998).
- Inactivation physique : Les kystes tissulaires meurent dans des solutions de NaCl à 6 % et peuvent être enrayés par une exposition au rayonnement gamma à une dose de 1,0 kg. Les kystes tissulaires sont inactivés lorsqu'ils sont soumis à une pression élevée (300 MPa) et ils meurent instantanément lorsqu'ils sont soumis à une température de 67°C (Petersen et al., 2010).

Il est donc possible de détruire les kystes contenus dans la viande en soumettant celle-ci à une chaleur > 60°C ou en la congelant à une température de -18°C. Les oocystes meurent lorsqu'ils sont exposés à une température de 55-60 °C pendant 1 à 2 minutes (Petersen et al. 2010) et les tachyzoïtes sont inactivés à un pH inférieur à 4,0 (Sonar et Brahmbhatt, 2010).

- Survie à l'extérieur de l'hôte : Les oocystes peuvent survivre dans un sol humide ou dans l'eau pendant 18 mois au plus (Petersen et al., 2010 ; Ferguson, 2009). Ils peuvent également survivre dans des fèces non recouvertes pendant 46 jours et pendant 334 jours, lorsque les fèces sont recouvertes (Dubey et Jones, 2008).

Le tableau 1 permet de regrouper, selon différents auteurs, la survie des oocystes sporulés de toxoplasme dans l'eau et les matrices solides.

Tableau 1 : Survie des oocystes sporulés de toxoplasme dans l'eau et les matrices solides (El Bouhali, 2012).

Température (°C)	Conditions	Durée de survie	Références
En laboratoire			
-20	Eau	28 j	Frenkel et Dubey, 1973
-10/ -5	Eau	106 j	Dubey, 1998
0	Eau	13 mois	Dubey, 1998
+4	Eau	54 mois	Dubey, 1998
	Baies	56 j	Kniel et al, 2002
	Fèces	214-410 j	Yilmaz et Hopkins, 1972
+4/ +24	Eau de mer à 15 ppt	180 j	Lindsay, Collins et al, 2003
+20/ +22	Eau	548 j	Hutchison, 1967
+22,5	Eau	306-410 j	Yilmaz et Hopkins, 1972
	Fèces	107-306 j	
+23 → +29	Sols humides	117 j	Dubey, Miller et al, 1970
+30	Eau	107 j	Dubey, 1998
+35	Eau	32 j	Dubey, 1998
+37	Eau	91-306 j	Yilmaz et Hopkins, 1972
	Fèces	30-153 j	
+40	Eau	9 j	Dubey, 1998
+45	Eau	1 j	Dubey, 1998
+50	Eau	30-60 mn	Dubey, Miller et al, 1970
			Dubey, 1998
+55/ +58	Eau	< 15 mn	Kuticic et Wikerhauser, 1996
			Dubey, 1998
+60/ +70	Eau	< 1 mn	Dubey, 1998
En condition naturelles			
-20 → +35	Fèces dans le sol	18 mois	Frenkel et al, 1975
-6 → +39	Eau	122-306 j/ 153-410 j	Yilmaz et Hopkins, 1972
	Fèces	46-183 j/ 76-334 j	
+15 → +30	Fèces dans le sol	56-357 j	Frenkel et al, 1975
+20 → +27	Sol humide	106 j	Ruiz et al, 1973

II.3 Physiopathologie de la toxoplasmose

L'évolution de la maladie du point de vue physiologique peut se schématiser en trois étapes (Mohamed-cherif, 2019) : Quel que soit le mode de contamination, la première phase correspond à la phase de dissémination de *T. gondii* dans l'organisme ;les tachyzoïtes pénètrent dans les cellules du système histio-monocytaire et s'y multiplient. Ils vont par la suite envahir les cellules adjacentes se propageant ainsi dans tout l'organisme (Jutard, 2016). Le foie est le premier organe atteint avec une multiplication des tachyzoïtes dans les hépatocytes. Les tissus lymphoïdes, les poumons, le cerveau, le tissu musculaire, la rétine vont ensuite être le siège de la multiplication. Cette phase de dissémination dure environ 1 à 2 semaines chez un sujet immunocompétent. C'est à ce stade que le toxoplasme peut se localiser dans le placenta (Bessièrès et al., 2008). En effet, au cours de cette phase, les tachyzoïtes circulants atteignent le placenta. Ce dernier constitue à la fois une barrière naturelle qui protège le fœtus et un tissu cible pour la multiplication parasitaire. L'infection du placenta par le toxoplasme peut se traduire par des zones de nécrose ou par un œdème marqué des villosités avec une infiltration focale ou diffuse de cellules inflammatoires, lymphocytes et monocytes, on parle de placentite (Boubekeur et Rahis, 2019).

Au cours de la deuxième phase, les défenses immunitaires de l'hôte commencent à être effectives. Les tachyzoïtes libres se raréfient car ils sont lysés dès qu'ils sont libérés de la cellule infectée. En revanche, dans les organes pauvres en anticorps, le passage de cellule à cellule (œil, cerveau) se poursuit (Essaoudi, 2015). Dans la troisième phase ou phase chronique (Bessièrès et al., 2008) les parasites s'enkystent dans les tissus et en particulier les muscles striés et le cerveau. Les premiers kystes se forment dès 5 à 6 jours après l'infection. Les formes parasitaires intrakystiques se multiplient plus lentement (bradyzoïtes), sans entraîner la lyse de la cellule hôte. Ces kystes persistent indéfiniment chez l'hôte sans provoquer de dommages tissulaires,leur réactivation est cependant possible, conduisant à la libération des bradyzoïtes puis à la reprise évolutive d'une multiplication parasitaire sous forme de tachyzoïtes. Les mécanismes conduisant à la transformation tachyzoïte/bradyzoïte et à la réactivation des kystes sont très mal connus (Dubey, 1998). Deux hypothèses sont proposées : l'une considère que la rupture des kystes survient spontanément dans les tissus au cours de l'infection et que l'immunité acquise (humorale et cellulaire) permet de limiter toute extension de l'infection ; l'autre privilégie le rôle d'un ou plusieurs facteurs déclenchant la réactivation des bradyzoïtes liés à l'immunodépression, mais sans qu'aucun n'ait été précisément identifié (Afssa, 2005).

II.4 Réponse immunitaire

Face à une agression parasitaire de *Toxoplasma gondii*, tout organisme immunocompétent développe une double réponse humorale et cellulaire relativement efficace et durable, qui permet de limiter la multiplication des tachyzoïtes et leurs effets pathogènes (Dion, 2010). Lors de la sensibilisation de l'hôte (premier contact avec le parasite), certaines molécules parasitaires (comme la protéine P30 par exemple) sont remaniées et présentées par les cellules présentatrices d'antigènes, les CPA (macrophages par exemple), aux lymphocytes T auxiliaires (LTa). Lorsque la CPA est un lymphocyte B (LB), le LTa reconnaissant l'antigène se différencie en LTa2, et quand la CPA n'est pas un LB (macrophage par exemple), le LTa se différencie en LTa1. Les LTa2 et les LB sont à l'origine d'une réponse immune « à médiation humorale », tandis que les LTa1 initient une réponse immune « à médiation cellulaire ». D'autres lymphocytes (T ou B) deviennent des lymphocytes à mémoire (Boisson, 2002).

II.4.1 Réponse cellulaire

Lors d'une infection par *Toxoplasma gondii*, une immunité spécifique de type cellulaire, principalement, se met en place. Les macrophages sont les premiers effecteurs de cette réponse immunitaire, ils produisent de l'interleukine 12 (IL-12) et du TNF (Tumor Necrosis Factor). L'IL-12 active les cellules Natural Killer (NK) et les lymphocytes T qui produisent de l'interféron γ . L'IFN γ et le TNF agissent ensuite en synergie pour détruire les tachyzoïtes présents dans les macrophages (Alerte, 2008).

Les principaux acteurs de ce type de réponse immune protectrice antitoxoplasmique semblent être les lymphocytes T, les Lymphokines, l'interféron gamma et les macrophages activés (initialement une immunité non spécifique est mise en place et repose sur les cellules NK ou natural killer », l'interféron gamma et les macrophages (Essaoudi, 2015).

Les LTa1 produisent des cytokines (ou lymphokines) qui entraînent la prolifération (interlukine 2 ou IL2) et l'activation des cellules effectrices : l'interféron gamma joue un rôle prépondérant puisqu'il permet l'activation des macrophages (dont l'action phagocytaire et lytique devient alors beaucoup plus efficace) et le recrutement des lymphocytes T cytotoxiques (LTc) et des LTa (Boisson, 2002). Les macrophages sont parmi les cellules-cibles privilégiées de *T.gondii* pour sa multiplication. Toutefois, leur activation par l'interféron gamma leur permet de détruire les tachyzoïtes phagocytés ou de limiter leur multiplication, malgré les mécanismes d'échappement développés par ces derniers (Boisson, 2002).

II.4.2 Réponse humorale

La réponse immunitaire humorale joue un rôle modéré. Les IgM ont un rôle en phase aiguë car, en se liant aux tachyzoïtes, ils préviennent l'infestation cellulaire. Les IgG, sont produits plus tardivement mais pendant plus longtemps que les IgM. Ils permettent de neutraliser et de lyser les toxoplasmes. En effet, la lyse des tachyzoïtes a été réussie *in vitro* par mise en contact de ces derniers avec du sérum immun, un facteur d'activation (un activateur du complément par la voie classique C1-C9), du magnésium et du calcium. Cependant, ces anticorps ne peuvent avoir une action que sur les tachyzoïtes libres circulants, ce qui confère à l'immunité humorale un rôle limité. Les anticorps permettent évidemment de diagnostiquer indirectement la maladie (Demard, 2009).

Les mécanismes cellulaires spécifiques de la réponse immune ont un rôle déterminant dans la lutte contre le parasite en position intracellulaire, lors de la phase aiguë de la maladie. Associés à une réponse humorale spécifique intense et efficace, ils induisent un ralentissement de la multiplication du parasite et, donc, la transformation des pseudokystes à tachyzoïtes en kystes à bradyzoïtes (Boisson, 2002).

III Incidence de la toxoplasmose

La prévalence de la toxoplasmose est très variable d'un hôte intermédiaire à un autre. Cette variation prend en compte les modes d'élevage, les facteurs climatiques et les conditions environnementales. Ces deux derniers points conditionnent la persistance des oocystes dans l'environnement après leur émission avec les déjections des félins (Bessière et al., 2008).

III.1 Incidence chez l'homme

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite. On suppose généralement qu'environ 25 à 30% de la population humaine mondiale est infectée par *Toxoplasma*. En fait, les prévalences varient considérablement d'un pays à l'autre (de 7 à 80%) et souvent dans un pays donné ou entre différentes communautés d'une même région (Bessière et al., 2008 ; Robert-Gangneux and Dardé, 2012). Cette variabilité s'explique de plusieurs manières : par des différences climatiques, par l'hygiène de vie et le régime alimentaire, par la présence de félinidés, par les habitudes alimentaires de consommer de la viande crue ou saignante et enfin par l'âge (Bessière et al., 2008). Des séroprévalences faibles (10 à 30%) ont été observées en Amérique du Nord, en Asie du Sud-Est, en Europe du Nord et dans les pays sahéliens d'Afrique. Dans les pays d'Europe centrale et du Sud de l'Europe, des séroprévalences modérées ont été enregistrées (30 à 50%). Enfin, des prévalences élevées ont été observées en Amérique latine et dans les pays d'Afrique tropicale (Robert-Gangneux and Dardé, 2012).

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).

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).

La situation en Algérie est méconnue. En effet, la séroprévalence serait autour de 50% (Messerer, 2015) mais aucune étude, à l'échelle nationale, n'a été entreprise afin de l'évaluer et encore moins pour l'évaluation des facteurs de risque. Néanmoins, quelques études épidémiologiques dans le cadre de mémoires de fin d'étude (Résidanat) et de doctorat d'état en

sciences médicales ont permis d'avoir une idée sur cette séroprévalence (Messerer, 2015). La comparaison de ces études entre elles est difficile pour plusieurs raisons :

- L'échantillonnage n'est pas le même pour toutes les études ;
- La grande variété des tests sérologiques utilisés ;
- Le titre d'anticorps considéré comme seuil de spécificité, varie selon les techniques et les réactifs.

Le tableau 2 résume les différentes études qui ont porté sur la toxoplasmose en Algérie.

Tableau 2 : Incidence de la toxoplasmose en Algérie (Messerer, 2015).

Références	Période d'étude	Séroprévalence
Balazet, 1955	1955	10%
Lamari, 1974	1969 à Décembre 1973	53,2%
Schneider & coll, 1977	1969 à Décembre 1973	53,2%
Bouchene, 1981	Septembre 1978 à février 1981	57,71%
Hassani, 1991	Janvier 1986 à décembre 1991	38%
Bourouba & Kadour, 1992	Janvier 1991 à Décembre 1992	44%
Chellali & Benabdelmoumene, 1993	1993	40,75%
Ouabadi.F, 1995	Septembre 94 à avril 1995	58% ELISA 35,33% IFI
Tiarit.S, 1996	Octobre 1995 à juin 1996	41,88%
Fendri. A.H, 1999	Septembre 1995 à juillet 1996	50, 11%
Bouchene, Bachi & Groubdji	Janvier 98 à 31 décembre 2001	46,57%
Benyahia.N, 2005	Juillet, Août et Septembre 2005	51,38%

III.2 Incidence chez l'animal

III.2.1 Ruminants

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; Klun et al., 2006; Spisak et al., 2010; Berger-Schoch et al., 2011). 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). 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. 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).

En Afrique, la séroprévalence chez les petits ruminants (ovins et caprins) est très variable ; elle varie de 26.1 % chez les ovins et 22.9% chez les caprins (Tonouhewa et al., 2017) ,la séroprévalence la plus basse a été enregistrée dans le sud de l'Afrique avec 8% chez les ovins (Hammond-Aryee et al., 2015 ; Stelzer et al., 2019). En Europe, la séroprévalence chez les ovins varie de 33.6% à 87.5%. Les caprins ont une séroprévalence qui varie de 5.6% à 72.2% (Stelzer et al., 2019). Le tableau suivant résume la séroprévalence observée chez les caprins dans différentes régions du monde (Tableau 3).

Tableau 3 : Incidence de la toxoplasmose dans le 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 (São 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

III.2.2 Équidés

Selon plusieurs études dans le monde, la séroprévalence de la toxoplasmose chez les équidés est très variable et s'étend de 0 à 73%. Cette prévalence peut également varier au sein d'un même pays. Des taux de 13 à 67% en Argentine, 14 à 53% en Belgique ou encore 4-55% en Suisse (Stelzer et al., 2019). Cette variabilité de la séroprévalence peut avoir des explications biologiques et épidémiologiques en lien avec l'âge des chevaux, leur mode de vie, l'environnement et la pratique des normes d'hygiène dans les exploitations agricoles (Tenter, 2009). Cependant, une autre explication de la variabilité dans la séroprévalence de *T. gondii* chez les chevaux peut simplement venir de la multitude des tests de dépistage comme on peut le voir dans le tableau 4 qui synthétise les principales études de séroprévalence de *T. gondii* chez les chevaux depuis la grande revue de Tassi en 2007 (Aroussi, 2015).

Tableau 4 : Séroprévalence de *T. gondii* chez les chevaux à partir de 2007(Aroussi, 2015)

Pays	Prévalence (%)	Cut-off	Test	Référence
Corée	24/816 (2,9)	NR	ELISA	Lee et al., 2014
Japon	0/100 (0)	1:64	LAT	Kayoko et al., 2014
Portugal	23/173 (13,3)	1:20	MAT	Lopes et al., 2013
China	81/266 (30,5)	1:64	IHA	Miao et al., 2013
China	178/711 (25)	1:25	MAT	Yang et al., 2013
Brésil	46/398 (11,6)	1:64	IFAT	Evers et al., 2013
Brésil	17/100 (17)	1:64	IFAT	Finger et al., 2013
Mexique	30/495 (6, 1)	1:25	MAT	Alvarado-Esquivel et al., 2012
Espagne	49/454 (10,8)	1:25	MAT	Garcia-Bocanegra et al., 2012
Tunisie	28/158 (17,7)	1:20	MAT	Boughattas et al., 2011
Costa Rica	107/315 (34)	1:25	MAT	Dangoudoubiyam et al., 2011
Arabie Saoudite	84/266 (31,6)	1:16	SFDT	Alanazi et al., 2011
Ré. Tchèque	125/552 (23)	NR	LAT	Bartova et al., 2010
Grèce	14/753 (1,8)	NR	ELISA	Kouam et al., 2010
Turquie	9/125 (7,2)	1:16	SFDT	Karatepe et al., 2010
Egypte	25/100 (25)	NR	ELISA	Haridy et al., 2009
Turquie	28/100 (28)	1:16	SFDT	Guclu et al., 2007
Egypte	170/420 (40,5)	1:64	IFAT	Ghazy et al., 2007
	202/420 (48, 1)	1:25	MAT	

NR = Non reporté.

IV Toxoplasmose clinique

IV.1 Toxoplasmose humaine

Nous distinguerons la toxoplasmose faisant suite à une contamination post-natale chez le sujet immunocompétent et chez le sujet immunodéprimé, de la toxoplasmose congénitale transmise in utero (Afssa, 2005).

IV.1.1 Toxoplasmose acquise post-natale du sujet immunocompétent

La primo-infection acquise observée le plus souvent chez l'enfant, l'adolescent ou l'adulte jeune immunocompétent est asymptomatique dans plus de 80% des cas, y compris chez la femme enceinte non immunisée (Romanet, 2017).

Les formes symptomatiques associent fièvre, adénopathies et asthénie. Le patient va présenter une fébricule pendant quelques jours ou quelques semaines qui va disparaître spontanément. Les adénopathies sont plus volontiers cervicales (Figure 11) peu volumineuses, mais les autres territoires ganglionnaires peuvent être atteints. L'asthénie peut être profonde et persister plusieurs mois. L'évolution est habituellement bénigne et la guérison spontanée. Un syndrome mononucléotique et une accélération de la vitesse de sédimentation sont habituels mais non spécifiques (Anofel, 2014).

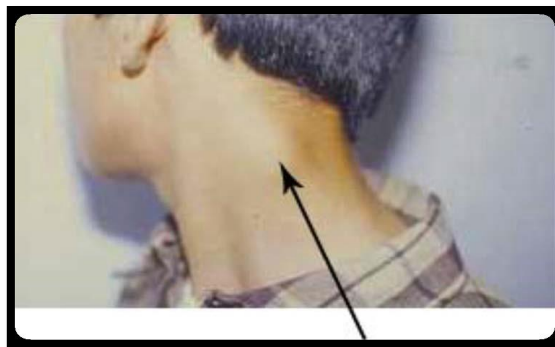


Figure 11: adénopathie cervicale chez un sujet immunocompétent (Akourim, 2016).

Plus rarement, une rétinohoroïdite avec déficience visuelle (autrefois considérée comme une forme congénitale uniquement) peut aussi révéler une primo-infection acquise. Les atteintes oculaires peuvent être retardées de plusieurs années par rapport à la date de contamination, correspondant ainsi à une réactivation locale de kystes résiduels de la primo-infection (Romanet, 2017).

Associées à la toxoplasmose ganglionnaire, des atteintes cutanées à type d'exanthème, de dermatomyosite et des atteintes viscérales, hépatiques, myocardiques, péricardiques

pulmonaires ou neurologiques peuvent être observées (Afssa, 2005). Les rares cas de ces formes graves, ont pour facteur de risque la consommation de viande de gibier sauvage. Ce sont des souches de toxoplasme circulant dans un environnement éloigné de l'homme et mal adaptées à lui qui sont en cause (Anofel, 2014).

IV.1.2 Toxoplasmose acquise chez l'immunodéprimé

Chez les patients immunodéprimés (HIV, greffe d'organe ou de moelle), *T. gondii* peut provoquer des atteintes cérébrales, oculaires et pulmonaires pouvant entraîner la mort (Afonso, 2007). Deux situations différentes sont possibles en matière d'immunodépression :

- La réactivation d'une toxoplasmose ancienne chez les patients souffrant d'un déficit important de l'immunité cellulaire T. En pratique il s'agit le plus souvent de patients infectés par le VIH ou de patients greffés de moelle, sans prophylaxie. Peuvent également être concernés, les patients atteints de cancers ou de syndromes lympho prolifératifs. Les chimiothérapies anticancéreuses et la corticothérapie sont des éléments favorisant (Iharti, 2019).
- Une primo-infection le plus souvent secondaire à une transmission par le greffon lors de la greffe d'un organe d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif en pré-greffe (Afssa, 2005 ; Iharti, 2019).

Les formes cliniques sont comparables, quel que soit le type d'immunodépression sous-jacente. L'atteinte cérébrale est de loin la plus fréquente (Iharti, 2019) avec changement du statut mental, d'épilepsies, de déficits moteurs focaux, de perturbations nerveuses crâniennes, d'anomalies sensorielles et de désordres du mouvement. Leurs formes graves sont rapidement mortelles (Kabamba et al., 2018). D'autres organes peuvent être touchés comme le poumon et l'œil (Kanjo, 2014). Il peut y avoir également des troubles hémodynamiques semblables à un choc septique (Frenkel, 1990 ; Montoya et Liesenfeld, 2004).

IV.1.3 Toxoplasmose cérébrale

L'encéphalite toxoplasmique focalisée est la manifestation clinique la plus fréquente chez les malades immunodéprimés. Elle associe des céphalées persistantes, une fièvre élevée, des crises d'épilepsie, des difficultés à réaliser certains gestes ou encore des troubles de la conscience (Essaoudi, 2015). Le scanner montre une ou plusieurs images en cocarde formée d'une hypodensité (nécrose) entourée d'un anneau hyperdense (réaction inflammatoire) lui-même dans une zone hypo dense (œdème cérébral) (Figure 12) (Iharti, 2019).

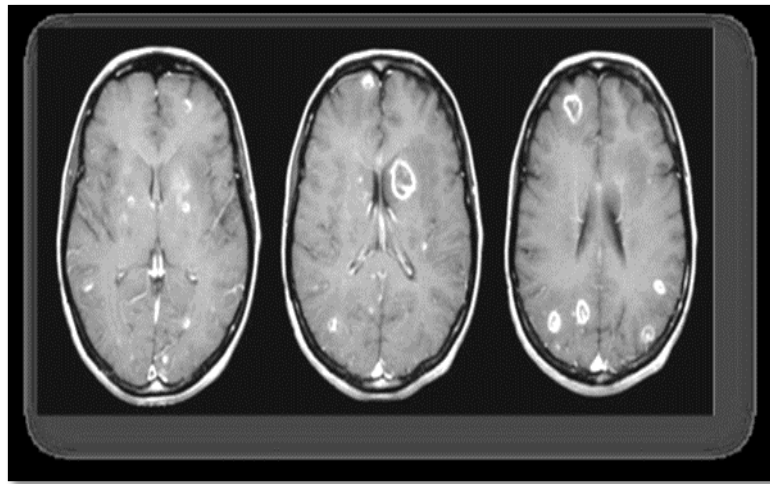


Figure 12: Toxoplasmose cérébrale chez un patient de 36 ans atteint du VIH. Les lésions multiples sont mises en évidence par un balayage à résonance magnétique (Iharti, 2019).

IV.1.4 Localisation oculaire

Chez les patients immunodéprimés (SIDA principalement), la localisation oculaire est la deuxième, par sa fréquence, après la toxoplasmose cérébrale (Rabaud et al., 1996). On observe une grande variété de lésions cliniques, de type rétinohorodite, uni- ou multifocales ou diffuses, parfois bilatérales. Elles sont souvent plus étendues et hémorragiques que chez les patients immunocompétents mais avec une réaction inflammatoire moins intense. Une uvéite antérieure est fréquemment associée (Afssa, 2005).

IV.1.5 Localisation pulmonaire

C'est une localisation peu fréquente, mais d'une extrême gravité. Elle est observée chez des patients profondément immunodéprimés, elle ressemble à la pneumocystose et se caractérise par une pneumopathie fébrile dyspnéisante, avec un aspect radiologique de pneumopathie interstitielle (Akourim, 2016). Dans la plupart des cas, l'évolution est fatale en quelques jours avec l'aggravation rapide des symptômes pulmonaires et la survenue fréquente d'un état de choc (Rabaud et al., 1996). De nombreux autres sites d'infection ont été observés, parmi lesquels le myocarde, la moelle osseuse, le muscle squelettique, le sang périphérique (Glover et al., 2017) le foie, le pancréas, la vessie, les ganglions lymphatiques, les reins, la rate et la peau (Romanet, 2017).

IV.1.6 Toxoplasmose congénitale

Le risque de transmission verticale, chez les femmes immunocompétentes, est, sauf très rares exceptions, lié à la primo-infection au cours de la grossesse. Cette primo-infection est affirmée

par la séroconversion autrement dit le passage d'une sérologie négative à une sérologie positive chez une patiente dont le dépistage initial est négatif (Yera et al., 2015). La toxoplasmose congénitale présente un large éventail de manifestations : mais elles sont inapparentes ou infra-cliniques dans 80% des cas ; elles sont aussi appelées « formes sérologiques » car seule la sérologie de l'enfant prouve qu'il est infecté. Le risque clinique principal est l'apparition de chorioretinites dans l'enfance, l'adolescence ou à l'âge adulte (Brenier-Pinchart et Pelloux, 2003).

La gravité de la maladie clinique chez les nourrissons infectés congénitalement est liée inversement à l'âge gestationnel au moment de l'infection maternelle primaire ; avec une infection maternelle au premier trimestre conduisant à plus de manifestations graves. Dans une proportion de cas, avortement spontané, prématurité ou mort-né peut résulter. L'implication du SNC est une caractéristique de l'infection congénitale à *Toxoplasma*. La présence de chorioretinite, de calcifications intracrâniennes et d'hydrocéphalie sont considérées comme la triade classique de la toxoplasmose congénitale. Fièvre, hydrocéphalie ou microcéphalie, hépatosplénomégalie, ictère, convulsions, chorioretinite (souvent bilatérale), calcifications cérébrales et liquide céphalo-rachidien anormal sont les caractéristiques classiques de la toxoplasmose congénitale sévère (Yera et al., 2015). D'autres signes peuvent comprendre une éruption cutanée, myocardite, pneumonie et détresse respiratoire, enfants malentendants (Figure 13).

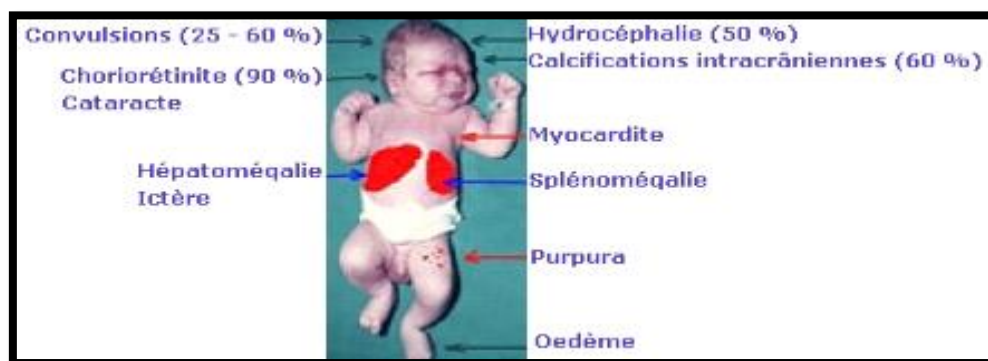


Figure 13: manifestation lors de toxoplasmose congénitale (Belamari, 2005)

IV.2 Toxoplasmose animale

IV.2.1 Chez les félins

Les signes cliniques sont rares chez le chat, ils sont dûs à des lésions inflammatoires et nécrotiques liées à la croissance extracellulaire des tachyzoïtes. L'infection congénitale a

tendance à être plus grave que l'infection du chat adulte (Hartmann et al., 2013). La toxoplasmose clinique proprement dite se développe à la faveur de la dissémination et de la réplication intracellulaire des tachyzoïtes. Elle survient habituellement suite à la réactivation d'une infection latente. On observe parfois ces signes lors d'infection par le FIV ou le FeLV, d'administration de corticoïdes ou de ciclosporine, les tissus les plus affectés étant les muscles, le SNC et les poumons (Hartmann et al., 2013). Les signes cliniques décrits sont, de l'hyperthermie, adénopathies, broncho-pneumonies (Figure 14), troubles digestifs, atteintes nerveuses et oculaires (uvéïte antérieure, chorioretinite), des phénomènes convulsifs, musculaires (polymyosite), des paralysies (Figure 15). Ces troubles sont plus fréquemment observés chez les chatons et les chats immunodéprimés (Alerte, 2008). Ces symptômes sont pour la plupart inconstants et varient d'un animal à un autre. Il n'existe donc pas de signe pathognomonique, d'où la difficulté du diagnostic à partir des signes cliniques (Alanonto, 2012).

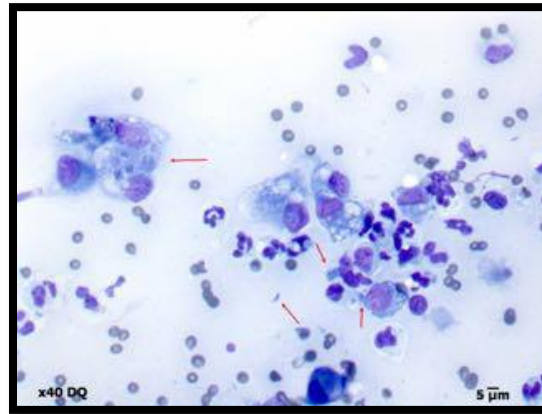


Figure 14: Cytologie d'une ponction à l'aiguille fine chez un chat présentant une toxoplasmose pulmonaire avec consolidation pulmonaire : présence de nombreux tachyzoïtes et kystes intra et extracellulaires (flèches) (Hartmann et al., 2013)



Figure 15: Chat atteint de toxoplasmose et présentant une myosite liée à la présence de kystes de *T. gondii*. Le chat présentait un décubitus latéral, une incapacité à se lever et une sévère hyperesthésie musculaire (Hartmann et al., 2013).

IV.2.2 Toxoplasmose chez les petits ruminants

Les moutons et les chèvres sont les animaux d'élevage chez lesquels le plus grand nombre de kystes sont retrouvés. Chez le mouton non immunisé, de nombreux tissus sont infectés et des kystes sont retrouvés dans le cerveau, le cœur, les muscles, le foie, l'intestin (Moiré et al., 2009).

Les formes congénitales et acquises existent mais la toxoplasmose congénitale est la plus courante surtout chez la brebis en raison de sa placentation épithéliochooriale (Alerte, 2008). Dans un troupeau indemne, la primo-infection s'accompagne d'une "vague" d'avortements dont les modalités varient selon le stade de gestation (Mondoly et al., 2013).

Une contamination survenant au cours des deux premiers mois de gestation (moins de 50 jours) conduit le plus souvent à une mort fœtale. Celle-ci est suivie de résorption ou d'avortement. Si l'infection se produit entre le 70^{ème} et le 90^{ème} jour de gestation, un certain nombre de fœtus meurent et se momifient (Figure 16), d'autres peuvent survivre jusqu'à proximité du terme et être mort-nés (Alanonto, 2012).



Figure 16: Fœtus momifié après contamination de la maman par *T.gondii* (Gaston, 2017).

La contamination des adultes conduit à une immunité protectrice durable de sorte que les femelles ayant avorté suite à une infection à *T.gondii* ne ré-avortent généralement pas lors d'une nouvelle exposition (Mondoly et al., 2013).

IV.2.3 Toxoplasmose chez les bovins

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 ; Dubey, 1986). Les signes sont plus intenses chez le veau avec une fièvre et une détresse respiratoire (Costa et al., 1977).

Aucun parasite vivant n'a été retrouvé chez cette espèce dans des conditions d'infection naturelle (Moiré et al., 2009). Le parasite ne persisterait pas toute la vie de l'animal, et a rarement été récupéré dans les tissus de bovins inoculés (Dubey, 1986). Les bovins ne présentent par ailleurs que rarement de kystes tissulaires (Dubey, 1986 ; Moiré et al., 2009). 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).

La transmission fœtale chez les bovins n'est pas très importante dans les conditions naturelles (Dubey, 1986) car l'isolement de *T. gondii* n'a été obtenu que deux fois, aux Etats Unis et au Portugal (Canada et al., 2002).

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).

IV.2.4 Toxoplasmose chez la volaille

La maladie se manifeste cliniquement chez plusieurs espèces domestiques (poulets, canards, pigeons) et sauvages (Dia, 1992). Encéphalite et chorioretinite sont les symptômes les plus fréquents. Néanmoins on peut également observer de l'anorexie, de l'amaigrissement, des crêtes pâles, des mouvements saccadés de la tête, de la paralysie, une diminution de la vision. Les lésions peuvent aller jusqu'à des ulcérations de l'intestin, des nécroses du foie et de la rate, des pneumonies ou des lésions péricardiques et myocardiques (Demard, 2009).

IV.2.5 Toxoplasmose chez les rongeurs

La toxoplasmose clinique chez le lapin est apparemment rare et non spécifique (Rouatbi et al., 2019) les rongeurs sont fréquemment séropositifs. La maladie peut rester latente ou provoquer des symptômes nerveux et de la fièvre (Burnet, 2007).

IV.2.6 Toxoplasmose chez le porc

On a observé plusieurs cas de toxoplasmose acquise chez les porcelets avec des "troubles respiratoires. Les viandes de porc et de mouton sont les principales sources de contamination humaine (Dia, 1992).

IV.2.7 Toxoplasmose chez le cheval

Les chevaux, comme tous les animaux à sang chaud, peuvent être infectés par *T.gondii* et sont donc des hôtes intermédiaires, ils sont le plus souvent infectés par ingestion d'oocystes sporulés trouvés dans excréments de chats infectés (Langoni et al., 2007) Ils sont considérés comme l'une des espèces animales les plus résistantes à développer une toxoplasmose clinique (Aroussi, 2015). Cependant, de nombreuses études ont démontré l'apparition de manifestations cliniques telles que de l'irritabilité, de l'incoordination motrice, des altérations nerveuses et ophtalmologiques, mais aussi des avortements (Langoni et al., 2007) .Ceci étant dit ,c'est *Sarcocystis neurona* qui serait l'agent responsable de l'encéphalomyélite fatale chez les chevaux aux États-Unis et non pas *T. gondii* (Dubey et al., 2001).

Toxoplasma gondii peut également occasionner une uvéite (Figure 17) par action cytotoxique directe du parasite dûe à sa pénétration cellulaire (Rougier, 2010). C'est un phénomène rare et contesté : un seul cas rapporte l'isolement de ce protozoaire lors d'affection oculaire (Tassi, 2007). En effet, l'ADN de *T. gondii* a été détecté dans la rétine, la choroïde et la sclère d'un poney de 17 ans ,ainsi que dans un placenta équin et un poulain avorté , montrant non seulement que les chevaux sont sensibles à l'infection à *T.gondii* mais aussi qu'une transmission verticale peut se produire chez les juments gestantes (Papini et al.,2015).

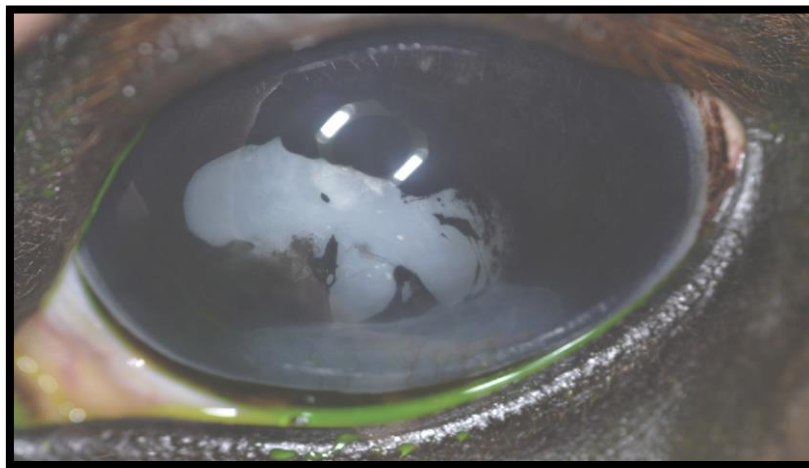


Figure 17 : Uvéite chez un cheval (Polle et al., 2014).

Les chevaux restent cliniquement asymptomatiques aux infections expérimentales, même à doses élevées utilisées dans les études de Al-Khalidi et al ainsi que Dubey qui ont été respectivement de 105 et 104 oocystes (Al-Khalidi et al., 1980 ; Dubey,1985). Aucun schéma

pathologique spécifique de *T. gondii* n'a donc été défini chez le cheval, tant dans des conditions naturelles qu'expérimentales (Gouache, 2009).

IV.2.7.1 Risques liés à la consommation de viande chevaline

La viande de cheval à un niveau très faible en gras et en cholestérol (environ 20% de moins que les autres viandes) ; elle contient ainsi une faible quantité d'acides gras saturés, mais aussi une quantité de fer très élevée et de bonnes concentrations d'acides gras polyinsaturés tels que acides linoléique et α -linoléique, indiquant qu'elle peut avoir des effets bénéfiques pour la santé humaine (Del Bo et al., 2013 ; Papini et al., 2015).

Dans plusieurs pays d'Europe notamment la France, la Belgique, l'Italie ou encore l'Espagne, les chevaux sont abattus en fin de carrière de course ou en cas de faibles performances, mais aussi pour des raisons telles que les contraintes financières (pension excessive, soins vétérinaires coûteux), vieillesse ou encore les problèmes de santé (boiterie, blessure.....)(Lorenzo et al., 2014). C'est le cas de l'Algérie qui n'a pas d'élevage de chevaux d'abattage, ces derniers sont représentés par des chevaux souffrant de boiteries chroniques, de vieillesse ou encore de performances jugées insuffisantes par leurs propriétaires.

Il a été démontré que *T. gondii* pouvait persister jusqu'à 476 jours dans les muscles de chevaux (Dubey, 1985). Ce critère associé à la cuisson insuffisante de la viande chevaline, recommandée aux personnes carencée en fer ou anémiées, constitue une source importante de contraction de toxoplasmose.

V Diagnostic de la toxoplasmose

Le dépistage de la toxoplasmose est basé essentiellement sur 4 méthodes de diagnostic

V.1 Diagnostic étiologique

Lors d'avortements survenant dans un troupeau de brebis, la toxoplasmose représente un diagnostic d'exclusion (Afssa, 2005) :

- La salmonellose doit être suspectée et recherchée. On utilisera le diagnostic direct et indirect (sérologie) à partir des produits d'avortement.
- La chlamydiose sera recherchée par la coloration de stamp, l'inoculation à l'œuf ou encore la sérologie.

Le diagnostic de la toxoplasmose est alors envisagé seulement lorsque les deux précédentes recherches se sont révélées négatives (Dia, 1992).

La brucellose et la fièvre Q doivent également être éliminées (Afssa, 2005).

Lors d'avortements dans un troupeau de bovins, la recherche étiologique n'est pratiquement jamais réalisée (Afssa, 2005).

V.2 Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique est difficile car pas de signes spécifiques. La toxoplasmose peut être suspectée dans le cas d'avortements à répétition, de maladies aiguës fébriles, de troubles oculaires ou de morts subites chez des espèces sensibles. Les données épidémiologiques sont importantes et le recours à un diagnostic expérimental, fréquemment une sérologie, est nécessaire (Burnet, 2007).

V.3 Diagnostic de laboratoire

V.3.1 Diagnostic parasitologique

V.3.1.1 Examen direct

Le diagnostic parasitologique de la toxoplasmose repose sur la mise en évidence du toxoplasme sur divers prélèvements par différentes méthodes. Il est réalisé sur le liquide amniotique, le sang du cordon et le placenta, dans le cadre du diagnostic d'une toxoplasmose congénitale, sur le sang périphérique, la moelle osseuse, le LCR, le LBA et la biopsie cérébrale chez le sujet immunodéprimé (Messerer, 2015).

La mise en évidence de tachyzoïtes et de kystes contenant des bradyzoïtes (Figure 18) est possible sur des étalements ou frottis de pulpe d'organes (cerveau, foie, rein, poumon, cœur, muscle, etc...) ou éventuellement de placenta fixés dans du formol à la p.100 et colorés à l'hématoxyline éosine ou au May-Grünwald-Giemsa (M.G.G) pour rechercher des kystes parasites et les foyers de nécrose (Dia, 1992). La technique la plus utilisée et la plus courante est le fond clair en microscopie optique, où sont conservées des tranches de tissus montés sur des lames et teints avec acidophile, basophile, ou des colorants réactifs pour améliorer diverses caractéristiques des cellules (McGovern et Wilson, 2013).

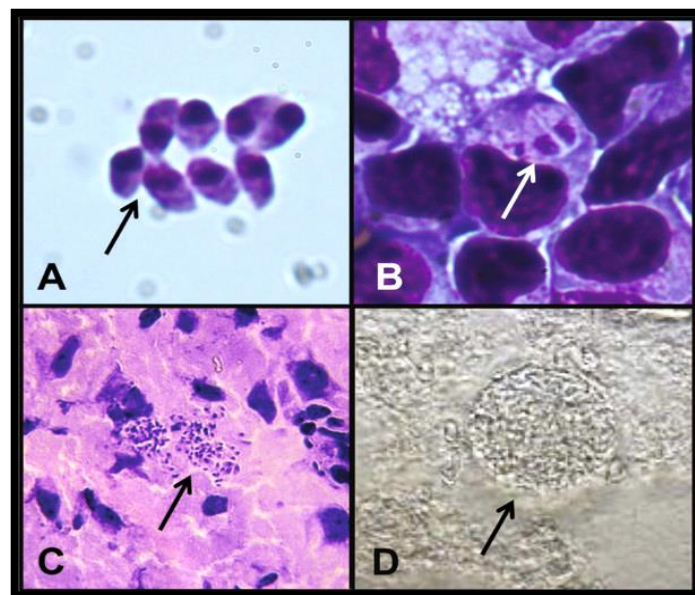


Figure 18: Stades de *T. gondii* visualisés par microscopie optique. A. Tachyzoïtes extracellulaires du péritoine d'une souris sept jours après l'infection, colorées par H&E. (63x) B. Réplication des parasites à l'intérieur d'un monocyte, colorée avec H&E. (63x) C. Bradyzoïtes trouvés dans le cerveau d'une souris infectée de façon chronique, colorée avec H&E. (40x) D. Kyste non coloré d'homogénat cérébral (40x) (McGovern et Wilson,2013).
H&E= Hematoxylin and eosin

V.3.1.2 Inoculation à la souris ou bio-essai

C'est la technique de référence pour la mise en évidence de toxoplasmes viables. Les tachyzoïtes de *T. gondii* sont produites par des passages en série dans la cavité péritonéale des souris ou des rats cotonniers (Ashburn et al., 2000 ; Petersen et al., 2001 ; Villavedra et al., 2001).

L'inoculation à la souris fournit des résultats tardifs, mais elle conserve des avantages majeurs : une bonne sensibilité, une spécificité de 100%, (Homann et al., 2000) une confirmation objective des résultats de la biologie moléculaire, voire une complémentarité des résultats de la PCR (Fricker-Hidalgo et al., 1998). Ceci dit elle présente des inconvénients qui sont d'avoir des échantillons frais de muscle (cœur ou diaphragme) ou de cerveau (Figure 19), conservés dans une solution antibiotique (Blaga et al., 2015), un prix onéreux (Saadania et al., 2010). Les souris inoculées ne survivent à l'infection que pendant 4 à 6 jours et les tachyzoïtes sont souvent contaminés par des cellules péritonéales. Aussi, bien que pratique et fiable, cette technique n'est pas souhaitable sur le plan éthique.

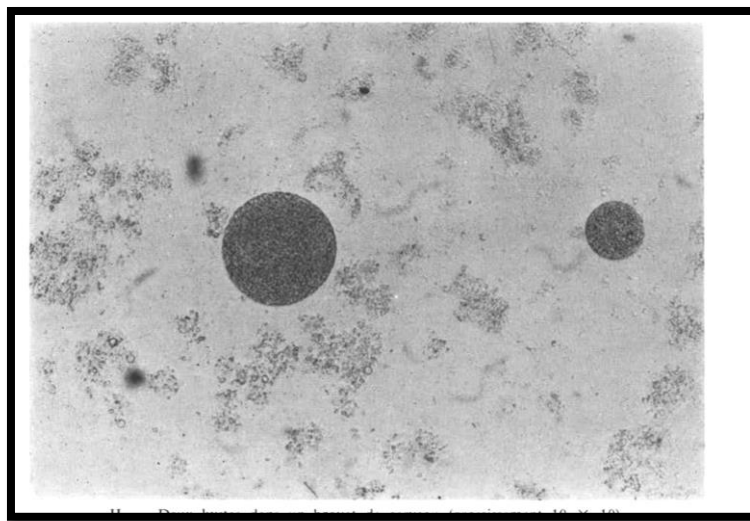


Figure 19: Deux kystes dans un broyat de cerveau (grossissement 10 X 10) (Laugier et Quilici, 1970).

V.3.1.3 Biologie moléculaire

La biologie moléculaire a permis des progrès considérables pour le diagnostic de la toxoplasmose. Son application aux prélèvements biologiques (liquide amniotique, sang, lavage broncho-alvéolaire, liquide céphalorachidien, humeur aqueuse, etc) est cependant réservée à des laboratoires spécialisés. Diverses techniques ont été développées avec des sensibilités rapportées variables selon les méthodes d'extraction de l'ADN utilisées et le gène détecté (Doliwa, 2012). Un choix consensuel s'établit pour l'utilisation comme cibles de gènes répétés, par exemple le gène B1 (répété 35 fois) en raison de sa spécificité au sein du génome de *T. gondii* et plus récemment par amplification de la séquence de Homan (529 pb) (répété 200 à 300 fois) (Homan et al., 2000).

La PCR en temps réel, d'utilisation plus récente, permet en outre une quantification de l'ADN présent dans les prélèvements (Romand et al., 2004). Cette méthode est très sensible, très spécifique et rapide (Tsutsuis et al., 2007).

Actuellement, la PCR en temps réel se développe et permet la quantification de l'ADN présent dans les échantillons. Les applications de la PCR dans le diagnostic d'une infection toxoplasmique concernent principalement le diagnostic anténatal et néonatal d'une toxoplasmose congénitale et le diagnostic d'une toxoplasmose disséminée chez les patients immunodéprimés (Messerer, 2015).

V.3.1.4 Examen coprologique

Une coprologie peut être réalisée chez les chats afin de mettre en évidence directement des oocystes toxoplasmiques. Néanmoins, les chats n'excrètent des oocystes qu'au maximum trois semaines après l'ingestion et l'excrétion fécale d'oocystes cesse lorsque la réponse immunitaire est normale. De plus, la petite taille des oocystes justifie également la mise en place d'autres techniques diagnostiques (Demard, 2009).

V.3.2 Diagnostic sérologique

La diversité des structures antigéniques du toxoplasme est une raison expliquant la multitude des techniques fondées sur la détection d'anticorps spécifiques. La mise en évidence des anticorps spécifiques IgG, IgM et IgA permet de dater l'infection, d'orienter la thérapeutique ou de proposer des mesures prophylactiques (Messerer, 2015).

Les techniques sérologiques font appel à :

Des antigènes entiers vivants ou fixés appelés antigènes figurés, ils sont obtenus à partir d'ascites de souris inoculées avec la souche RH ou à partir de culture cellulaire sur les fibroblastes. Les anticorps détectés par ces techniques sont dirigés contre les antigènes membranaires en particuliers la P30 (protéine majeure de la membrane du toxoplasme) (Essaoudi, 2015), des extraits antigéniques plus ou moins purifiés appelés antigènes solubles obtenus par des traitements physico-chimiques des parasites (broyage, congélation, décongélation, ultrasonication et lyse osmotique des parasites) (El Bouhali, 2012).

V.3.2.1 Dye test : test de lyse (test de Sabin et Feldman)

Mis au point en 1948, le Dye test, ou test de lyse, ou test de Sabin et Feldman (SFT), a pour principe d'exposer des toxoplasmes vivants (tachyzoïtes) en présence de complément et de sérum décomplémenté (Beauchamps, 1999). L'usage d'un colorant vital permet de déterminer le pourcentage de toxoplasmes vivants. Une variante introduite par Desmonts en 1955 remplace la coloration vitale par la lecture en contraste de phase (Messerer, 2015). La technique est basée sur l'observation de la lyse des toxoplasmes vivants. La réaction est considérée comme positive quand 50 % de toxoplasmes sont morts (Beauchamps, 1999), cette lyse est déterminée par la perte de l'affinité tinctoriale pour le bleu de méthylène selon Sabin et Feldman ou perte de la réfringence en contraste de phase selon Desmonts (Messerer, 2015).

Son avantage majeur est sa spécificité, elle est encore une technique de référence utilisée comme test de confirmation en cas de discordance d'interprétation ou de valeurs limites des tests sérologiques effectués en première intention. Elle détecte les anticorps rapidement en début d'infection (Bouchikhi, 2018). L'inconvénient de cette méthode est la nécessité de posséder et de manipuler des toxoplasmes vivants et très virulents, de l'importante expertise technique requise ou du manque de standardisation (Blaga et al., 2015). De plus, ce test est incapable de détecter les anticorps présents dans les sérums de certaines espèces d'oiseaux (Dubey, 2002).

V.3.2.2 Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT)

Le test IFAT ou IFI (Immunofluorescence indirect) est la méthode choisie pour rechercher les anticorps anti *T.gondii*. Cette méthode est considérée comme un test gold standard pour le diagnostic sérologique de ce protozoaire. Cependant, l'IFAT nécessite un conjugué spécifique à l'espèce et un équipement spécial (Langoni et al., 2007).

L'IFAT est couramment utilisé pour diagnostiquer les infections à protozoaire. Cette technique est basée sur une méthode de marquage des anticorps avec une coloration fluorescente, généralement la fluorescéine, qui donne une couleur vert-jaune en lumière ultraviolette. Le sérum suspect est mis en contact avec les parasites servant d'antigènes. Les parasites sont obtenus d'animaux de laboratoire infectés ou de culture *in vitro*, et fixés sur une lame de verre. Si le sérum provient d'un animal exposé à ce parasite particulier, il contient des anticorps qui se fixent sur les sites antigéniques des parasites. La réaction est rendue visible en ajoutant des anti-immunoglobulines spécifiques du sérum suspect associé à un fluorochrome.

L'IFI utilise des tachyzoïtes de *Toxoplasma gondii* entiers formolés et fixés sur une lame en verre à puits dans lesquels sont ajoutées différentes dilutions du sérum à tester. Les anticorps anti-*Toxoplasma gondii* du sérum des patients se fixent sur les tachyzoïtes et sont révélés par addition d'anticorps anti-immunoglobulines humaines de type IgG (et/ou IgM) marquées par un composant fluorescent, l'isothiocyanate de fluorescéine (Armengol, 2016).

La lecture se fait au microscope à fluorescence et la présence d'anticorps spécifiques se manifeste par une fluorescence homogène des tachyzoïtes. Le titre correspond à la dernière dilution du sérum pour laquelle l'intégralité de la membrane des tachyzoïtes apparaît fluorescente. Cette technique a bénéficié de l'étalonnage par le même sérum que le Dye Test et ses titres s'expriment en UI (Essaoudi, 2015).

Cette technique détecte les IgG et les IgM selon la nature de l'antiglobuline utilisée. Elle permet une bonne détection des IgG dont le seuil de sensibilité est situé à 8 UI/ml. Il est aussi possible de détecter les anticorps IgM (Iharti, 2019).

Les principaux inconvénients de cette méthode sont qu'elle requière un microscope à fluorescence, du temps et des lecteurs très qualifiés compte tenu de la subjectivité de la lecture en présence de fluorescence non spécifique (bruit de fond) (Armengol, 2016).

V.3.2.3 Réactions d'agglutination

Ce sont des techniques sérologiques qualitatives ou semi-quantitatives simples, rapides, peu coûteuses qui ne nécessitent pas de microscope et donc très utilisées car facile à mettre en place au laboratoire (Armengol, 2016). Le principe de ces réactions est de coïncuber des dilutions de sérum avec des suspensions de toxoplasmes dans des plaques de microtitrations. La lecture se

fait à l'œil nu. Une réaction positive est matérialisée par un voile formé au fond de la cupule et une réaction négative par un bouton de sédimentation (Messerer, 2015).

V.3.2.3.1 Agglutination directe classique

Cette technique montre qu'une suspension pure de *T. gondii*, peut être agglutinée directement par les anticorps anti-toxoplasmes (Essaoudi, 2015).

La réaction se fait sur un sérum traité au 2 mercaptoethanol afin de dénaturer les IgM et d'apprécier uniquement le titre des IgG, et sur un sérum non traité afin de détecter IgG et IgM. Il s'en suit la détermination d'un titre en fonction de la dernière dilution positive.

La différence permet d'avoir une estimation de la présence d'IgM. Il faut être très prudent car la présence d'IgM naturelles peut entraîner une modification importante du titre sans qu'il s'agisse d'IgM immunes. Pour suspecter la présence d'IgM immunes, il faut exiger une différence d'au moins 3 titres entre l'agglutination sur sérum non traité et sur sérum traité au 2 mercaptoethanol.

D'une grande simplicité d'exécution, cette technique manque de sensibilité et des faux positifs peuvent apparaître (El Bouhali, 2012).

V.3.2.3.2 Agglutination directe sensibilisée IgG

Proche de la précédente, elle gagne en sensibilité (2 à 4 UI/ml). Cette technique utilise des toxoplasmes traités par la trypsine (enzyme qui augmente le nombre de site antigénique), ce qui amplifie donc la réaction antigènes/anticorps. C'est une méthode de base pour la détection des IgG, elle en demeure pas moins très coûteuse et non automatisable (El Bouhali, 2012).

V.3.2.3.3 Agglutination directe haute sensibilité (ADHS)

Dans une plaque de microtitration à 96 cupules sont mis en présence une suspension très riche en antigènes figurés soit en tachyzoïtes entiers formolés sensibilisés à la trypsine et diverses dilutions du sérum du patient (Armengol, 1996). La positivité de l'échantillon est mise en évidence par l'agglutination que provoque la mise en contact de l'antigène (*Toxoplasma gondii*) et des anticorps spécifiques (Alerte, 2008).

Ce test, fiable, présente l'intérêt de pouvoir être utilisé pour toutes les espèces avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité (Kellaci, 2016). L'ADHS est indiquée dans la littérature anglo-américaine sous le nom de MAT (Modified Agglutination Test) (Afssa, 2005).

V.3.2.3.4 Réaction ISAGA (Immuno-Sorbent Agglutination Assay)

Cette réaction qui utilise des toxoplasmes formolés repose sur le principe d'immunocapture des anticorps. Elle est appliquée pour la mise en évidence des anticorps IgM, IgA, IgE (El Bouhali, 2012).

La recherche des IgM anti-toxoplasmes repose sur le principe d'immunocapture préalable des anticorps IgM du sérum sur des plaques de micro-titration sensibilisées avec des anti-globulines anti-chaine μ humaines. L'addition d'une suspension de toxoplasmes formolés entraîne ensuite une agglutination en voile des parasites sur ces anticorps. Une réaction positive se traduit par une agglutination des anticorps spécifiques présents dans le sérum avec les toxoplasmes (Iharti, 2019). En l'absence d'IgM anti-toxoplasmes, les parasites sédimentent en bouton au fond de la cupule. C'est la taille du voile d'agglutination qui est mesurée (Essaoudi, 2015). C'est une méthode qui évite les phénomènes de compétition entre les IgG et les IgM spécifiques, ainsi que les interférences dues au facteur rhumatoïde et aux anticorps antinucléaires (El Bouhali, 2012). L'Isaga est actuellement la méthode la plus sensible pour les IgM qui sont détectées parfois plus d'un an après une primo-infection. Il s'agit de la méthode de référence pour les bébés (Iharti, 2019).

V.3.2.4 ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)

Des antigènes toxoplasmiques sont mis en contact avec un sérum à tester ainsi que des immunoglobulines couplées à des enzymes (Figure 20). La présence des anticorps dans le sérum à tester est révélée par l'addition d'un substrat spécifique de l'enzyme et la dégradation de ce substrat (Alerte, 2008) cette technique présente de nombreux avantages ; peut-être standardisé et automatisé, les kits commerciaux sont disponibles, elle permet de quantifier les IGG, présente également une forte sensibilité et spécificité dans plusieurs espèces (Blaga et al., 2015). Cependant, Cette technique a l'inconvénient majeur de nécessiter un conjugué spécifique pour chaque espèce ce qui limite son utilisation, surtout dans le domaine de la faune sauvage. (Alerte, 2008).

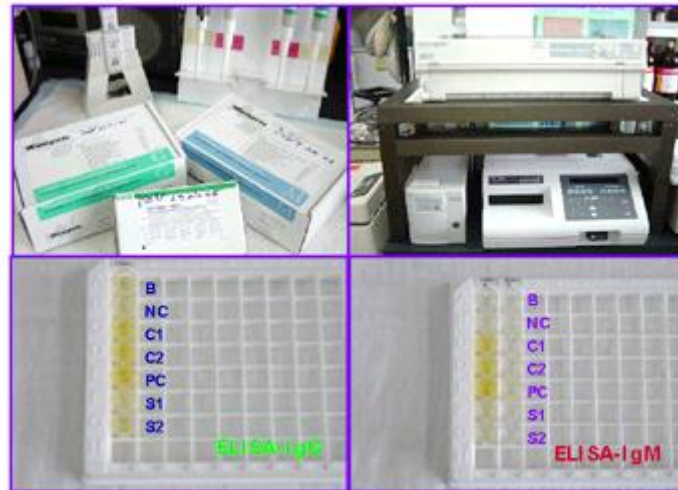


Figure 20 : Images représentant le Kit ELISA

V.3.2.5 Techniques d'agglutination indirecte

Elles peuvent soit utiliser des particules de plastique (latex ou polystyrène) soit des hématies de mouton sensibilisés par des antigènes solubles de toxoplasme (Armengol, 2016).

V.3.2.5.1 Hémagglutination passive= indirecte

Elle a été proposée pour la première fois par Jacobs (1973) et fait intervenir un antigène soluble. Cette méthode repose sur l'agglutination d'hématies de moutons traitées par la glutaraldéhyde et sensibilisées par un lysat de toxoplasmes lorsqu'elles sont en présence de dilutions de sérums contenant des anticorps homologues (Mohamed Cherif, 2019).

V.3.2.5.2 Agglutination de particules de latex :

Le principe est comparable à celui de l'hémagglutination et utilise des antigènes toxoplasmiques fixés sur des billes de latex (Iharti, 2019). Cette technique permet de mettre en évidence les immunoglobulines totales mais ne différencie pas les isotypes. D'exécution simple et rapide, elle se heurte tout de même au risque de faux négatifs par phénomène de zone (El Bouhali, 2012).

V.3.2.6 Western Blot (WB)

C'est une technique qui a été introduite dans le diagnostic par Towbin et al en 1979 (Towbin et al., 1979), elle représente une méthode analytique extrêmement performante qui permet de séparer les fractions les plus spécifiques de la mosaïque antigénique. Le Western Blot est une

technique complémentaire utilisée chez le nouveau-né et sa mère dans le cadre du diagnostic d'une toxoplasmose congénitale. Elle permet de visualiser et de comparer les profils d'anticorps IgG, IgM et IgA chez la mère et son enfant. Lorsque que l'enfant est infecté, le Western Blot permet de mettre en évidence des anticorps néo-synthétisés chez le nouveau-né. Cette technique permet également de différencier la réponse en anticorps dans deux milieux biologiques différents : sérum/humeur aqueuse au cours de la toxoplasmose oculaire et sérum/LCR au cours de la toxoplasmose cérébrale chez l'immunodéprimé (Robert-Gangneux et al., 1999).

VI Prophylaxie de la toxoplasmose

VI.1 Prophylaxie sanitaire

VI.1.1 Chez les animaux

Elle concerne essentiellement le chat, réservoir du parasite. Par ailleurs, aucune médication administrée au chat n'empêche l'élimination définitive des oocystes. On conseille :

- De cuire l'alimentation du chat si possible (Dia, 1992), ou de distribuer que de la viande congelée(température $\geq -18^{\circ}\text{C}$)(Alerte, 2008).
- Un nettoyage quotidien de leur enclos (Alerte, 2008).
- D'éliminer systématiquement les excréments des félins, de jeter la litière sèche sans la secouer. La destruction peut se faire par dépôt en décharge, incinération, ou en les enterrant à une bonne profondeur. Les bacs ou plateaux de litière doivent être désinfectés (par étuvage à 70°C pendant 10 minutes au moins) chaque jour, de même que les pelles, balais et autre articles de nettoyage (El Bouhali, 2012).
- Dans les zoos, il faut limiter l'accès des chats errants aux réserves de nourritures (foins, granulés, paille) et aux enclos pour éviter qu'ils viennent excréter des oocystes à proximité des enclos des animaux sensibles (Alerte, 2008).

D'autres mesures peuvent être prises concernant les animaux hôtes intermédiaires :

- de surveiller les mises bas surtout lors d'avortement enzootique chez les petits ruminants puisque de nombreux nouveau-né meurent asphyxiés dans leurs enveloppes épaissies qu'ils ne peuvent déchirer ;
- ne pas laisser les placentas des femelles ayant avorté à la portée des autres femelles ;
- les brebis qui auront été atteintes par ce processus pathologique devront être conservées puisqu'elles sont immunisées ;
- enfin, d'introduire quelque mois avant la lutte, des animaux jeunes, généralement dépourvus d'immunité dans un lot de brebis ayant présenté des avortements à toxoplasmes. Les animaux nouvellement introduits pourront alors éventuellement se contaminer à partir des pseudo-kystes des placentas infestés. Ils développeront alors une toxoplasmose acquise et se trouveront immunisés contre toute toxoplasmose congénitale ultérieure (Dia, 1992).

VI.1.2 Chez les humains

L'homme en raison de son régime alimentaire omnivore peut se contaminer aisément. Les accidents peuvent survenir chez les femmes qui, deviennent positives pendant la grossesse. Les risques encourus par le fœtus dépendent du moment et de la gravité de l'infestation. Seules les mesures prophylactiques restent efficaces pour prévenir la toxoplasmose (Dia, 1992).

Les mesures de prévention de la toxoplasmose congénitale demeurent basées aussi bien sur les mesures hygiéno-diététiques que le dépistage et le traitement précoce (Boubekeur et Rahis, 2019).

VI.1.2.1 Prévention primaire

Elle est essentielle pour les femmes enceintes non immunes et aux sujets immunodéprimés, elle repose sur des règles hygiéno-diététiques à fin d'éviter le risque de séroconversion ou de réactivation (Boubekeur et Rahis, 2019). Il existe de nombreuses recommandations concernant la prévention primaire de la toxoplasmose. Certaines d'entre elles ne sont pas suffisamment validées. Afin d'éviter toute confusion, Il est important d'établir une liste officielle de recommandations, de s'assurer de leur diffusion auprès des médecins, d'étudier leur diffusion réelle et d'évaluer leur impact auprès des femmes enceintes; le tableau (5) fait la synthèse de l'ensemble des recommandations (Afssa, 2005).

Tableau 5 : Synthèse actualisée des recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte (Afssa, 2005).

Recommandations indispensables		Précisions
Hygiène personnelle	Se laver les mains : - surtout après avoir manipulé de la viande crue, des crudités souillées par de la terre ou avoir jardiné, - avant chaque repas.	-Brossage des ongles recommandé
Hygiène domestique	- Porter des gants pour jardiner ou pour tout contact avec de la terre.	
	-Faire laver chaque jour, par une autre personne, le bac à litière du chat avec de l'eau bouillante, ou porter des gants	-Faire particulièrement attention aux jeunes chats, surtout s'ils chassent, et aux chats errants.
Hygiène alimentaire	Bien cuire tout type de viande (y compris la volaille et le gibier). En pratique, une viande bien cuite a un aspect extérieur doré, voire marron, avec un centre rose très clair, presque beige et ne laisse échapper aucun jus rosé.	Une viande bien cuite correspond à une température à cœur comprise entre 68 et 72°C. Eviter la cuisson des viandes au four à micro-ondes
	Lors de la préparation des repas, laver à grande eau les légumes et les plantes aromatiques, surtout s'ils sont terreux et consommés crus.	Précautions particulièrement renforcées pour les végétaux constamment souillés par de la terre et consommés crus; radis, salade, fraises, champignons.
	Laver à grande eau les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail.	
Recommandations complémentaires		Précisions
Congélation	La congélation des denrées d'origine animale à des températures inférieures à -18°C (surgélation) permet la destruction des kystes, et peut être proposée comme recommandation complémentaire de prévention.	
Repas en dehors du domicile	Ne consommer de viande que bien cuite. Eviter les crudités. Préférer les légumes cuits	
Autres recommandations (relevant de la précaution)		Précisions
Aliments déconseillés	Lait de chèvre cru.	Risque exceptionnel mais avéré.
	Viande marinée, saumurée ou fumée.	Risque potentiel.
	Huîtres, moules et autres mollusques consommés crus	Risque hypothétique à confirmer.

VI.1.2.2 Prévention secondaire

Celle-ci a pour objectif, de traiter précocement les femmes infectées et de les surveiller tout au long de la grossesse (diagnostic anténatal et post-natal afin d'évaluer l'atteinte fœtale). Elle constitue tout de même une source d'angoisse, d'exams multiples et de traitements pour une femme enceinte (El Bouhali, 2012).

Cette prévention s'applique également aux immunodéprimés (VIH, maladie de Hodgkin, traitement corticoïde) qui peuvent présenter des réactivations de kystes quiescents également responsables de toxoplasmose congénitale (Bouchikhi, 2018).

Deux recommandations sont préconisées à la suite de telles observations :

- Respecter un délai de 3 à 6 mois avant toute grossesse en cas de séroconversion récente, voire jusqu'à 6 à 9 mois selon certains auteurs.
- Assurer une surveillance échographique accrue chez les femmes ayant fait une séroconversion péri-conceptionnelle (Boubekeur et Rahis, 2019).

VI.2 Prophylaxie médicale

VI.2.1 Chez les animaux

En cas de déclaration de toxoplasmose dans un effectif, certains auteurs recommandent l'utilisation d'un traitement à base de triméthoprime-sulfadiazine ou de clindamycine aux posologies thérapeutiques sur les animaux exposés au risque (Garell, 1999).

Un vaccin anti-toxoplasme a été mis au point, destiné à être utilisé chez les ovins, caprins et les porcins pour prévenir les avortements et réduire la mortalité néonatale (Alanonto, 2012) et indirectement pour réduire le risque de contamination de l'homme (Afssa, 2005). Ce vaccin est disponible il s'agit de : Ovilis® Toxovax (commercialisé par Intervet). Il s'agit d'un vaccin vivant contenant des tachyzoïtes de la souche S48, souche incapable de former des kystes tissulaires, permet d'éviter l'infection des ovins pendant la gestation et donc de réduire le taux d'avortement chez la brebis et le risque de toxoplasmose congénitale. Il ne doit pas être administré pendant la gestation ou moins de trois semaines avant la mise à la reproduction (Alerte, 2008).

De nombreuses recherches actuelles travaillent sur l'élaboration d'un vaccin félin : un vaccin contenant des kystes tissulaires de la souche T263 a ainsi été testé chez le chat. Cette souche permet d'induire une immunité qui vise à supprimer l'excrétion des oocystes par un chat après

une primo-infection (Freyre, 2003). Si le chat est vacciné avant toute exposition au parasite, le risque de contamination de l'environnement et de la nourriture destinée aux hommes et aux autres animaux pourrait donc diminuer considérablement (Alerte, 2008 ; Afssa, 2005).

VI.2.2 Chez l'homme

Expérimentalement, l'efficacité d'un vaccin peut être évaluée par la réduction de mortalité à la suite d'un challenge par une souche létale, par la réduction de la charge parasitaire, estimée soit par le nombre de kystes dans le cerveau soit par PCR quantitative ou par la réduction de la transmission materno-foetale.

Chez l'homme, ces techniques parasitologiques ne sont pas applicables. Une évaluation immunologique, par la mesure quantitative et qualitative de l'immunité induite pourrait être envisageable. Nos connaissances sur l'immunité protectrice chez l'homme sont encore insuffisantes pour pouvoir affirmer une efficacité vaccinale sur de tels marqueurs (anticorps, réponse cellulaire spécifique, etc.).

La réduction de la transmission materno-foetale serait le meilleur marqueur de l'efficacité vaccinale. Son évaluation ne pourrait être envisagée qu'au cours d'une étude multicentrique incluant un nombre important de femmes enceintes représentatif de la population. Les contaminations pergestationnelles devraient avoir une répartition identique dans les 2 groupes. De plus il serait éthiquement impossible de ne pas traiter les femmes enceintes présentant une séroconversion, ce qui représente un biais dans l'évaluation de l'efficacité du vaccin (Afssa, 2005).

VII Traitement

La toxoplasmose, aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire peut être traitée à l'aide de nombreux médicaments (Dia, 1992). Ces molécules se regroupent en deux familles les macrolides et les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique qui regroupe les inhibiteurs de la déshydrofolate réductase et les sulfamides (El Bouhali, 2012).

VII.1 Macrolides

La spiramycine (Rovamycine®) est un antibiotique macrolide utilisée depuis plus de 30 ans. Elle a une action parasitostatique : elle agirait sur les ribosomes et aurait une action inhibitrice mais non lytique. Elle est active sur les tachyzoïtes. Sa concentration tissulaire dans le placenta est remarquable et elle franchit la barrière foeto-placentaire. Elle ne diffuse pas dans le parenchyme cérébral (Bessière, 2008). Il est de ce fait le seul antibiotique à utiliser chez les femmes enceintes (Bittame, 2011).

Chez la brebis gestante, 100 mg / kg de spiramycine *per os* par jour pendant les six dernières semaines de la gravidité, éviteraient les troubles de la gestation, mais une thérapeutique aussi longue est sans intérêt en clientèle du fait de ses contraintes et de son prix de revient. 3 ml d'une solution à 20 p.100 de spiramycine par voie parentérale chez les agneaux, pendant 4 jours de suite, guérissent les troubles pulmonaires (Dia, 1992).

Les lincosamides (une famille proche des macrolides, plus utilisés en médecine humaine) est une autre molécule largement utilisée chez le chien et le chat. Elle est parasitostatique. La recommandation est 12.5mg/kg deux fois par jour pendant 28 jours chez le chat et le chien (Alerte, 2008).

VII.2 Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique

VII.2.1 Inhibiteurs de la déshydrofolate réductase

VII.2.1.1 Pyriméthamine (Malocide®) :

Antipaludéen de synthèse a une action antimétabolite en empêchant la transformation de l'acide folique en acide folinique par inhibition de la DHFR. La pyriméthamine est parasiticide sur les tachyzoïtes mais est inactive sur les kystes. Elle a une bonne diffusion tissulaire, placentaire et méningée. Elle a aussi une synergie d'action avec les sulfamides et certains macrolides (Bessière, 2008). Toutefois, elle peut provoquer des incidents

hématologiques du fait de son action sur la myélogénèse avec anémie, agranulocytose, thrombopénie ce qui nécessite une surveillance hebdomadaire de la NFS ainsi que la supplémentation systématique en acide folinique (Lederfoline®).

On a signalé d'autre part la possibilité d'une myocardite ou d'une pigmentation cutanée. Ces signes sont rapidement réversibles à l'arrêt du traitement (El Bouhali, 2012). La pyriméthamine entraînant des effets secondaires plus sévères chez le chat, il est recommandé d'éviter son utilisation dans cette espèce (Alerte, 2008).

VII.2.1.2 Triméthoprine :

Moins utilisée, la triméthoprine composant du cotrimoxazole est également active sur *Toxoplasma gondii* mais à des concentrations 100 fois plus élevées que la pyriméthamine. Les principaux effets indésirables sont des troubles digestifs, des réactions cutanées allergiques. La pyriméthamine ou le triméthoprine ont un effet parasiticide sur les tachyzoïtes.

VII.2.1.3 Sulfamides :

Parasitostatique, ils inhibent la déhydrofolate synthétase et le déhydroptérase synthétase, deux enzymes intervenant dans la synthèse d'acide folique. De nombreux sulfamides sont actifs sur *Toxoplasma gondii* ; la sulfadiazine et le sulfaméthoxazole sont les molécules les plus utilisées (Alerte, 2008).

VII.2.2 Associations :

La pyriméthamine et les sulfamides agissent en synergie sur la voie de synthèse des folates. Cet effet synergique permet d'utiliser un plus faible dosage de pyriméthamine et donc de limiter les risques hématotoxiques (Bessière, 2008). Les combinaisons utilisées sont pyriméthamine + sulfadiazine et triméthoprine + sulfaméthoxazole. A titre d'exemple, les posologies recommandées chez le chien et le chat sont :

- Triméthoprine/sulfaméthoxazole (Bactrim®) : 15mg/kg PO deux fois par jour pendant 28 jours (Alerte, 2008) activité réelle mais discutée. Ces associations permettent de diminuer les doses de chaque molécule et d'en réduire ainsi la toxicité. Elles sont utilisées en priorité pour le traitement et la prophylaxie secondaire des formes graves de toxoplasmose (El Bouhali, 2012).

Partie expérimentale

Matériel & Méthodes

Matériel et méthodes

I.1 Plan d'échantillonnage et étude de zone :

Selon le Journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (JORDP, 2010), l'Algérie s'étend sur 1 622 km de linéaire côtier méditerranéen, et s'enfonce sur plus de 2 000 km dans le continent africain, au cœur du Sahara. A noter trois grands ensembles physiques (Figure 21) :

- le Nord ou le Tell, qui représente 4% du territoire national, et englobe 63% de la population, il compte 25 wilayas sur les 48 du pays.
- les Hauts-Plateaux, avec une proportion de 9% du territoire, et une population de 28% de la population globale ; regroupent quant à eux 14 wilayas.
- le Sud, ou le Sahara qui représente 87% du territoire national avec 9% de la population et englobe 9 wilayas au total.

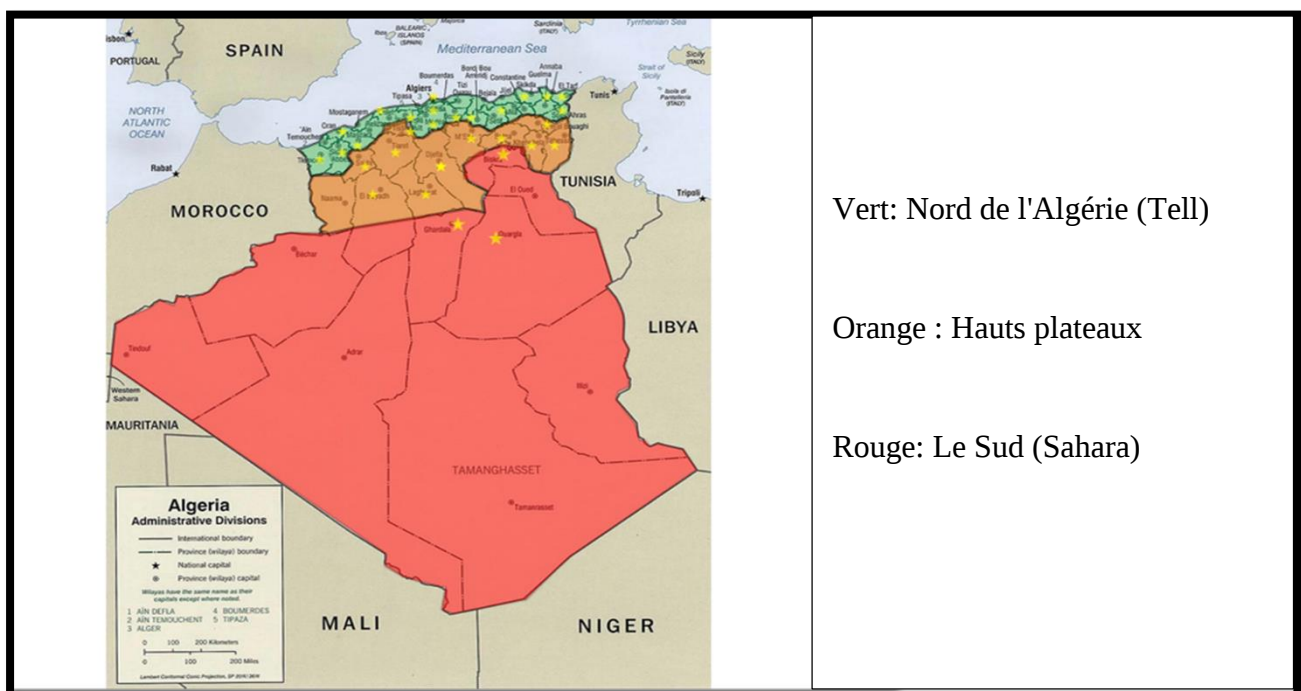


Figure 21 : Carte de l'Algérie sur laquelle sont visibles les 3 principales régions de l'étude. Les étoiles indiquent les régions dans lesquelles les chevaux ont été prélevés.

Pour échantillonner une si grande surface, la taille de l'échantillon a été calculée comme suit (Thrusfield, 2007) :

$$N = 1,962 P (1 - P) / D^2$$

Où: N = taille de l'échantillon; P: prévalence attendue; D: Précision absolue.

La prévalence attendue de la toxoplasmose est de 26% (Mohamed Cherif et al., 2015) avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et une précision absolue souhaitée de 5%.

Les zones ciblées dans cette étude correspondent à des régions / wilayas à forte population équine avec un nombre supérieur ou égal à 100 chevaux (données statistiques du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, du Département des Haras, de la Fédération Équestre Algérienne FEA et de la Société des Courses Hippiques et du pari mutuel SCHPM). En se basant sur ces statistiques, un pourcentage de 10% du nombre total des chevaux a été prélevé par wilaya.

Pour augmenter la précision absolue (D = 3%), la taille de l'échantillon a été majorée à 736 individus.

Les wilayas ainsi sélectionnées, ainsi que le nombre de chevaux prélevés par wilaya sont représentés dans le tableau 6 et la figure 22.

Tableau 6 : Wilayas faisant partie de notre étude ainsi que le nombre de chevaux prélevés dans celles-ci.

Region	Wilaya	Nombre de chevaux prélevés
Nord	16-Alger	69
	09-Blida	12
	44-Ain Defla	14
	41-Souk Ahras	10
	27-Mosta	45
	13-Tlemncen	45
	31-Oran	23
	48-Relizane	63
	22-Sba	32
	29-Mascara	50
Total Nord	10	363
Hauts plateaux	17-Djelfa	19
	03-Laghouat	51
	28-Msila	15
	19-Setif	33
	05-Batna	11

	40-Khenchla	10
	34-Bbouriridj	15
	20-Saida	26
	14-Tiaret	68
	32-El-Bayadh	30
	38-Tissemsilt	20
	45-Naama	17
Total Hauts plateaux	12	315
Sud	07-Biskra	13
	30-Ouargala	29
	47-Ghardaia	16
Total Sud	3	58
Total	25	736

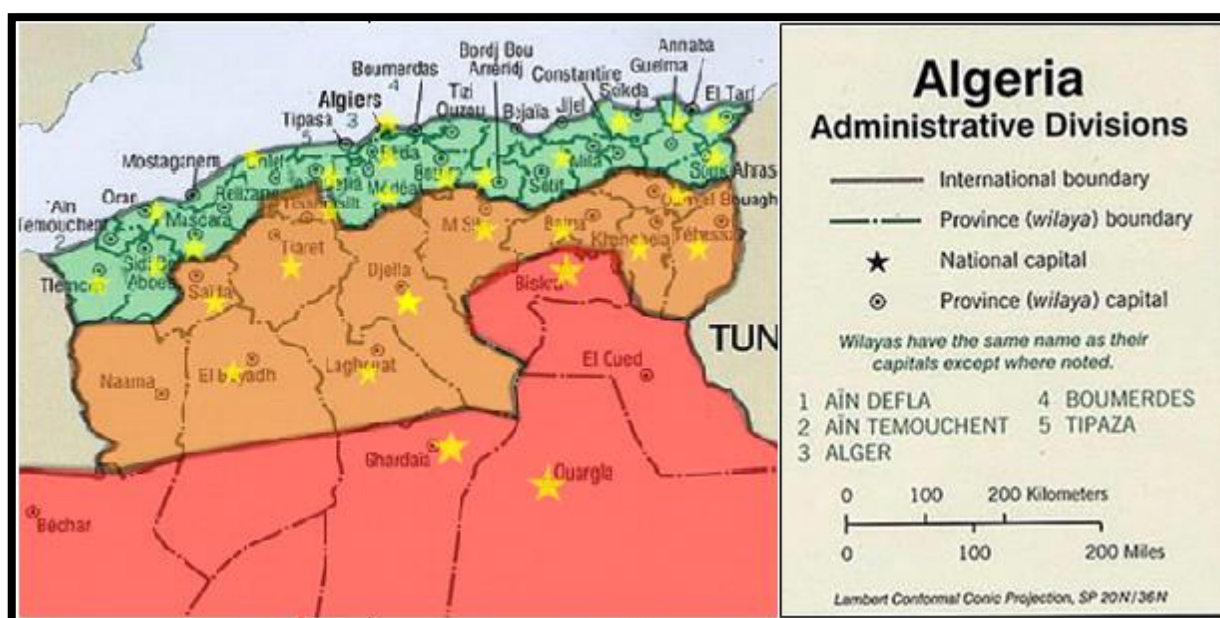


Figure 22: Agrandissement de la carte de l'Algérie. Les étoiles indiquent l'emplacement des chevaux prélevés. (https://d-maps.com/carte.php?num_car=798&lang=fr).

I.2 Prélèvement de sang :

De juillet 2014 à Décembre 2015 les prises de sang sur les 736 chevaux se sont enchainées et ce, dans 25 wilayas du pays. Tous les chevaux de l'étude (736) ont été prélevés à partir de la veine jugulaire et à l'aide d'un système de prélèvement stérile (Vacutainer®, Becton-Dickinson, USA) sans anticoagulant et des aiguilles doubles à Prélèvement Vacutainer ,21 G* 1'' / 0.80*25mm. Pour chaque cheval prélevé, un tube sec et une aiguille à usage unique ont été utilisés. Chaque tube a été minutieusement étiqueté avec le nom du cheval codifié. Le sang obtenu a ensuite été transporté sous réfrigération au laboratoire.

Tous les échantillons obtenus ont été centrifugés à 2500 g pendant 10 min pour obtenir du sérum.

Tous les sérums obtenus ont été transférés, au fur et à mesure, dans des tubes eppendorf de 1.5 ml. Les sérums ont été codifiés, étiquetés et conservés à -20 ° C jusqu'à l'analyse sérologique.

I.3 Animaux et facteurs de risque :

Avec l'accord du propriétaire ou responsable de la structure, une fiche de renseignement a été dument remplie pour chaque cheval prélevé. Un examen général a également été réalisé sur chaque cheval listé.

L'étude a porté sur un total de 736 chevaux provenant de 25 wilayas réparties en 3 grandes régions à savoir 10 wilayas pour la région Nord (n = 363), 12 pour les hauts plateaux (n = 315) et enfin 3 wilayas pour la région sud (n = 58).

n étant le nombre de chevaux.

Tous les chevaux appartiennent à 167 fermes différentes (n = 526), 10 hippodromes (n = 88) et 18 centres équestres (n = 122).

Au total 421 mâles, 288 femelles et 27 hongres ont été prélevés. Les chevaux inclus dans notre étude représentent différentes races; Barbe (n = 231), Arabe- Barbe (n = 223), Arabe (n = 117), Pur-sang (n = 69), AQPS (autre que pur- sang) (n = 27), Selle français (n = 22), Poney (n = 19), Anglo-barbe (n = 11), Trotter (n = 9), Irlandais (n = 3), Anglo-Arabe (n = 2), KWPN (Koninklijke Vereniging Warmbloed Paardenstamboek Nederland) (n = 2) et enfin Breton (n = 1).

En fonction de l'âge, les animaux ont été regroupés en quatre classes (Xing et al.,2018), un groupe avec une tranche d'âge située entre 1 et 5 ans (n = 154), un second groupe avec des chevaux entre 6 et 10 ans (n = 377), un troisième groupe avec des chevaux entre 11 et 15 ans (n = 164), et enfin un dernier groupe avec des chevaux dont l'âge était supérieur à 15 ans (n=41). Les chevaux avaient des robes différentes : Bai (250), Alezan (226), Gris (194), Rouan (41), noir (11), Aubère(7), Pie (4), Café au lait (2), et Isabelle(1).

L'alimentation des chevaux était constituée de fourrage et/ou de pâturage et/ou de concentrés. Ainsi, le nombre de chevaux dont l'alimentation était constituée de fourrage uniquement était au nombre de 113. Les chevaux qui se nourrissaient exclusivement de pâturage étaient au nombre de 4. Huit (8) chevaux avaient pour alimentation du fourrage et des pâturages. Trois (3)

avaient comme alimentation du concentré et des pâturages. Le nombre de chevaux s'alimentant de concentrés et de fourrage étaient au nombre de 542, et seulement 7 chevaux parmi les 736 se nourrissaient de fourrages accompagnés d'autres aliments tels que pain sec, maïs etc.... enfin, 59 chevaux avaient des rations constituées de concentrés, pâturage et fourrage.

L'abreuvement des chevaux provenait de différentes installations ; ainsi les chevaux dont l'eau de boisson provenait de robinet étaient au nombre de 238. Un total de 268 chevaux s'abreuvait d'eau provenant de bache d'eau. Les puits constituaient également un système d'abreuvement de 211 chevaux de notre étude. Enfin, les baches d'eau associées à des puits servaient à l'abreuvement de 19 chevaux.

A noter que les chats domestiques et errants étaient en libre circulation dans toutes les fermes, les hippodromes et les centres équestres lors de la présente étude.

Le tableau ci-dessous regroupe l'ensemble des données et des potentiels facteurs de risque recueillis pour réaliser cette présente étude.

Tableau 7: Facteurs de risques liés à l'infection à T.gondii.

Facteurs de risques	Catégories	Nombre chevaux
Habitat	Centre équestre	122
	Hippodrome	88
	Ferme	526
Age	0-5 ans	154
	6 -10 ans	377
	11 ans et plus	205
Sexe	M	421
	F	288
	H	27
Race	Arabe	117
	Barbe	231
	Arabe-barbe	223
	Anglo-arabe	2
	Anglo-barbe	11
	Psa	69
	Aqps	27
	Kwpn	2
	Irlandais	3
	Breton	1
	Sf	22
	Poney	19
	Trotteur	9

Robe	Alezan	226
	Bai	250
	Gris	194
	Noir pangaré	11
	Aubère	7
	Café au lait	2
	Isabelle	1
	Pie	4
	Rouan	41
Alimentation	Fourrage	113
	Paturage	4
	Four/paturage	8
	Conc/four	542
	Conc/patur	3
	Conc/pat/four	59
	Autre/four	7
Mode d'abreuvement	Robinet	238
	Bâche	268
	Puits	211
	Bache/puits	19
Région Nord	16-ALGER	69
	09-BLIDA	12
	44-AIN DEFLA	14
	41-SOUK AHRAS	10
	27-MOSTA	45
	13-TLEMNCEN	45
	31-ORAN	23
	48-RELIZANE	63
	22-SBA	32
	29-MASCARA	50
Région des Hauts plateaux	17-DJELFA	19
	03-LAGHOUAT	51
	28-MSILA	15
	19-SETIF	33
	05-BATNA	11
	40-KHENCHLA	10
	34-BBOURIRIDJ	15
	20-SAIDA	26
	14-TIARET	68
	32-EL-BAYADH	30
	38-TISSEMSILT	20
	45-NAAMA	17
Région Sud	07-BISKRA	13
	30-OUARGALA	29
	47-GHARDAIA	16

I.4 Analyses sérologiques :

I.4.1 Indirect fluorescent antibody test IFAT (HOME) :

I.4.1.1 Culture *in vitro* de *T. gondii*

La culture *in vitro* de *T.gondii* utilisant les cellules Vero comme support de multiplication est généralement employée en vue de l'obtention de tachyzoïtes. Ceux-ci peuvent alors être utilisés lors de l'étude de la relation hôte-parasite ou bien comme source de matériel antigénique. Le sérum de veau fœtal est un élément indispensable à la culture cellulaire. Par la suite, les tachyzoïtes ainsi obtenus ont été utilisés comme source d'antigènes lors du développement de notre test sérologique de type IFAT.

Pour notre étude, le choix du modèle Vero s'est imposé en raison de la grande quantité de parasites récoltée.

I.4.1.1.1 Préparation des Tachyzoïtes :

Objectif

La culture du parasite est une étape indispensable pour la mise au point des tests sérologiques. En effet, le tachyzoïte est utilisé comme source d'antigènes à la fois pour l'IFAT, l'ELISA, l'IB et le DAT. Les tachyzoïtes de *Toxoplasma gondii* de la souche RH sont multipliés sur des cellules Véro en culture.

Matériel

Cellules vero; Tachyzoïtes Tg RH; Boîtes de culture cellulaire; Pipettes disposables stériles de 1, 5 et 10 ml; Trypsine-EDTA; Tubes à centrifuger (type Falcon de 15 et 50 ml); Microscope inversé; Bain- marie; Centrifugeuse de table; Hemocytomètre (cellule de Neubauer); Microscope optique; Hotte à flux laminaire; Étuve à CO₂ ; Milieu de congélation : 90% de sérum cheval et 10% de DMSO ; cryotubes; seringues de 20 ml; aiguilles de 25 gauges.

Milieu de culture : dans un flacon de 500 ml de milieu RPMI 1640 medium + L. Glutamine liquide, on rajoute stérilement : 5 ml de pyruvate de sodium, 5 ml d'acides aminés non essentiels, 5ml d'antibiotiques (streptomycine-pénicilline) et 10 ml de sérum de cheval (HS). Le milieu ainsi préparé doit être rangé à + 4°C.

PBS stérile : Pour 500 ml, peser : 4g NaCl, 0,1 g KCl, 0,1 g KH₂PO₄, 0,72 g Na₂HPO₄, 2H₂O, ajouter 400 ml d'eau distillée, ajuster le pH à 7,4 et compléter avec de l'eau pour atteindre 500 ml. Autoclaver 15 min. à 121°C.

Alternativement dissoudre la poudre dans 1 litre d'eau distillée et stériliser à l'autoclave 15 min. à 121°C.

Méthode :

Décongélation et utilisation des cellules vero :

Les cellules Vero sont conservées dans de l'azote liquide, dans un milieu de congélation. Récupérer les cryotubes qui contiennent les cellules Vero de l'azote liquide, les mettre dans le bain marie à 37°C jusqu'à décongélation. Une fois décongelé, transférer le contenu du cryotube dans un tube à centrifuger et rajouter goutte à goutte 10 ml de milieu de culture frais. Centrifuger les cellules à 900 g pendant 10 minutes. Re-suspendre le culot dans 2 ml du milieu de culture frais. Transférer le tout dans une petite boîte de culture (25 cm²) qui contient déjà 10 à 12 ml de milieu de culture frais. Fermer les boîtes et mettre à l'étuve à 37°C avec une atmosphère contenant 5% de CO₂.

Réalisation du passage cellulaire

Vérification quotidienne au microscope inversé de la croissance des cellules. Si la confluence est arrivée à 100%, prendre les boîtes sous la hotte, éliminer le contenu. Rincer avec 5 ml de PBS stérile, rajouter 2 ml de trypsine, Incuber 10 minutes à l'étuve à CO₂. Reprendre les boîtes, racler la boîte pour décoller les cellules. Rajouter 5ml de milieu de culture pour stopper l'action de la trypsine. Prendre de nouvelles boîtes, mettre 10 à 12 ml de milieu frais par boîte. Prendre tout le contenu de la boîte à passer à la pipette et en déposer 1 ml dans chaque nouvelle boîte. Replacer les boîtes dans l'étuve à 37°C, et ainsi de suite jusqu'à obtenir un maximum de boîtes.

Infection des cellules veros avec les tachyzoïtes

Récupérer les cryotubes qui contiennent les tachyzoïtes Tg RH de l'azote liquide. Les mettre dans le bain-marie à 37°C jusqu'à décongélation. Transférer le contenu du cryotube dans un tube à centrifuger, rajouter 10 ml du milieu de culture frais. Centrifuger à 1500 g pendant 15 minutes. Resuspendre le culot dans 2ml du milieu de culture frais. Transférer 1 ml dans une boîte de culture où les cellules Vero sont subconfluentes (environ 75% de confluence). Incuber

les boîtes infectées dans l'étuve à CO₂. La lyse totale des cellules Vero par les tachyzoïtes prend environ 5 jours.

Les volumes indiqués le sont pour des boîtes de 25 cm². Si des boîtes plus grandes sont utilisées, les volumes doivent être adaptés.

Collecte des tachyzoïtes

Le milieu des cultures de cellules Vero lysées est transféré dans un tube à centrifuger de 50 ml et centrifuger pendant 20 minutes à 1500 g. On re-suspend le culot dans 20 ml de PBS. La suspension est passée au travers d'une seringue de 20 ml munie d'une aiguille de 25 gauges afin de lyser les cellules Vero restantes. Le lysat est centrifugé 20 minutes à 1500 g. Le culot est suspendu dans 20 ml de PBS et centrifugé à nouveau 20 minutes à 1500 g. Le culot est suspendu dans 20 ml de PBS stérile. On utilise 10 µl de la suspension pour compter les tachyzoïtes dans un hemocytomètre. La concentration de la suspension de tachyzoïtes est ajustée en fonction de l'application. Une portion des tachyzoïtes sont remis en collection pour des infections ultérieures. Pour ce faire, les tachyzoïtes sont centrifugés et suspendus dans le milieu de conservation, avant d'être congelés progressivement (2h à -20°C, 2h à -80°C et enfin en azote liquide).

I.4.1.2 Déroulement de la méthode IFAT

Principe

L'IFAT est la méthode choisie pour rechercher les anticorps anti *T.gondii*. Cette méthode est considérée comme un gold standard pour le diagnostic sérologique du protozoaire (Langoni et al., 2007).

Les antigènes utilisés sont les tachyzoïtes de *T.gondii* de la souche RH. Les tachyzoïtes servent à recouvrir les puits d'une lame multi-puits. Le principe est de déposer 17µl de la solution de tachyzoïtes en PBS dans chaque puits de la lame puis de laisser sécher toute la nuit à température ambiante. Conserver à -20°C jusqu'à usage.

Le sérum est incubé en présence des tachyzoïtes. Après rinçage, un conjugué anti-IgG equin fluorescent(FITC) (SIGMA, Saint Louis, MO, USA) est ajouté à une dilution de 1/64. Après rinçage et montage, les lames sont examinées en microscopie à fluorescence.

Matériel requis

Lames multi puits teflonnées ; Lames couvre-objet ; Etuve 37°C ; Agitateur rotatif ; Microscope à fluorescence ; Suspension de tachyzoïtes à 5×10^5 /ml ; Tampon de dilution (PBS+1%BSA) ; Tampon de rinçage (NaCl 9‰) ; Tampon de montage : (50% NaCl 9‰ + 50% glycérol) ; Conjugué fluorescent anti-équien ; sérum de cheval positif et négatif (Contrôles) (laboratoire de parasitologie de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège); Microscopie à fluorescence Zeiss (Carl zeiss, Germany).

Méthode utilisée

Cette procédure trouve sa source chez Dubey et al., 1988.

Diluer les sérums dans le tampon de dilution, de 1/32 à 1/2048. Ajouter 17 µl de sérum par puits et incuber à 37°C pendant 30 minutes en atmosphère humide. Laver les lames 25 minutes à température ambiante sous agitation. Sécher les lames avec du papier absorbant. Diluer le conjugué à 1/64. Dans chaque puits, mettre 17 µl de conjugué et incuber 30 min à 37°C en atmosphère humide. Rincer les lames, les sécher et ajouter 20 µl de solution de montage par puits, placer une lame couvre objet et observer les lames au microscope à fluorescence sous un grossissement de 400X. Chaque lame comprend un contrôle positif et un contrôle négatif. Les puits des sérums testés sont évalués par rapport à ces contrôles. Lors de l'interprétation des résultats, une attention toute particulière doit être portée à la distribution de la fluorescence. En effet, dans le cas d'une réponse humorale anti-*N. caninum*, l'entièreté de la surface du parasite est fluorescente.

À l'examen microscopique, le signal de chaque échantillon a été classé par un système de classement simple sans signal, douteux (d), positif (+), fort positif (++) et très positif (+++).

Un prélèvement a été considéré comme positif lorsque l'entièreté de la surface du parasite est fluorescente à un titre supérieur ou égal à 1/64.

La méthode IFAT et la préparation de lames contenant des antigènes de *T. gondii* ont été réalisées au Laboratoire de parasitologie et des maladies parasitaires de l'Université de Liège (Belgique).

I.4.2 Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA)

Le déroulement des analyses a eu lieu dans le laboratoire central de l'INMV (Institut National de Médecine Vétérinaire).

Les sérums ont été analysés en utilisant le kit ID Screen Toxoplasmosis Indirect Multi-species (IDVET, Montpellier, France) selon la recommandation du fabricant :

Procédure :

Les cupules ont été sensibilisées avec l'antigène P30 spécifique de *Toxoplasma gondii*.

10 microlitres des échantillons à tester et des contrôles positifs et négatifs ont été distribués dans les cupules. Ces dernières ayant reçu préalablement 90 microlitres de tampon de dilution 2. L'incubation s'est faite à 21 °C (+/-5°C) pendant 45 minutes (+/- 4minutes).

Les anticorps spécifiques de *Toxoplasma*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps. Après lavage (3 fois) avec 300 microlitres de solution de lavage, 100 microlitres de conjugué anti-multi-espèces animales marqués à la peroxydase(HRP) ont été distribués dans chaque cupule, se fixant aux anticorps, formant ainsi un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP. L'incubation s'est faite à 21° C (+/- 5 °C) pendant 30 minutes (+/- 3 minutes).

Après élimination du conjugué en excès au moyen de 3 lavages utilisant 300 microlitres de solution de lavage, la réaction a été révélée en distribuant 100 microlitres de solution de révélation dans chaque cupule et incubée à l'obscurité à 21 °C (+/- 5°C) pendant 15 minutes (+/- 2 minutes).

La dernière étape consistait à distribuer 100 microlitres de solution d'arrêt dans chaque cupule afin de permettre l'arrêt de la réaction. La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester.

Lecture et interprétations

- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
- En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît donc pas de coloration.

La mesure et l'enregistrement des densités optiques s'est faite à 450 nm à l'aide du lecteur Biotek modèle EL 800, logiciel Gen 5 à l'INMV.

Le test a été validé après que :

- La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DOcp) ait été supérieure à 0.350
- Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DOcp) et la moyenne des contrôles négatifs (DOcn) ait été supérieur à 3.5

Le pourcentage S/P a été calculé pour chaque échantillon comme suit :

$$S/P \% = (DO \text{ échantillon} / DOcp) * 100.$$

Les échantillons présentant un S/P :

- Inférieur ou égal à 4% étaient considérés comme négatifs.
- Compris entre 40% et 50% étaient considérés comme douteux
- Supérieur ou égal à 50% et inférieur à 200% étaient considérés comme positifs
- Supérieur ou égal à 200% étaient considérés comme étant issus d'un animal présentant une expression clinique aiguë.

I.4.3 Test d'agglutination au latex (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, sérum animal contenant au moins 4UI/ml d'anticorps anti *T. gondii*.
- Réactif 3 ; Contrôle négatif d'un 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. Un volume de 50 µl du sérum d'échantillon a été pipeté 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.

Différents seuils allant de 1/16 à 1/1024 ont été utilisés avec un titre égal ou supérieur à 1/16 est considéré comme positif. Dans la présente étude, le plus petit titre testé était de 1/16, selon les instructions du kit LAT.

Lecture et interprétation :

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.

I.5 Analyses statistiques :

Les différences statistiques dans les proportions ont été comparées en utilisant le test du chi carré (Yates corrigé) ou le test exact de Fisher. La force de l'association entre le statut sérologique et les facteurs épidémiologiques évalués a été estimée en calculant les rapports de cotes (OR).

De plus, l'accord entre les tests ELISA, IFAT et LAT a été évalué par le calcul de la valeur statistique kappa. La valeur Kappa a été interprétée comme Petrie et Watson (1999):

- $k \leq 0,20$ sans cohérence,
- $0,21 \leq k \leq 0,40$ mauvais accord,
- $0,41 \leq k \leq 0,60$ accord modéré,
- $0,61 \leq k \leq 0,80$ bon accord
- $k > 0,80$ très bon accord.

Le logiciel utilisé est le Win episcopes 2.0, MedCalc et XLstat. Le niveau de signification statistique utilisé était de 5%. Les valeurs de « p » inférieures à 5% ont été indiquées.

Résultats

I Séroprévalence selon la méthode sérologique

Les sérums de 736 chevaux ont été analysés avec 3 différentes méthodes sérologiques : un test ELISA commercial multi-species ID Screen Toxoplasmosis Indirect Kit de la firme IDVET, un test LAT commercial Toxo-Latex® de la firme SPINRER EACT et enfin un test IFAT Home.

Des anticorps dirigés contre *T. gondii* ont été détectés chez 178 des 736 chevaux avec la méthode IFAT (24,18%), 317 avec l'ELISA (43,07%) et 133 avec la méthode LAT (18,07%) (Tableau 8).

Tableau 8 : Variation de la Séroprévalence de *T. gondii* en fonction des méthodes sérologiques (ELISA, IFAT, et LAT).

Nombre d'échantillons testés	Méthode utilisée	N. positifs	N. négatifs	Séroprévalence % (IC 95%)	P value
736	ELISA	317	419	43,07 (39.42-46.72)	<0,05
	IFAT	178	558	24.18 (21.02-27.34)	
	LAT	133	603	18.07 (15.23-20.91)	

Cependant, d'importantes différences selon la méthode sérologique utilisée, ont été observées. La séroprévalence varie de 18,07% (IC 95% :15.23-20.91) avec le test LAT à 43,07% (IC95% :39.42-46.72) obtenue par la technique ELISA. Ces différences dans les séroprévalences sont statistiquement significatives ($p < 0,05$) (Figure 23).

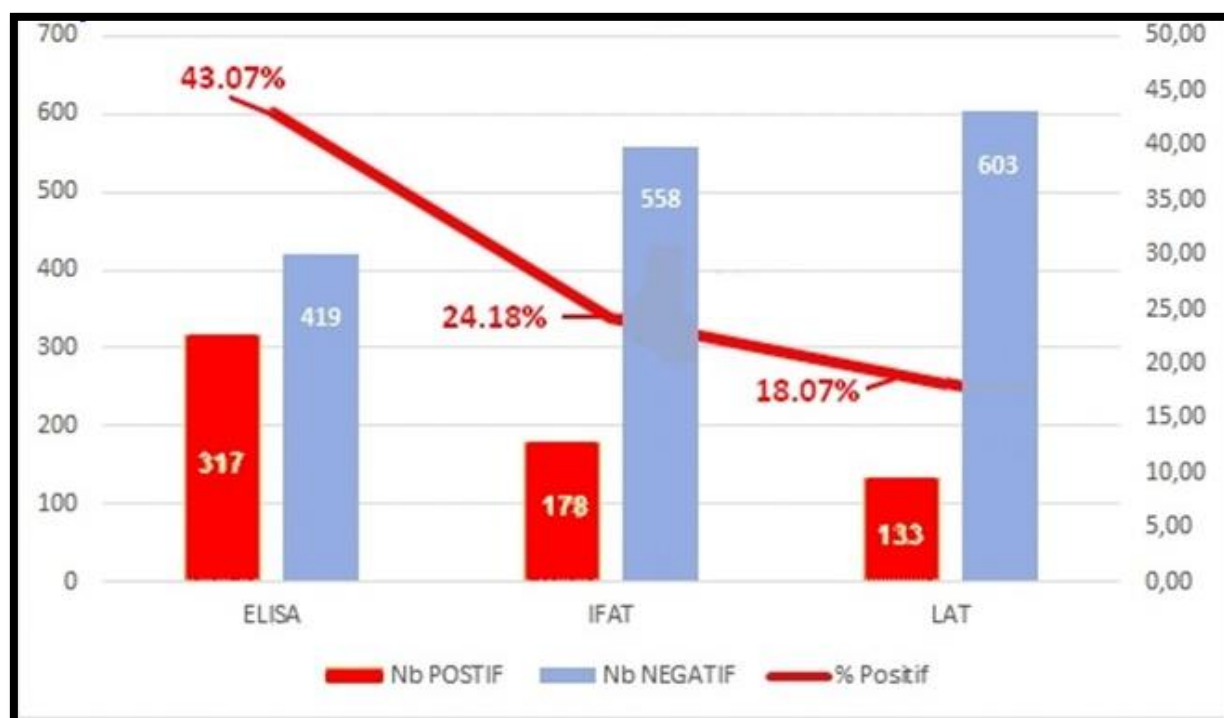


Figure 23 : Variation des séroprévalences de *T. gondii* obtenues par différentes techniques sérologiques (ELISA, IFAT et LAT)

Si on considère la séroprévalence de *T. gondii* obtenue par les 3 méthodes sérologiques et par région prélevée (Nord, Hauts-plateaux et Sud), on obtient le même constat, qui est en faveur d'une différence significative obtenue par les trois méthodes sérologiques ($p < 0,05$) (tableau 9). En effet, comme repris dans le tableau, les séroprévalences les plus élevées sont obtenues par le test ELISA et ce quelle que soit la région.

Tableau 9 : Variation de la séroprévalence de *T. gondii* en fonction de la méthode sérologique utilisée par région

N	IFAT	ELISA	LAT	P value
---	------	-------	-----	---------

ID-Wilaya/ Région		Positif	Séroprévalence % (95% IC)	Positif	Séroprévalence % (95% IC)	Positif	Séroprévalence % (95% IC)	
Total	736	178	24.18 (21.02-27.34)	317	43.07 (39.42-46.72)	133	18.07 (15.23-20.91)	<0.05
Région Nord								
16-Alger	69	11	15.94 (7.13-24.75)	17	24.64 (14.26-35.02)	9	13.04 (4.93-21.15)	NS
09-Blida	12	7	58.33 (29.87-86.79)	9	75.00 (50-100)	7	58.33 (29.87-86.79)	NS
44-Ain Defla	14	4	28.57 (4.42-52.72)	6	42.86 (16.41-69.31)	1	7.14 (0-20.90)	NS
41-Souk Ahras	10	2	20.00 (0-45.30)	3	30.00 (1.02-58.98)	2	20.00 (0-45.30)	NS
27-Mosta	45	0	0.00 (0-0)	3	6.67 (0-14.11)	0	0.00 (0-0)	NS
13-Tlemcen	45	10	22.22(9.83-34.61)	19	42.22 (27.49-56.95)	7	15.56 (4.75-26.37)	0.05
31-Oran	23	6	26.09(7.78-44.40)	17	73.91(55.60-92.22)	2	8.70 (0-20.45)	<0.05
48-Relizane	63	11	17.46 (7.89-27.03)	26	41.27 (28.86-53.68)	7	11.11 (3.19-19.03)	<0.05
22-Sba	32	4	12.50 (0.81-24.19)	5	15.63 (2.79-28.47)	2	6.25 (0-14.81)	NS
29-Mascara	50	27	54.00 (39.90-68.10)	39	78.00 (66.28-89.72)	23	46.00 (31.90-60.10)	<0.05
Total Nord	363	82	22.59 (18.20-26.98)	144	39.67 (34.53-44.81)	60	16.53 (12.63-20.43)	<0.05
Hauts-plateaux								
17-Djelfa	19	9	47.37(24.46-70.28)	10	52.63(29.72-75.54)	7	36.84 (14.71-58.97)	NS
03-Laghouat	51	11	21.57 (10.05-33.09)	28	54.90 (40.96-68.84)	9	17.65 (6.97-28.33)	<0.05
28-Msila	15	4	26.67 (3.83-49.51)	5	33.33 (8.99-57.67)	0	0.00 (0-0)	<0.05
19-Setif	33	10	30.30 (14.30-46.30)	17	51.52 (34.12-68.92)	8	24.24 (9.32-39.16)	NS
05-Batna	11	5	45.45 (15.42-75.48)	8	72.73 (45.87-99.59)	5	45.45 (15.42-75.48)	NS
40-Khenchla	10	2	20.00 (0-45.30)	5	50.00 (18.38-81.62)	1	10.00 (0-28.97)	NS
34-Bbouriridj	15	7	46.67 (20.91-72.43)	10	66.67 (42.33-91.01)	5	33.33 (8.99-57.67)	NS
20-Saida	26	6	23.08 (6.55-39.61)	11	42.31 (22.93-61.69)	6	23.08 (6.55-39.61)	NS
14-Tiaret	68	6	8.82 (1.94-15.70)	17	25.00 (14.50-35.50)	6	8.82 (1.94-15.70)	<0.05
32-El-Bayadh	30	7	23.33 (7.89-38.77)	19	63.33 (45.73-80.93)	6	20.00 (5.39-34.61)	<0.05
38-Tissemsilt	20	10	50.00 (27.64-72.36)	12	60.00 (38.09-81.91)	9	45.00 (22.75-67.25)	NS
45-Naama	17	6	35.29 (12.11-58.47)	10	58.82(34.95-82.69)	5	29.41 (7.31-51.51)	NS
Total Hauts-plateaux	315	83	26.35 (21.39-31.31)	152	48.25 (42.62-53.88)	67	21.27 (16.66-25.88)	<0.05
Région Sud								
07-Biskra	13	1	7.69 (0-22.47)	1	7.69 (0-22.47)	0	0.00 (0-0)	NS
30-Ouargala	29	7	24.14 (8.25-40.03)	12	41.38 (23.09-59.67)	4	13.79 (0.98-26.60)	NS
47-Ghardaia	16	5	31.25 (8.07-54.43)	8	50.00 (25-75)	2	12.50 (0-29.04)	NS
Total Sud	58	13	22.41 (11.46-33.36)	21	36.21 (23.59-48.83)	6	10.34 (2.34-18.34)	<0.05

La figure ci-après illustre la répartition des séroprévalences de *T.gondii* en fonction du test sérologique utilisé dans trois régions de l'Algérie. La séroprévalence de *T.gondii* a varié de

façon significative ($p < 0,05$) en fonction du test utilisé. Le test ELISA a donné les séroprévalences les plus élevées et ce quelle que soit la région.

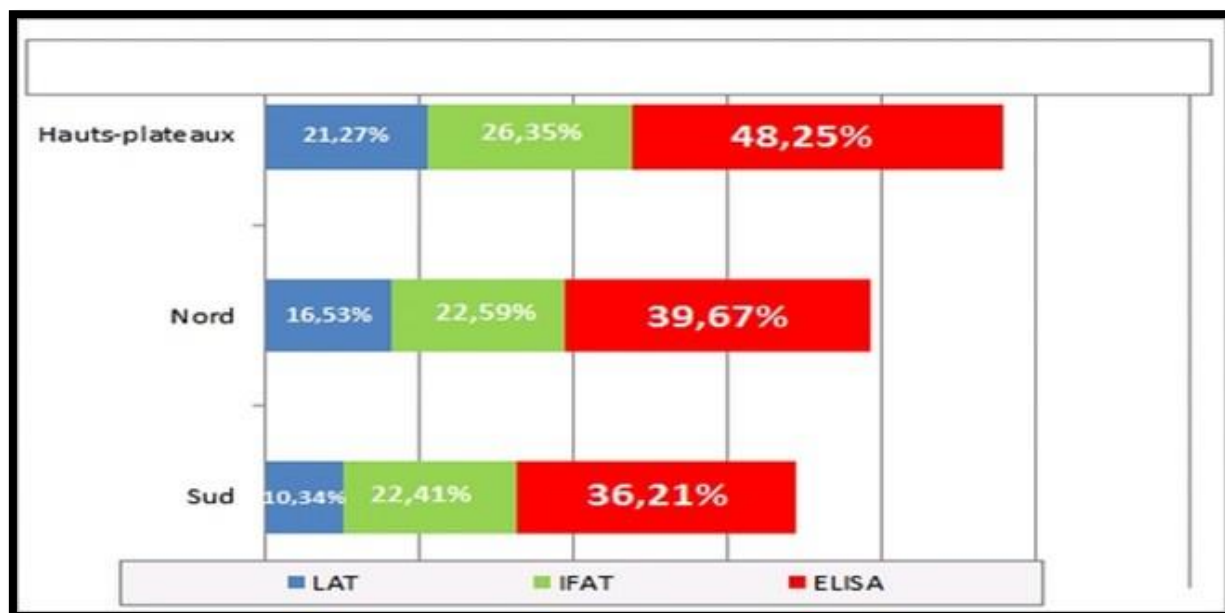


Figure 24: variation des séroprévalences de *T. gondii* en fonction du test sérologique utilisé dans différentes régions prélevées

1.1 Comparaison des méthodes sérologiques :

Cette partie du travail a consisté à comparer les trois techniques sérologiques utilisées pour détecter la présence d'anticorps anti-*T. gondii* dans des sérums de chevaux.

Dans ce but, nous avons comparé les performances des méthodes ELISA et Latex Agglutination Test (LAT), avec l'IFAT considéré comme la méthode de référence. Nous avons aussi évalué le test ELISA en fonction des résultats obtenus par le test LAT.

Nous avons comparé les sensibilités des trois méthodes utilisées pour la détection d'anticorps contre *T. gondii* chez des chevaux naturellement infectés.

Les sept cent trente-six ($n=736$) sérums de chevaux prélevés ont été testés par les différentes méthodes sérologiques. Pour l'IFAT des dilutions allant de 1/32 à 1/2048 ont été testées tandis que pour le LAT, les sérums étaient dilués à 1/16 jusqu'à 1/1024. Pour le test ELISA, les sérums ont été dilués à 1/100. Les tableaux 10 et 11 reprennent les résultats en IFAT et en LAT obtenus respectivement aux différentes dilutions.

Tableau 10 : Différentes dilutions testées pour l'IFAT

1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
------	------	-------	-------	-------	--------	--------

00	52	58	22	15	16	15
----	----	----	----	----	----	----

Tableau 11 : Différentes dilutions testées pour le LAT

Dilutions	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Résultats	55	36	21	8	2	0	11

Pour chaque méthode la sensibilité, la spécificité, la concordance et le coefficient kappa de Cohen ont été calculés par rapport à la technique IFAT à la dilution 1/64 prise comme référence et ce comme décrit dans la littérature. Les résultats sont résumés au tableau 12.

Le tableau 12 exprime les résultats de la spécificité, la sensibilité, la concordance et le coefficient de Kappa des autres tests par rapport à l'IFAT.

Les résultats ont montré que pour la technique ELISA, la sensibilité était de 100% et la spécificité de 75.1%. Quant au test LAT, la sensibilité s'est révélée plus faible (73%) alors que la spécificité s'est montrée plus élevée (99,5%)

Une analyse de concordance entre les trois méthodes a montré une concordance modérée (Kappa 0,59) entre la technique ELISA et l'IFAT, alors que cette concordance était considérée comme bonne (kappa 0,79) entre le test LAT et IFAT.

Ce résultat a indiqué que la méthode LAT et la méthode IFAT avaient des capacités similaires dans la détection des anticorps anti- *T. gondii* provenant de sérums de chevaux.

Tableau 12 : évaluation des différentes méthodes utilisées.

ELISA	IFAT				Statistique
	Sérum	Positif	Négatif	Total	Kappa=0.59
	Positif	178	139	317	% de concordance =81
	Négatif	0	419	419	Sensitivité relative= 100%
	Total	178	558	736	Spécificité relative=75.1%
ELISA	LAT				
	Sérum	Positif	Négatif	Total	Kappa=0.45
	Positif	133	184	317	% de concordance =75
	Négatif	0	419	419	Sensitivité relative= ND
	Total	133	603	736	Spécificité relative= ND
LAT	IFAT				
	Sérum	Positif	Négatif	Total	Kappa=0.79
	Positif	130	3	133	% de concordance=93
	Négatif	48	555	603	Sensitivité relative = 73%
	Total	178	558	736	Spécificité relative =99.5%

% de concordance = (nombre de positifs pour les deux méthodes + nombre de négatifs pour les deux méthodes) / 736) * 100.

Sensibilité relative = (Nombre de positifs pour les deux méthodes / (nombre de positifs pour la méthode de référence + nombre de négatifs pour l'autre méthode)) * 100 = (vrai positif / (vrai positif + faux négatif)) * 100.

Spécificité relative = (Nombre de négatifs pour les deux méthodes / (nombre de négatifs pour la méthode de référence + nombre de positifs pour l'autre méthode)) * 100 = (vrai négatif / (vrai négatif + faux positif)) * 100.

II . Séroprévalence et facteurs de risques :

Cette étude, basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence obtenue par le test IFAT, nous a permis d'identifier les facteurs de risque qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *Toxoplasma gondii*.

Le tableau (13) résume tous les résultats obtenus de l'analyse des facteurs de risque présumés liés à l'infection par *T.gondii*.

L'association entre la séroprévalence et plusieurs facteurs épidémiologiques a été étudiée à l'aide du test du chi carré (correction de Yates) ou du test exact de Fisher. Pour les calculs de l'Odds Ratio, les facteurs significatifs ont été pris en compte (Tableau 13).

Tableau 13 : Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *T.gondii*.

Catégorie	Examinés	Positifs	Prévalence	95%IC	P value	OR (95%IC)
Total	736	178	24,18%	(21.03-27.34)		
Habitat						
Centre équestre	122	8	6,56%	(2.08-11.04)	0,02	0.21 (0.1-0.44)
Hippodrome	88	20	22,73%	(13.79-31.66)		
Ferme	526	150	28,52%	(24.58-32.45)		
Âge						
1-5 ans	154	17	11,04%	(5.99-16.09)	<0.001	3.72 (2.64-5.24)
6-10 ans	377	98	25,99%	(21.09-29.64)		
11-15 ans	164	79	48,17%	(40.37-55.97)		
Âge > 15	41	25	60,98	(45.74-76.22)		
Sexe						
Mâle	421	102	24,23%	(20.05-28.40)	<0.05	0.12 (0.02-0.89)
Femelle	288	75	26,04%	(20.87-31.21)		
Hongre	27	1	3,70%	(0-10.97)		
Race						
Arabe	117	33	28,21%	(19.88-36.53)		
Barbe	231	49	21,21%	(15.83-26.59)		
Arabe-barbe	223	70	31,39%	(25.17-37.61)		

Anglo-arabe	2	0	0,00%	0	<0.01	1.77 (1.25-2.51)
Anglo-barbe	11	4	36,36%	(7.36-65.37)		
Pur-sang	69	10	14,49%	(6.02-22.97)		
Aqps	27	8	29,63%	(12.05-47.21)		
Kwpn	2	0	0,00%	0		
Irelandais	3	0	0,00%	0		
Breton	1	0	0,00%	0		
Selle français	22	0	0,00%	0		
Poney	19	3	15,79%	(0-32.52)		
Trotteur	9	1	11,11%	(0-32.06)		
Robe						
Alezan	226	55	24,34%	(18.63-30.05)	<0.01	NT
Bai	250	64	25,60%	(20.08-31.12)		
Gris	194	46	23,71%	(17.60-29.82)		
Noir pangaré	11	4	36,36%	(7.36-65.37)		
Aubère	7	1	14,29%	(0-40.74)		
Café au lait	2	0	0,00%	0		
Isabelle	1	0	0,00%	0		
Pie	4	0	0,00%	0		
Rouan	41	8	19,51%	(7.13-31.89)		
Alimentation						
Fourrage	113	25	22,12%	(14.31-29.93)	NS	NT
Pâturage	4	1	25,00%	(0-68.30)		
Four/pâturage	8	3	37,50%	(3.27-71.73)		
Concentré/fourrage	542	132	24,35%	(20.67-28.04)		
Concentré/pâturage	3	1	33,33%	(0-87.77)		
Concentré/pas/four	59	16	27,12%	(15.54-38.69)		
Autres /forage	7	0	0,00%	0		
Abreuvement						
Robinet	238	20	8,40%	(4.81-12.)	<0.01	0.2 (0.12-0,33)
Bâche	268	81	30,22%	(24.61-35.83)		
Puits	211	73	34,60%	(28.05-41.15)		
Bâche /puits	19	4	21,05%	(2.35-39.76)		
Régions						
Nord	363	82	22,59%	(18.20-26.98)	NS	NT
Hauts-plateaux	315	83	26,35%	(21.39-31.31)		
Sud	58	13	22,41%	(11.46-33.36)		

NS = non significatif ($p > 0.05$) NT: non testé; OR = "Odds Ratio"; IC = Intervalle de Confiance 95%.

L'analyse détaillée des résultats révèle ce qui suit :

- La séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* n'a pas varié de façon statistiquement significative en fonction de l'alimentation des chevaux ni en fonction de la région ($p > 0,05$).

En revanche, la séroprévalence a augmenté très significativement avec l'âge des animaux ($p < 0,05$). Les jeunes chevaux de moins de 6 ans étaient moins infectés (11,04%) que ceux plus âgés (60,98%).

En outre, une variation significative a été observée en fonction de l'habitat du cheval, le sexe, la race, la robe ou encore le système d'abreuvement ($p < 0,05$).

1. Séroprévalence selon habitat

Tous les chevaux prélevés dans notre étude provenaient de différentes structures : centres équestres ($n=122$), hippodromes $n=88$ et fermes ($n=526$).

L'habitat du cheval s'est avéré être un important facteur de risque. En effet, les chevaux qui provenaient des fermes étaient plus exposés à *T. gondii* (28,52% IC 95% 24.58-32.45) comparés aux chevaux des centres équestres (6,56% IC 95% 2,08-11,04) et ceux des hippodromes (22,73% IC95% 13.79-31.66) (figure 25).

Cette différence observée au niveau des habitats est significative sur le plan statistique ($p < 0,05$).

Le calcul de l'Odds Ratio en considérant l'exposition des chevaux à *T. gondii* en fonction de l'habitat montre une valeur inférieure à 1 (0.21 (0.1-0.44)), qui signifie que l'habitat représente un facteur protecteur contre l'infection par *T. gondii* (Tableau 13).

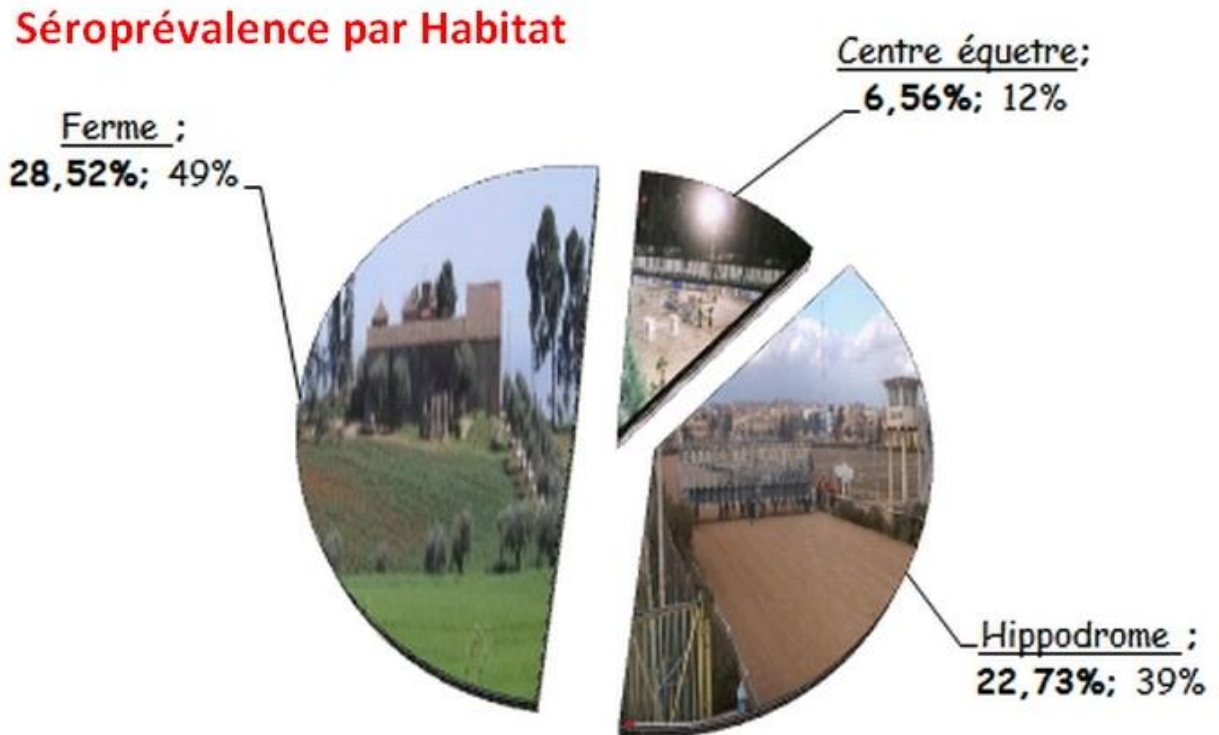


Figure 25 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* en fonction de l'habitat des chevaux

2. Séroprévalence selon l'âge

Nous avons remarqué que le taux de séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* augmentait significativement avec l'âge ($p < 0,05$). La séroprévalence s'est montrée nettement supérieure chez les animaux adultes de plus de 15ans avec 60.98% (45.74-76.22). Elle a été de 48,17% (40.37-55.97) chez les chevaux âgés entre 11 et 15 ans et de 25,99% (21.09-29.64) chez les animaux avec une tranche d'âge comprise entre 6 et 10 ans contre 11,04% (5.99-16.09) chez les plus jeunes âgés de moins de 5ans (Tableau 13 et Figure 26).

Ceci est confirmé au niveau du calcul de l'Odds Ratio 3.72 (2.64-5.24) puisqu'il est significativement ($p < 0,01$) plus grand que 1 témoignant d'une plus grande probabilité d'avoir des positifs à *T. gondii* chez les chevaux adultes que chez les plus jeunes.

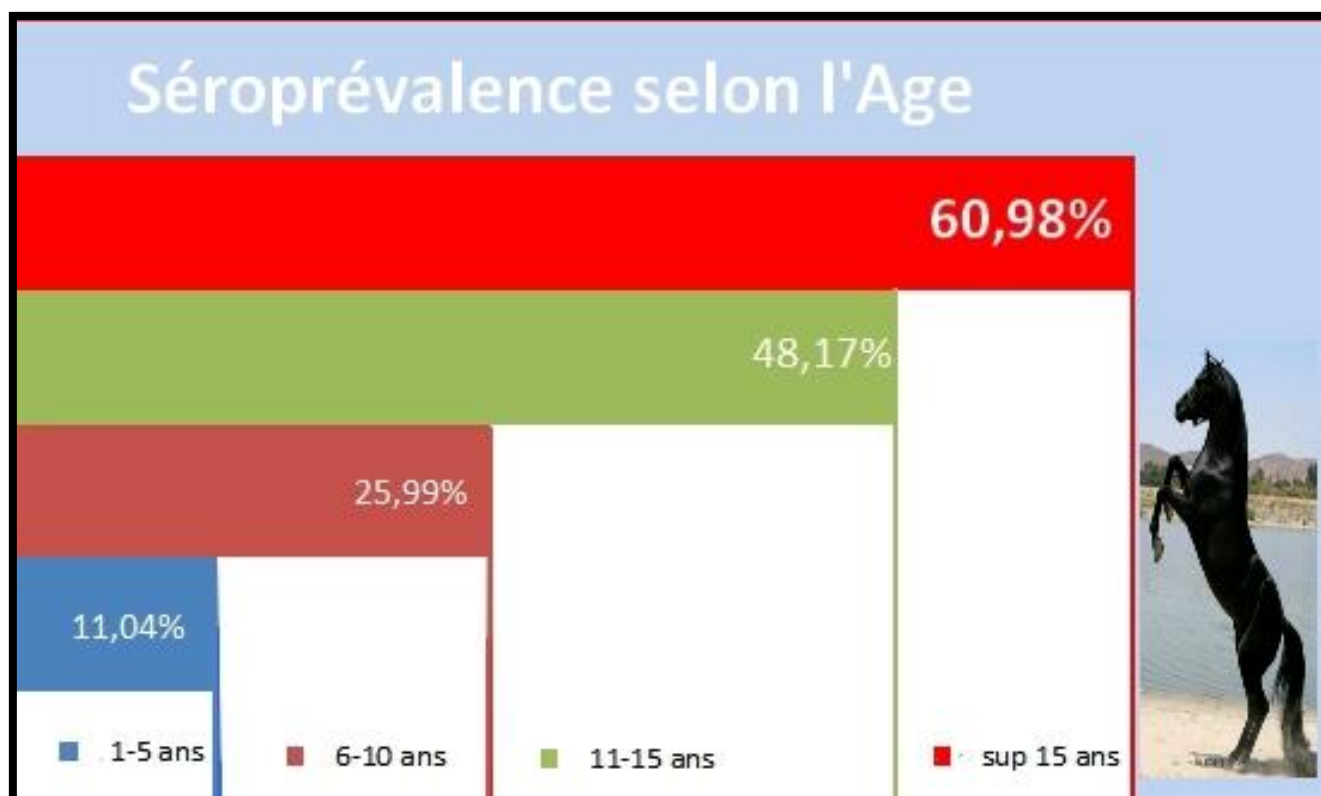


Figure 26 : Séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* en fonction de l'âge.

3. Séroprévalence selon le sexe

Si on considère la séroprévalence en fonction du sexe de l'animal, on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0.05$). Le taux de séroprévalence le plus élevé a été enregistré chez les femelles 26,04% (20.87-31.21) suivi d'un taux de 24,23% (20.05-28.40) chez le mâle. La plus faible séroprévalence a été enregistrée chez le hongre 3,70% (0-10.97) (Figure 27)

Les chevaux hongres ont non seulement la séroprévalence la plus basse mais sembleraient être protégés contre l'infection à *T.gondii* (OR significativement inférieur à 1)(Tableau 13).

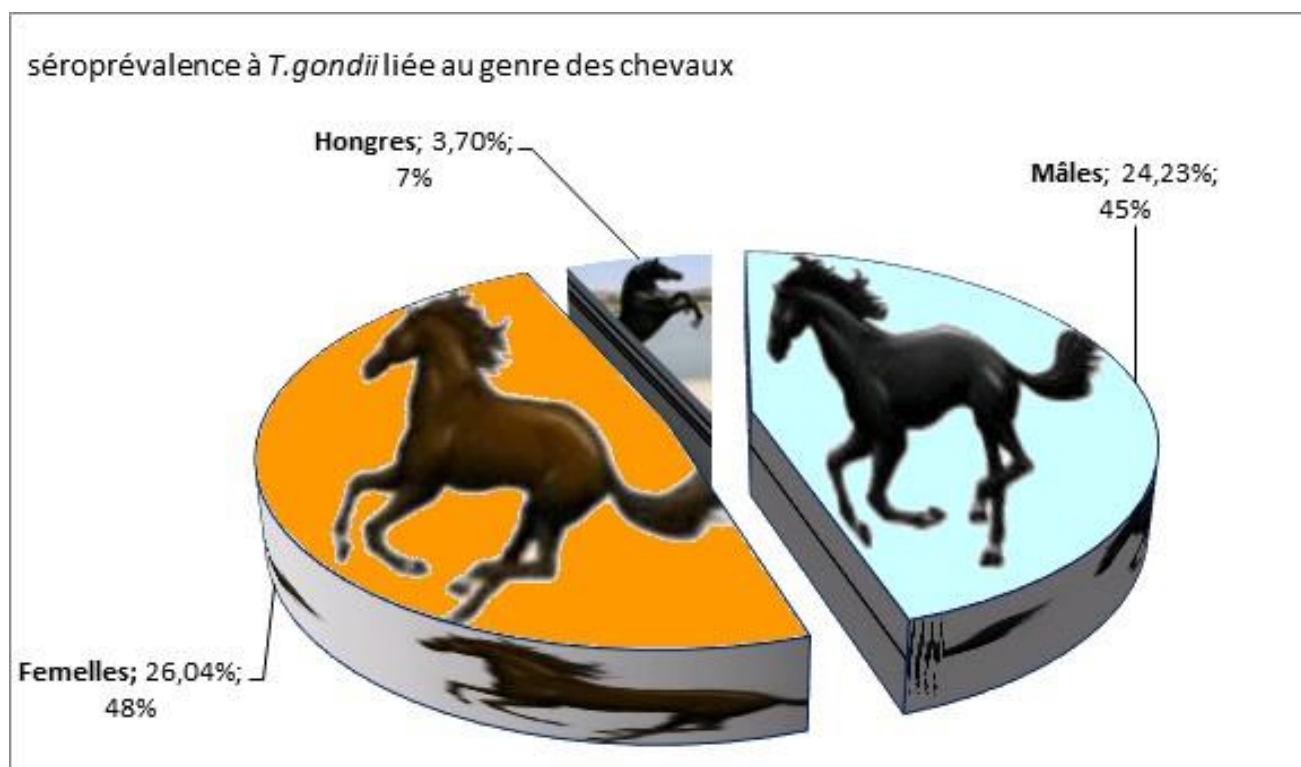


Figure 27 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* en fonction du sexe de l'animal.

4. Séroprévalence selon la race

La génétique, intervenant dans la race et la robe des chevaux, semble également être un facteur de risque à prendre en considération. Cette différence entre la séroprévalence à *T.gondii* et la race mais aussi la robe des chevaux est largement significative ($p < 0.05$). Les chevaux anglo-arabes mais aussi les chevaux de grandes tailles à savoir Selles Français, Breton, Irlandais et KWPN montrent une séroprévalence nulle (0%).

Les chevaux issus de croisement avec le barbe semblent montrer les séroprévalences les plus élevées ; en effet, les chevaux anglo/barbe (issus de croisement entre le pur-sang et le barbe) présentent la séroprévalence la plus élevée avec un pourcentage de 31,39% (IC95% : 25.17-37.61). Le croisement entre l'arabe et le barbe (Arabe/barbe) montre également la deuxième séroprévalence la plus élevée concernant ce facteur de risque, à savoir 31,39% (IC 95% : 25.17-37.61) mais également le nombre le plus atteint sur la totalité des chevaux positifs.

Au vu donc de ces résultats il semblerait que les chevaux anglo-barbes soient significativement plus exposés à l'infection par *T.gondii* (OR significativement supérieur à 1) (Tableau 13).

La figure(28) illustre la différence significative entre la séroprévalence à *T.gondii* et la race à laquelle appartiennent les chevaux. Le rectangle le plus haut représente la séroprévalence la plus élevée appartenant aux chevaux issus du croisement entre le pur-sang et le barbe (Anglo-barbes).

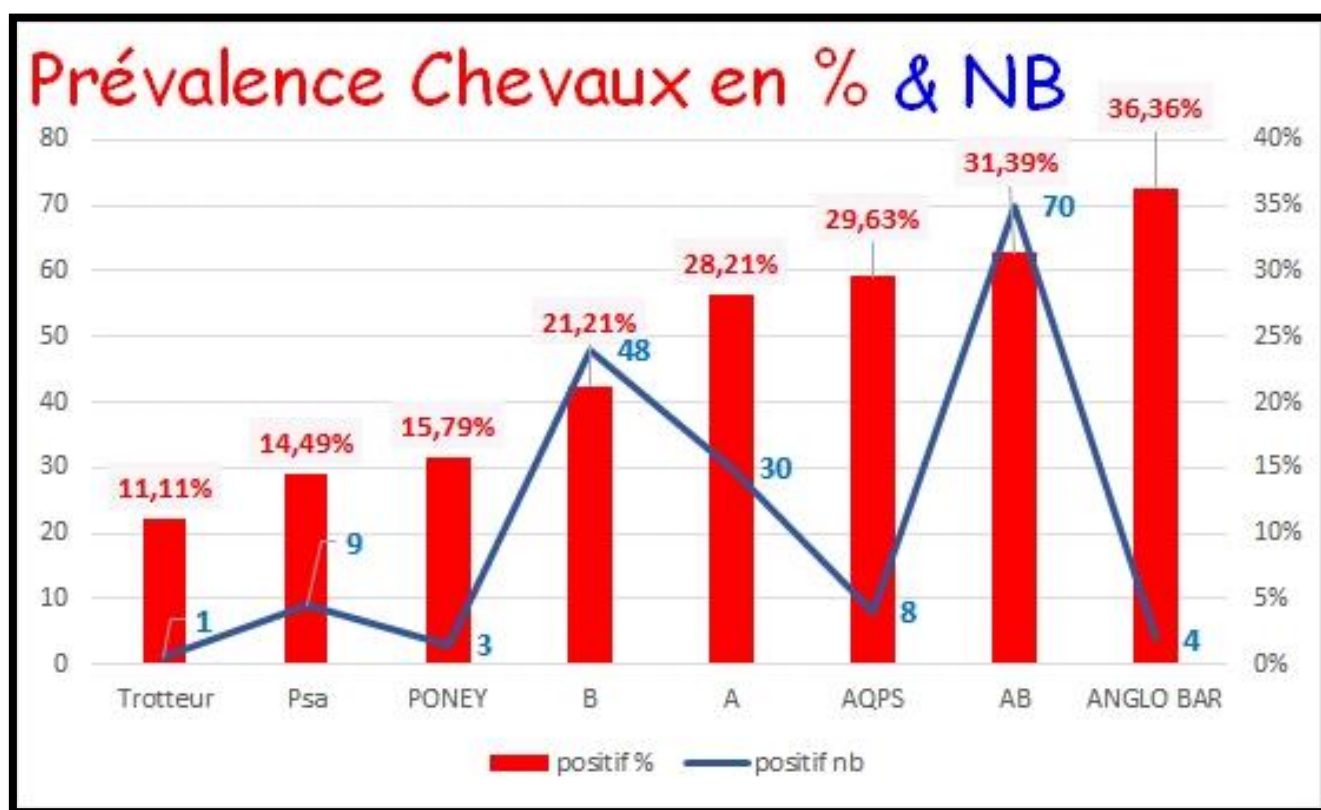


Figure 28: Variation de la séroprévalence par *T.gondii* en fonction de la race

NB : Nombre

5. Séroprévalence selon la robe

La différence entre la séroprévalence et le facteur de risque « robe » est clairement significatif ($p < 0.05$) avec un taux de positivité plus élevé chez les chevaux noirs pangaré ; en effet les chevaux noirs pangaré montrent la séroprévalence la plus élevée avec un pourcentage de

36,36(IC95% :7.36-65.37), suivis des chevaux à robe baie, alezane et grise avec des séroprévalences respectives de 25,60%(IC95% 20.08-31.12), 24,34% (IC95% :18.63-30.05), 23,71%(IC95% :17.60-29.82). Les chevaux rouans et aubères présentent une séroprévalence un peu plus basse avec un pourcentage de 19,51% (IC95% :7.13-31.89) pour les rouans et 14,29% (IC95% :0-40.74) pour les chevaux aubères (Tableau 13 et Figure 29). En l'occurrence, aucun cheval de robe pie, isabelle ou encore café au lait n'a été diagnostiqué positif à *T.gondii*.

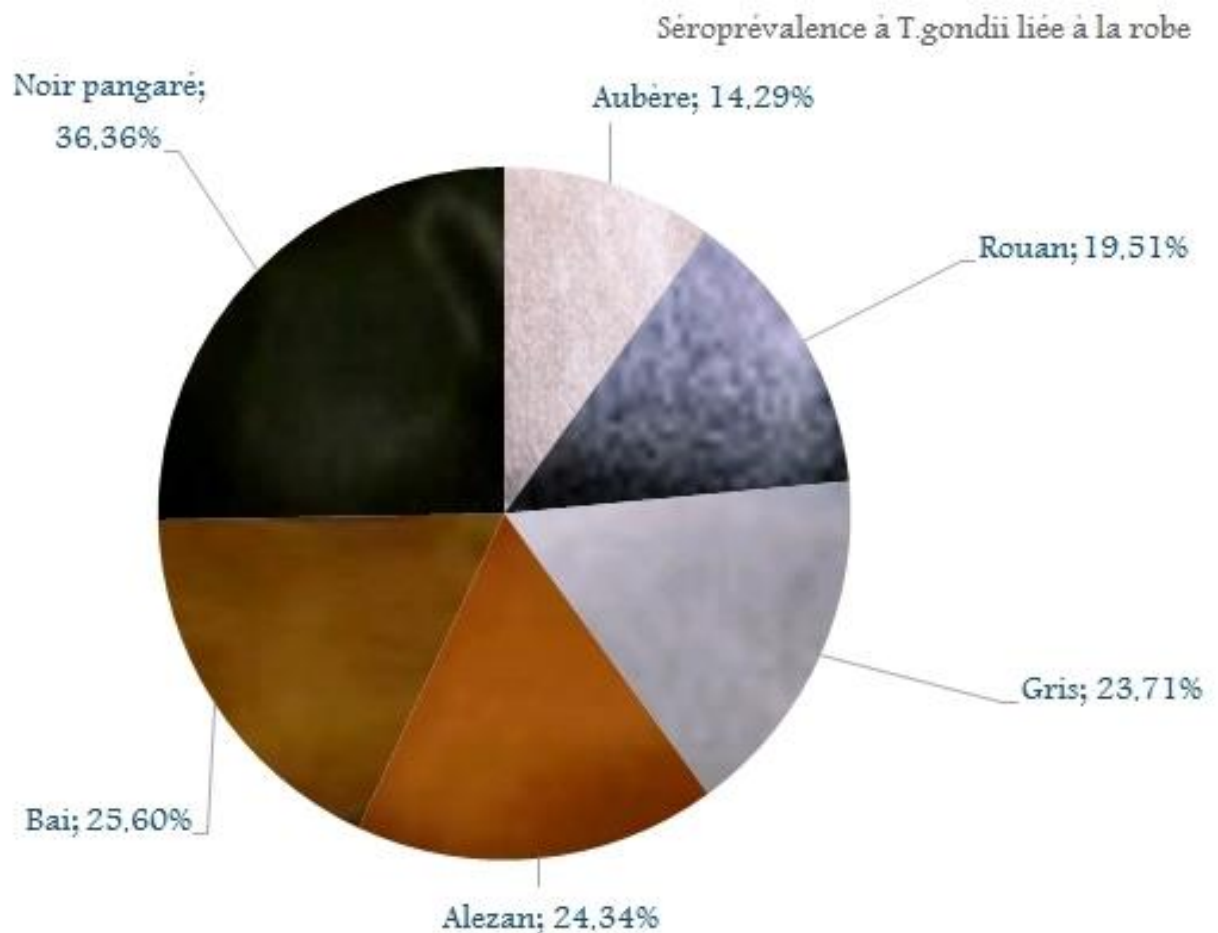


Figure 29: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* en fonction de la robe.

6. Séroprévalence selon l'eau de boisson

L'alimentation des chevaux a été étudiée également comme étant un facteur de risque lié à l'infection par *T.gondii* chez les chevaux. Cependant, malgré des séroprévalences différentes qui oscillent entre 0 et 37.5%, cette différence ne s'est pas révélée significative.

Contrairement à l'alimentation des chevaux, la source d'eau d'abreuvement est un élément important et un facteur de risque dont la relation avec la séroprévalence est largement significative ($p < 0.01$).

La séroprévalence la plus élevée a été enregistrée chez les chevaux qui s'abreuvaient d'eau provenant de puits, et était de l'ordre de 34.60%, (IC95% 28.05-41.15). Cette séroprévalence devance de peu celle liée aux chevaux qui s'abreuvaient d'eau provenant de bâches, le pourcentage étant de 30.22% (IC 95% :24.61-35.83). Les chevaux s'abreuvant d'eau provenant tantôt de puits tantôt de bâches montraient quant à eux une séroprévalence légèrement plus basse à savoir 21.05 % (IC 95% :2.35-39.76).

Toutefois, la séroprévalence qui attire le plus notre attention reste celle des chevaux qui s'abreuvaient à partir d'eau provenant de robinet ; en effet, cette séroprévalence est largement inférieure aux autres résultats, avec un taux de 8,4 (IC 95% :4.81-12) (Tableau 13). Les chevaux ainsi abreuvés avec de l'eau de robinet seraient donc de loin les moins réceptifs et les moins susceptibles d'être infectés par *T.gondii*. Avec un OR significativement inférieur à 1, l'eau de robinet semblerait être un élément protecteur des chevaux face à l'infection à *T.gondii*. La (Figure 30) montre clairement la faible séroprévalence liée à l'eau de robinet en comparaison avec les autres sources d'eau d'abreuvement.

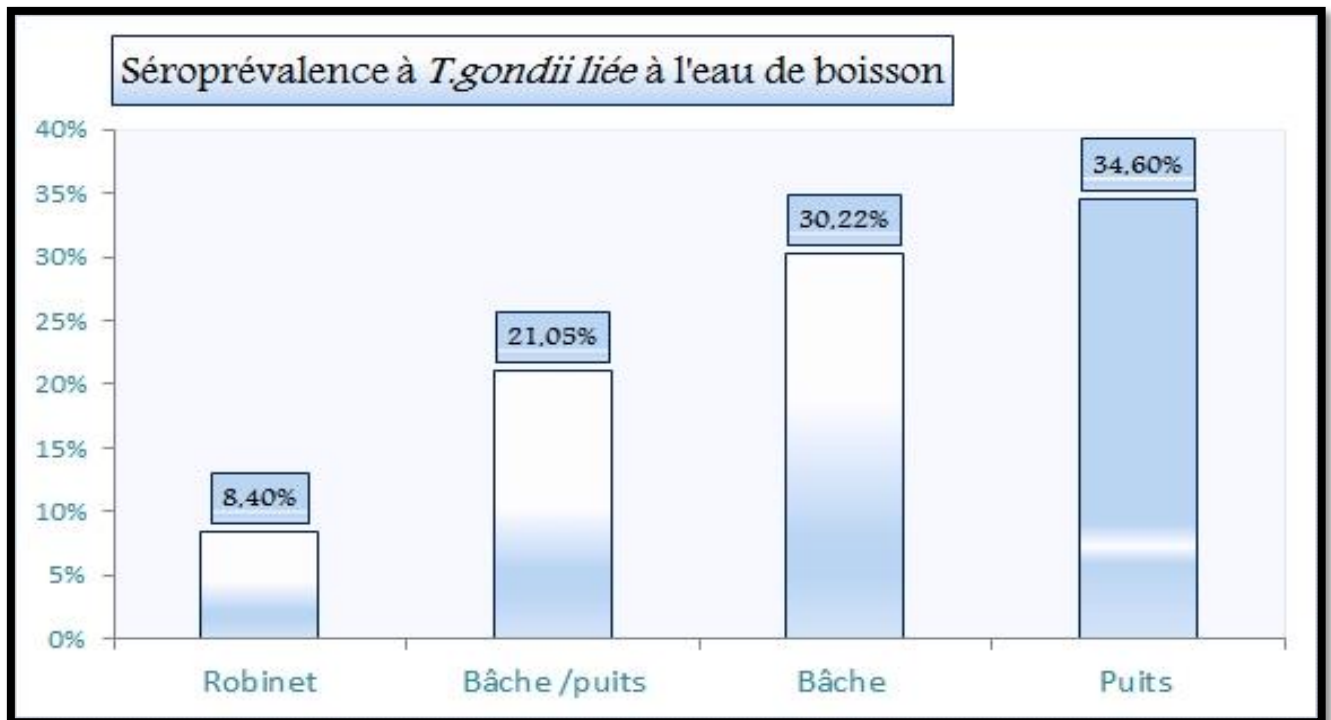


Figure 30: Séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* en fonction du système d'abreuvement des chevaux.

7. Séroprévalence selon les wilayas

Il n'y a pas de différence significative entre la séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* et la région dans laquelle vivaient les chevaux prélevés. Ceci-dit, l'étude de la séroprévalence dans les wilayas de chaque région a montré des taux significativement différents ($p < 0.05$), excepté pour les wilayas du sud qui montre des différences non significatives entre la séroprévalence et les 3 wilayas qui la représentent. Le tableau 14 permet de visualiser ces résultats.

Les séroprévalences sont très variables, elles s'étendent de zéro (0) nombre de cas détectés au niveau de la wilaya de Mostaganem à une séroprévalence de 58.33% (IC 95% :29.87-86.79) enregistrée dans la wilaya de Blida. La région Nord a enregistré, à la fois, le taux le plus bas mais aussi le plus élevé de séroprévalence.

Tableau 14 : Séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* dans les différentes wilayas étudiées.

Région/Wilaya	Analysés	Positifs	Séroprévalence % (95% IC)	P
Total	736	178	24.18% (21.02-27.34)	
Nord				
16-Alger	69	11	15.94% (7.13-24.75)	<0.01
09-Blida	12	7	58.33% (29.87-86.79)	
44-Ain Defla	14	4	28.57% (4.42-52.72)	
41-Souk Ahras	10	2	20.00% (0-45.30)	
27-Mosta	45	0	0.00% (0-0)	
13-Tlemncen	45	10	22.22% (9.83-34.61)	
31-Oran	23	6	26.09% (7.78-44.40)	
48-Relizane	63	11	17.46% (7.89-27.03)	
22-Sba	32	4	12.50% (0.81-24.19)	
29-Mascara	50	27	54.00% (39.90-68.10)	
Total	363	82	22.59% (18.20-26.98)	
Haut-plateaux				
17-Djelfa	19	9	47.37% (24.46-70.28)	<0.01
03-Laghouat	51	11	21.57% (10.05-33.09)	
28-Msila	15	4	26.67% (3.83-49.51)	
19-Setif	33	10	30.30% (14.30-46.30)	
05-Batna	11	5	45.45% (15.42-75.48)	
40-Khenchla	10	2	20.00% (-45.30)	
34-Bbouriridj	15	7	46.67% (20.91-72.43)	
20-Saida	26	6	23.08% (6.55-39.61)	
14-Tiaret	68	6	8.82% (1.94-15.70)	
32-El-Bayadh	30	7	23.33% (7.89-38.77)	
38-Tissemsilt	20	10	50.00% (27.64-72.36)	
45-Naama	17	6	35.29% (12.11-58.47)	
Total	315	83	26.35% (21.39-31.31)	
Sud				
07-Biskra	13	1	7.69% (0-22.47)	NS
30-Ouargala	29	7	24.14% (8.25-40.03)	
47-Ghardaia	16	5	31.25% (8.07-54.43)	
Total	58	13	22.41% (11.46-33.36)	

Discussion

Discussion

Toxoplasma gondii, est un parasite intracellulaire obligatoire, qui peut infecter la plupart des animaux à sang chaud, y compris les mammifères, les oiseaux et les humains (Li et al., 2020). La surveillance d'un tel agent pathogène est importante à des fins épidémiologiques (Dubey et Porterfield, 1986).

Bien que la toxoplasmose ne soit pas couramment considérée comme une maladie des équidés (James et al., 2017), un nombre relativement important d'études à l'échelle mondiale a fait état de la séroprévalence des anticorps contre *T. gondii* chez les chevaux. Ces séroprévalences, estimées très variables, vont de 0% à 70% (Stelzer et al., 2019).

Nous avons utilisé comme test, trois méthodes sérologiques pour la détection des anticorps spécifiques de *T. gondii*. Un test ELISA commercial multi-species ID Screen Toxoplasmosis Indirect Kit de la firme IDVET, un test LAT commercial Toxo-Latex® de la firme SPINRER EACT et un test IFAT Home. Les méthodes ELISA et IFAT ne permettent la détection que les anticorps de la classe IgG de *T. gondii*, alors que le test LAT permet de détecter des anticorps des deux classes - IgG et IgM. Les séroprévalences obtenues étaient de 24,18% (IC 95% : 21.02-27.34) par la méthode IFAT, 18,07% (IC95% : 15.23-20.91) par la technique LAT et 43,07% (IC95% : 39.42-46.72) par la méthode ELISA. Ces différences dans les séroprévalences se sont révélées statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Les différences relevées dans les taux de séroprévalence ne sont pas isolées. En effet, des résultats différents ont également été rapportés dans d'autres pays et qui notent des variations selon les méthodes. C'est le cas de l'Est de la Turquie, à Hakkâri, où la séropositivité était de 13,5% et 28,3% avec l'Hémagglutination indirecte et le Dye test respectivement (Göz et al., 2007).

Pour le diagnostic sérologique, nous avons opté d'une part, pour l'utilisation du test IFAT, car il est considéré comme un test de référence dans le sérodiagnostic de l'infection par *Toxoplasma gondii* chez plusieurs espèces animales (Langoni et al., 2007 ; Bártová et al., 2015). En effet, c'est la technique la plus couramment employée compte-tenu de sa grande sensibilité et sa bonne spécificité. Ce test détecte les anticorps dirigés contre les antigènes présents à la surface cellulaire des tachyzoïtes ; de tels antigènes chez les Apicomplexa, sont plus spécifiques que ceux intracellulaires (Sroka et al., 2008 ; Björkman and Uggla, 1999). Cette caractéristique, combinée à une réaction croisée très faible avec les protozoaires apparentés, conduit l'IFAT à

être considéré comme presque parfait en termes de spécificité. La sensibilité du test IFAT a également été évaluée (Dubey et al., 1988).

De plus, l'IFAT permet d'obtenir des résultats rapides avec un faible coût. Le défaut majeur de cette technique est la subjectivité liée à l'interprétation des résultats. En effet, si cela ne semble pas poser un problème pour les cas extrêmes, les cas douteux devront être soumis à une lecture en double voire en triple aveugle. Néanmoins, les témoins (positifs et négatifs) employés sur chaque lame permettent d'avoir un référentiel stable, et d'éviter toute fluorescence non-spécifique dans le reste des puits, ceci permet en outre d'éviter un biais au cours de la lecture, ou en passant d'une lame à l'autre. D'autre part, ces témoins permettent également de déceler tous problèmes liés à la préparation des lames (mauvais rinçages, faible intensité de fluorescence...), ce qui conditionne la validité des résultats.

Par ailleurs, l'IFAT est une méthode qui a été largement employée pour la détection de *T.gondii* chez les chevaux. Notre séroprévalence 24,18% (21.02-27.34) s'est montrée supérieure à celles obtenues en Italie (3%) (Bártová et al., 2015), au Brésil (10.3 %) (Moreira et al., 2019), en Corée (2.6%) (Gupta et al., 2002). En revanche, d'autres études ont permis de montrer des séroprévalences supérieures à la nôtre, notamment au Brésil (32.18%) (Cazarotto et al., 2016) ou encore de 47.21% (Portella et al., 2017). Des séroprévalences identiques à celle obtenue dans cette étude, est celle rapportée par Bártová et al., 2017 au Niger avec 24%.

Un kit ELISA commercial (multi-species ID Screen Toxoplasmosis Indirect Kit) a également été utilisé dans cette étude pour évaluer la séroprévalence sur le même échantillon de sérum.

La technique ELISA a souvent été utilisée pour le diagnostic sérologique de *Toxoplasma gondii* chez les chevaux, c'est le cas de l'étude menée au Brésil qui a révélé une séroprévalence de 27.6 % (Pivoto et al., 2014) ou de celle menée au Costa Rica avec un taux de 34% (Dangoudoubiyam et al., 2011) ou encore en Nord-ouest de la Chine avec 5.38% (Xing et al., 2018). La méthode ELISA appliquée dans notre étude utilisant le kit multi-espèce ID Screen® Toxoplasmosis Indirect (IDVET, Montpellier) pour la détection d'anticorps dirigés contre la protéine P30 de *Toxoplasma gondii* a permis d'obtenir un taux de 43,07% (39.42-46.72). Ce kit a déjà été utilisé chez les chevaux en 2011 dans une seule étude en Nouvelle-Calédonie et a révélé un taux de 16% (Roqueplo et al., 2011).

En dernier, nos sérums ont subi des analyses par la méthode LAT en utilisant le kit Toxo-Latex®, la séroprévalence obtenue était de 18,07% (15.23-20.91). D'autres études à travers le monde, ont eu recours aux tests d'agglutination pour la recherche des anticorps dirigés contre *T.gondii*. Boughattas et al., en 2011 ont rapporté un taux de 17.7% en Tunisie par l'utilisation de la technique MAT (Boughattas et al.,2011). Cette méthode a également été utilisée en Algérie, dans une seule wilaya du pays «Tiaret», montrant un taux de séroprévalence de 26% (Mohamed-Cherif et al.,2015) ou encore au Japon avec aucun cas positif enregistré par la méthode LAT soit une séroprévalence de 0% (Matsuo et al.,2014). En République tchèque, une étude utilisant le test LAT a rapporté une séroprévalence de 24% (Bártová et al., 2010) et celle menée au Pakistan avec une séroprévalence de 23.5% (Saqib et al.,2015).

En revanche, une étude menée en Iran, a obtenu un taux de séroprévalence de 71,15% en utilisant le test MAT (Hajialilo et al.,2010).

Les résultats obtenus, diffèrent d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre en fonction de plusieurs paramètres à savoir, le type de test sérologique employé et la valeur utilisée comme seuil. En effet, la différence de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques employés pour le dépistage contribue sans doute à la variabilité des résultats entre chercheurs (Stelzer et al.,2019).

Par ailleurs, la différence dans les séroprévalences obtenues par les trois méthodes utilisées est largement significative ($p < 0.05$), ce qui concorde parfaitement avec la méta-analyse mondiale menée par Li et al., concernant la séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* chez les chevaux, qui atteste que la différence significative entre les méthodes et les séroprévalences signalées, suggérait que la méthode d'analyse était un facteur important d'hétérogénéité (Li et al.,2020).

Dans ce travail, les performances de deux kits sérologiques commerciaux : Un test ELISA multi-species ID Screen Toxoplasmosis Indirect Kit de la firme IDVET et un test LAT Toxo-Latex® de la firme SPINRER EACT, ont été évaluées par le calcul de la sensibilité, la spécificité, la concordance et le coefficient kappa de Cohen par rapport à l'IFAT pris comme test de référence pour la mise en évidence des anticorps spécifiques de *T.gondii* chez des chevaux naturellement infectés.

Globalement, la technique ELISA a montré une spécificité de 75,1%, une excellente sensibilité de 100% et un % de concordance de 81 comparée au test IFAT. Cela signifie que tous les sérums positifs avec la méthode IFAT, prise comme référence, étaient également positifs avec l'ELISA, alors qu'une faible spécificité (75%) indique que l'ELISA a détecté des sérums faussement positifs.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré une valeur de 0,59 ce qui correspond à une concordance modérée. Dans une étude antérieure, une tentative d'utilisation de l'antigène recombinant P30 a été efficace pour détecter des anticorps dirigés contre *T. gondii* chez des porcs infectés expérimentalement (Gamble et al., 2000). Cependant, les sérums de porcs naturellement infectés testés avec l'antigène P30 a indiqué que le test avait une sensibilité réduite à un niveau inacceptable (Gamble et al., 2005).

Quant au test LAT, la sensibilité s'est révélée plus faible (73%) alors que la spécificité s'est montrée plus élevée (99,5%). Ce qui signifie que le test LAT a une capacité élevée d'identifier un sérum négatif mais une capacité inférieure pour détecter un sérum positif. Des études antérieures ont mentionné le manque de sensibilité du LAT dans la détection des anticorps de *Toxoplasma* chez le porc (Dubey et al., 1995). En revanche, une autre étude a montré que le test LAT utilisé pour détecter les anticorps de *Toxoplasma* dans le sérum de chats a révélé une bonne sensibilité et spécificité (Sroka et al., 2008), Ce qui a indiqué que le test commercial LAT pourrait être utilisé pour le dépistage d'autres espèces animales.

L'analyse de la concordance entre le test IFAT et le test LAT a montré une bonne concordance (kappa 0,79). Ce résultat indique que la méthode LAT et la méthode IFAT avaient des capacités similaires dans la détection des anticorps anti- *T. gondii* provenant de sérums de chevaux, c'est ce qui a été attesté dans l'étude menée par Masatani et al., au Japon après avoir utilisé le test IFAT pour appuyer les résultats obtenus avec un kit LAT non validé pour les chevaux. Le rapport entre LAT et IFAT avait montré un accord substantiel de 0.69 (Kappa 0,69) (Masatani et al., 2016).

Sur la base de ces résultats, on constate que si on prend en compte à la fois la sensibilité et la spécificité de chaque méthode sérologique, on constate que le test ELISA s'est montré le plus sensible alors que le test du LAT est plus spécifique.

Par ailleurs, les résultats font ressortir que la meilleure concordance avec l'IFAT est obtenue avec le test LAT 93 %.

Par conséquent et puisque l'IFAT est plus fastidieux que les méthodes commerciales, qui sont plus simples de réalisations, des stratégies en deux étapes peuvent être proposées ; un premier dépistage par la technique ELISA suivi d'une confirmation de tous les sérums positifs avec le test LAT. De cette façon, nous aurons une forte capacité de détecter un échantillon positif avec l'ELISA suivi de la bonne capacité du LAT à détecter les échantillons négatifs.

D'autre part, il est à préciser que les méthodes ELISA et IFAT ne permettent la détection que les anticorps de la classe IgG de *T. gondii*, alors que le test LAT permet de détecter des anticorps des deux classes - IgG et IgM. Par conséquent, le test LAT devrait être considéré comme un test optimal pour l'étude de dépistage de la toxoplasmose (Sroka et al., 2008).

La connaissance des facteurs de risques susceptibles d'influencer positivement ou négativement la prévalence d'une maladie est nécessaire pour une bonne compréhension de son épidémiologie, ainsi que leurs implications en termes de stratégies de contrôle adaptées aux conditions locales. Plusieurs auteurs à travers le monde ont étudié les facteurs de risques associés à l'infection par *T. gondii*.

Selon nos résultats nous avons constaté que la séroprévalence de *T.gondii* chez les chevaux âgés de plus de 10 ans était statistiquement plus élevée que chez les chevaux âgés de moins de 6 ans. Plus précisément, les chevaux les plus âgés (âge >15 ans) montraient la séroprévalence la plus élevée de toutes les catégories d'âge avec 60.98% (IC95% : 45.74-76.22) contre seulement 11.04% (IC95% : 5.99-16.09). Chez les chevaux âgés entre 1 an et 5 ans et qui est la séroprévalence la plus basse enregistrée. Des séroprévalences de 25.99% (IC95% : 21.09-29.64) 48.17% (IC95% : 40.37-55.97) ont été notées chez les chevaux respectivement âgés entre 6 et 10 ans et entre 11 et 15 ans soit une augmentation en corrélation avec l'évolution de l'âge des chevaux.

Cette différence fortement significative ($p < 0.001$) dans la séroprévalence en fonction de la tranche d'âge, montre bien que l'âge est un facteur de risque des plus importants.

Ces résultats suggèrent que les chevaux peuvent être infectés horizontalement par *T. gondii* suite à une ingestion de nourriture ou d'eau contaminée par des oocystes sporulés de *T. gondii* plutôt que par une infection transplacentaire. Le risque d'infection humaine ne doit pas être écarté et surtout pas négligé vu que la séroprévalence la plus élevée a été trouvée chez les chevaux les plus âgés et qui sont le plus souvent destinés à la consommation humaine en fin de carrière ou lors de la mise à la retraite. Ces résultats sont conformes aux résultats obtenus dans le Nord-Ouest de la Chine (Machacova et al., 2014), en Tunisie (Boughattas et al., 2011) et au Soudan (Ishag et al., 2014). Tous ces travaux ont trouvé une séroprévalence chez les chevaux plus âgés, significativement plus élevée que celle des jeunes chevaux. Xing et al. (2018) ont également suggéré que les chevaux âgés de plus 15 ans étaient plus susceptibles d'être infectés par *T. gondii* que les chevaux plus jeunes (Xing et al., 2018) ce qui concorde parfaitement avec nos résultats.

Au contraire, des études dans d'autres pays ont montré qu'il n'y a pas de différence significative entre la séroprévalence de *T. gondii* et les différentes classes d'âge chez les chevaux ; la Turquie (Göz et al., 2007), le Sud-Ouest de la Chine (Miao et al., 2013), le Portugal (Lopes et al., 2013) et la Corée (Lee et al., 2014).

Le sexe des chevaux a également été qualifié comme facteur à risque de façon significative ($p < 0.05$). En effet, les femelles avaient une séroprévalence significativement plus élevée 26,04% (IC95% : 20.87-31.21), que les mâles 24,23% (IC95% : 20.05-28.40), et les hongres 3,70% (IC95% : 0-10.97). Ces résultats suggèrent que les chevaux hongres sont beaucoup moins atteints que les chevaux entiers (non castrés) et les juments ou dans un autre sens que les femelles sont plus exposées à l'infection par le parasite. Ce qui est le même résultat que celui rapporté dans une étude précédente en Égypte (Haridy et al., 2009). Des résultats similaires ont été observés en Espagne (García-Bocanegra et al., 2012) et au Xinjiang, dans le Nord-Ouest de la Chine (Wang et al., 2015), mais contrairement à nos travaux, leur différence ne s'est pas révélée statistiquement significative.

Nous avons trouvé une corrélation entre l'infection à *Toxoplasma* et les différentes races de chevaux. Les chevaux Anglo-barbes (issus de croisement entre le pur-sang et le barbe) et Arabes-barbes (croisement entre le cheval arabe et le cheval barbe) semblent être les races les plus exposées à l'acquisition de l'infection. En effet avec une séroprévalence de 36.36% (IC95% : 7.36-65.37) pour l'Anglo-barbe se plaçant juste devant l'arabe-barbe avec une séroprévalence de 31.39% (IC95% : 25.17-37.61). Un travail en Tunisie avait trouvé une

différence significative entre la séropositivité et la race mais citant l'arabe comme étant le plus sensible (Boughattas et al., 2011) mais de la même manière que nous avons trouvé un nombre plus élevé de barbe-arabe sur nos 178 chevaux positifs avec 70 pour cette race. En revanche, le travail dans une région du Nord-Ouest de l'Algérie n'a montré aucune différence significative entre la séropositivité et d'autres facteurs tels que l'âge, le sexe et la race de chevaux (Mohamed-cherif et al., 2015).

La robe du cheval a également fait partie des facteurs de risque que nous avons décidé d'inclure dans notre étude et c'est la première fois qu'une corrélation est rapportée entre une infection par *Toxoplasma gondii* et les différentes robes de chevaux.

Il existe en effet, une différence significative entre la séropositivité et la couleur des poils et des crins des chevaux et il semblerait que les chevaux de robe noire pangaré (Bai brun) soient les plus exposés à l'acquisition de l'infection que les autres robes. Avec une séroprévalence de 36.36% (IC95% : 7.36-65.37) la robe noire pangaré se place juste devant la robe bai avec une séroprévalence de 25.60%(20.08-31.12). Le gène codant pour la couleur foncée pourrait être un facteur de sensibilité de l'infection à *T.gondii* chez les chevaux. Il existerait donc, au travers de ces résultats, une constitution génétique qui influencerait sur la sensibilité des chevaux à l'infection par *T.gondii*.

Nous avons trouvé que les chevaux vivant dans des fermes avaient la séroprévalence la plus élevée avec 28,52%(IC95% : 24.58-32.45) soit (150/526). Elle est donc beaucoup plus élevée que celle des chevaux vivant dans les centres équestres avec seulement 6,56%(IC95% : 2.08-11.04) correspondant au nombre de (8/122). Cela pourrait s'expliquer par la mauvaise qualité hygiénique des fermes se traduisant par le manque d'entretien des locaux mais aussi des chevaux, de leurs abreuvoirs ainsi que de leurs mangeoires. L'habitat est en relation direct avec l'activité des chevaux car dans les fermes les chevaux sont souvent en retraite ou bien sont utilisés à des fins de promenades ou de transport, alors que dans les centres équestres les chevaux sont athlétiques et ont un programme de travail assez intense tels de vrais athlètes. Cela signifie donc que les chevaux athlétiques ont une séropositivité plus faible que ceux qui ne s'entraînent pas souvent. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'une étude menée en Grèce (Kouam et al., 2010) où une séroprévalence plus élevée a été confirmée chez les chevaux vivant dans les fermes. Nous avons également constaté la présence de plusieurs ruminants dans les fermes, alors qu'hormis la présence de chats errants, nous n'avons remarqué aucune autre espèce animale dans les hippodromes ou les centres équestres ; cela

nous renvoie aux résultats et conclusions apportés lors de l'étude menée en Espagne par García-Bocanegra et al, qui montre une séroprévalence plus élevée dans les endroits où les chevaux partagent l'habitat avec des ruminants domestiques (García-Bocanegra et al., 2012). Les chevaux et les autres hôtes intermédiaires de *T. gondii* tels que ruminants, ne peuvent être infectés que par l'ingestion de nourriture et d'eau contaminés par des oocystes sporulés de *T. gondii* provenant de félidés ou par transmission congénitale.

Le risque d'infection est donc vraiment élevé pour les humains car, étant donné qu'il n'existe pas de chevaux élevés pour l'abattage en Algérie, les chevaux de fermes sont souvent vendus aux abattoirs moyennant une somme d'argent qui satisfait souvent les fermiers.

Durant notre étude, nous avons pu constater que les chats étaient en libre circulation dans les fermes, les centres équestres ou encore les hippodromes. Cette présence quasi permanente de chats représente un facteur de risque comme cela a été décrit en 2016 au Brésil en rapportant qu'à titre de preuve, cette présence permanente des chats peut être à l'origine de la séroprévalence chez les chevaux, et atteste que les chats sont considérés comme l'un des facteurs de risque de toxoplasmose chez les chevaux (Cazarotto et al., 2016). Li et al, dans leur méta-analyse ont également confirmé que la présence des chats pourrait entraîner une augmentation de la séroprévalence de *T.gondii* chez les chevaux mais rapporte également que le taux positif de *T. gondii* dans les effectifs signalant la présence de chats était presque le double que le taux enregistré dans les effectifs dépourvus de chats. Cela indiquant que la présence de chats dans les structures équestres peut être le principal facteur à l'origine de l'infection à *T.gondii* (Li et al., 2020) .

Nous avons pris la source d'eau (abreuvement) comme facteur de risque de l'infection à *T.gondii* chez les chevaux. En effet, comme l'a signalé Dubey (Dubey, 2010), étant donné que les oocystes de *T.gondii* peuvent rester infectieux dans l'eau pendant une longue période (c'est-à-dire dans des conditions optimales plusieurs mois, voire plusieurs années), l'approvisionnement en eau pour les animaux peut représenter un facteur de risque de l'infection. Nous avons trouvé dans notre étude qu'il y avait une différence significative entre l'eau de boisson et la séroprévalence de *T.gondii*. Ceci a également été rapporté dans une étude menée au Brésil où les auteurs ont attesté que la source d'eau destinée à l'abreuvement des chevaux était associée à la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* (Almeida et al., 2017).

Les différentes installations d'abreuvement ont montré qu'il existait une différence significative entre la séropositivité à *T. gondii* et l'eau potable provenant des robinets. Les chevaux qui étaient

abreuvés avec de l'eau de bâches mais surtout de puits ont montré une séroprévalence respective de 30.22%(IC95% : 24.61-35.83) et 34.60% (IC95% : 28.05-41.15) bien plus élevées que ceux qui étaient abreuvés avec de l'eau du robinet 8.40%(IC95% : 4.81-12). Nous avons également constaté au vu de nos résultats que l'eau des robinets avait un effet protecteur contre l'infection par *T.gondii*. Nos résultats sont similaires à ceux de Sun et al., qui ont prouvé que les bovins laitiers et à viandes avaient une séroprévalence plus élevée lors d'abreuvement en eau de puits qu'en eau de robinet (Sun et al.,2015). Ils sont par contre en contradiction avec l'étude menée par Almeida et al, où la séroprévalence était plus faible chez les chevaux s'abreuvent d'eau de puits (Almeida et al.,2017).

La séroprévalence dans les fermes était plus élevée que celle des chevaux vivant dans les centres équestres. Dans cette dernière structure, l'eau provenait de robinet tandis que celle des exploitations (fermes) provenait directement des puits et / ou bâches d'eau. Il semblerait donc que la source d'eau influe sur le facteur de risque « Habitat du cheval ».

Contrairement à l'eau de boisson, la nourriture n'a pas affecté de manière significative la séroprévalence de *T. gondii*.

Nous n'avons pas enregistré de différence significative entre la séroprévalence vis-à-vis de *T.gondii* et les différentes régions, regroupant plusieurs wilayas dans lesquelles nous avons prélevé les chevaux. Ces résultats sont contraires à ceux de l'étude menée au Niger (Bártová et al., 2017) où les auteurs mentionnent la différence significative entre la séroprévalence à *T.gondii* et les différents états du Niger. Il n'existe pas de différence significative entre les 3 différentes régions étudiées il semblerait y avoir une relation entre la séroprévalence et les différentes wilayas représentant les régions étudiées. En effet, nous avons constaté que Blida renfermait le taux de séropositivité le plus élevée 58% (IC95% :29.87-86.79). Ces résultats concordent avec l'étude menée par Zhang et al, qui montre une différence significative entre les différentes villes ou localités (Zhang et al., 2018). Cependant en Espagne, García-Bocanegra et al, ont constaté le contraire en signalant qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'infection par *T.gondii* et les différentes villes de l'étude (García-Bocanegra et al., 2012).

Conclusion

Conclusion

Il s'agit de la première enquête épidémiologique réalisée dans plus de 20 wilayas du pays pour évaluer la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* chez les chevaux. L'utilisation de trois méthodes sérologiques (IFAT, LAT et ELISA) pour la détection de *T. gondii* nous a permis, non seulement d'apporter quelques éléments de comparaison mais aussi d'avoir une idée globale concernant la séroprévalence de *T. gondii* chez le cheval en Algérie. Bien que la séroprévalence soit plus faible que dans d'autres pays, nous avons constaté que *T. gondii* était présent chez les chevaux dans presque toutes les régions de l'Algérie. Étant donné que la viande de cheval est principalement consommée par les personnes en convalescence, des enquêtes épidémiologiques sont nécessaires pour contrôler l'infection humaine.

La prévention de l'infection acquise est considérée comme essentielle pour l'éradication ou le contrôle de *T. gondii*, de ce fait, et au vu de nos résultats et nos conclusions concernant les facteurs de risques, il semblerait qu'un plan de nettoyage et de surveillance de la qualité hygiénique des infrastructures devrait être instauré. Les chevaux sont probablement infectés horizontalement par *T. gondii* en ingérant de la nourriture ou de l'eau contaminée par des oocystes, de ce fait, des installations pour alimenter les abreuvoirs en eau de boisson seraient intéressantes pour diminuer les risques de contraction de la maladie par les eaux de bâches ou de puits.

Liste des références bibliographiques

1. Afonso E. 2007. Etude de la dynamique de la transmission de *Toxoplasma gondii* dans des milieux contrastes. Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne Ardenne. UFR Sciences Exactes et Naturelles. Ecole Doctorale « Sciences, Technologie, Santé ». 273 pages.
2. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2005. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'Afssa. 318 pages.
3. Ajioka JW, Fitzpatrick JM and Reitter CP. 2001. *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. *Expert. Rev. Mol. Med.* 1-19
4. Akourim M. 2016. Perception et séroprévalence de la Toxoplasmose chez les femmes enceintes : Enquête épidémiologique dans la région Agadir-Inzegane. Thèse de doctorat en médecine. N°125. Faculté de médecine et de pharmacie-Marrakech. 195 pages.
5. Alanazi AD and Alyousif MS. 2011. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. *J. Parasitol.* 97(5): 943-945.
6. Alanonto V. 2012. Séroprévalence et facteurs de risques de la toxoplasmose de la néosporose chez les carnivores domestiques et chez les femmes en consultation prénatale dans la région de St-Louis Sénégal. Thèse de master Sante Publique Vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires. 41 pages.
7. Alerte VM. 2008. Prévalence de *Toxoplasma gondii* sur les animaux d'un parc zoologique (amneville) : Séroprévalence et isolement du parasite. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 130 pages.
8. Al-Khalidi NW, Weisbrode SE, and Dubey JP. 1980. Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts to ponies. *Am. J. Vet. Res.* 41: 1549-1551.
9. Almeida JC, Vidotto O, Ferreira EP, Ribeiro LPS, Mongruel ACB, Vieira TSWJ, Freire RL, Mota RA and Vieira RFC. 2017. Serosurvey of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses from Paraíba state, Northeastern Brazil. *Acta Parasitologica.* 62(1), 225–227.
10. Alvarado-Esquivel C, Rodríguez-Peña S, Villena I and Dubey JP. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic horses in Durango state, Mexico. *J. Parasitol.*, 98(5): 944-945.
11. Armengol C. 2016. Comparaison de sept réactifs commerciaux pour le diagnostic de séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte au chu de Toulouse. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier Faculté des sciences pharmaceutiques. 90 pages.

12. Aroussi A. 2015. Détection de l'ADN de *Toxoplasma gondii* et évaluation des performances de deux tests sérologiques dans la viande équine vendue dans les supermarchés en France. Thèse de doctorat. Université de Limoges. École Doctorale Gay Lussac - Sciences pour l'Environnement. 107 pages.
13. Ashburn D, Evans R, Chatterton JMW, Joss AWL and Ho-Yen DO. 2000. *Toxoplasma* dye test using cell culture derived tachyzoites. *J. Clin. Pathol.* 53, 630–633.
14. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). 2014. Toxoplasmose. Université Médicale Virtuelle Francophone. 16 pages.
15. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F and Addiss DG .2003.Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 , pp. 55-62.
16. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V and Carme B. 1999. Risk Factors for *Toxoplasma* Infection in Pregnancy: A Case-Control Study in France. *Scand. J. Infect Dis.* 31: 305–309.
17. Bártová E, Sedlák K, Syrová M and Literák I. 2010. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. *Parasitol. Res.* 107(4): 783-785.
18. Bártová E, Macháčová T, Sedlák K, Budíková M, Mariani U and Veneziano V. 2015. Seroprevalence of antibodies of *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* in horses from Southern Italy. *Folia Parasitol.* 62 (1): 43.
19. Bártová E, Sedlák K, Kobédová K, Budíková M, Atuman YJ and Kamani J. 2017. Seroprevalence and risk factors of *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* infections among horses and donkeys in Nigeria, West Africa. *Acta Parasitologica.* 62(3): 606–609.
20. Beauchamps P. 1999. Contribution de l'amplification génique (PCR) au diagnostic de la toxoplasmose intérêts de la PCR quantitative. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille. 279 pages.
21. Belamari GA. 2005: Le suivi sérologique de la toxoplasmose chez la femme enceinte. Université Mostaganem. Biologie et médecine .Mémoire online.
22. Benoit-Vical F, Santillana-Hayat M, Kone-Bamba D, Mallie M and Derouin F.2000. Anti.*Toxoplasma* activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine, *Parasite* 7.3-7.
23. Berger F, Goulet V, Le Stat Y, de Valk H and Desenclos JC. 2007. La toxoplasmose en France chex la femme enceinte en 2003: seroprevalence et facteurs associes. Institut de veille sanitaire.

24. Berger-Schoch AE, Herrmann DC, Schares G, Müller N, Bernet D, Gottstein B and Freyet CF. 2011. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. *Vet Parasitol.* 177 (3-4):290-297.
25. Bernstein L, Gregory CR, Aronson LR, Lirtzman RA and Brummer DG. 1999. Acute toxoplasmosis following renal transplantation in three cats and a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15; 215(8): 1123-1126.
26. Bertranpetit E. 2017. Sur l'origine de *Toxoplasma gondii* : approches phylogénétique et spatialement-explicite pour la détermination de l'origine géographique d'un parasite ubiquiste. Thèse de doctorat. Université de Limoges. École Doctorale Gay Lussac – Sciences pour l'environnement.
27. Bessièresa MH, Cassaing S, Fillaux J and Berrebib A. 2008. Toxoplasmose et grossesse. *Revue francophone des laboratoires.* 402 : 39-50.
28. Bisson A, Maley S, Rubaire-Akiiki C and Wastling J. 2000. The seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic goats in Uganda. *Acta Tropica* 76(1), 33–38.
29. Bittame A. 2011. *Toxoplasma gondii* : Etude du réseau de nanotubes membranaires de la vacuole parasitophore et des protéines GRA associées. Université de Grenoble. Thèse pour obtenir le grade de docteur Virologie/Microbiologie/Immunologie de l'université de Grenoble. 253 pages.
30. Björkman C and Uggl A. 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.* 29(10):1497-1507.
31. Black MW and Boothroyd JC. 2000. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 607-623.
32. Blaga R, Aubert D, Perret C, Geers R, Djokic V, Villena I, Gilot-Fromont E, Mercier A and Boireau P. 2015. Animaux réservoirs de *Toxoplasma gondii* : état des lieux en France. *Revue Francophone des Laboratoires.* 477 : 35-52.
33. Boisson D. 2002. Etude bibliographique de la toxoplasmose féline : Aspects cliniques et conduite du vétérinaire en clientèle, lors d'une suspicion de toxoplasmose féline. Thèse de docteur vétérinaire N°205. Ecole nationale Vétérinaire de Lyon. 214 pages.
34. Boubekour T and Rahis A. 2019. Séroprévalence de la Toxoplasmose et les facteurs de risques chez la femme enceinte dans la région de Tizi Ouzou. Thèse de master en biologie. Université mouloud mammeri de tizi-ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. 80 pages.
35. Bouchikhi S. 2018. Toxoplasmose et grossesse (à propos de 202 cas). Thèse de docteur en médecine. N° 029/Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie. Maroc. 210 pages.

36. Boughattas S, Bergaoui R, Essid R, Aoun K and Bouratbine A. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. *Parasit. Vectors*. 4(1): 218.
37. Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. 2003. La toxoplasmose. *Corpus Médical*– Faculté de Médecine de Grenoble. 1-7.
38. Bunetel L, Guerin J, Andre P, Roberts R and Deunff J.1995.Calibration of an in vitro assay system using a non-adherent cell line to evaluate the effect of a drug on *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol*, 25 pp. 699-704.
39. Burnet J. 2007.Séroprévalence de *Toxoplasma gondii* dans les populations naturelles d'ongulés de montagne : étude rétrospective et comparaison des tests sérologiques Elisa et Mat. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. 67 pages.
40. Buxton D.1990. Ovine toxoplasmosis: a review. *J. R. Soc. Med.* 83(8):509-11.
41. Calico I, Caballero E, Martinez O, Arcalis Arce L, Llopart L, Ocana I and Juste C.1991. Isolation of *Toxoplasma gondii* from immunocompromised patients using tissue culture. *Infection*, 19 ,pp. 340-342.
42. Canada N, Meireles CS, Rocha A, da Costa JM, Erickson MW, Dubey JP.2002. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. *J. Parasitol.* 88: 1247-8.
43. Carruthers VB. 2002. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta. Trop.* 81,111 -122.
44. Cazarotto CJ, Balzan A, Grosskopf RK, Boito JP, Portella LP, Vogel FF, Fávero JF, Cucco DC, Biazus AH, Machado G and Da Silva AS. 2016. Horses seropositive for *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora* spp.: Possible risk factors for infection in Brazil. *Microb. Pathog.* 99(1): 30-35.
45. Chatterton JM, Evans R, Ashburn D, Joss AW and Ho-Yen DO .2002.*Toxoplasma gondii* in vitro culture for experimentation. *J.Microbiol.Methods*, 51 . pp. 331-335.
46. Costa AJ, Araujo FG, Costa JO, Lima JD and Nascimento E.1977.Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 63. 212-218.
47. Dangoudoubiyam S, Oliveira JB, Víquez C, Gómez-García A, González O, Romero JJ, Kwok OCH, Dubey J, and Howe DK. 2011. Detection of Antibodies A gainst *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in Horses from Costa Rica. *J. Parasitol.* 97(3):522-524.
48. Davidson MG, Rottman JB, English RV, Lappin MR and Tompkins MB.1993. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am .J. Pathol.* 143:1486-1497.

49. De Meerschman F, Rettigner C, Focant C, Boreux R, Pinset C, Leclipteux T and Losson B. 2002. Use of a serum-free medium to produce in vitro *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites on Vero cells. *Veterinary Research* 33(2): 159-168.
50. Del Bo` C, Simonetti P, Gardana C, Riso P, Lucchini G and Ciappellano S. 2013. Horse meat consumption affects iron status, lipid profile and fatty acid composition of red blood cells in healthy volunteers. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 64(2): 147–154.
51. Demard A. 2009. Toxoplasmose bovine et aviaire : Enquête épidémiologique en Meurthe-et-Moselle (54). Thèse de docteur vétérinaire n° 009. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. 143 pages.
52. Derouin F and Chastang C. 1988. Enzyme immunoassay to assess effect of antimicrobial agents on *Toxoplasma gondii* in tissue culture, *Antimicrob. Agents Chemother.* 32 .303-307.
53. Derouin F, Mazon MC and Garin YJF. 1987. Comparative Study of Tissue Culture and Mouse Inoculation Methods for Demonstration of *Toxoplasma gondii*. *Journal of clinical microbiology*. 25 (9): 1597-1600.
54. Dia F .1992. Contribution à l'étude de L'épidémiologie de La Toxoplasmose chez Les ruminants domestiques au Sénégal. Thèse de docteur vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 121 pages.
55. Diab MR and El-Bahy MM. 2008. *Toxoplasma gondii*: virulence of tachyzoites in serum free media at different temperatures. *Experimental Parasitology*, 118, pp. 75-79.
56. Dion S. 2010. Place du chat dans la circulation de la toxoplasmose. Objectifs, intérêt et état des lieux de la vaccination. Thèse de docteur vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort. 155 pages.
57. Doliwa C. 2012. Caractérisation par protéomique et transcriptomique des mécanismes de résistance à la sulfadiazine chez *Toxoplasma gondii*. Thèse de Doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne. UFR de Médecine. Ecole Doctorale Sciences, Technologies, Santé. 307 pages.
58. Dubey JP. 1985. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of equids fed oocysts. *Am. J. Vet. Res.* 46: 1753-1754.
59. Dubey JP. 1986. A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet Parasitol.* 22 (3-4): 177-202.
60. Dubey JP and Porterfield ML. 1986. *Toxoplasma*-like sporozoa in an aborted equine fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188 (11): 1312-1313.

61. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS and Topper MJ. 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193(10): 1259-1263.
62. Dubey JP and Shen SK. 1991. Rat model of congenital toxoplasmosis. *Infection and Immunity.* 59: 3301-3302.
63. Dubey JP, Thulliez P and Powell EC. 1995. *Toxoplasma gondii* in Iowa sows: Comparison of antibody titers to isolation of *T. gondii* by bioassays in mice and cats. *J. Parasitol.* 81(1): 48-53.
64. Dubey JP and Lindsay DS. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 67: 1-59.
65. Dubey JP. 1998. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 28: 1019-24.
66. Dubey JP, Lindsay DS and Speer CA. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2): 267-299.
67. Dubey JP. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasitol.* 106: 121-153.
68. Dubey JP and Jones JL. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology.* 38 (11): 1257-1278.
69. Dubey JP. 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Humans.* (2nd ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida. 1-313.
70. Dubey JP, Rajendran C, Ferreira CLR, Martins J, Kwok OCH, Hill DE, Villena I, Zhou H, Su C, and Jones JL. 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.
71. El Bouhali L. 2012. *Toxoplasmose et grossesse.* Thèse de doctorat. Université de lorraine. Faculté de pharmacie. 115 pages.
72. Essaoudi F .2015. *La séro-surveillance de la toxoplasmose chez la femme enceinte.* Thèse de docteur en pharmacie. Université Mohammed V- Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie –Rabat. N°:81. 133 pages.
73. Evans R, Chatterton JM, Ashburn D, Joss AW and Ho-Yen DO. Cell-culture system for continuous production of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18 (1999) 879-884.
74. Ferguson DJP. 2009. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 104(2): 133-148.

75. Fichera ME, Bhopale MK and Roos DS.1995.In vitro assays elucidate peculiar kinetics of clindamycin action against *Toxoplasma gondii*.Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39 ,pp. 1530-1537.
76. Figliuolo LPC, Kasai N, Ragozo AMA, de Paula VSO, Dias RA, Souza SLP and Gennari SM.2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. Veterinary Parasitology 123 ;161–166.
77. Food and Drug Administration. FDA public health advisory: Limitations of toxoplasmosis IgM commercial test kits. 1997.
78. Frenkel J K JK.1990. Transmission of Toxoplasmosis and the Role of Immunity in Limiting Transmission and Illness.J Am Vet Med Assoc. 196(2):233-240.
79. Freyre A, Choromanski L and Fishback JL. 1993. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 79(5): 716-719.
80. Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Grefenstette I, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A and 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 : 545-549.
81. Galal L. 2018. Conséquences des invasions de rongeurs liées aux activités humaines sur l'épidémiologie et la structure des populations de *Toxoplasma gondii* : l'exemple du Sénégal. Thèse de doctorat. Université de Limoges. École Doctorale Sciences Biologiques et Santé. 615 pages.
82. Gamble HR, Andrews CD, Dubey JP, Webert DW and Parmley SF. 2000. Use of recombinant antigens for detection of *Toxoplasma gondii* infection in swine. *J. Parasitol.* 86(3): 459-462.
83. Gamble HR, Dubey JP and Lambillotte DN. 2005. Comparison of a commercial ELISA with the modified agglutination test for detection of *Toxoplasma* infection in the domestic pig. *Vet. Parasitol.* 128(3-4): 177-181.
84. García-Bocanegra I, Cabezón O, Arenas-Montes A,Carbonero A, Dubey JP, Perea A and Almería S. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids in Southern Spain. *Parasitol. Int.*, 61(3): 421-424.
85. Garell DM. 1999. Toxoplasmosis in zoo animals. In: Fowler ME, Zoo and Wild Animal Medecine. Current therapy 4, 4Th ed. *WB Saunders Company.* 747: 131-135.
86. Gaston R. 2017. Les avortements. Centre d'expertise en production ovine du Québec. *Webinaire santé.* 25 pages.

87. Glover M, Tang Z, Sealock R and Jain S. 2017. Diarrhea as a Presenting Symptom of disseminated Toxoplasmosis. *Case Reports in Gastrointestinal Medicine*. 1-4.
88. Gouache JHG. 2009. L'uvéïte récurrente équine : actualités bibliographiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse N09, 111 pages.
89. Göz Y, Babür C, Aydin A and Kiliç S. 2007. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. *Rev. Méd.Vét.* 158 (11): 534-539.
90. Gozalbes R, Brun-Pascaud M, Garcia-Domenech R, Galvez J, Girard PM, Doucet JP and Derouin F. 2000. Anti-*Toxoplasma* activities of 24 quinolones and fluoroquinolones in vitro: prediction of activity by molecular topology and virtual computational techniques. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 2771-2776.
91. Grigg ME, Bonnefoy S, Hehl AB, Suzuki Y and Boothroyd JC. 2001. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science*. 294, 161–165.
92. Guiton R. 2008. *Toxoplasma gondii* et réponse immunitaire protectrice :- Effecteurs de protection lors d'une vaccination par des cellules dendritiques - Voies de signalisation activées par *T. gondii*. Thèse de doctorat. Université François – Rabelais. École doctorale : santé, sciences, technologies. 213 pages.
93. Gupta GD, Lakritz J, Kimb Jae-Hoon, Kim Dae-Yong, Kim Jin-Kap and Marsh AE. 2002. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju Island, South Korea. *Veterinary Parasitology*. 106: 193–201.
94. Hajialilo E, Ziaali N, Harandi MF, Saraei M and Hajialilo M. 2010. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses from Qazvin, Iran. *Trop Anim Health Prod*. 42: 1321–1322.
95. Hammond-Aryee K, Van Helden LS, Van Helden PD. 2015. The prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep in the Western Cape, South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 82(1) : 1-5.
96. Haridy FM, Shoukry NM, Hassan AA and Morsy TA. 2009. ELISA-seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in draught horses in Greater Cairo, Egypt. *J. Egypt. Soc.Parasitol.* 39(3): 821-826.
97. Hartmann K, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Möstl K, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. 2013. *Toxoplasma gondii* Infection in Cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline .Med. Surg.* 15(7):631-637.

98. Hill D and Dubey JP.2002. *Toxoplasma gondii* : transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol. Infect.* 8: 634–640.
99. Hill DE, Haley C, Wagner B, Gamble HR, Sreekumar C and Dubey JP.2005. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews.*6:41–61
100. Homan WL, Vercammen M, De Braekeleer J, Verschueren H.2000. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *I. J..Parasitol.* 30: 69-75.
101. Howe DK and Sibley LD. 1995. *Toxoplasma gondii* Comprises Three Clonal Lineages: Correlation of Parasite Genotype with Human Disease. *J.Infect. Dis.*172:1561-1566.
102. Howe DK, Summers BC, and Sibley LD. 1996. Acute Virulence in Mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. *Infection and immunity.* 64 (12), 5193–5198.
103. Iharti R. 2019. Perception et séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte dans la région de Marrakech. Thèse de doctorat en médecine N°062. Faculté de médecine et de pharmacie-Marrakech. 195 pages.
104. Ishag MY, Majid AM and Abuobeida MM. 2014. Studies on toxoplasmosis in horses in Khartoum state-Sudan. *J. Vet. Med. Anim. Prod.* 5(1): 29-35.
105. James KE, Smith WA, Packham AE, Conrad PA and Pusterla N. 2017. *Toxoplasma gondii* seroprevalence and association with equine protozoal myeloencephalitis: A case–control study of Californian horses. *The Veterinary Journal.* 224: 38–43.
106. Jenum PA and Stray-Pedersen B .1998. Development of specific immunoglobulins G. M and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J.Clin.Microbiol.*10, 2907-2913.
107. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, Mcquillan G, Navin T and Mcauley JB.2001. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am. J. Epidemiol.* 154; 357–365.
108. Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire.2010. N° 61 .Jeudi 13 Dhou El Kaada 1431 Correspondant au 21 octobre 2010 .Loi n° 10-02 du 16 Rajab 1431 correspondant au 29 juin 2010 portant approbation du Schéma National d'Aménagement du Territoire.
109. Jutard A. 2016. La toxoplasmose congénitale en France : prise en charge actuelle et perspectives. Thèse de docteur en pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. Université de Lille II. 126 pages.

110. Kabamba MW, Miteyo B, Malengela L, Kabongo JB, Buna Buna P and Pyana P. 2018. Prévalence de la toxoplasmose chez les chats des quartiers Kingabwa et Limete résidentiel à Kinshasa. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6 (3) : 314-318.
111. Kanjo G. 2014. Influence de *Toxoplasma gondii* dans la régulation d'UHRF1 via la voie NF-KB. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg. École doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé. 155 pages.
112. Kellaci F. 1996. Découverte de la toxoplasmose. Thèse de docteur vétérinaire. Université Saad Dahlab Institut des sciences vétérinaire- Blida. 57 pages.
113. Klun I, Djurkovic-Djakovic O, Katic-Radivojevic S and Nikolic A. 2006. Crosssectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: seroprevalence and risk factors. *Vet. Parasitol.*, 135;121-131.
114. Kouam MK, Diakou A, Kanzoura V, Papadopoulos E, Gajadhar AA and Theodoropoulos GA. 2010. Seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus*, and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. *Vet. Parasitol.* 170 (1-2): 170-175.
115. Langoni H, Da Silva AV, Pezerico SB and de Lima VY. 2007. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 44(1): 27-32.
116. Laugier M and Quilici M. 1970. Intérêt expérimental d'une souche de *Toxoplasme* peu pathogène pour la Souris. *Annales de Parasitologie (Paris)*. 45(4) : 389-403.
117. Lee SH, Lee SE, Seo MG, Goo YK, Cho KH, Cho GJ, Kwon OD, Kwak D and Lee WJ. 2014. Evidence of *Toxoplasma gondii* exposure among horses in Korea. *J. Vet. Med. Sci.* 76(12): 1663-1665.
118. Li X, Ni HB, Ren WX, Jiang J, Gong QL and Zhang XX. 2020. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses: A global systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*. 201: 105222.
119. Lopes AP, Sousa S, Dubey JP, Ribeiro AJ, Silvestre R, Cotovio M, Schallig HDF, Cardoso L and Cordeiro-da-Silva A. 2013. Prevalence of antibodies to *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* in horses from the north of Portugal. *Parasit. Vectors*. 6(1): 178.
120. Lorenzo JM, Sarriés MV, Tateo A, Polidori P, Franco D and Lanza M. 2014. Carcass characteristics, meat quality and nutritional value of horsemeat: A review. *Meat Science* 96; 1478–1488.
121. Luft BJ, Remington JS. 1992. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin Infect Dis*; 15(2):211-22.

122. Machacova T, Bartova E, Di Loria A, Sedlak K, Mariani U, Fusco G, Fulgione D, Veneziano V and Dubey JP. 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in donkeys (*Equus asinus*) in Italy. *J. Vet. Med. Sci.* 76(2): 265-267.
123. Masatani T, Takashima Y, Takasu M, Matsuu A and Amaya T. 2016. Prevalence of anti *Toxoplasma gondii* antibody in domestic horses in Japan. *Parasitol. Int.* 65(2): 146-150.
124. 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.
125. McGovern KE and Wilson EH. 2013. Dark side illuminated imaging of *Toxoplasma gondii* through the decades. *Parasites & Vectors.* 6 (334): 1-8.
126. McQuillan GM, Kruszon-Moran D, Kottiri BJ, Curtin LR, Lucas JW and Kingdon RS. 2004. Racial and ethnic differences in the seroprevalence of 6 infectious diseases in the United States: data from NHANES III, 1988-1994. *Am J Public Health.* (11):1952-8.
127. Mercier A. 2010. Approche écologique, épidémiologique et génétique de la biodiversité de *Toxoplasma gondii* en zone tropicale humide : exemples du Gabon et de la Guyane Française. Thèse de doctorat. Université de Limoges. Ecole doctorale ED 523 Sciences pour l'Environnement Gay Lussac-Faculté de Médecine. 261 pages.
128. Messerer L. 2015. Epidémiologie de la toxoplasmose à l'est algérien avec prévention de la toxoplasmose congénitale. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar –faculté des sciences Annaba. 209 pages.
129. Mets MB and Chhabra MS. 2008. Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness. *Surv. Ophthalmol.* 53: 95-111.
130. Miao Q, Wang X, She LN, Fan YT, Yuan FZ, Yang JF, Zhu XQ and Zou FC. 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. *Parasit. Vectors.* 6(1): 168.
131. Mohamed-Cherif A, Ait-Oudhia K and Khelef D. 2015. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies among horses (*Equus caballus*) and donkeys (*Equus asinus*) in Tiaret province, Northwestern Algeria. *Rev. Méd. Vét.* 166(9-10): 271-274.
132. Mohamed Cherif A. 2019. Toxoplasmose animale en Algérie. Etude épidémiologique chez diverses espèces animales et évaluation du risque zoonotique lié à *Toxoplasma gondii* sur la santé. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. 65 pages.
133. Moiré N, Mévélec MN, Ducourneau C and Dimier-Poisson I. 2009. Vaccination contre la toxoplasmose chez les animaux de rente. *Bull. Acad. Vét. France.* 162 (1) : 51-54.
134. Mondoly P, Lacz C, Boucher C, Laufrais N, Nouvel X and De Cremoux R. 2013. Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants. Collection L'Essentiel. 1-4.

135. Montoya JG and Liesenfeld O.2004. Toxoplasmosis. *Lancet*.363 (9425):1965-1976.
136. Moreira TR, Sarturi C, Stelmachtchuk FN, Andersson E, Norlander E, de Oliveira FLC, Machado Portela J, Marcili A, Emanuelson U, Gennari SM and Minervino AHH. 2019. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. In equids of Western Pará, Brazil. *Acta Tropica*. 189;39–45.
137. Motarjemi Y, Moy G and Todd E. 2014. Encyclopedia of Food Safety Volume 1. Elsevier, Aca. Press. Pp. 2356
138. Normaznah Y, Saniah K, Fuzina Noor H, Naseem K and 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.
139. Papini RA, Buzzzone G, Nardoni S, Rocchigiani G and Mancianti F. 2015. Seroprevalence and genotyping of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for human consumption in Italy. *J Equine Vet Sci*. 35:657–661.
140. Patrat-Delon S, Gangneux JP, Lavoue S, Lelong B, Guiguen C, le Tulzo Y and Robert-Gangneux F. 2010. Correlation of Parasite Load Determined by Quantitative PCR to Clinical Outcome in a Heart Transplant Patient with Disseminated Toxoplasmosis. *J. clinical. microbiol*. 48 (7) : 2541–2545.
141. Pereira KS, Franco RMB, and Leal DAG. 2010. Transmission of Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) by Foods. *Advances in Food and Nutrition Research*. 60: 1-19.
142. Petersen E, Pollak A and Reiter-Owona I. 2001.Recent trends in research on congenital toxoplasmosis.*Int. J. Parasitol*. 31 .115-144.
143. Petersen E, Vesco G, Villari S and Buffolano W. 2010. What do we know about risk factors for infection in humans with *Toxoplasma gondii* and how can we prevent infections. *Zoonoses and Public Health*. 57(1): 8-17.
144. Pivoto FL, de Macêdo Jr AG,da Silva MV, Ferreira FB, Silva DAO, Pompermayer E, Sangioni LA, Mineo TWP, Vogel FSF. 2014. Serological status of mares in parturition and the levels of antibodies (IgG) against protozoan family Sarcocystidae from their pre colostral foals. *Vet. Parasitol*. 199: 107-111.
145. Polle F, Storey E, Eades S, Alt D, Hornsby R, Zuerner R and Carter R. 2014. Role of Intraocular Leptospira Infections in the Pathogenesis of Equine Recurrent Uveitis in the Southern United States. *J.Equine.Vet. Science*. 34 : 1300–1306.
146. Portella LP, Cadore GC, Sangioni LA, Pellegrini LF, Fighera R, Ramos F, Vogel FS. 2017. Antibodies against *apicomplexa protozoa* and absence sarcocysts in heart tissues from horses in southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet*. 26: 100-103.

147. Rabaud C, May T, Lucet JC, Leport C, Ambroise-Thomas P and Canton P. 1996. Pulmonary Toxoplasmosis in Patients Infected with *Human Immunodeficiency Virus*: A French National Survey. *Clinical Infectious Diseases*. 23:1249-1254.
148. Radke JR and White MW.1998. A cell cycle model for the tachyzoite of *Toxoplasma gondii* using the Herpes simplex virus thymidine kinase. *Mol Biochem Parasitol* **94**: 237– 247.
149. Remington JS, Thulliez P and Montoya JG. 2004. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. Minireview. *Journal of Clinical Microbiology*, Mar. 2004: 941–945.
150. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. 2006. Toxoplasmosis. In J Remington, G Klein, C Wilson, C Baker (eds.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 6th ed., *WB Saunders, Philadelphia*, p. 947-1091.
151. Riemann HP, Meyer ME, Theis JH, Kelso G and Behymer DE. 1975. Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *J. Pediatr.* 87:573-576.
152. Robert-Gangneux F, Commerce V, Tourte-Schaefer C and 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*.18:648-654.
153. Robert-Gangneux F and Dardé ML. 2012. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 25(2): 264–296.
154. Romand S, Chosson M, Franck J, Wallon M, Kieffer F, Kaiser K, Dumon H, Peyron F, Thulliez P and Picot S. 2004. Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 190: 797-802.
155. Romanet L.2017. Toxoplasmose et Grossesse. Thèse de docteur en pharmacie. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie. 122 pages.
156. Roos DS, Donald RGK, Mourrisette NS and Moulton ALC.1994.Molecular tools for genetic dissection of the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*.*Methods in Cell Biology*, 45.pp. 27-63.
157. Roqueplo C, Halos L, Cabre O and Davoust B. 2011. *Toxoplasma gondii* in wild and domestic animals from New Caledonia. *Parasite*. 18(4): 345-348.
158. Rouatbi M, Amairia S, Amdouni Y, Boussaadoun MA, Ayadi O, Al-Hosary AA, Rekik M, Ben Abdallah RB,Aoun K, Darghouth MA, Wieland B and Gharbi M. 2019. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in North Africa: a review. *Parasite* 26 (6) : 1-20.
159. Rougier E. 2010. L'uvéïte récidivante équine et son traitement. Thèse de docteur en pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie. 40 pages.

160. Saadatnia G, Haj Ghani H, Khoo BY, Maimunah A and Rahmah N.2010. Optimization of *Toxoplasma gondii* cultivation in VERO cell line. *Tropical Biomedicine* 27(1): 125–130.
161. Salimi M, Shojaee S, Keshavarz H and Mohebal M. 2016. Cyst Formation from Virulent RH Strain of *Toxoplasma gondii* Tachyzoite: In Vitro Cultivation. *Iran J Parasitol*: 11, (1), 81-85.
162. Saqib M, Hussain MH, Sajid MS, Mansoor MK, Asi MN, Fadya A Al-Kitani, Zohaib A, Sial AUR, Muhammad G and Ullah I. 2015. Sero-epidemiology of equine toxoplasmosis using a latex agglutination test in the three metropolises of Punjab, Pakistan. *Tropical Biomedicine*. 32(2): 276–285.
163. Sibley LD and Boothroyd JC.1992. Virulent Strains of *Toxoplasma gondii* Comprise a Single Clonal Lineage. *Nature* 3;359 (6390):82-85.
164. Sibley LD. 2003.*Toxoplasma gondii* : Perfecting an Intracellular Life Style. *Traffic* ; 4: 581–586
165. Sonar SS and Brahmabhatt MN. 2010. Toxoplasmosis: An Important Protozoan Zoonosis. *Veterinary World*. 3 (9): 436-439.
166. Spišák F, Reiterová K, Špilovská S and Dubinsky' P. 2010. Prevalence estimation and genotypization of *Toxoplasma gondii* in goats. *Biologia*, 65, 670–674.
167. Sroka J, Cencek T, Ziomko I, Karamon J and Zwoliński J. 2008. Preliminary assessment of Elisa, Mat, and Lat for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 52(4): 545-549.
168. Stalheim OHV, Hubbert WT, Boothe AD, Zimmerman WJ, Hughes DE, Barnett D, Rilery JL and Foley J.1980.Experimental toxoplasmosis in calves and pregnant cows.*Am. J. Vet. Res.*, 41. 10-13.
169. Stelzer S, Basso W, Benavides J, Ortega-Mora LM, Maksimov P, Gethmann J, Conraths FJ and Schares G. 2019. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: Risk factors and economic impact. *Food Waterborne Parasitol*. 12 (e00037) : 1-32.
170. Sun WW, Meng QF, Cong W, Shan XF, Wang CF and Qian AD. 2015. Herd-level prevalence and associated risk factors for *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Chlamydia abortus* and bovine viral diarrhoea virus in commercial dairy and beef cattle in eastern, northern and northeastern China. *Parasitol Res*. 114(11):4211-8.
171. Tassi P. 2007.*Toxoplasma gondii* infection in horses. A review. *Parassitologia*, 49:7-15.
172. Tenter AM. 2009. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 104(2): 364-369.
173. Tenter AM, Heckeroth AR and Weiss LM. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 30: 1217-1258.

174. Thrusfield M. 2007. Veterinary Epidemiology. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford, Ames, Iowa.
175. Tonouhewa ABN, Akpo A, Adoligbe C, Hounmanou YG, Assogba MN, Youssao I, Yessinou E and Farougou S. 2017. *Toxoplasma gondii* infection in meat animals from Africa: Systematic review and meta-analysis of sera-epidemiological studies. *Vet. World*. 10 (10): 194-208.
176. Towbin H, Staehelin T and Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*; 76:4350-4354.
177. Tsutsui VS, Freire RL, Garcia JL, Gennari SM, Vieira DP, Marana ERM, Prudêncio LB and Navarro IT. 2007. Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 59 (1) : 30-34.
178. Vermeil C and Maurin J. 1953. Toxoplasmose et virus chorio-méningitique chez le caméléon (*Chamoeleo vulgaris* D.). Mémoire. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 28 : n° 5-6, 333-338.
179. Vesco G, Buffolano W, La Chiusa S, Mancuso G, Caracappa S and Chianca A. 2007. *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. *Vet. Parasitol.* 146, 3-8.
180. Villavedra M, Rampoldi C, Carol H, Baz A, Battistoni JJ and Nieto A. 2001. Identification of circulating antigens, including an immunoglobulin binding protein, from *Toxoplasma gondii* tissue cyst and tachyzoites in murine toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 31, 21-28.
181. Villegas EN, Augustine SA, Villegas LF, Ware MW, See MJ, Lindquist HD, Schaefer FW and Dubey JP. 2010. Using quantitative reverse transcriptase PCR and cell culture plaque assays to determine resistance of *Toxoplasma gondii* oocysts to chemical sanitizers. *J. Microbiol. Methods*, 81(3), 219-225.
182. Wallace GD. 1971. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the feces on naturally infected cats. *J. Infect. Dis.* 124:227-228.
183. Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C and Peyron F. 2004. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 113 : 1567-1572.
184. Wang JL, Zhou DH, Chen J, Liu GX, Pu WB, Liu TY, Qin SY, Yin MY and Zhu XQ. 2015. The prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in Changji Hui autonomous prefecture, Xinjiang, Northwestern China. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 24(3): 298-302.
185. Xing H, Xu L, Song X, Li X and Yan R. 2018 Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* in horses in Xinjiang, Northwestern China. *J. Equine Vet. Sci.* 60 (1) : 11-15.

186. Yera H, Paris L, Bastien P and Candolfi E. 2015. Diagnostic biologique de la toxoplasmose congénitale. *Revue francophone des laboratoires*. 470 : 65-72.
187. Yu J, Xia Z, Liu Q, Liu J, Ding J and 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.
188. Zhang XX, Ren WX, Hou G, Liu Q, Yu TQ, Zhao Q and Ni HB. 2018. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in horses in Jilin Province and Inner Mongolia Autonomous Region, northern China. *Acta. Tropica*. 187: 119–123.
189. Zuber PL, Jacquier P, Hohlfield P and Walker AM. 1995. *Toxoplasma* infection among pregnant women in Switzerland: a cross-sectional evaluation of regional and age-specific lifetime average annual incidence. *Am. J. Epidemiol.* 1; 141(7):659-66.

Annexes



Photo 4: Prise de sang à partir de la veine jugulaire chez une jument alezane (à gauche) et un poney pie (à droite)



Photo 5: Holder et aiguilles doubles à prélèvement vacutainer



Photo 6 : Tubes secs vacutainer



Photo 7 : Obtention du sang après prélèvement



Photo 5:Centrifugation des prélèvements

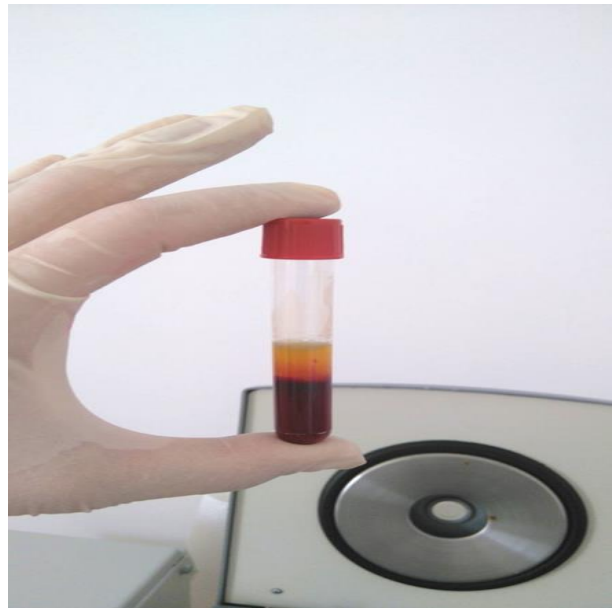


Photo 6:Obtention de sérum après centrifugation



Photo 7 : Tubes Eppendorf pour sérums.



Photo 8 : Sérums prêts à être stockés.

Tableau 1 : Fiche de renseignement pour chaque cheval prélevé.

	Réponses
Date	
Code wilaya	
Commune	
Habitat	
Nombre de chevaux sur place	
Nom cheval	
Code cheval	
Race	
Robe	
Sexe	
Age	
Discipline	
Alimentation	
Type d'abreuvement	
Présence d'autres animaux	
Etat de santé	
Statut vaccinal	



Photo 9 : kit ID Screen Toxoplasmosis Indirect Multi-species

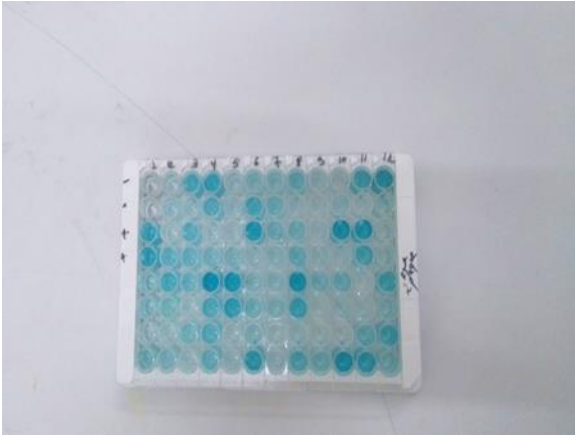


Photo 10 : Plaque Avant la distribution de solution d'arrêt



Photo 11: Résultat final après distribution de la solution d'arrêt



Photo 8 : lecture des densités optique à l'aide du lecteur Biotek modèle EL 800.