

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الحراش

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – EL HARRACH

THESE

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

En Sciences Vétérinaires

THEME :

ETUDE SUR LA SARCOSPORIDIOSE BOVINE AU NIVEAU DES ABATTOIRS DU NORD DE L'ALGERIE

Présenté par : TAIBI-MEKSOUD Messaouda

Membre du jury :

Président	: KHELEF Dj.	Professeur ENSV
Directrice de Thèse	: AISSI M.	Professeur ENSV
Examineur 1	: AGGAD H.	Professeur ISV Tiaret
Examinatrice 2	: BOUCHENE Z.	Professeur CHU Béni Messous
Examinatrice 3	: GHALMI F.	Maitre de conférences "A" ENSV
Examineur 4	: TRIKI YAMANI R.R	Professeur ISV Blida
Membre Invité	: HARHOURA Kh.	Maitre de conférences "A" ENSV

Année universitaire : 2015 / 2016

REMERCIEMENTS

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements au Professeur **AISSI Miriem** de l'E.N.S.V-Alger, pour m'avoir accompagné et aidé dans la réalisation de ce travail, ainsi que pour sa confiance, sa disponibilité et son dévouement indéfectible qui n'a aucun égal.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent à Monsieur **HARHOURA Kh.** maître de conférences "A" à l'E.N.S.V-Alger, pour m'avoir soutenu durant toute cette étude, pour sa disponibilité, son aide précieuse, ses conseils et orientations.*

*A Mme **DRIB-ZENIA S.** mes sincères remerciements pour son aide pour l'analyse des données qui a permis à l'aboutissement de ce travail.*

*Je tiens à adresser tous mes remerciements au Professeur **KHELEF Dj.** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider mon jury.*

Je tiens à remercier tous les membres de mon Jury de thèse pour l'honneur qu'ils me font en examinant mon travail :

Dr AGGAD H.	Professeur ISV Tiaret
Dr BOUCHENE Z.	Professeur CHU Béni Messous
Dr TRIKI YAMANI R.	Professeur ISV Blida
Dr GHALMI F.	Maître de conférences "A" ENSV

*Je tiens également à exprimer mes remerciements les plus profonds aux Professeurs **BABA-AHMED** et **ABDELLALI**, chefs de service du laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique du C.H.U. de Bab El Oued, et de Nefissa Hamoud ex Parnet Hussein Dey pour avoir bien voulu m'accueillir dans leurs services et a rendu la réalisation de ce travail possible*

Sincères remerciements.

*A Mr **CAPPELIER JM.** Maître de conférences à ONIRIS pour avoir accepté de me recevoir au sein de l'URM SECALIM à Nantes France et de m'avoir permis la finalisation de mon travail et Mr **ROSSERO A.** ingénieur d'étude à ONIRIS, pour ses conseils techniques avisés et son aide*

*Sans oublier Mr **KADDOUR R.** du Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie-Pathologique et Mr **SAADI .A.** du laboratoire de Parasitologie et Mycologie de l'ENSV pour leur aide et disponibilité.*

Respectueux remerciements à tous les confrères des abattoirs d'El-Harrach, Ruisseau, Tipaza, Annaba et Sidi Bel Abbes pour m'avoir facilité la réalisation des prélèvements de mes échantillons.

*Mes sincères remerciements vont à la **Directrice générale de l'INMV** et les collègues des laboratoires vétérinaire Régionaux pour leur aide.*

Sans oublier tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de mon travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A la mémoire de mon père, qui aurait tant aimé être présent
et assister à ce jour.*

*A ma mère et ma sœur qui combattent tous les jours
contre la maladie.*

*Sans oublier mon mari Abdelhakim et mes filles
Sabrina, Ryma et Lilia,
pour leur amour, dévouement et soutien de tous les jours
et à tous les miens.*

A tous mes amis (es).

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Principales espèces de sarcosporidies parasites des animaux domestiques (Mason, 1910 (cité par Kirmse et Mohanbabu, 1986 ; Bussiéras et Chermette, 1992 ; Manal et al., 2006)).	p.05
Tableau 2 :	Parois des 03 espèces de sarcocystes chez les bovins, vues au microscope électronique (More et al., 2010 ; Jehle et al., 2009)	p.14
Tableau 03 :	Caractères structuraux des sarcocystes trouvés chez les bovins (Dubey et al., 1989a ; Dubey et al., 1989b).	p.15
Tableau 04 :	Les caractères généraux des oocystes et des sporocystes (Taylor et al., 2007 ; Perrotin et Graber, 1977 ; Saito et al., 1999 ; Pena et al., 2001).	p.18
Tableau 05 :	Prévalence dans diverses régions du monde de l'infection par <i>Sarcocystis</i> spp. Chez des bovins et autres espèces de ruminants.	p.22-25
Tableau 06 :	Identification et caractérisation des dangers biologiques d'origine parasitaires transmis à l'homme par la consommation des viandes bovines (Fosse et al , 2006).	p.28
Tableau 07 :	Dangers biologiques d'origine parasitaires avérés transmis à l'homme par la consommation des viandes de porc (Fosse et al., 2007).	p.29
Tableau 08 :	Caractéristique de la sarcosporidiose humaine en tant qu'hôte définitif et hôte intermédiaire (Fayer et al., 2004).	p.35
Tableau 09 :	Les différentes techniques du diagnostic morphologique de la sarcosporidiose bovine (Gu��neguan., 2009).	p.43
Tableau 10 :	Répartition des bovins par abattoirs	p.55
Tableau 11:	Localisation des amorces et taille des amplicons obtenus, (Chiesa et al., 2011).	p.63
Tableau 12 :	Résultats de la prévalence (%) de <i>Sarcocystis</i> spp par lieu d'abattage avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5 % « valeur de P ».	p.70
Tableau 13 :	Résultats de la prévalence (%) de <i>Sarcocystis</i> spp par la technique de digestion enzymatique avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5 % « valeur de P » par le test de chi-deux (X^2) et comparaison des facteurs de risque	p.74
Tableau 14 :	Intensité du parasitisme des échantillons de diaphragmes et d'œsophages par des kystes à paroi mince et à paroi épaisse	p.78

Tableau 15 :	Résultats de la prévalence (%) de <i>Sarcocystis</i> spp par la technique d'histologie avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5 % « valeur de P » par le test de chi-deux (χ^2) et comparaison des facteurs de risque.	p.83
Tableau 16:	Résultats de la PCR pour <i>Sarcocystis</i> spp.	p.84
Tableau 17:	Résultats de la PCR Multiplex pour <i>Sarcocystis cruzi</i> , <i>hominis</i> et co-infestations.	p.85
Tableau 18 :	Résultats de la PCR pour <i>Sarcocystis</i> spp et PCR Multiplex pour les espèces de sarcocystis.	P86
Tableau 19 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp. (18 extraits d'ADN) (PCR 1 du 02/10/2015).	p.87
Tableau 20 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .2 du 09/10/2015).	p. 88
Tableau 21 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .3du 09/10/2015).	p. 89
Tableau 22 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (28 extraits d'ADN) (PCR 1 grand gel .1 du 09/10/2015).	p.90
Tableau 23 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (29 extraits d'ADN) (PCR 1 grand gel .2 du 09/10/2015).	p.91
Tableau 24 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (28 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .1 du 12 / 10 /2015).	p.92
Tableau 25 :	Résultats PCR <i>Sarcocystis</i> spp (14 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .2 du 12 / 10 /2015).	p.93
Tableau 26 :	Résultats PCR multiplex (14 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .3 du 12 / 10 /2015).	p.94
Tableau 27 :	Résultats PCR <i>sarcocystis</i> spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .4 du 12 / 10 /2015).	p.95
Tableau 28 :	Résultats PCR <i>sarcocystis</i> spp (13 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .1 du 13/10/2015).	p.96
Tableau 29 :	Résultats PCR multiplex (18 extraits d'ADN) (PCR 1 du 02/10/2015).	p.97
Tableau 30 :	Résultats PCR <i>multiplex</i> (24 extraits d'ADN) (PCR 2 du 06/10/2015).	p.98
Tableau 31 :	Résultats PCR multiplex (24 extraits d'ADN) (PCR 3 gel .1 du 08/10/2015).	p.99
Tableau 32:	Résultats PCR multiplex (24 extraits d'ADN) (PCR 3 gel .2 du 08/10/2015).	p.100

Tableau 33 :	Résultats PCR multiplex (28 extraits d'ADN) (PCR 4 grand gel .1 du 08/10/2015).	p.101
Tableau 34:	Résultats PCR multiplex (13 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .2 du 08/10/2015).	p.102
Tableau 35 :	Résultats PCR multiplex (13 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .3 du 08/10/2015).	p.103
Tableau 36 :	Résultats PCR multiplex (18 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .4 du 08/10/2015).	p.104
Tableau 37 :	Résultats PCR multiplex (06 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .5 du 12 / 10 /2015).	p.105
Tableau 38 :	Résultats PCR multiplex (31 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .1 du 13/10/2015).	p.106
Tableau 39 :	Résultats PCR multiplex (14 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .2 du 13/10/2015).	p.107
Tableau 40 :	Résultats PCR multiplex (14 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .3 du 13/10/2015).	p.108
Tableau 41 :	Résultats PCR multiplex (10 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .4 du 13/10/2015).	p.109
Tableau 42 :	Résultats de la prévalence (%) de <i>Sarcocystis</i> spp. par la technique PCR avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5% « valeur de P » par le test de chi-deux (X^2) et comparaison des facteurs de risque.	p.113
Tableau 43 :	Comparaison des prévalences de la Sarcosporidiose par les deux méthodes de diagnostic (digestion enzymatique et histologie) chez les bovins étudiés.	P114
Tableau 44:	Comparaison entre la sensibilité et la spécificité de la technique de la digestion enzymatique et celles de la technique histologique.	p.116
Tableau 45 :	Comparaison des prévalences de la Sarcosporidiose par les deux méthodes de diagnostic (digestion enzymatique et PCR) chez les bovins étudiés.	p.116
Tableau 46:	Comparaison entre la sensibilité et la spécificité de la technique de la digestionenzymatique et celles de la PCR.	p.118
Tableau 47 :	Principaux critères de diagnose différentielle entre les kystes de <i>Sarcocystis</i> sp , <i>Neospora caninum</i> et <i>Toxoplasma gondii</i> Chermette et Marquer, 2000, Boireau et al., 2002 ; Hesse, 2002 ; Dubeyet al.,2002 ; Guinot, 2005).	p.126

Liste des figures

Figure 01 :	Espèces de <i>Sarcocystis</i> impliquées chez les bovins (D'après Briggs et Foreyt., 1985).	p. 06
Figure 02 :	Schéma du cycle évolutif des espèces de <i>Sarcocystis</i> infectant les bovins (Cappelier et Honore, 2012).	p. 07
Figure 03 :	Schéma des étapes du cycle chez l'hôte intermédiaire (Flandrin et Leonard, 2014).	p.09
Figure 04 :	Schéma des étapes du cycle chez l'hôte définitif (Flandrin et Leonard, 2014).	p.10
Figure 05 :	Schéma modifié d'un kyste de <i>Sarcocystis</i> en coupe transversale (Euzéby, 1987).	p.11
Figure 06:	Kyste à bradyzoïtes de sarcosporidie mis en évidence par observation microscopique de la musculature d'un hôte intermédiaire (Boireau et al., 2002 , cliché du service de parasitologie de l'E.N.V.A.).	p.11
Figure 07	Schéma modifié d'un bradyzoïte (à gauche) et d'un métrocyte de <i>Sarcocystis</i> (à droite) au microscope électronique (Mehlhorn, 1975).	p.12
Figure 08:	A gauche un kyste à paroi fine de <i>S. cruzi</i> , et à droite un kyste à paroi épaisse de <i>S. hirsuta</i> ou <i>hominis</i> . Coloration hémalun-éosine (Gr.x 600) (Ghisleni et al., 2006).	p.13
Figure 09 :	(A) Ultra-structure d'un kyste de <i>S. hominis</i> avec la particularité des cytophanères (vP), de la paroi du kyste (scw) avec une membrane granuleuse (g) enfermant des métrocytes (m) et des bradyzoïtes (b). (B) paroi épaisse avec villosités saillantes (v) les métrocytes (m), et les bradyzoïtes (b) disposés en compartiments délimités par des septa (S)(Wouda et al., 2006).	p.13
Figure 10 :	Observation macroscopique de kystes sarcosporidiens dans un muscle de l'épaule d'un bovin (Bertin, 2013).	p.16
Figure 11 :	Oocystes sporulés (D, E) et sporocystes (F) de <i>Sarcocystis cruzi</i> dans des fèces de chien (Aissi et al., 2013).	p.17
Figure 12 :	Carcasse présentant des lésions de myosite éosinophilique source G. Bénard ENVT (Flandrin, 2014).	p.38
Figure 13 a :	Lésions diffuses et étendues de myosite éosinophilique, observées dans un muscle de bovin (Cappelier et Honore, 2012).	p.39
Figure 13 b :	Lésions multifocales disséminées de myosite éosinophilique, avec centre suppuré, sur une section de muscle de bovin (Wouda et al., 2006).	p.39

Figure 14 :	Lésions microscopiques de granulome éosinophilique dans un muscle de bovin. (Wouda et al., 2006).	p.40
Figure 15 :	Myosite éosinophilique, vue au microscope optique (Gr. x200) (source : G. Bénard, ENVT)(Léonard, 2014).	p.41
Figure 16 :	Carte de la répartition des 05 abattoirs des wilayas du nord de l'Algérie et origine des animaux pour chaque abattoir.	p.54
Figure 17 :	Courbe de réglage des cycles du thermocycleur pour l'amplification de l'ADN de nos échantillons	p.63
Figure 18 :	Exemple de gel d'électrophorèse (A) et sa grille de lecture (B) (Chiesa et al., 2011).	p.65
Figure 19 :	Kystes macroscopiques (géants) fusiformes au niveau des diaphragmes bovins(A), (B) Photos Taibi-Meksoud M., 2013, laboratoire parasitologie et mycologie ENSV et abattoir d'El Harrach).	p.67
Figure 20 :	Bradyzoïtes en forme de banane observés au niveau des kystes isolés des diaphragmes (A : Gr x 40, B : Gr x 100) (Photos Taibi-Meksoud M., 2013, laboratoire parasitologie et mycologie ENSV et abattoir d'El Harrach).	p.68
Figure 21 :	Prévalence de la sarcosporidiose bovine par la technique de digestion enzymatique	p.69
Figure 22 :	Bradyzoïtes de <i>Sarcocystis</i> observés dans les échantillons de diaphragme et d'œsophage (Coloration M.G.G, Gr x1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015).	p.69
Figure 23:	Résultats des l'effet sexe sur la prévalence bovine de <i>Sarcocystis</i> spp.	p.71
Figure 24 :	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. chez les bovins par tranches d'âges.	p.71
Figure 25 :	Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence bovine de <i>Sarcocystis</i> spp.	p.72
Figure 26 :	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp chez les bovins par régions.	p.72
Figure 27 :	Répartition des bovins infectés par <i>Sarcocystis</i> spp par wilaya.	p.73
Figure28:	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp chez les bovins par saisons.	p.73
Figure 29 :	Coupe transversale de 2 kystes de <i>Sarcocystis</i> à paroi mince observé au niveau d'un diaphragme (H&E, A : Gr x400 ; B : Grx1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015	p.75
Figure 30:	Kystes de <i>Sarcocystis</i> à paroi épaisse en coupe longitudinale (A) et transversale (B) observés au niveau des diaphragmes (H&E, Gr x1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015).	p.75

Figure 31 :	Kystes de <i>Sarcocystis</i> à paroi épaisse en coupe transversale (A) observation des cytophanères (Cp) en forme de doigts spécifique de l'espèce zoonotique <i>S. hominis</i> (B) observés au niveau des diaphragmes (H&E, Gr x1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015).	p.76
Figure 32:	Prévalence de kystes sarcosporidiens chez les bovins testés par la technique histologique	p.76
Figure 33:	Prévalence des kystes à paroi mince et épaisse et des doubles infestations chez les bovins parasités.	p.77
Figure 34:	Nombre de kystes à paroi mince et de kystes à paroi épaisse dans les échantillons des bovins parasités	p.78
Figure 35 :	Prévalence des kystes de <i>Sarcocystis cruzi</i> chez les mâles et les femelles infestés.	p.79
Figure 36 :	Prévalence des kystes de <i>S. cruzi</i> chez les bovins parasités selon les tranches d'âges	p.79
Figure 37 :	Résultats de l'effet sexe sur la prévalence bovine de <i>Sarcocystis spp.</i>	p.80
Figure 38 :	Prévalence de <i>Sarcocystis spp</i> chez les bovins infectés par tranches d'âges	P.81
Figure 39 :	Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence bovine de <i>Sarcocystis spp</i>	p.81
Figure 40 :	Prévalence de <i>Sarcocystis spp</i> chez les bovins par régions.	p.82
Figure 41 :	Répartition des bovins infectés par <i>Sarcocystis spp</i> par wilaya.	p.82
Figure 42 :	Prévalence de <i>Sarcocystis spp</i> chez les bovins par saisons.	p.83
Figure 43 :	Clichés des bandes obtenues sur le gel électrophorèse, (A) pour <i>sarcocystis spp</i> , (B) pour les espèces de <i>sarcocystis</i> : <i>S.cruzi</i> , <i>S.hominis</i> (ONIRIS Nantes, Taibi-Meksoud.M., 2015).	p.86
Figure 44 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis spp</i> (PCR 1 du 02/10/2015)(Taibi-Meksoud M., 2015).	p.87
Figure 45 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis spp</i> (PCR 1 gel .2 du 09/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.88
Figure 46 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis spp</i> (PCR 1 gel .3 du 09/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.89
Figure 47 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis spp</i> (PCR 1 grand gel. 1 du 09/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.90
Figure 48 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis spp</i> (PCR 1 grand gel .2 du 09/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.91

Figure 49 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp (PCR 1 gel 1 du 12 / 10 /2015) (Taibi-Meksoud M., 2015) .	p.92
Figure 50 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp (PCR 1 gel.2 du 12 / 10 /2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.93
Figure 51 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp (PCR 1 gel 3 du 12 / 10 /2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.94
Figure 52 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp (PCR 1 gel. 4 du 12 / 10 /2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.95
Figure 53 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp (PCR 1 gel .1 du 13/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.96
Figure 54 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 du 02/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.97
Figure 55 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR <i>multiplex</i> (PCR 2 du 06/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.98
Figure 56 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 3 gel .1 du 08/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.99
Figure 57 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 3 gel .2 du 08/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.100
Figure 58 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 4 grand gel .1 du 08/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.101
Figure 59 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 4 gel .2 du 08/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.102
Figure 60 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 4 gel .3 du 08/10/2015)(Taibi-Meksoud M., 2015).	p.103
Figure 61 :	Cliché du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 4 gel .4 du 08/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.104
Figure 62 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 gel .5 du 12 / 10 /2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.105
Figure 63 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 gel .1 du 13/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.106
Figure 64:	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 gel .2 du 13/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.107
Figure 65:	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 gel .3 du 13/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.108

Figure 66 :	Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (PCR 1 gel .4 du 13/10/2015) (Taibi-Meksoud M., 2015).	p.109
Figure 67 :	Résultats de l'effet sexe sur la prévalence bovine de <i>Sarcocystis</i> spp.	p.110
Figure 68 :	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. chez les bovins par tranches d'âges.	p.111
Figure 69 :	Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.	p.111
Figure 70 :	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. chez les bovins par régions.	p.112
Figure 71:	Répartition des bovins infectés par <i>Sarcocystis</i> spp. par wilaya.	p.112
Figure 72 :	Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. chez les bovins par saison.	p.113
Figure 73 :	Comparaison des prévalences obtenues par les deux méthodes de diagnostic (Digestion enzymatique et analyse histologique).	p.114
Figure 74 :	Comparaison des prévalences obtenues par les deux méthodes de diagnostic (Digestion enzymatique et PCR).	p.117

Liste des annexes

ANNEXE 01	Tableau 01. Matériels utilisés à l'abattoir.	p.158
	Tableau 02. Matériels utilisés en digestion enzymatique	p.158
ANNEXE 02	Tableau 03. Matériels utilisés en histologie	p.159
	Tableau 04. Matériels utilisés en PCR	p.159
ANNEXE 03	Dénombrement des Carcasses (A) ; Diaphragme (B) ; Œsophage (C) ; Mise en sac du diaphragme et l'œsophage (D) . (Photos Taibi-Meksoud .M, abattoir d'El Harrach, 2015).	p.160
ANNEXE 04	Protocole de la technique de digestion enzymatique.	p.161
ANNEXE 05	Figure 02 : Etapes de la digestion enzymatique (Photos Taibi-Meksoud .M, laboratoire de Parasitologie Mycologie, E.N.S.V- Alger, 2015).	p.162
ANNEXE 06	Figure 03 : Etapes de la technique histologique (Photos Taibi-Meksoud .M, laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique du C.H.U Bab El Oued, Hussein Dey et ENSV, 2015).	p.163
ANNEXE 07	Figure 04: Matériels utilisés pour la PCR (Photos Taibi-Meksoud .M, Ecole Vétérinaire ONIRIS Nantes , URM Secalim, 2015).	p.164
ANNEXE 08	Protocole d'extraction de l'ADN.	p.165-167
ANNEXE 09	Protocole de la PCR <i>Sarcocystis</i> spp.	p.168-169
ANNEXE 10	Protocole de la PCR multiplex <i>Sarcocystis</i> spp.	p.170-171
ANNEXE 11	Préparation du gel et dépôt des échantillons.	p.172-173

ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AGID	: Agar Gel Immunodiffusion
C.H.U	: Centre Hospitalo- Universitaire
C°	: Degré Celsius
CE	: Communauté européenne
DE	: Digestion Enzymatique
E.N.S.V	: Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire
EFSA	: European Food Safety Authority
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbant Assay
FN	: Faux négatif
FP	: Faux positif
H I	: Hôte Intermédiaire
Hcl	: Acide Chlorhydrique
HD	: Hôte Définitif
HE	: Hématoxyline et Éosine.
IgG	: Immunoglobuline G
IgM	: Immunoglobuline M
INSP	: Institut National de la santé publique
J	: Jours
M.G.G	: May-Grünwald -Giemsa
ME	: Myosite Eosinophilique
Mm	: Millimètre
MP	: Microscopique photonique
Na ₂ HPO ₄ ;	: Hydrogenophosphate dissodique dihydraté
NaCl	: Chlorure de sodium
NaH ₂ PO ₄ ;	: Dihydrogenophosphate de sodium Dihydraté
Ng	: Nano gramme
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PCR -RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
PCR-RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
pH	: Potentiel Hydrogène
Rpm	: Révolutions per minute.
S.	: Sarcocystis
spp.	: Espèces
VN	: Vrai négatif
VP	: Vrai positif
VPN	: Valeur prédictive négative
VPP	: Valeur prédictive positive

SOMMAIRE

	Page
Liste des Tableaux.....	I-III
Liste des Figures.....	IV-XIII
Liste des Annexes.....	IX
Liste des Abréviations.....	X
Sommaire	XI-XIII
INTRODUCTION	1-2
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. DEFINITION	3
II. HISTORIQUE	3
III. ETUDE DE L'AGENT CAUSAL	
III.1. Systématique.....	3-5
III.2. Cycle biologique	6-7
III.2.1. Chez l'hôte intermédiaire (la proie).....	8-9
III.2.2. Chez l'hôte définitif (prédateur)	10
III.3. Morphologie	
III.3.1. Chez l'hôte intermédiaire.....	10-16
III.3.2. Chez l'hôte définitif.....	17
III.3.2. 1. Les ookystes	17
III.3.2. 2. Les sporocystes.....	17-18
IV. EPIDEMIOLOGIE	
IV.1 Espèces affectées.....	18-19
IV. 2. Sources et modes de transmission	19-20
IV.3. Facteurs favorisants	20-21
IV.4. Prévalence.....	21
IV.4.1. Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	21-25
IV.4.2. Prévalence par espèce de <i>Sarcocystis</i>	26
IV.4.3. Prévalence en sante publique	26-28
V- TABLEAU ANATOMO-CLINIQUE	
V.1. Chez l'hôte intermédiaire (bovin).....	29
V.1.1. Sarcosporidiose Aigue.....	29-30
V.1.2. Sarcosporidiose Chronique	31-32
V.2. Chez les hôtes définitifs (Chien –Chat-Homme).....	32
V.2.1. Chez les animaux	32-33
V.2.2. Chez l'homme	33-35
VI- PATHOGENIE ET IMMUNOLOGIE	
VI.1. Pathogénie (Euzéby,1998)	35-36
VI.2. Immunologie	36
VI.2.1. Chez les hôtes intermédiaires.....	36
VI.2.2. Chez les hôtes définitifs.....	36

VII. TABLEAU LESIONNEL.....	37-42
VIII.DIAGNOSTIC	
VIII.1. Chez l'hôte intermédiaire.....	42
VIII.1.1 Diagnostic morphologique	43-45
VIII.1.2. Diagnostic biologique	45-46
VIII.1.3.Diagnostic moléculaire	46-48
VIII.2. Chez les hôtes définitifs.....	48-49
VIII.2.1 Coproscopie.....	49
VIII.2.2. Histologie.....	49
VIII.2.3. PCR.....	49
IX. PROPHYLAXIE	
IX.1.Chez l'hôte intermédiaire.....	50
IX.2.Chez l'hôte définitif.....	50-51
X. IMPORTANCE ECONOMIQUE	52-53

PARTIE PRATIQUE

I. OBJECTIF DE L'ETUDE.....	54
II. MATERIEL ET METHODES.....	54
II.1. Région d'étude.....	54
II.2. Matériel biologique.....	55
II.3. Méthodes d'analyses.....	55
II.3.1. Matériels utilisés.....	55
II.3.2. Méthode de prélèvements (voir annexe 03).....	55
II.3.3. Préparation des échantillons au laboratoire.....	56
II.4. Techniques d'analyse des échantillons.....	56
II.4.1. Digestion enzymatique.....	56
II.4.1.1.Etapes de la technique de digestion enzymatique (voir annexe 04-05).....	56
II.4.1.2. Préparation des frottis.....	57
II.4.1.3. Coloration des lames au May Grünwald Giemsa (M.G.G.).....	57
II.4.1.4. Examen des lames.....	58
II.4.2.Technique histologique.....	58
II.4.2.1. Etapes de la technique histologique (voir annexe 06).....	58-61
II.4.2.2. Examen des lames.....	61
II.4.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)	62-65
II.5. Interprétation statistique.....	65-66
III. RESULTATS	
III.1. Recherche de <i>Sarcocystis</i> par examen macroscopique	67
III.2. Recherche de <i>Sarcocystis</i> par examen microscopique	68
III.2.1. Recherche des bradyzoïtes de <i>Sarcocystis</i> par la digestion enzymatique.....	68
III.2.1.1. Prévalence	68
III.2.1.1.1. Prévalence globale de <i>Sarcocystis</i> spp.	68
III.2.1.1.2. Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. par abattoir.....	69-70
III.2.1.2. Analyse de l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. obtenue par la technique de digestion enzymatique	70

III.2.1.2.1. Influence de l'effet sexe sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	70-71
III.2.1.2.2. Influence de l'effet âge sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	71
III.2.1.2.3. Influence de l'effet race (robe) sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	72
III.2.1.2.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	72-73
III.2.1.2.5 Influence de l'effet saison sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	73-74
III.2.2. Recherche des kystes de <i>Sarcocystis</i> par la technique histologique.....	75-76
III.2.2.1 Prévalence globale des kystes microscopiques de <i>Sarcocystis</i> spp.....	76
III.2.2.2. Prévalence des kystes sarcosporidiens selon le type de paroi.....	77
III.2.2.3. Densité des kystes de <i>Sarcocystis</i> spp. chez les bovins parasités.....	77-78
III.2.2.4. Etude des facteurs de risque sur la prévalence des kystes de <i>Sarcocystis cruzi</i>	79
III.2.2.4.1. Prévalence des kystes de <i>Sarcocystis cruzi</i> selon le sexe.....	79
III.2.2.4.2. Prévalence des kystes de <i>Sarcocystis cruzi</i> selon l'âge	79
III.2.2.5. Analyse de l'influence des facteurs de risque influant sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. obtenue par la technique histologique	80
III.2.2.5.1. Influence de l'effet sexe sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	80
III.2.2.5.2. Influence de l'effet âge sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	80-81
III.2.2.5.3. Influence de l'effet race (robe) sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp...	81
III.2.2.5.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	81-82
III.2.2.5.5. Influence de l'effet saison sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	82-83
III.3. PCR	
III.3.1. Prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	84
III.3.2. Prévalence des espèces de <i>Sarcocystis</i>	84-85
III.3.3. Analyse de l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp. obtenue par la technique PCR	110
III.3.3.1 Influence du sexe sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	110
III.3.3.2. Influence de l'âge sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	110-111
III.3.3.3. Influence de la race (robe) sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	111
III.3.3.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	111-112
III.3.3.5. Influence de la saison sur la prévalence de <i>Sarcocystis</i> spp.....	112-113
III.4. Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les méthodes de diagnostic	
III.4.1. Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre la digestion enzymatique et l'histologie.....	114-116
III.4.2. Comparaison de la sensibilité entre la digestion enzymatique.....	116-118
IV. DISCUSSION.....	119-136
V. CONCLUSION.....	137-138
VI. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	139-140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	141-157
ANNEXES.....	158-173
RESUMES	

Introduction

INTRODUCTION

Les bovins sont toujours exposés à des affections multiples parmi celles-ci la sarcosporidiose qui porte atteinte à la fois, à la santé animale ainsi qu'à la qualité de la viande. La sarcosporidiose est une affection parasitaire due à un protozoaire du genre *Sarcocystis* infestant l'homme et de nombreuses espèces animales. Ces coccidies de type kystogène ont un cycle dixène dont la plupart impliquent des carnivores ou des omnivores comme hôtes définitifs (multiplication sexuée intestinale) et les herbivores comme hôtes intermédiaires (multiplication asexuée) (Euzéby, 1997). Elle est caractérisée par la formation de kystes musculaires chez les bovins et d'une coccidiose intestinale chez certains carnivores comme chez l'homme. C'est lors de l'ingestion de viande crue ou insuffisamment cuite contenant des kystes que l'hôte définitif se contamine. Le bovin se contamine en ingérant du fourrage ou de l'eau contaminée par les sporocystes éliminés dans les fèces des chiens, chats ou de l'homme (Euzéby, 1997).

Cette parasitose est commune chez les ruminants, le bovin est un hôte intermédiaire pour 4 espèces: *Sarcocystis cruzi* (syn. *Sarcocystis bovi-canis*), *Sarcocystis hirsuta* (syn. *Sarcocystis bovi-félis*), *Sarcocystis hominis* (syn. *Sarcocystis bovi-hominis*) qui impliquent les canidés, les félidés et les primates respectivement comme hôtes définitifs (Dubey et al., 1989b; Heydorn et al., 1975; Fayer, 2004; Flandrin, 2014) et récemment *Sarcocystis sinensis* dont l'hôte définitif reste jusqu'à présent mal connu (Moré et al., 2014). De plus, cette espèce reste peu étudiée car elle a souvent été confondue avec *S. hominis* (Chen et al., 2011; Moré et al., 2013). *S. cruzi* semble être l'espèce la plus pathogène pour les bovins. Parmi les nombreuses espèces de *Sarcocystis*, deux présentent un intérêt particulier du point de vue zoonotique. Il s'agit de *Sarcocystis hominis* (*S. bovi-hominis*) de *Sarcocystis Sui-hominis* dont l'hôte intermédiaire est le porc. (Euzéby, 1997).

La sarcosporidiose bovine est le plus souvent asymptomatique. Cependant, chez les bovins, on peut observer une perte de poids, une anémie, des avortements alors que les carcasses bovines sont presque toujours porteuses du parasite. La prévalence de ce parasite avoisine les 100% chez les bovins et ce, de façon cosmopolite (Vercruysse et al., 1989; Huong, 1999; Ghisleni et al., 2006 ;Bucca et al., 2011).

Par ailleurs, cette parasitose peut être zoonotique d'une part et d'autre part, et peut être un motif de saisie partielle ou totale de la carcasse en cas de présence de lésions de myosites éosinophilique qui est une inflammation musculaire généralisée, caractérisée par l'apparition de taches verdâtres en plaques diffuses ou sous forme de multiples stries de 2 à 10 mm de long dans les muscles.

Cette myosite n'est détectée qu'au moment de l'inspection *post mortem* à l'abattoir ou dans les salles de découpe. Les raisons pour lesquelles cette réaction inflammatoire survient chez certains bovins restent non élucidées. Les dernières études font état d'une prédisposition raciale, ainsi que d'une stimulation accrue du système immunitaire chez les animaux atteints. *Sarcocystis hominis*, qui a l'homme pour hôte définitif, est l'espèce la plus fréquemment identifiée chez les bovins (Léonard, 2014; Cappelletti et al., 2015).

En Algérie, la prévalence de la sarcosporidiose chez l'espèce bovine n'est pas très bien connue ; toutefois des études ponctuelles réalisées notamment par Nedjari M.T en 2002 sur la sarcosporidiose bovine dans la région d'Alger, révèle une prévalence de 63 % (sur 198 carcasses bovines) et la présence des trois espèces sarcosporidiennes dont la zoonotique (*Sarcocystis hominis*, *S. hirsuta* et *S. cruzii*). Plus tard, l'étude de Harhoura et al., (2010), révèle une prévalence de 100 % sur des carcasses bovines à l'abattoir de Rouiba. En 2013, Aissi M. et al., mettent en évidence une prédominance de l'espèce canine suite à l'infestation expérimentale des hôtes définitifs (chiens, chats, singes). Malgré cela, en Algérie, la sarcosporidiose est sous estimée et n'est pas à recherche obligatoire dans les abattoirs ni même en santé publique pour la sarcosporidiose intestinale chez l'homme (I.N.S.P., 2015)

Le diagnostic de la sarcosporidiose repose sur des méthodes de microscopie pour rechercher les bradyzoïtes en formes en « bananes », les kystes dans les muscles et des méthodes moléculaires pour rechercher l'ADN du parasite ou des méthodes macroscopiques pour rechercher les kystes macroscopiques et/ou les lésions de myosite éosinophilique. Cependant, aucune méthode diagnostique n'est disponible en routine (Flandrin , 2014).

Dans notre présente étude, nous nous sommes intéressées à cette parasitose au niveau de cinq abattoirs du nord de l'Algérie par trois techniques de diagnostic différentes : la digestion enzymatique, l'étude histologique et l'analyse moléculaire par PCR et ayant pour objectifs :

- Déterminer la prévalence de la sarcosporidiose bovine au niveau du nord de l'Algérie.
- Rechercher les types de kystes au niveau des échantillons de muscles des bovins prélevés et identifier les espèces de *Sarcocystis* associés à l'apparition de ces lésions microscopiques par l'étude de leur paroi (mince ou épaisse).
- Identifier les espèces parasitaires impliquées par les techniques moléculaires PCR.
- Déterminer des facteurs de risques liés aux animaux (race, âge, sexe,..) et à l'environnement (saison et origine) pouvant influencer sur la prévalence de *Sarcocystis*.

Synthèse bibliographique

I. DEFINITION

Les sarcosporidioses ou sarcocystoses sont des maladies parasitaires causées par des coccidies kystogènes appartenant au genre *Sarcocystis* (*endorimospora*), dont la reproduction sexuée s'accomplit dans le tractus intestinal de leur hôte définitif et l'évolution se fait sous forme de kystes à bradyzoïtes à localisation musculaire chez leur hôte intermédiaire (**Euzeby, 1998**). Ce sont les parasites les plus répandus dans le bétail et causent des pertes économique considérables (**Jackel et al., 1999**).

II. HISTORIQUE

Les kystes sarcosporidiens ont été observés pour la première fois en 1843 par **Miescher** dans les muscles d'une souris grise. Puis, la dénomination de "Sarcosporidioses" vient de ce que **Bütschli** (1882) avait situé les parasites en cause dans un phylum spécial, celui des *Sarcosporidia*.

La même année, **Lankester** créait le genre *Sarcocystis*, au sein de ce phylum. Depuis que les affinités réelles des *Sarcocystis* sont connues, le phylum *Sarcosporidia* a disparu. Cependant, le terme de "Sarcosporidioses", qui est synonyme de "Sarcocystoses", continue à être utilisé (**Euzeby, 1997**).

En 1865, une nouvelle espèce a été trouvée chez le porc par **Kühn** cité par **Léonard 2014**. Ce n'est qu'en 1967 que les bradyzoïtes ont été étudiés au microscope électronique à transmission et que les organites, qu'ils contenaient, ont été décrits par **Senaud**. La gamétogonie a ensuite été démontrée *in vitro* en 1972 par **Fayer**. Le cycle parasitaire a été décrit la même année par **Rommel (Fayer, 2004)**.

III. ETUDE DE L'AGENT CAUSAL

III.1. Systématique

Les *Sarcocystis* sont des protozoaires appartenant au phylum des Apicomplexa à la classe des Sporozoasida, sous classe des Coccidiasina, ordre des Eucoccidiorida, sous ordre des Eimerionina, famille des Isosporidés, sous famille des Sarcocystidés, genre *Sarcocystis* (**Euzeby, 1987 ; Euzeby, 1998**).

En plus du genre *Sarcocystis*, la famille des sarcocystidae inclue également les genres *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia*, *Frankelia* et *Neospora* (**Taylor et al., 2007**).

Ces coccidies sont apparentées à *Isospora*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora* et *Toxoplasma*. *Sarcocystis* nécessite dans son cycle évolutif à la fois un hôte intermédiaire et définitif.

Le genre *Sarcocystis* compte environ 200 espèces différentes par leur cycle biologique et leur pathogénie (**Odening, 1998**) et il est le plus important de la classe des *Coccidea* (**Fathy et al., 2009**).

Les espèces animales (domestiques et sauvages) hôtes sont toutes aussi nombreuses que les espèces de sarcocystes avec la possibilité pour une même espèce animale d'être hôte de plusieurs espèces de *Sarcocystis* à la fois (**Tableau 01**). A ce jour, on a recensé 86 espèces animales hôtes intermédiaires et hôtes définitifs confondus (**Odening, 1998**). Le protozoaire est rencontré non seulement chez toutes les espèces d'animaux de boucherie hôtes-intermédiaires, mais aussi chez l'Homme. Les espèces pathogènes pour les camelins le seraient également pour l'Homme (**Valinezhad et al., 2008**).

Parmi ces espèces parasites, celles d'origine canine sont toujours plus pathogènes pour les hôtes intermédiaires, et leur prévalence est en général plus élevée que celle des autres sarcosporidies du même hôte (**Kamoun et Tarhouni, 2009**).

Les hôtes définitifs sont dans la majorité des cas des prédateurs (oiseaux, serpents, mammifères...) et les hôtes intermédiaires sont le plus souvent des herbivores ou des omnivores (**Euzeby, 1998**). L'homme est l'hôte définitif de *S. hominis* et *S. suihominis* et les bovins et les porcs sont respectivement les hôtes intermédiaires (**Markus, 1978**).

Dans l'ancienne nomenclature, les parasites qui les déterminent étaient désignés par un binôme ayant pour dénomination spécifique, le nom linnéen de l'hôte intermédiaire et celui de l'hôte définitif : par exemple, *Sarcocystis bovi-hominis*, dont l'hôte intermédiaire est le bovin et l'hôte définitif l'homme ; cependant cette terminologie, qui viole le principe de la loi de priorité régissant les dénominations zoologiques, n'est plus admise par tous les parasitologues (**Euzéby, 1998**).

Tableau 01 : Principales espèces de sarcosporidies parasites des animaux domestiques (**Mason, 1910** (cité par **Kirmse et Mohanbabu, 1986** ; **Bussiéras et Chermette, 1992** ; **Manal et al., 2006**).

H.I.	Espèces	Synonymie	H.D.
Bovin	<i>S. cruzi</i>	<i>S. bovicanis</i>	Chien, coyote, renard
Bovin	<i>S. hirsuta</i>	<i>S. bovivifelis</i>	Chat
Bovin	<i>S. hominis</i>	<i>S. bovihominis</i>	Homme, singe, babouin
	<i>S. sinensis</i>	/	Inconnu
Ovin	<i>S. tenella</i>	<i>S. ovicanis</i>	Chien
	<i>S. arieticanis</i>	/	Chien
	<i>S. mihoensis</i>	/	Chien
	<i>S. gigantea</i>	<i>S. ovifelis</i>	Chat
	<i>S. medusiformis</i>	/	Chat
Chèvre	<i>S. moulei</i>	<i>S. capracanis</i>	Chien
Dromadaire	<i>S. cameli</i>	/	Chien
Buffle d'eau	<i>S. levineiormis</i>	/	Chien
	<i>S. fusiformis</i>		Chat
Porc	<i>S. suishominis</i>	/	Homme
Porc	<i>S. porcifelis</i>	/	Chat
Porc	<i>S. miescheriana</i>	<i>S. suicanis</i>	Chien
Cheval	<i>S. bertrani</i>	<i>S. equicanis</i>	Chien
	<i>S. fayeri</i>		
Lapin	<i>S. cuniculi</i>	/	Chat
	<i>S. leporum</i>	/	Chat
Poulet	<i>S. horvathi</i>		Chien
Homme	<i>S. lindemanni</i>	/	?
Dromadaire	<i>Sarcocystis cameli</i>		?
	<i>Sarcocystis camelicanis</i>		

HI : Hôte intermédiaire, HD : Hôte définitif

III.2. Cycle biologique

Les Sarcocystes ont un cycle dixène obligatoire. Les infections des hôtes définitifs sont appelées coccidioses à *Sarcocystis*, alors que celles des hôtes intermédiaires sont appelées sarcosporidiose stricto sensus (Vounba, 2010).

La relation entre les hôtes est basée sur le type proie-prédateur (Fayer, 2004). Chez les bovins, la sarcosporidiose musculaire est le fait de trois espèces *Sarcocystis cruzi* (ou *S. bovicanis*), *S. hirsuta* (ou *S. bovifelis*) et *S. hominis* (ou *S. bovi-hominis*), pour lesquelles les bovidés (vache, buffle) (Jehle et al., 2009) servent d'hôtes intermédiaires, et dont les hôtes définitifs sont respectivement les canidés (Chien, Coyote, Renard, Loup mais aussi Raton laveur), les félidés (Chat) et les primates (Homme, singe Rhésus et Babouin) (Dubey et al., 1989b ; Desportes-Livage et Datry, 2005) (Figure 01) .

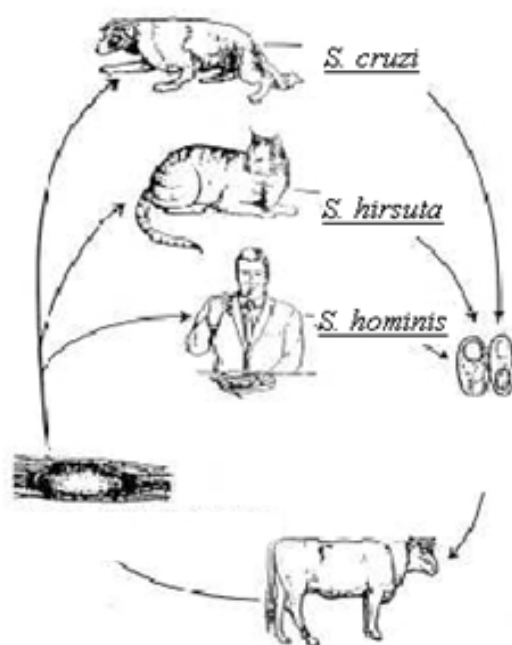


Figure 01 : Espèces de *Sarcocystis* impliquées chez les bovins.
(D'après Briggs et Foreyt., 1985).

Certaines espèces de *Sarcocystis* peuvent avoir comme hôtes intermédiaires le Bovin, mais aussi le Zébu, le Bison ou le Buffle (Fischer, Odening., 1998 ; Yang et al., 2002).

Un même hôte intermédiaire peut être infesté par plusieurs espèces de sarcosporidies en même temps et une espèce de sarcosporidie peut infester plusieurs espèces d'hôtes intermédiaires, par exemple *S. cruzi* peut infester les bovins domestiques : *Bos taurus* et les buffles d'eau (Xiang et al., 2011), même si les espèces de sarcosporidies sont considérées relativement spécifiques d'un hôte (Jehle et al., 2009). Pour leur hôte définitif, les espèces de sarcosporidies sont spécifiques d'une famille : par exemple, les canidés pour *S. cruzi*.

Une étude récente a démontré que les bovins sont également hôte intermédiaire pour *S. sinensis* dont l'hôte définitif reste inconnu. De plus, cette espèce reste peu étudiée car elle a souvent été confondue avec *S. hominis* (Chen et al., 2011; Moré et al., 2013).

Les sarcosporidies sont des parasites obligatoirement intracellulaires avec un cycle parasitaire en 3 étapes, typique des coccidies :

- Mérogonie: reproduction asexuée
- Gamétogonie: reproduction sexuée
- Sporogonie: divisions donnant naissance aux formes infectieuses

Le parasite réalise sa multiplication asexuée (Schizogonie) dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins d'organes chez l'hôte intermédiaire alors que la reproduction sexuée (Gamogonie) et asexuée (Sporogonie) a lieu dans les cellules épithéliales de l'intestin de l'hôte définitif (chien, Chat, homme). (Figure 02). La durée du cycle évolutif est de 2-3 mois chez l'hôte intermédiaire (Figure 03) et 1-2 semaine chez l'hôte définitif (Figure 04).

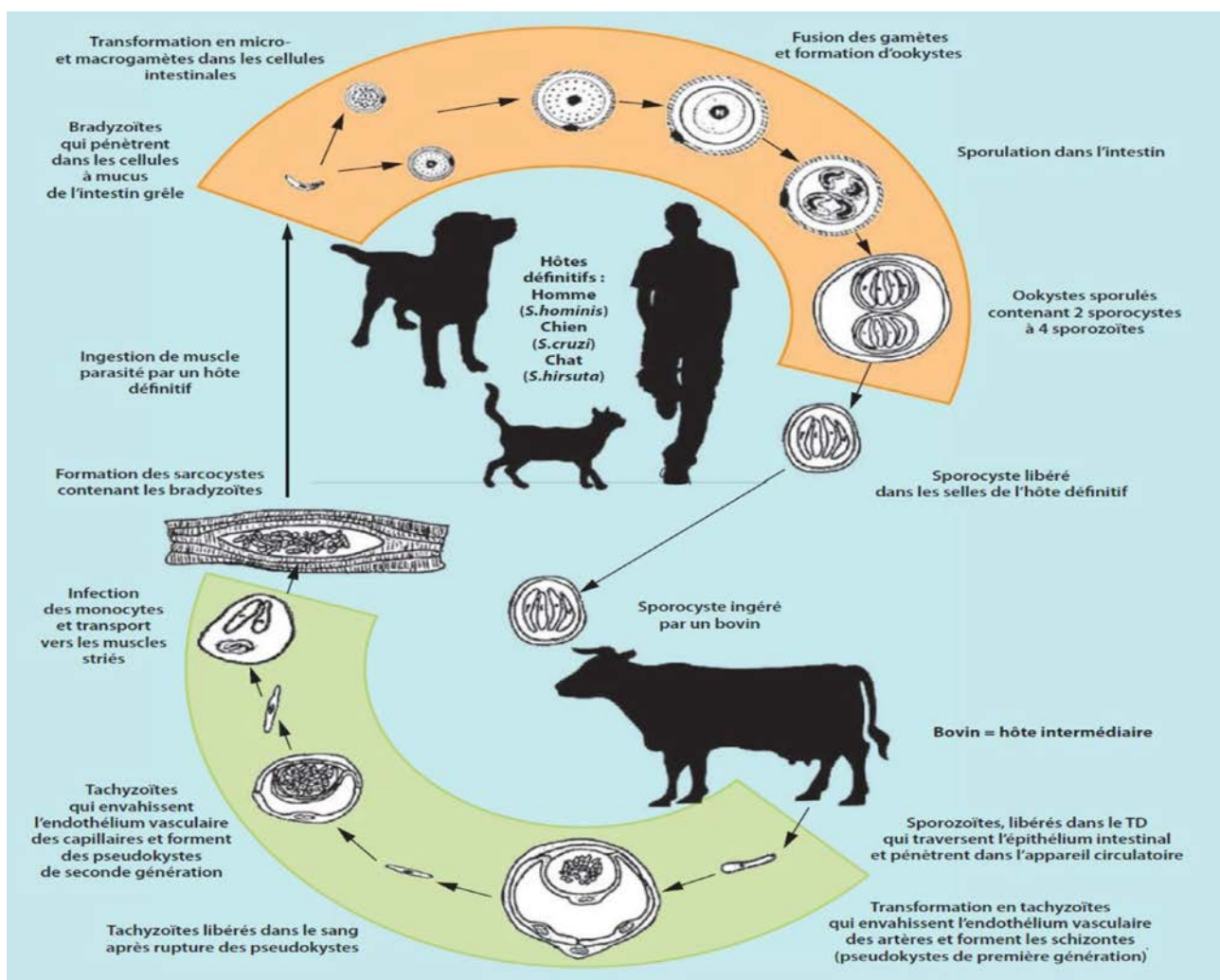


Figure 02 : Schéma du cycle évolutif des espèces de *Sarcocystis* infectant les bovins (Cappelier et Honore, 2012).

III.2.1. Chez l'hôte intermédiaire (la proie)

Exceptés, les cas rares de transmission verticale (**Savini et al., 1996; Moré et al., 2009**), les bovins s'infectent de façon horizontale par ingestion d'eau de boisson et/ou d'aliments contaminés par des ookystes ou des sporocystes libérés dans l'environnement et à proximité de leurs aires d'alimentation ou d'abreuvement par les fèces d'un hôte définitif infecté. Des arthropodes coprophages peuvent véhiculer les sporocystes. Les sporocystes sont la forme de résistance du parasite, le cycle ne continue que s'ils sont ingérés par l'hôte intermédiaire approprié (**Euzéby, 1998**) (**Figure 02**). Le sporocyste ingéré libère dans l'intestin grêle les 4 sporozoïtes qu'il contient sous l'effet de la digestion.

Les sporozoïtes migrent alors à travers l'épithélium intestinal et envahissent les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. C'est dans ces cellules endothéliales des artères qu'a lieu la première schizogonie. Ces schizontes subissent une phase de multiplication rapide (tachyendodiogénie) donnant naissance à une centaine de tachyzoïtes ou mérozoïtes (mérozoïtes de première génération) entre 7 jours et 15 jours après ingestion, les cellules endothéliales parasitées forment alors des pseudokystes qui vont finir par se rompre.

Les mérozoïtes libérés infestent les cellules endothéliales des capillaires. Suite à une deuxième phase de tachyendodiogénie, la seconde génération de mérozoïtes est formée, au bout de 19 à 46 jours après ingestion (**Figure 03**).

Les mérozoïtes de deuxième génération sont libérés dans le courant sanguin, puis une troisième endodyogénie a lieu dans les monocytes donnant naissance à une troisième génération de mérozoïtes 24 à 46 jours après ingestion (**Figure 03**). Les monocytes parasités transportent les parasites aux fibres musculaires striées et parfois aussi au tissu neural.

Les mérozoïtes pénètrent dans les cellules, s'entourent d'une vacuole parasitophore et prennent une forme ronde à ovoïde : ce sont alors des mérocytes. Ces mérocytes subissent une phase de multiplication lente (bradyendodiogénie), donnant naissance à d'autres mérocytes qui s'accumulent dans la cellule sans la détruire. La paroi de la cellule s'épaissit alors progressivement aboutissant à la formation d'un kyste immature, appelé sarcocyste ou tube de Miescher.

Les mérocytes se différencient ensuite en bradyzoïtes ou cystozoïtes ou encore **corpuscules de Rainey**, qui est la forme infestante du parasite formant ainsi un kyste mature, qui peut infester les hôtes définitifs. Cela arrive environ 75 jours après ingestion (**Figure 03**), cependant cette durée est variable selon l'espèce de *Sarcocystis* considérée. Les sarcocystes peuvent persister durant toute la vie de l'hôte intermédiaire, cependant une grande partie commence à disparaître trois mois après le début de l'infestation.

Le cycle se poursuit lorsque l'hôte définitif ingère ces kystes. (**Fayer et Dubey, 1986; Dubey et al., 1988 ; Desportes-Livage et Darty, 2005**) (**Figure 03**).

La connaissance précise du cycle chez l'hôte intermédiaire repose en particulier sur les études menées chez la souris avec *S. muris* (**Lindsay et al ., 1995**).

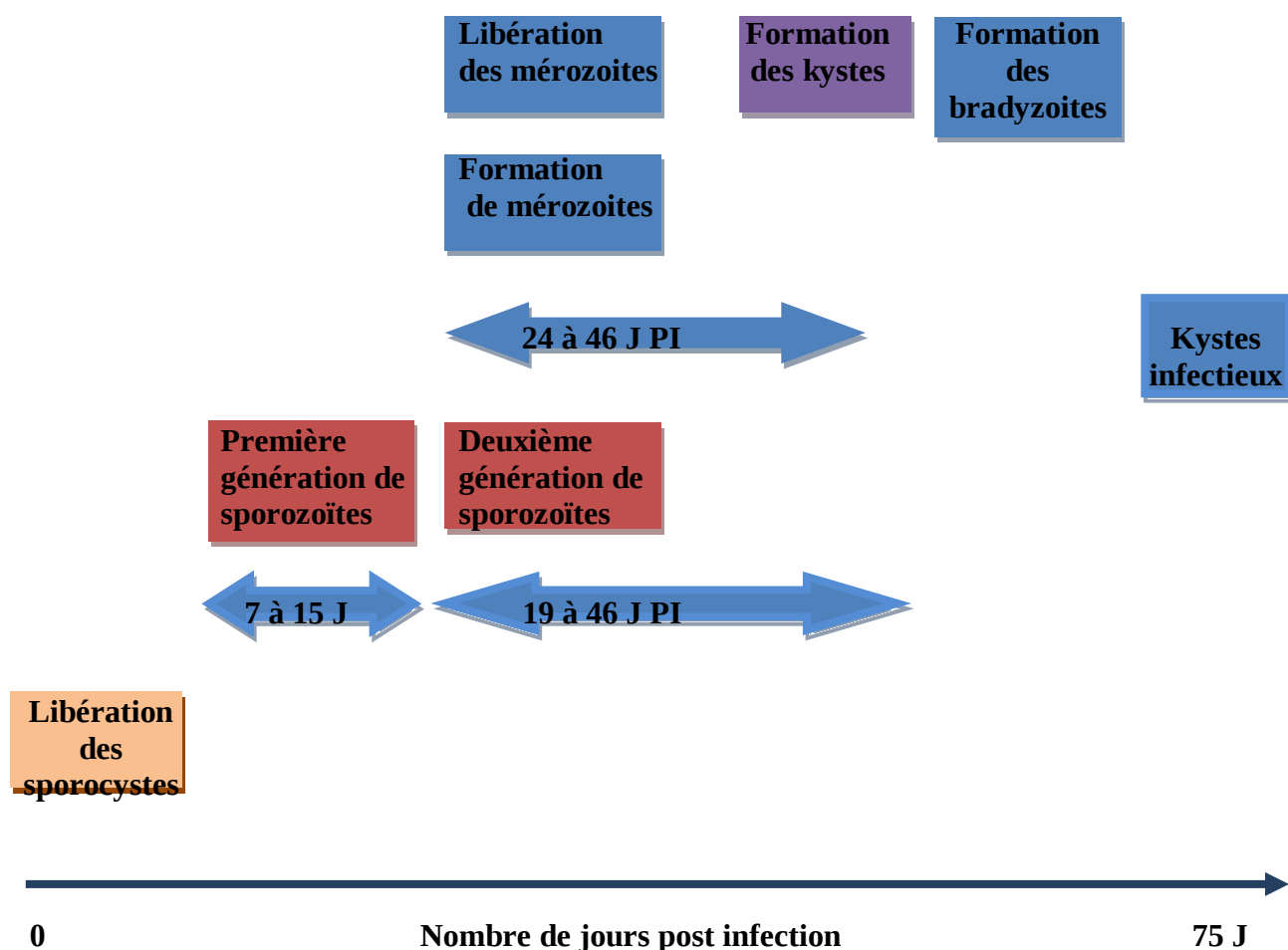


Figure 03 : Schéma des étapes du cycle chez l'hôte intermédiaire (**Flandrin et Leonard, 2014**).

Les hôtes définitifs (chats, chiens, hommes) s'infectent en consommant de la viande bovine crue ou insuffisamment cuite contenant des kystes parasitaires matures (**Figure 02**). La paroi des sarcocystes se rompt après l'ingestion, libérant les bradyzoïtes qui deviennent mobiles et se logent dans les cellules de la lamina propria de l'hôte définitif. Les bradyzoïtes deviennent alors microgamétocytes ou macrogamétocytes. Le microgamétocyte est à l'origine après des divisions cellulaires de plusieurs microgamètes. Le macrogamétocyte devient directement macrogamète et pourra fusionner avec un microgamète donnant alors l'ookyste.



Le parasite se présente sous forme de sarcocyste chez l'hôte intermédiaire (bovin) et d'ookyste avec deux sporocystes chez les hôtes définitifs.

Selon **Euzéby (1998)**, les kystes sont le plus souvent submicroscopiques (0,5-3 mm de longueur x 0,3 mm de largeur), allongés dans le sens des fibres musculaires.

Au Microscope optique et en coupe histologique transversale, les sarcocystes où tubes de Miescher apparaissent cloisonnés et divisés en alvéoles périphériques renfermant des métrocytes (formes globuleuses), et en alvéoles centraux renfermant des bradyzoïtes (en forme de banane) (Figures 05, 06).

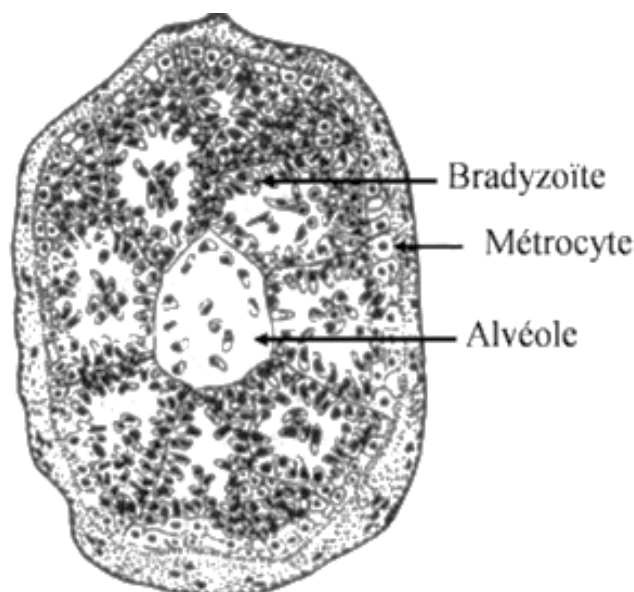


Figure 05: Schéma modifié d'un kyste de *Sarcocystis* en coupe transversale (Euzéby, 1987).

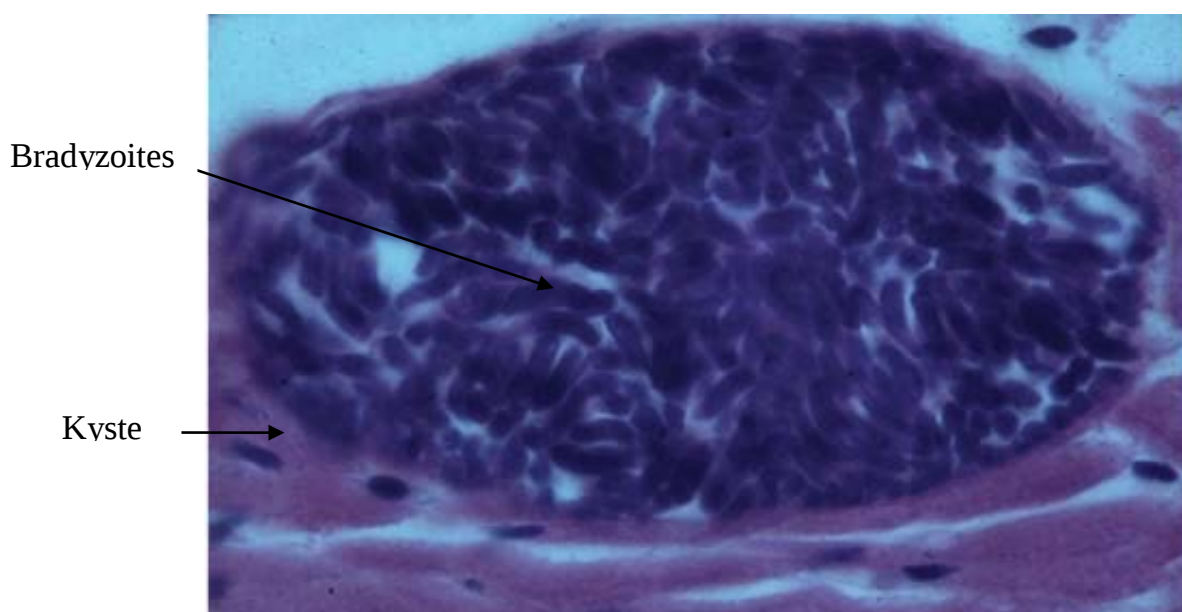


Figure 06 : Kyste à bradyzoïtes de sarcosporidie mis en évidence par observation microscopique de la musculature d'un hôte intermédiaire (Boireau et al., 2002, cliché du service de parasitologie de l'E.N.V.A.).

En microscopie électronique, on peut observer les sarcocystes dont les dimensions ainsi que l'aspect de la paroi varient selon l'espèce de sarcosporidies impliquée et selon l'âge du kyste (**Tableau 03**). La longueur du kyste peut atteindre jusqu'à 2,6 mm, la largeur jusqu'à 0.16 mm et l'épaisseur de la paroi jusqu'à 0,88 mm (**Fayer, 2004**). La paroi des kystes peut être fine et simple, formée uniquement de la vacuole parasitophore ou peut se complexifier avec des protrusions contenant des microtubules, des corps denses aux électrons ou des granules. La structure de cette paroi change au cours du temps. La couche dense aux électrons est à l'origine de la formation de cloisons qui compartimentent le kyste (**Lindsay et al., 1995**).

Les bradyzoïtes apparaissent avec des rhoptries et micronèmes et conoïde (**Euzéby, 1998**) (**Figure 07**). La paroi primaire émet, par sa face interne, des cloisons délimitant les alvéoles (**Euzéby, 1998**).

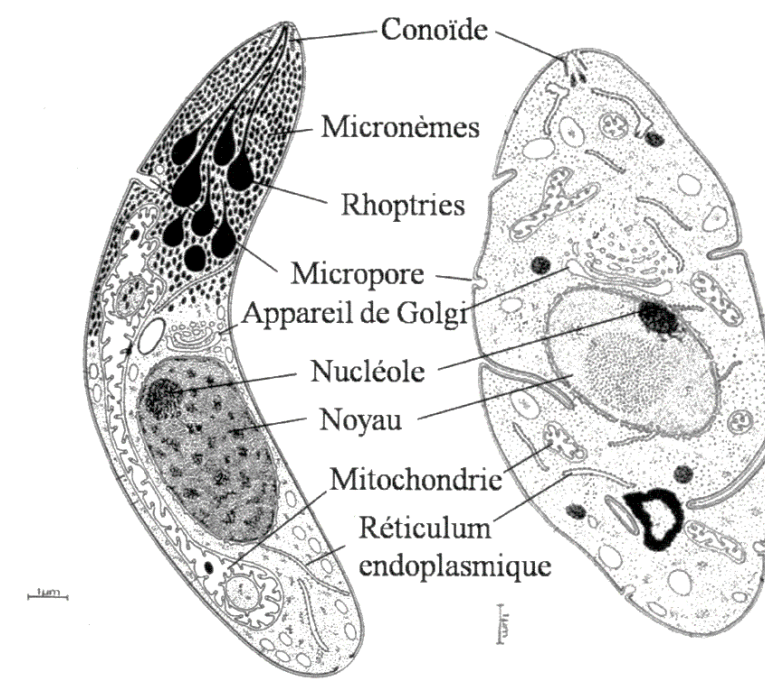


Figure 07: Schéma modifié d'un bradyzoïte (à gauche) et d'un métrocyte de *Sarcocystis* (à droite) au microscope électronique (**Mehlhorn, 1975**)

En microscopie photonique, l'épaisseur de la paroi est un bon critère de détermination de l'espèce impliquée. *S. cruzi* présente une paroi fine alors que *S. hominis* et *S. hirsuta* présentent une paroi épaisse (**Figure 08**).

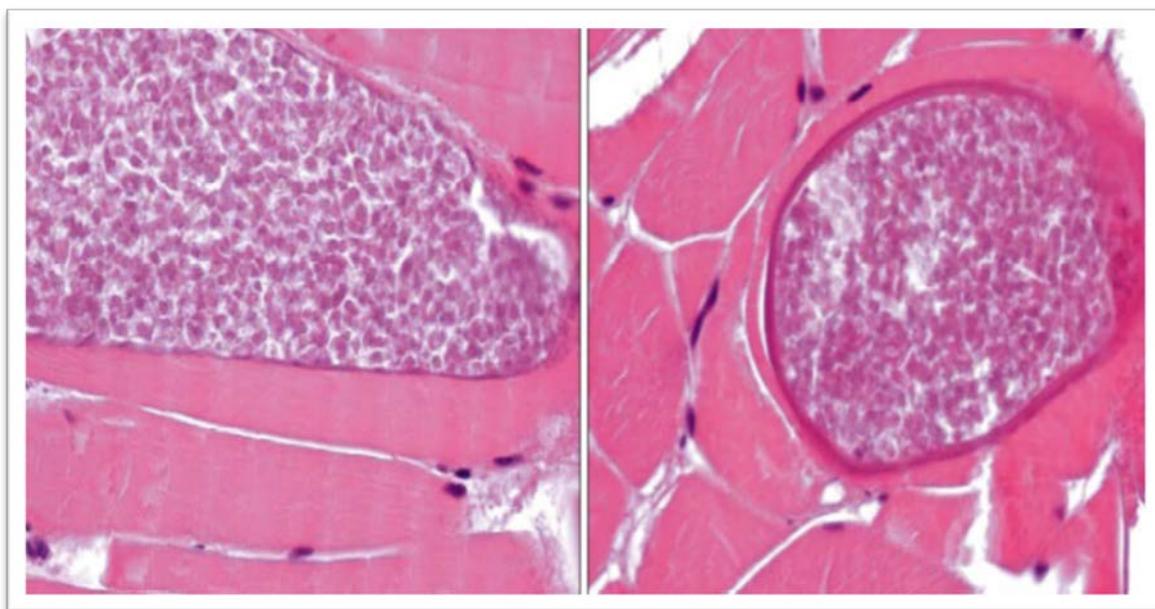


Figure 08 : A gauche un kyste à paroi fine de *S. cruzi*, et à droite un kyste à paroi épaisse de *S. hirsuta* ou *hominis* colorés à l'hémalun-éosine (Gr.x 600) (Ghisleni et al., 2006).

Pour différencier les différents types de kystes, il est nécessaire d'observer en microscopie électronique la structure des villosités pariétales ou microphanères. L'observation de la structure de la paroi permet de distinguer trois espèces de *Sarcocystis* chez le bovin dont la disposition et la forme des cytophanères, ont une valeur taxonomique (Figure 09) (Tableau 2-3).

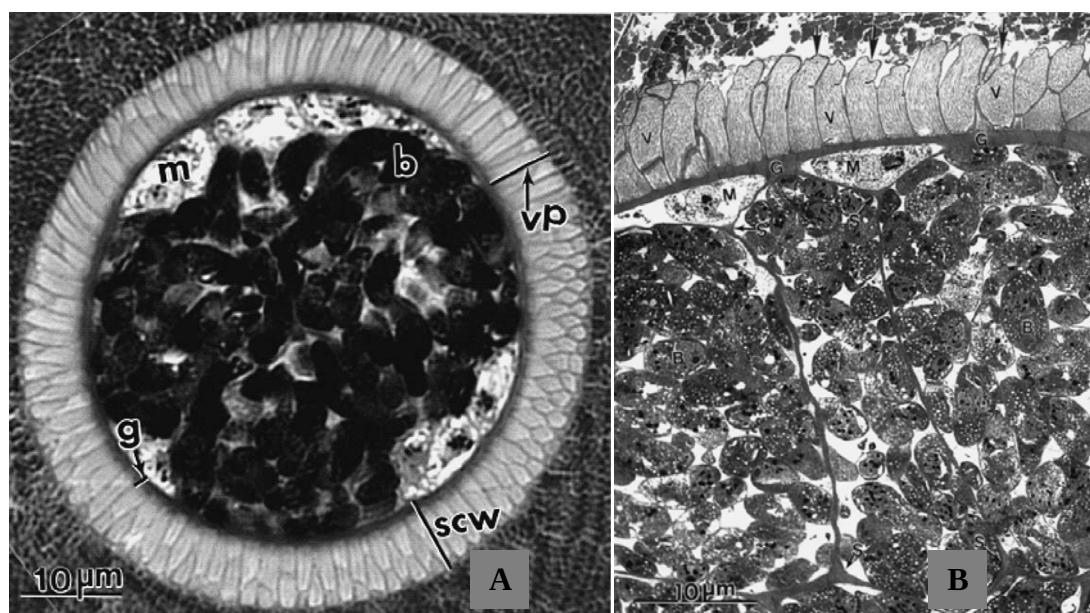


Figure 09 : (A) Ultra-structure d'un kyste de *S. hominis* avec la particularité des cytophanères (vP), de la paroi du kyste (scw) avec une membrane granuleuse (g) enfermant des mérocytes (m) et des bradyzoites (b). (B) paroi épaisse avec villosités saillantes (v) les mérocytes (m), et les bradyzoites (b) disposés en compartiments délimités par des septa (S) (Wouda et al., 2006).

Tableau 2 : Parois des 03 espèces de sarcocystes chez les bovins, vues au microscope électronique (**More et al., 2010 ; Jehle et al., 2009**)

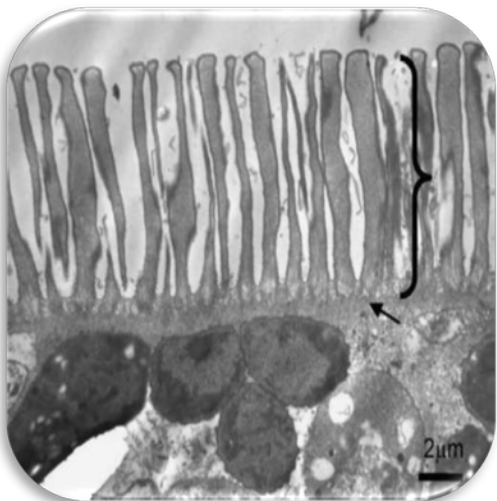
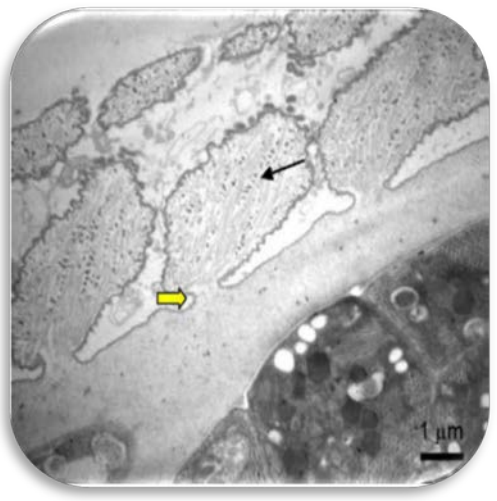
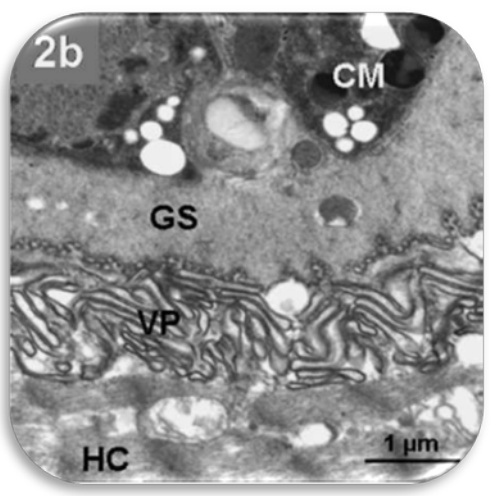
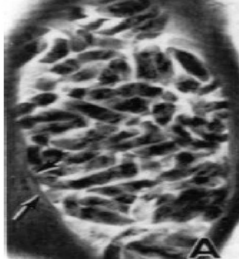
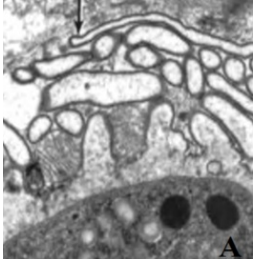
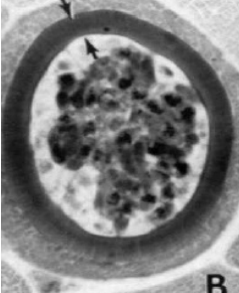
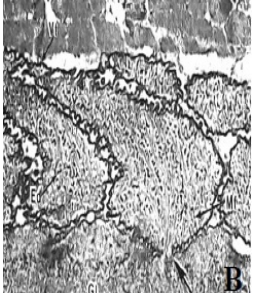
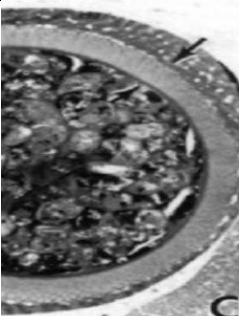
Paroi de sarcocyste montrant des microvillosités en palissade soutenues par une couche dense aux électrons. Paroi de <i>Sarcocystis hominis</i> au microscope électronique (More et al., 2010).	
Paroi de sarcocyste montrant des microvillosités en forme dite de langue, à base étroite (flèche jaune), plus larges au milieu et effilées distalement. La flèche noire indique des microfilaments et des granules denses aux électrons. Paroi de <i>Sarcocystis hirsuta</i> au microscope électronique (More et al., 2010).	
Paroi fine, présentant des microvillosités filamenteuses et sans microtubules (VP = villosités, HC = cellule hôte CM = mérozoïtes) Paroi de <i>S. cruzi</i> en microscopie électronique à transmission (Jehle et al., 2009).	

Tableau 03 : Caractères structuraux des sarcocystes trouvés chez les bovins (Dubey et al., 1989a ; Dubey et al., 1989b)

Espèces de <i>Sarcocystis</i>	Taille Moyenne des sarcocystes	Epaisseur de la paroi	Structure des villosités pariétales (cytophanères)	Aspect de la paroi au microscope photonique [grossissement x 1000]	Aspect de la paroi au microscope électronique [Grossissement : (A)x16000, (B)x 9900, (C) x 12000]
<i>S. cruzi</i>	0.5 mm de diamètre	Mince : < 1 μ m	Courtes Capilliformes Inclinées		
<i>S. hirsuta</i>	De 2 à 7 mm de long sur 1 mm de large	Epaisse : 3 à 6 μ m	Longues Etranglées à la base, élargie en partie médiane et coniques en partie Distale Inclinées en partie distale (45°- 90°)		
<i>S. hominis</i>	De 0.4 à 1 mm de long sur 0.08 à 0.1 mm de large	Epaisse : 7 μ m	Longues Cylindriques Presque perpendiculaires à la surface de la paroi		

La longévité des kystes chez l'animal vivant n'est pas connue mais ils peuvent rester infestants dans une carcasse plusieurs semaines après la mort de l'animal (Brugère picoux et Lacombe, 1987). Selon Euzeby (1997), le processus dégénératif des sarcocystes a lieu parallèlement à la dégénérescence des fibres musculaires parasitées. Les bradyzoites sont alors remplacés par un magma granuleux qui va subir des modifications, caséification ou calcification rendant leur mise en évidence plus facile. Ils ne sont vraiment visibles que lorsqu'ils sont assez nombreux et coalescents et forment alors de petites tâches ovoïdes de couleur grisâtre, jaunâtre ou verdâtre s'il y a infiltration éosinophilique (Euzeby, 1998) (Figure 10).



Figure 10 : Observation macroscopique de kystes sarcosporidiens dans un muscle de l'épaule d'un bovin (**Bertin, 2013**).

Pour les espèces de sarcocystes ayant comme hôtes définitifs des animaux, aucune donnée précise n'est référencée dans la littérature mais on peut penser que les informations répertoriées pour les espèces parasites de l'homme doivent être transposables aux espèces parasites des animaux (**Flandrin, 2014**).

Tous les muscles peuvent être atteints par les sarcocystes. La structure des kystes varie aussi en fonction de leur lieu d'élection qui est : l'œsophage, le diaphragme, les muscles squelettiques, la langue, le cœur. L'œsophage et le myocarde semblent être le site où l'occurrence des kystes est la plus grande pour *S. cruzi* (**Latif et al., 1999; Aldemir, Güçlü 2004; Moré et al., 2007; Domenis et al., 2011; Vangeel et al., 2012**). L'œsophage et les muscles squelettiques semblent être les lieux d'élection pour les autres espèces de sarcosporidies (**Huong, 1999**). *S. hirsuta* n'est pas retrouvé dans le myocarde (**Lindsay et al., 1995**). Ils sont ainsi plus petits dans le cœur en relation avec la structure des fibres myocardiques (**Vercruysse et al., 1989**).

Les kystes sarcosporidiens sont très résistants dans les muscles de l'hôte intermédiaire, leur longévité est d'au moins une année et souvent 5 à 8 ans (**Euzéby, 1987**). Cette longévité varie de un à trois mois pour les espèces parasites de l'homme. Les sarcocystes survivent encore pendant 15 jours à la mort de leur hôte. Ils résistent à la réfrigération à 2°C mais ils sont tués par la congélation à -5°C (48 heures) et à -20°C (24 heures). La chaleur exerce une action destructrice à la température de 70°C à 75°C, maintenue pendant 20 à 25 minutes (**Euzéby, 1997**). La chaleur produite par le four à micro-ondes n'est pas suffisamment pénétrante pour permettre une bonne stérilisation de la viande parasitée (**Euzéby, 1998**).

III.3.2. Chez l'hôte définitif

III.3.2. 1. Les ookystes

On trouve chez l'hôte définitif des ookystes ovoïdes contenant chacun 2 sporocystes (**Figure 11**) (**Aissi et al., 2013**). La fine paroi des ookystes sporulés des *Sarcocystis* est souvent rompue libérant deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes et un corps résiduel granuleux (**Fayer, 2004**). Les différentes espèces de *Sarcocystis* infectant un hôte définitif donné ont souvent des sporocystes de dimensions similaires (**Dubey et al., 1988**) (**Tableau 04**).

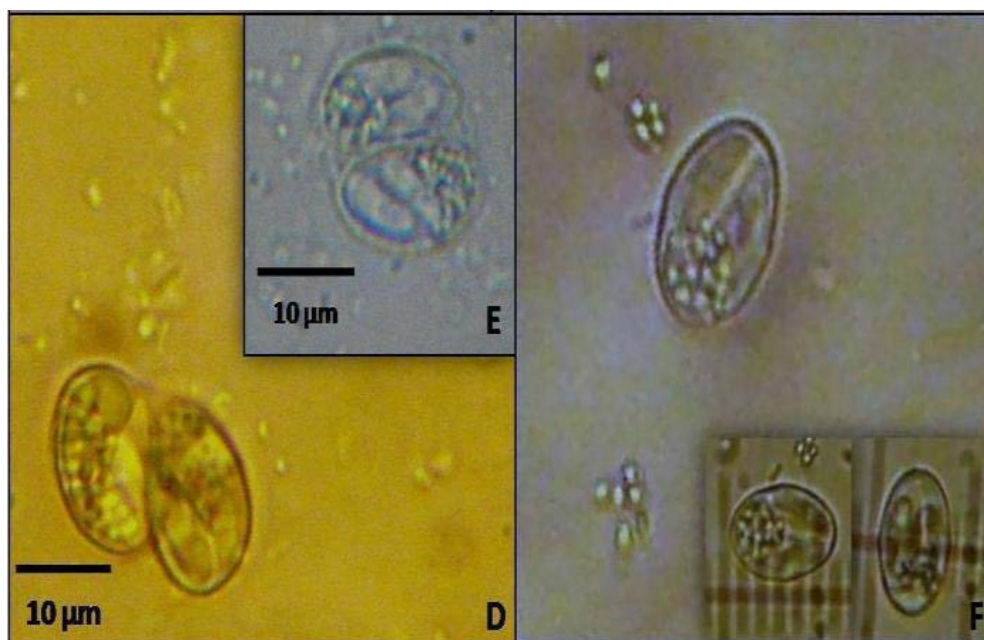


Figure 11 : Oocystes sporulés (D, E) et sporocystes (F) de *Sarcocystis cruzi* dans des fèces de chien (**Aissi et al., 2013**).

III.3.2. 2. Les sporocystes

Les sporocystes possèdent une paroi résistante et sont de petite taille. Ils peuvent ainsi résister plusieurs mois dans l'environnement. Cependant, les fluctuations de température et d'humidité jouent sur leur viabilité. Les meilleures conditions de survie pour les sporocystes de *S. cruzi* sont une température basse (4°C) et une humidité relative élevée (100%) où ils survivent plus de 240 jours. Ils résistent à des températures négatives, jusqu'à -20°C pendant 48h. Ils peuvent aussi survivre plus de 180 jours à une température élevée (37°C) et en milieu sec (18% d'humidité). Les conditions les plus délétères pour eux sont les fluctuations de températures (**Savini et al., 1996**). Tous les sporocystes résistent également aux antiseptiques, appliqués aux concentrations habituelles. Seul l'ammoniac à 10% exerce un effet létal (**Euzéby, 1997**).

Tableau 04 : Les caractères généraux des oocystes et des sporocystes (Perrotin et Graber, 1977; Saito et al., 1998 ; Pena et al., 2001; Taylor et al., 2007).

Les oocystes			
<i>Espèce</i>	<i>S. cruzi</i>	<i>S. hirsuta</i>	<i>S. hominis</i>
Caractéristique	Sporulés	Sporulés Lisses et Incolores	/
Longueur	19 à 21µm	12 à 18 µm	/
Largeur	15 à 18µm	11 à 14 µm	/
Les sporocystes			
<i>Espèce</i>	<i>S. cruzi</i>	<i>S. hirsuta</i>	<i>S. hominis</i>
Longueur	14,3 à 17 µm	11 à 14 µm	12,5 à 17 µm
Largeur	8,7 à 13,3µm	7 à 9 µm	7,5 à 11 µm
Caractéristique	Ellipsoïde,	Ellipsoïdes	Ellipsoïde

IV. EPIDEMIOLOGIE

IV.1 Espèces affectées

Les sarcosporidioses affectent un grand nombre de mammifères et diverses espèces d'oiseaux et les parasites qui les déterminent et sont généralement désignés par une dénomination spécifique, caractérisée par le nom linnéen de l'hôte intermédiaire et celui de l'hôte définitif ex : *bovifelis*, *bovihominis*, *ovifelis* ... (Euzéby, 1998).

Les coccidies kystogènes appartenant au genre *Sarcocystis* sont responsables de la formation de kystes à localisation musculaire chez l'hôte intermédiaire (Euzéby, 1998) mais certaines espèces de *Sarcocystis* peuvent causer la formation de kystes au niveau du système nerveux central comme *Sarcocystis neurona* responsable de l'encéphalomyélite à protozoaire des chevaux (EPM) (Hamir et al., 1993; Dubey et al., 2001a; Mullaney et al., 2005).

Le chien et le chat domestique peuvent présenter une atteinte du tissu nerveux (**Dubey et al., 1994 ; Cooley et al., 2007**) de même que le raton laveur (**Dubey et al., 2001b; Hamir et Dubey, 2001; Stanek et al., 2002**) le vison d'Amérique (**Dubey et Hedstrom, 1993**), le zèbre de Grant (**Marsh et al., 2000**), le singe rhésus (**Klumpp et al., 1994**).

Des espèces de gibier tels que les cervidés ou canards peuvent être affectées par *Sarcocystis* et présenter une localisation musculaire des kystes (**Grappe, 2009**). *Sarcocystis gallotiae* affecte les lézards (**Matuschka et Banneri, 1987**) qui sont atteints d'une infection intestinale de type coccidien : Coccidiose à *Sarcocystis* observés également chez les serpents (**Euzéby, 1998**).

L'étude menée par **Lainson et al., en 2000** montre que des muscles de lézard *Ameiva ameiva* dans le nord du Brésil, infestés par des sarcocystes, donnés en nourriture à un serpent *Mastigodryas bifossatus* a révélé une infection intestinale massive à *Sarcocystis* de ce serpent. De même que des sporocystes matures d'un autre serpent (*M. bifossatus*) naturellement infecté, donnés en nourriture à de jeunes lézards (*A. ameiva*) chez lesquels aucun sarcocyste n'avait été détecté par biopsie au niveau de la queue, ont été examinés 30 et 47 jours plus tard et ceux-ci présentaient de nombreux sarcocystes au niveau des muscles de la queue et de la langue. Le parasite est nommé *Sarcocystis ameivamastigodryasin. sp.*

Les espèces de *Sarcocystis* qui affectent le bovin, peuvent infester d'autres animaux (hôte intermédiaire) tels que le buffle d'Asie, le bison d'Europe et d'Amérique (**Fayer et al., 1982a; Odening et al., 1994; 1995 ; 1996; Fischer et Odening, 1998; Pyziel et Demiaszkiewicz, 2009; Yang et al., 2001., 2002; Li et al., 2002; Chen et al., 2003; Liang et al., 2006**).

IV. 2. Sources et modes de transmission

L'hôte intermédiaire s'infecte par l'ingestion de sporocystes éliminés par les hôtes définitifs (phytophagie, géophagie, hydropénie). Des arthropodes coprophages véhiculent également les sporocystes (**Euzéby, 1997, 1998**).

Les carnivores et plus particulièrement les chiens sont à l'origine de la pollution de l'herbe des pâturages (**Giles et al., 1980 ; Savini et al., 1994a; Latif et al., 1999**) et le foin dans les fermes. Par ailleurs, l'épandage d'eaux résiduaires mal assainies sur les prairies par l'homme peut être une source importante d'infection (**Euzéby, 1987, 1998; Wouda et al., 2006**).

Le passage des tachyzoïtes de *Sarcocystis* par voie placentaire de la mère au fœtus est possible (Munday et Black, 1976; Hong et al., 1982). Des tachyzoïtes ont été également retrouvés chez un veau né prématurément d'une mère transfusée avec des tachyzoïtes de *S. cruzi* cultivés *in vitro* (Savini et al., 1996a).

L'homme s'infecte en consommant de la viande de bœuf ou de porc crue ou insuffisamment cuite contenant des kystes matures de *Sarcocystis* (Figure 07) (Current, 1985 ; Acha et Szyfres, 2005 ; Euzéby, 1998; Fayer, 2004; Desportes-Livage et Datry, 2005). La sarcocystose intestinale est observée dans la plupart des régions du monde avec une incidence variant de 6 à 10% (O.M.S., 1982). L'homme peut être également l'hôte intermédiaire de *S. lindemani* (Euzéby, 1998).

IV.3. Facteurs favorisants

Sarcocystis spp. est donc un des parasites du bétail le plus répandu à travers le monde. Cependant, la variabilité de la prévalence de l'infestation des bovins par les sarcosporidies en fonction de l'origine géographique laisse supposer qu'il existe des facteurs de risque d'infestation.

Différents éléments peuvent expliquer, au moins en partie, les raisons pour lesquelles la prévalence de *sarcocystis* spp. est aussi élevée (Dubey et al., 1989b) .

- Un hôte définitif ou intermédiaire peut abriter plusieurs espèces de *Sarcocystis* (Yang et al., 2001; Jehle et al., 2009). Par exemple, les bovins peuvent abriter 3 espèces de *Sarcocystis*.
- Plusieurs hôtes définitifs sont impliqués dans la transmission d'une seule espèce de *Sarcocystis*. Par exemple, pour *S.cruzi*, tous les canidés peuvent intervenir au tant que hôtes définitifs, ce qui permet l'adaptation du cycle dans de nombreuses régions géographiques (Dubey et al., 1988). De même que *S.hirsuta* peut contaminer tous le felidés et *S.hominis* tous les primates (Dubey et Lindsay, 2006).
- Une longue survie des sporocystes environ une année en milieu humide, et 2 à 3 mois en milieu sec. Ils résistent à des températures négatives, jusqu'à - 20°C pendant 48 heures ainsi qu'aux antiseptiques. Seul l'ammoniac à 10% exerce un effet létal (Euzéby, 1997).

- Un grand nombre d'ookystes et de sporocystes peuvent être disséminés à partir d'un seul hôte définitif. A la fin de la période d'excrétion, cela peut correspondre à des millions de sporocystes directement infectants (**Dubey et al., 1988**).
- Du fait que *Sarcocystis* soit libéré directement sous sa forme infectante par les hôtes définitifs explique que le caractère infectieux ne dépend pas des conditions extérieures (**Dubey et al., 1989 b**).
- Chez l'hôte définitif, aucune immunité ne se met en place. De ce fait, chaque repas contaminé sera à l'origine d'une nouvelle période d'excrétion (**Euzeby, 1997**).
- La prévalence varie selon les modes d'élevages, la présence de chien, chat ou faune sauvage sur l'exploitation, le climat (**Flandrin, 2014**).
- L'analyse de facteurs de risque sur des bovins saisis pour myosite eosinophilique a permis d'identifier en France quelques facteurs de risques tel que l'âge, le département, le sol calcaire, les contacts chats/pâtures chiens/bovins et chiens/fourrages, la présence de chats sauvages et l'accès des aliments à la faune sauvage de même que le sexe femelle et certaines races bovines (**Guénéguan, 2009**). A l'inverse, des facteurs de protection ont été identifiés comme la présence de WC sur l'exploitation, les sols limoneux et sableux et la présence de blaireaux car ces hôtes définitifs possèderaient leurs propres espèces de *Sarcocystis* qui pourraient coexister avec les espèces bovines diminuant ainsi la pression infectieuse (**Léonard, 2014**).

L'ensemble de ces caractéristiques permet donc au parasite d'assurer sa transmission d'un hôte à un autre, et de mener ainsi à bien la totalité de son cycle.

IV.4. Prévalence

IV.4.1. Prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de la sarcosporidiose chez les bovins semble variable à travers le monde + atteignant 100% dans beaucoup de pays (**Tableau 05**).

Tableau 05 : Prévalence dans diverses régions du monde de l'infection par *Sarcocystis* spp. Chez des bovins et autres espèces de ruminants.

Région/Pays		Prévalence totale	Nombre de bovins / ruminants examinés	Muscles examinés	Techniques utilisées	Références
E U R O P E	Belgique	97%	100 bovins	Cœur Diaphragme Œsophage	Digestion enzymatique Histologie	Vercruysse et al., 1989
	Italie	96%	50 bovins	Coeur, Diaphragme, Langue, Masseter Muscle cremaster et urethralis	Histologie	Bucca et al., 2011
	France	97%	37 bovins	Myocarde Masseters, Diaphragme Muscles squelettique	Digestion enzymatique, Histologie, PCR	Mary, 2005
		100%	75 bovins	Diaphragme Myocarde Carapacon*	Digestion enzymatique PCR	Bertin ,2013
		100%	123 bovins	Myocarde Carapacon*	Digestion enzymatique PCR	Lemieux, 2014
	Espagne	99%	101 chevreuils	Cœur Œsophage Diaphragme	Trichinoscopie	Pérez-Creo et al., 2013
	Bulgarie	87%	458 bovins	œsophage, langue, diaphragme, muscles cervicaux cœur	Trichinoscopie	Meshkov ,1975
	Slovaquie	91.5 %	71 Ruminants sauvages (cerfs, mouflon, chamois, sanglier)	Coeur Muscles squelettiques	Digestion enzymatique Histologie	Goldová et al., 2008

Région/Pays		Prévalence totale	Nombre de bovins / ruminants examinés	Muscles examinés	Techniques utilisées	Références
A S I E	Iran	83,60%	250 chameaux	Cœur, Diaphragme, Œsophage, Langue Masseter	Histologie	Valinezhad <i>et al.</i> , 2008
		89%	100 Bovins	Diaphragme Œsophage	Histologie	Nourani <i>et al.</i> , 2010
		100%	480 bovins	Oesophage, Langue, Diaphragme, Muscles cervicaux Cœur	Trichinoscopie Digestion enzymatique	Nourollahi Fard <i>et al.</i> , 2009
	Chine	100 %	Bovins Buffles sauvages	Oesophage, Cœur Diaphragme	Digestion enzymatique	Xiang <i>et al.</i> , 2011
	Irak	97.0% 97.4% 97.8% 82.9% 91.6%	605 ovins 826 caprins, 1080 bovins 580 buffles 36 chameaux	Oesophage, Cœur Diaphragme Muscles squelettiques	Digestion enzymatique muscle squash, squeezing	Latif <i>et al.</i> , 1999
	Vietnam	79%	502 buffles asiatiques	coeur, langue, oesophage, muscle du cou et abdomen	Histologie	Huong, 1999
		90%	30 buffles asiatiques	Diaphragme Langue, Muscle cervical, Oesophage	Trichinoscopie Histologie PCR (18SrRNA) RFLP	Jehle <i>et al.</i> , 2009
		63%	101 bovins			
	Mongolie	90%	30 vaches	Œsophage, Diaphragme,	Trichinoscopie	Fukuyo <i>et al.</i> , 2002b
		93,30%	30 yacks	Cœur		
		100%	30 yacks	langue muscles		
		96,90%	30 hainag*	intercostaux		
	Japon	6,31%	317 bovins	Muscles squelettique dorsal * (longissimus)	Histologie	Ono et Ohsumi, 1999

Région/Pays		Prévalence totale	Nombre de bovins / ruminants examinés	Muscles examinés	Techniques utilisées	Références
O C E A N I E / A M E R I Q U E	USA (import)	36,78%	87 bovins	Muscles squelettique dorsal* (longissimus)	Histologie	Ono et Ohsumi, 1999
	Australie (import)	29,49%	78 bovins			
	USA	75.3% 10.8%	789 ovins 306 agneaux	Muscles squelettique	Digestion enzymatique Histologie	Seneviratna <i>et al.</i> , 1975
	Australie	52%	714 bovins	Œsophage	Digestion enzymatique	Savini <i>et al.</i> , 1992
	Argentine	99,7%	390 bovins	Muscle psoas Sang	TEM PCR IFAT	Moré <i>et al.</i> , 2010
A F R I Q U E	Algérie	63%	573	Œsophage Diaphragme	Digestion enzymatique Histologie	Nedjari, 2002
		100%	170	Œsophage Diaphragme	Digestion enzymatique Histologie	Khouni, 2009 Harhoura, 2010
		89%	110	Œsophage Diaphragme	Digestion enzymatique	Lardjane <i>et al.</i> , 2014
		93%	103	Œsophage Diaphragme	Digestion enzymatique	Boussebata <i>et al.</i> , 2014
		95%	200	Œsophage Diaphragme	Digestion enzymatique Histologie	Chaouadi et Djouhri., 2015
		100%	59	Coeur Diaphragme Œsophage	Digestion enzymatique Histologie	Zououiouch e, 2015
	Maroc	100%	53 bovins 49 ovins	Coeur Diaphragme Œsophage Langue Masseter	Digestion enzymatique Histologie	Fassi-Fehri <i>et al.</i> , 1978

Région/Pays		Prévalence totale	Nombre de bovins / ruminants examinés	Muscles examinés	Techniques utilisées	Références
A F R I Q U E	Tchad	63%	30 dromadaires	Cœur Diaphragme, Encolure Langue	Digestion enzymatique Histologie	Vounba, 2010
	Mauritanie	48%	58 dromadaires	Myocarde, Diaphragme, Encolure Langue	Digestion enzymatique Histologie	
	Sénégal	82% 88%	Ovins caprins	Cœur Œsophage	Digestion enzymatique Histologie ME	Vercruysse et Van Marck, 1981
		82%	400 bovins	Masseter Myocarde Œsophage Diaphragme Muscle Fessier	Histologie PCR RFLP	Gbati et al, 2013
	Nigeria	88.2% (1*) 65% (2*)	200	Œsophage (1) Diaphragme	Digestion enzymatique * Histologie	Obijiaku et al. 2013
	Zaire	31.2 %	205 Bovins	Oesophage, Diaphragme	Trichinoscopie	Mathieu et Mboyo, 1986
	Ethiopie	45.45%	121 Chameaux	Œsophage, Diaphragme, Epaule, masséter cœur	Histologie	Woldemeskel et Gumi, 2001
	Egypte	79.4%	680 Caprins	Œsophage, Diaphragme, Cœur Muscles squelettiques	Histologie	Morsy et al., 2011
		78.9%	379 Buffles	Coeur Oesophage, Langue	Digestion enzymatique Histologie	El-Dakhly et al., 2011

IFAT =indirect fluorescent antibody technique ; MP = microscopie photonique ; TEM = microscopie électronique à transmission ; PCR = polymerase chain reaction ; RFLP = restriction fragment length polymorphism, ND= non déterminé.

*Hainag : croisement d'une vache et d'un yack, carapacon : partie de la carcasse comprenant la poitrine, côtes et muscles abdominaux.

IV.4.2. Prévalence par espèce de *Sarcocystis*

La prévalence de *S. cruzi* semble être la plus élevée, notamment dans certaines régions du globe : 52% en Allemagne (**Moré et al., 2014**), plus de 70% chez les bovins adultes en Argentine (**Moré et al., 2009; Moré et al., 2011**) ou les jeunes bovins en Italie du sud (**Bucca et al., 2011**), 74.2% en Italie (**Domenis et al., 2011**), plus de 90% au Japon (Ono, Ohsumi, 1999), 96% dans le Colorado (**Gajadhar, Marquardt, 1992**), 97% en Belgique (**Vercruysse et al., 1989**).

La prévalence de *S. hirsuta* et *S. hominis* est quant à elle très variable selon les pays et les régions: 56 % en Belgique (**Vercruysse et al., 1989**). L'infestation des bovins par *S. hominis* serait de 42% à 60% en France (**Euzéby, 1997 ; Euzéby, 1998**), de 42.7% en Italie (**Domenis et al., 2011**), de 6.2% en Allemagne (**Moré et al., 2014**). L'infestation des bovins par *S. hirsuta* serait de 6.6% en Allemagne (**Moré et al., 2014**), de 1.8% en Italie (**Domenis et al., 2011**). L'infestation des bovins par *S. sinensis* serait de 37% en Allemagne (**Moré et al., 2014**).

IV.4.3. Prévalence en sante publique

La sarcosporidiose est une zoonose. L'homme peut être l'hôte définitif de deux espèces de *Sarcocystis*, *S. hominis* et *S. suihominis* dont l'hôte intermédiaire est respectivement le bovin et le porc. L'homme s'infecte en consommant des viandes crues ou insuffisamment cuites qui contiennent des sarcocystes (**Latif et al., 1999**). Ce mode de contamination est responsable de petites anadémies qui sont causes de la multiplication des sources de parasites pour les animaux (**Euzéby, 1998**).

Le portage intestinal chez l'homme de coccidies zoonotiques est relativement fréquent, souvent compris entre 6% et 10% quelles que soient les régions du monde observées (**Acha et Szyfres, 2005**). En Europe la prévalence varie de 1,6 à 10,4% selon les études, et en France, elle varie de 4 à 32 %. En revanche, ces études ne font pas la distinction entre *S. hominis* et *S. suihominis*.

D'autres études ont démontré que le portage intestinal pouvaient être de 10,4% chez des enfants en Pologne et jusqu'à 32% chez en France, et touchait même des individus très jeunes (enfants de 9 mois) (**Fayer, 2004; Velásquez et al., 2008; Taylor et al., 2010; Euzéby, 1998**) qui peut conforter l'idée d'une transmission verticale , anté natale (transplacentaire) et/ou néo-natale (colostrum et/ou lait maternel).

L'espèce *S. sui-hominis* est plus pathogène que l'espèce *Bovihominis* (**Euzéby, 1998**).

Au vu de la prévalence élevée des sarcocystes à travers le monde, on peut penser que cette zoonose est extrêmement fréquente mais ceci est à minimiser du fait de la consommation de morceaux de viandes où le parasite a moins de chance de se localiser (muscles squelettiques). Par exemple, en Argentine, la prévalence du parasite dans le filet (psoas major) n'est que de 73,1% alors qu'elle est de 99,5% dans le myocarde (**Moré et al., 2011**). L'infection sarcosporidienne des bovins, due à *S. hominis*, serait de 42 % en région parisienne tandis que de 3 % à 30 % des porcs seraient, en Allemagne, porteurs de kystes à *S. sui-hominis* (**Euzeby, 1997**). D'autre part une étude menée en Allemagne révèle que 13.64 % des malades souffrants de douleurs abdominales étaient infectés par des parasites intestinaux et seulement 2 % excrétaient des sporocystes de sarcocystes sans que la différence n'ait pu être faite entre *S. hominis* et *S. suishominis* (**Gauert et al., 1983**).

Malgré cela et bien que l'infection de l'homme par *Sarcocystis* se manifeste souvent de manière asymptomatique et / ou par des troubles digestifs modérés et transitoires, la forte prévalence de *S. hominis* dans les viandes destinées à la consommation humaine pousse à envisager cette infection comme un problème de santé publique non négligeable.

En effet dans des pays où la consommation de viande crue ou pas très cuite est courante tels que les pays de l'Europe de l'Ouest plus particulièrement en Belgique où un risque important d'infection humaine à *S. hominis* est à prévoir au vu de la consommation des steaks hachés contaminés de 97.4 %. mis en évidence par **Vangeel et al., 2007** et au Brésil, où la prévalence de *S. hominis* est de 94 % dans de la viandes en boulettes (**Pena et al., 2001**). La prévalence de *S. hominis* semble être très importante.

Une corrélation effectuée avec des études de prévalence de la toxoplasmose en France a montré une analogie entre la consommation élevée de viande de mouton et la forte séroprévalence de *Toxoplasma gondii*, ce qui pourrait induire une variation de la prévalence de *Sarcocystis spp* dépendant des habitudes alimentaires et une plus forte prévalence dans les régions à forte consommation de viande bovine avec une cuisson modérée (**Berger et al., 2008**).

En Algérie, aucune donnée n'est disponible quant au nombre de cas humain de sarcosporidiose déclarés par l'Institut National de la Santé Publique en 2015.

L'étude de **Fosse et al., (2006)** portant sur une analyse des risques biologiques par les viandes bovines pour le consommateur appliquée à l'abattoir a permis de d'identifier dix-neuf dangers biologiques dont 6 parasites. Parmi ces risques, ceux de natures parasites constituent des dangers peu fréquemment incriminés dans des cas cliniques humains, à la différence des dangers bactériens. Parmi l'ensemble de ces risques avérés, seuls 5 dangers sont parasites (*Alaria alata*, *Cysticercus bovis*, *Fasciola hepatica*, *Linguatula serrata* et *Sarcocystis bovi hominis*) (**tableau 06**) sont susceptibles d'être associés à des lésions macroscopiques observables lors de l'inspection.

Tableau 06 : Identification et caractérisation des dangers biologiques d'origine parasites transmis à l'homme par la consommation des viandes bovines (**Fosse et al., 2006**).

Danger	Av	Aut	Pv	Ph	G	D
<i>Alaria alata</i>	X	X	-	-	++	+++
<i>Cryptosporidium</i> spp		X	+	+	++	-
<i>Cysticercus bovis</i>	X	X	++	++	+	++
<i>Fasciola hepatica</i> (Syndrome Halzoun)	X		++++	-	-	++++
<i>Giardia intestinalis</i>		X	+	+	+	-
<i>Entamoeba</i> spp			-	-	+	-
<i>Linguatula serrata</i>	X	X	-	-	+	+++
<i>Sarcocystis</i> spp	X	X	++	+	+	+
<i>Toxoplasma gondii</i>	X	X	++	++	+++	-

Av : danger avéré ; **Aut** : danger autochtone ; **Pv** : prévalence des dangers sur les viandes bovines ; **Ph** : prévalence des cas cliniques induits par les dangers chez l'homme ; **G** : gravité des signes cliniques induits chez l'homme par les dangers ; **D** : détectabilité lors d'un examen macroscopique visuel des carcasses.

D'autre part , l'étude sur l'évaluation quantitative des risques biologiques pour le consommateur de viande de porc a fait ressortir que celle ci peut être à l'origine de la transmission à l'homme de trente-cinq dangers biologiques dont douze sont avérés, actuels et autochtones dont 3 dangers parasites (*Sarcocystis sui hominis*, *Toxoplasma gondii* et *Trichinella spiralis*) (**Tableau 07**).

Parmi les trois dangers parasitaires, seul *Sarcocystis suihominis* peut éventuellement être mis en évidence lors d'un examen macroscopique des carcasses du fait de lésions de myosite éosinophilique, non spécifiques (Fosse et al., 2007).

Tableau 07 : Dangers biologiques d'origine parasitaires avérés transmis à l'homme par la consommation des viandes de porc (Fosse et al., 2007).

Danger	TH (%)	TL (%)	G	TI (cas / 100000 habitants / an)	PA (%)	TI porc (cas / 100000 habitants / an)	R
<i>Sarcocystis suihominis</i>	1,00	0,01	1,10	0,0025	10	0,00025	0,000275
<i>Toxoplasma gondii</i>	0,82	0,07	1,52	4,250	10	0,425	0,053
<i>Trichinella spiralis</i>	11,15	0,30	14,15	0,025	55,88	0,014	0,198

Taux d'hospitalisation (TH) et de létalité (TL) moyens des cas cliniques humains, Notes de gravité (G), taux d'incidence annuelle (TI), parts alimentaire (PA), Taux d'incidence annuelle moyen des cas humains dus aux viandes de porc (TI porc), notes de risque (R).

V- TABLEAU ANATOMO-CLINIQUE

V.1. Chez l'hôte intermédiaire (bovin)

La sévérité des symptômes chez l'hôte intermédiaire dépend de son statut immunitaire, de son statut physiologique (gestation, lactation), de la quantité de sporocystes ingérés et de l'espèce de sarcosporidie impliquée, par exemple, *Sarcocystis cruzi* est jugée comme étant l'espèce la plus pathogène chez les bovins (Dubey et Lindsay, 2006).

V.1.1. Sarcosporidiose Aigue

Généralement, l'infestation est inapparente mais l'infection peut évoluer sous une forme aiguë conduisant à l'apparition de signes cliniques non spécifiques. Par conséquent elle n'est que rarement suspectée et pratiquement jamais diagnostiquée sur le terrain.

Ces signes apparaissent environ trois à quatre semaines après l'ingestion (ce qui correspond au déroulement du deuxième cycle de schizogonie) et qui se manifestent par de la fièvre (sans doute due à l'action de l'interleukine 1 sur les centres thermorégulateurs), l'anorexie, l'anémie normocytaire normochrome non régénérative, une faiblesse musculaire, alopecie de l'arrière train, une baisse de la production laitière et une diminution du poids (Jensen et al., 1986; Gajadhar et Marquardt, 1992; Vangeel et al., 2012).

C'est le cas de la maladie de Dalmeny en référence à un hameau se trouvant en Ontario au Canada où elle fut signalée pour la 1^{ère} fois en 1961 (**Corner et al., 1963**). On peut même parfois observer des avortements (**Dubey et Bergeron, 1982**) ou des morts fœtales (**Tenter, 1995**). Des lésions nécrotiques et inflammatoires du placenta accompagnées de lésions au niveau pulmonaire, myocarde et l'encéphale sont retrouvées au niveau du fœtus qui, parfois, est en voie d'autolyse. Le mécanisme à l'origine des avortements induits par la sarcosporidiose est encore inconnu car on n'arrive pas à reproduire l'avortement par inoculation expérimentale et on ne retrouve pas forcément d'avortements lors d'épidémie de sarcosporidiose.

De plus, le diagnostic de certitude est difficile car *Sarcocystis* n'est que rarement retrouvé dans le fœtus et les annexes fœtales (**Uggla, Buxton, 1990; Euzéby 1998**). La sarcosporidiose aiguë peut occasionnellement entraîner la mort de l'animal. (**Dubey et al., 1988**).

Ces symptômes sont souvent plus marqués lors de la phase de production des mérozoïtes c'est à dire lors des multiplications tachy-endopolygénique (**Uggla, Buxton, 1990**). C'est durant cette phase qu'il y a le plus d'antigènes exposés au système immunitaire de l'hôte et la réponse maximale en anticorps a lieu lors des dernières étapes de mérogonie. Cette immunité humorale est d'autant plus solide et durable que la dose de parasites qui l'a conférée était plus élevée (**Savini et al., 1997; Euzéby 1998**).

L'apparition de cette forme aiguë a lieu notamment lorsqu'une importante dose de sporocystes infectants est ingérée par des bovins naïfs. On peut observer cette forme aiguë lorsqu'un bovin ingère en une seule fois au moins 50 000 sporocystes de *S. cruzi* mais une ingestion de 200 000 ookystes entraîne la mort de l'animal.

S. cruzi est réputée être la plus pathogène des espèces évoluant chez les bovins (**Dubey et al., 1989**) alors que *S.hirsuta* (**Dubey et Fayer., 1983**) et *S.hominis* (**Dubey et al.,1988**) ne sont que moyennement pathogène. Dans tous les cas, la gravité des symptômes est fonction de la quantité de sporocystes ingérés (**Fayer et Dubey, 1986**).

Les animaux ayant survécu à une sarcosporidiose aiguë acquièrent en général une immunité qui les protège contre la réinfestation par une espèce homologue (immunité de prémunition) mais pas contre celle par une espèce hétérologue (**Uggla, Buxton, 1990**). En effet, il n'y a pas d'immunité croisée entre les 28 différentes espèces de *Sarcocystis* et dans la grande majorité des cas (96%) on retrouve des co-infestations entre les différentes espèces de *Sarcocystis* (**Pena et al., 2001**).

V.1.2. Sarcosporidiose Chronique

La sarcosporidiose d'évolution chronique est la forme la plus fréquente et ne se manifeste que par une symptomatologie très fruste. Cette forme est aussi appelée sarcosporidiose musculaire car elle est caractérisée par la formation de kystes dans les muscles. Ces kystes apparaissent quatre mois après l'ingestion. L'absence de forme aiguë est probablement la conséquence d'une ingestion à faible dose d'ookystes **(Euzéby, 1998)**. Toutes les masses musculaires peuvent être concernées par cet enkystement, mais certaines sont considérées comme électives : le myocarde, de l'oesophage, de la langue, muscles masseter, muscle urétral et du diaphragme **(Bucca et al., 2011)**. Il semblerait que *S. cruzi* soit préférentiellement localisé dans le myocarde **(Bertin, 2013)**.

Des symptômes musculaires de type rhumatoïdes peuvent être observés, et sont polymorphiques selon le groupe de muscles atteint avec, par exemple une difficulté de préhension de mastication et de déglutition, myosites diverses à caractère pseudo- rhumatismal, accidents cardiaques avec blocage auriculo-ventriculaire, si l'infection intéresse les fibres de Purkinje seront observés. Mais le plus souvent, à ce stade, l'infection est latente, cryptosymptomatique **(Euzéby, 1998)**. En revanche même si les symptômes ne sont pas toujours visibles, la diminution des performances de production sont associées à l'évolution chronique de la maladie **(Daugochies et al., 2000)**.

La présence de kystes sarcosporidiens dans les muscles est parfois associée à des myosites éosinophiliques **(Boireau et al., 2002)**. Ce sont des lésions inflammatoires musculaires, cliniquement asymptomatiques, caractérisées par la présence dans le muscle de plages verdâtres rencontrées essentiellement à l'inspection des viandes, conduisant à la saisie partielle ou totale de la carcasse concernée **(Euzéby, 1998)**.

Ainsi, en général, la sarcosporidiose musculaire chronique est une découverte d'abattoir, à cause des lésions de myosite éosinophilique sur les carcasses. En 1992, aux États-Unis, 5% des carcasses étaient rejetées pour cause de myosite éosinophilique **(Gajadhar, Marquardt, 1992)**. Elle n'est pas détectable sur les animaux vivants qui apparaissent comme cliniquement sains **(Jensen et al., 1986)**. Elle n'est pas due à une espèce de sarcosporidie en particulier et différentes espèces peuvent être retrouvées au sein de lésions de myosite éosinophilique **(Vangeel et al., 2013)**. En revanche, *S. hominis* serait retrouvée plus fréquemment dans les lésions de myosite éosinophilique **(Bertin, 2013)**. En Algérie, les lésions de myosite éosinophilique n'ont pas encore été observées au niveau des abattoirs lors de l'inspection des viandes **(Aissi et al., 2013)**.

En ce qui concerne l'immunité en phase chronique de l'infestation, bien que les plasmocytes, élaborateurs d'anticorps se déposent autour des parasites, une composante cellulaire est plus importante : infiltration lymphocytaire et macrophagique, cytotoxicité des lymphocytes T, entraînant la lyse des parasites et du tissu qui les renferme, suivie de phagocytose par les macrophages. Cette immunité cellulaire vise à détruire les kystes et est à l'origine de la formation de granulomes inflammatoires caractéristiques de la myosite éosinophilique (**Euzéby, 1998**).

V.2. Chez les hôtes définitifs (Chien –Chat-Homme)

Les symptômes chez les hôtes définitifs sont ceux d'une coccidiose sarcocystique déterminée par le parasitisme par les gamétocytes, n'est pas génératrice d'immunité, car, contrairement aux schizontes, les formes sexuées des *Sarcocystis* sont peu immunogènes et la schizogonie n'existe pas chez les hôtes définitifs. De ce fait, l'hôte définitif ne développera pas d'immunité lors d'une infection (**Euzeby, 1998**).

V.2.1. Chez les animaux

Les *Sarcocystis* ne sont en général pas pathogènes pour les carnivores cependant comme c'est une coccidiose, il peut y avoir une entérite diarrhéique bénigne et sans fièvre affectant peu l'état général et qui rétrocede d'elle-même en quelques jours (**Mary, 2005**). Les périodes pré-patente et patente ne sont pas connues avec précision car très peu d'études sont menées sur les hôtes définitifs, mis à part l'homme. Chez le chien, la période pré-patente serait de 7 à 33 jours, et chez le chat d'environ une à deux semaines (**Lunde et Fayer, 1977, Latif et al., 1999**).

Pour les 2 espèces, la période patente n'a pas été déterminée avec précision, elle serait d'une semaine à plusieurs mois. Chez le chien et le chat, l'infestation est la plupart du temps inapparente (**Bowman et al., 2002**). On peut cependant observer, dans certains cas chez le chien, des troubles digestifs caractérisés par une diarrhée profuse hémorragique, ce qui est due un arrachement de la muqueuse intestinale au moment de l'éjection des ookystes du fait que la gamétogonie s'effectue dans la lamina propria.

Cette coccidiose peut récidiver puisque les hôtes définitifs ne développent pas d'immunité lors de coccidiose à sarcocystis (**Bourdoiseau, 1993**). D'après **Dubey et Fayer (1983)** des carnivores nourris avec de la viande contaminée excrètent de nombreux sporocystes mais ne présentent pas de signes cliniques sauf parfois des vomissements et une anorexie pendant un à deux jours.

A noter que la viande de bœuf présentant des lésions de myosite éosinophilique n'est pas plus pathogène que celle de bovins infestés apparemment sains. Au contraire, on trouve plus de parasites infestants dans les muscles des carcasses non saisies pour myosite éosinophilique que dans les muscles des carcasses présentant une myosite éosinophilique (**Gajadhar, Marquardt 1992**). En outre, une étude a montré que des chats qui ont ingéré de la viande présentant une myosite éosinophilique n'ont pas excrété de sporocystes contrairement à ceux qui ont ingéré de la viande sans myosite éosinophilique (**Jensen et al., 1986**) car l'espèce *S.hirsuta* n'est pas incriminée dans l'apparition de ce type de lésions (ME) (**Bertin ,2013**).

V.2.2. Chez l'homme

La sarcosporidiose intestinale humaine n'est pas inhabituelle. L'homme peut présenter des symptômes, après ingestion de viande de bovins, ovins ou porcins crue ou insuffisamment cuite (**Latif et al., 1999**) contenant des sarcocystes de *Sarcocystis hominis* qui est une espèce moyennement pathogène pour l'homme (**Aryeetey et Piekarski, 1976 ; Bussiéras, 1994 ; Dubey et al., 1989b ; Heydorn, 1977**).

Les viandes parasitées conserveraient leur pouvoir infestant pendant un temps variable, de l'ordre de plusieurs semaines (10-12 semaines) à plusieurs mois (6 mois à 3-4 ans) (**Euzéby, 1998**), bien que la consommation de la viande plusieurs mois après l'abattage du bovin sans conservation par congélation est improbable (**Léonard, 2014**).

Chez l'homme, la période pré-patente est de 18 à 39 jours et la période patente est de 2 à 179 jours (**Pena et al., 2001**). La gravité des symptômes est liée à la quantité de viande ingérée et à l'état immunitaire de la personne infestée (**Fayer, 2004**). L'apparition des symptômes sont due à la sarcocystine qui s'accumulent dans les kystes, après l'abattage des animaux et qui n'est pas détruite à des températures inférieures à 50°C (**Euzeby, 1997**). Dix jours après l'ingestion, (La période où commence l'excrétion des sporocystes), un syndrome de type coccidiose est observé, il se traduit par une entérite diarrhéique et le plus souvent asymptomatique (**Euzeby, 1998**). Cependant, des signes cliniques peuvent apparaître lors de la formation des gamètes dans la lamina propria alors on observe un premier syndrome d'allure toxique qui apparaît trois à huit heures après l'ingestion et se prolonge pendant 24 à 36 heures. Celui ci se manifeste par une anorexie, des nausées, des vomissements, des douleurs gastro-intestinale et de la diarrhée aqueuse (**Dubey et al., 1989b**). Vu que le tableau clinique de la sarcosporidiose intestinale chez l'homme est identique à une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) pourrait expliquer que sa prévalence soit sous estimée.

Les symptômes sont transitoires et rétrocedent sans traitement et s'accompagnent de l'émission de sporocystes dans les selles qui débute entre 11 et 13 jours suivant l'infection et peut durer jusqu'à 3 à 4 semaines après l'ingestion des kystes sarcosporidiens (**Fayer, 2004**).

Les cas les plus graves peuvent aller jusqu'à l'inflammation ou à l'hémorragie et la nécrose de l'intestin grêle (**Xiang et al., 2009**). Chez les individus immunodéprimés, la sarcosporidiose peut engendrer des troubles systémiques et peut conduire à la mort (**Velásquez et al., 2008**). Lors d'infection avec *S. suishominis*, on observe de l'anorexie, des nausées, de vives douleurs gastriques, de l'œdème et de la diarrhée débutent 6 à 8 heures après le repas et durent jusqu'à 48 heures (**Bussiéras, 1994**). Les sporocystes apparaissent dans les matières fécales 14 à 18 jours après l'infection (**Dubey et al., 1989b**).

De même que *S. sinensis* peut entraîner les mêmes symptômes chez l'homme bien que ce dernier ne soit pas hôte définitif du parasite (pas d'excrétion d'ookystes ni de sporocystes après ingestion de kystes à *S. sinensis*). L'hôte définitif de *S. sinensis* reste inconnu à ce jour (**Chen et al., 2011**).

Par ailleurs l'homme peut parfois développer des kystes musculaires de sarcocystes. Cette sarcosporidiose de l'homme est surtout décrite en Afrique sub saharienne, dans le Sud Est Asiatique, en méso- et sud- Amérique mais aussi en Europe (France, Italie, Grèce, Yougoslavie et Grande Bretagne) (**Euzéby, 1997**). Plusieurs espèces sont sans doute en cause mais elles sont regroupées sous une seule espèce *S. lindemanni*. Cette infection est rare et mal connue (**Euzéby, 1997; Fayer, 2004**).

La sarcosporidiose humaine est toujours d'origine zoonotique mais la localisation musculaire des sarcosporidies chez l'homme ne constitue pour les parasites qu'un cul de sac évolutif car pour que se poursuive l'évolution, il faudrait que l'homme soit victime de prédation par un carnivore sauvage (**Euzéby, 1997**).

Des études expérimentales sur des volontaires allemand et chinois infectés par la consommation de viande crue infectée par *S. cruzi* ont permis la reproduction de la clinique de la sarcosporidiose (nausée, douleur abdominale, diarrhée, etc). Toutefois l'intensité des symptômes est en relation avec la quantité de viande ingérée et la réponse de chaque individu. Les signes les plus graves ont été observés en Thaïlande sur 06 individus qui ont développés une entérite nécrosante nécessitant une intervention chirurgicale (**Desportes-Livage et al., 2005**). Les manifestations des différentes formes chez l'homme sont regroupées dans le **tableau 08**.

Tableau 08 : Caractéristique de la sarcosporidiose humaine en tant qu'hôte définitif et hôte intermédiaire (Fayer et al., 2004).

Caractéristique	Infection musculaire (hôte intermédiaire)	Infection intestinale (hôte définitif)
Source	Eau ou aliment contaminé par les fèces d'un carnivore ou d'un omnivore	Viande crue ou mal cuite
Stade infectieux	Ookystes ou sporocystes libres	Sarcocystes contenant des bradyzoites
Développement	Schizontes intra vasculaire Sarcocystes intramusculaire	Reproduction dans la lamina propria, élimination dans les fèces
Incubation	Plusieurs semaines à plusieurs mois	3 à 6 H jusqu'à 36 heures
Symptômes	Douleur musculaire, Fièvre, cardiomyopathie, Broncho- spasme, œdème sous cutanée	Nausée, perte d'appétit, vomissement, diarrhée
Diagnostic	Biopsie, anticorps contre les bradyzoites	Ookystes ou sporocystes dans les fèces
Traitement	Co-trimoxazole, furazolidone Albendazole, Anticoccidien, pyriméthamine, anti inflammatoire	Aucun

VI- PATHOGENIE ET IMMUNOLOGIE

VI.1. Pathogénie (Euzéby, 1998)

La pathogénicité des *Sarcocystis* s'exerce chez les hôtes définitifs sous forme de coccidiose intestinale et chez les hôtes intermédiaires sous forme de sarcosporidiose musculaire.

Leur pouvoir pathogène est lié:

- d'une part, à une action phlogogène et nécrosante : elle est le fait de la synthèse de divers facteurs chimiotactiques agissant sur les leucocytes et les granulocytes, et de la synthèse de certaines cytokines élaborées par les macrophages. La nécrose est le résultat de la destruction des cellules présentes sur le site inflammatoire, conduisant à l'apparition des pétéchies et des lésions légèrement suppuratives parfois observées ;

- d'autre part, à une action toxique et antigénique. La sarcocystine est une protéine thermolabile, résistant néanmoins aux températures inférieures à 50°C, toxique et même létale si on l'injecte à

des lapins. Elle est à l'origine d'une élévation du taux de somatotatine et d'une diminution du taux d'IGF-1. Elle exerce une action à la fois chez les hôtes définitifs et chez les hôtes intermédiaires. Les antigènes sarcosporidiens peuvent être classés en différentes catégories : les antigènes de surface, (polypeptides communs à différents stades de développement du parasite : les sporozoïtes, les tachyzoïtes et les bradyzoïtes) ; les antigènes cytoplasmiques (isolés à partir des tachyzoïtes) ; les antigènes issus des micronèmes. Les différents types d'antigènes conduisent à la formation d'IgG, d'IgM et d'IgE.

VI.2. Immunologie

VI.2.1. Chez les hôtes intermédiaires

Il existe, chez les hôtes intermédiaires que sont les bovins, deux types d'immunité qui se mettent en place. La première est une immunité humorale, composée d'IgG, d'IgE et d'IgM, qui s'exerce sur les tachyzoïtes, stades circulants du parasite. Les IgM apparaissent 15 jours après ingestion puis leur concentration diminue au delà de 3^{ème} mois. Les IgG quand elles sont détectées à partir de la 5^{ème} semaine post ingestion et persistent pendant au moins 6 mois (**Fayer et Dubey, 1986**). Les Ig E, leur cinétique n'est pas encore bien connue mais leur production est néanmoins confirmée (**Euzéby, 1998**). Il existe également une immunité cellulaire visant à détruire les kystes musculaires et à l'origine de la formation de granulomes. L'immunité cellulaire fait intervenir une infiltration lymphocytaire et macrophagique, avec cytotoxicité des lymphocytes T et phagocytose par les macrophages (**Euzéby, 1998**).

L'immunité conférée est une immunité dite de co-infection ou immunité de prémunition (**Savini et al., 1996**). Une fois mise en place, une telle immunité empêche l'apparition de symptômes de sarcosporidiose aiguë. Des bovins à qui on avait déjà fait ingérer des sporocystes, se sont vus résister à une infection, à une dose létale, de sporocystes (**Tenter, 1995**). L'immunité est spécifique ainsi il n'existe pas d'immunité croisée. La protection conférée par *S. cruzi* n'est pas valable pour *S. hirsuta* (**Dubey et al., 1989**).

VI.2.2. Chez les hôtes définitifs

Contrairement aux autres coccidioses, l'hôte définitif peut être réinfecté. En effet, les stades sexués (gamétocytes) de *Sarcocystis spp* sont très peu immunogènes contrairement aux stades de la schizogonie (tachyzoïtes).

En conséquence, l'hôte définitif ne développera pas d'immunité. En conséquence une réinfection lors de consommation de viande crue entraînera à nouveau l'apparition d'élimination ookystes dans les fèces des hôtes définitifs, sinon de signes cliniques souvent discrets (**Euzéby, 1998**).

VII. TABLEAU LESIONNEL

Lors de la mort des animaux atteints de sarcosporidiose aiguë, on observe à l'autopsie : des lésions hémorragiques allant des pétéchies aux ecchymoses et une lymphadénite, particulièrement des nœuds lymphatiques mésentériques. Au niveau microscopique, on trouve des lésions de vascularite et des hémorragies dues aux lésions endothéliales provoquées par les tachyzoïtes ainsi qu'une nécrose des myocytes associée à la pénétration des mérozoïtes dans les myocytes. On peut trouver également des formes prolifératives du parasite dans les cellules endothéliales des vaisseaux de la majorité des organes. Les kystes peuvent dégénérer, il sont alors encerclés par des granulocytes neutrophiles et éosinophiles voire occasionnellement des cellules géantes mais il est très fréquent de retrouver des kystes sans réaction inflammatoire périphérique (Radostis *et al.*, 2008; Lindsay *et al.*, 1995; Euzéby, 1998).

La prévalence des kystes sarcosporidiens dans les muscles des bovins adultes semble être de 100% pourtant, certains animaux atteints de sarcosporidiose développent une myosite éosinophilique (ME). Cela représenterait de 0,002% à 0,013% dans différentes régions du monde (Vangeel *et al.*, 2012) et jusqu'à 0,086% des bovins abattus en France (Pays de la Loire) en 2011. Généralement, la présence de kystes sarcosporidiens n'est pas visible macroscopiquement et leur détection doit être faite par observation des tissus musculaires au microscope.

Ainsi, en général, la sarcosporidiose musculaire chronique est une découverte d'abattoir, à cause des lésions de myosite éosinophilique sur les carcasses (**Figure 12**). En 1992, aux États-Unis, 5% des carcasses étaient rejetées pour cause de myosite éosinophilique (Gajadhar, Marquardt, 1992). Elle n'est pas détectable sur les animaux vivants qui apparaissent comme cliniquement sain (Jensen *et al.*, 1986). Elle n'est pas due à une espèce de sarcocystis en particulier et différentes espèces peuvent être retrouvées au sein des lésions de myosite éosinophilique (Vangeel *et al.*, 2013).

En revanche, *S. hominis* serait retrouvé plus fréquemment dans les lésions de myosite éosinophilique (Bertin, 2013). Les lieux d'élection des lésions sont : l'œsophage, le diaphragme, les muscles squelettiques et le cœur (Vangeel *et al.*, 2012).



Figure 12 : Carcasse présentant des lésions de myosite éosinophilique (source G. Bénard ENVT) (**Flandrin, 2014**)

Lors de sarcosporidiose musculaire chronique, on peut observer deux types de lésions macroscopiques provoquées par la dégénérescence des kystes sarcosporidiens.

-Le premier type de lésions se caractérise par des lésions assez larges de 5 à 15 cm de diamètre, irrégulières, globuleuses, plus ou moins fermes et fibreuses (**Figure 13 a**). Elles sont jaune pâles, plus ou moins grisâtres ou verdâtres, et présentent éventuellement des traces rouges. Leurs bordures suivent le plus souvent les aponévroses musculaires. Elles représentent environ 7,5% des carcasses observées par **Jensen et al., 1986**.

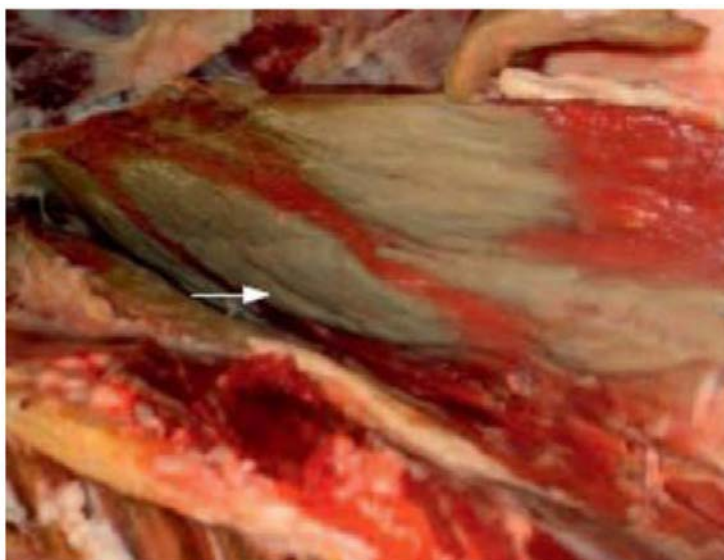


Figure 13 a : Lésions diffuses et étendues de myosite éosinophilique, observées dans un muscle de bovin (Cappelier et Honore, 2012).

- Le deuxième type décrit (**Figure 13 b**), et le plus commun (92,5% d'après **Jensen et al., 1986**), présente des lésions multifocales, fusiformes à rondes, beaucoup plus petites (0,5 à 5 mm x 0,5 à 2 mm) et discrètes. Elles sont allongées dans le sens des fibres musculaires. Leur couleur dépend de la durée d'évolution. Les plus récentes sont vertes et les plus anciennes grises, éventuellement verdâtres, surtout en périphérie. Les lésions cicatricielles sont grises à jaunâtres avec des foyers verdâtres et parfois des nodules marron énucléables, de 0,1 à 0,5 mm de diamètre. Les zones où les lésions sont coalescentes, les lésions de 1 à 4 mm de diamètre prennent un aspect ferme, et des zones verdâtres plus larges peuvent irradier le long des périmyssium du muscle concerné, irradiant parfois jusqu'à 30 mm des lésions primaires observées. Ce type de lésion est observé chez les jeunes animaux (**Kimura, 2011 ; Jensen et al., 1986**).



Figure 13 b : Lésions multifocales disséminées de myosite éosinophilique, avec centre suppuré, sur une section de muscle de bovin (**Wouda et al., 2006**).

Microscopiquement, **Jensen et al., 1986** discernent les lésions, de type granulomateux, caractérisées par une masse nécrotique qui contient de nombreux granulocytes éosinophiles et quelques macrophages ; ces cellules sont d'ores et déjà dégradées, par pycnose ou chromatolyse.

Au fur et à mesure du vieillissement de la lésion, le centre se dégrade de plus en plus, on observe des fragments de myocytes ayant perdu tout noyau et toute striation, et bien que la plupart des cellules restent identifiables, en dehors des zones calcifiées, la plupart des granulocytes éosinophiles sont morts ou dégranulés. En périphérie, de nouveaux granulocytes éosinophiles interviennent encerclant la paroi du granulome constituée de cellules pâles, épithélioïdes formant une palissade. A l'extérieur du granulome, formant une frontière entre celui-ci et les cellules musculaires saines, se trouvent de nombreuses cellules immunitaires telles que des lymphocytes, des granulocytes éosinophiles, mais aussi des macrophages, des mastocytes et quelques hématies, comme on peut le voir sur la **figure 14 et 15**.

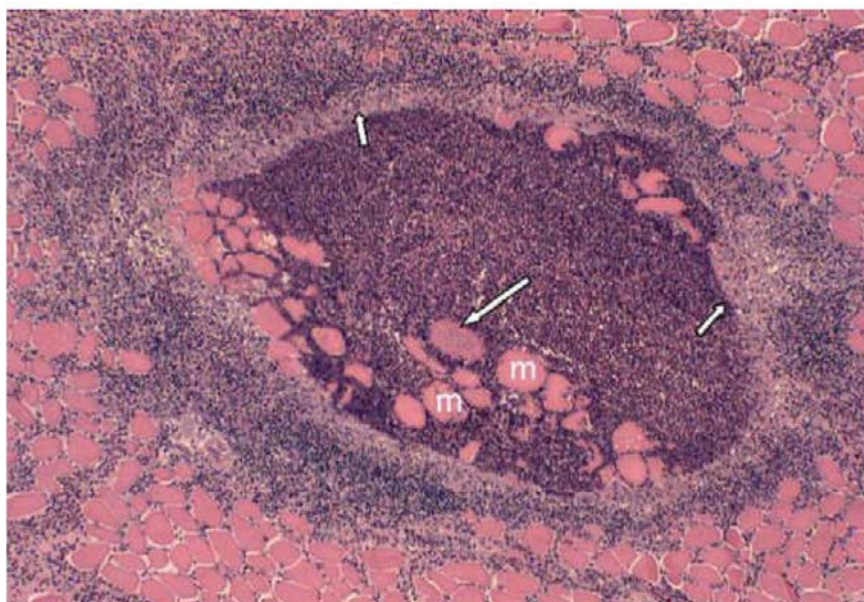


Figure 14 : Lésions microscopiques de granulome éosinophilique dans un muscle de bovin. (Sarcocyste (grande flèche) entouré de myocytes dégénérés (m), de granulocytes éosinophiles, de cellules épithélioïdes (petites flèches) et de fibrocytes)(**Wouda et al., 2006**).

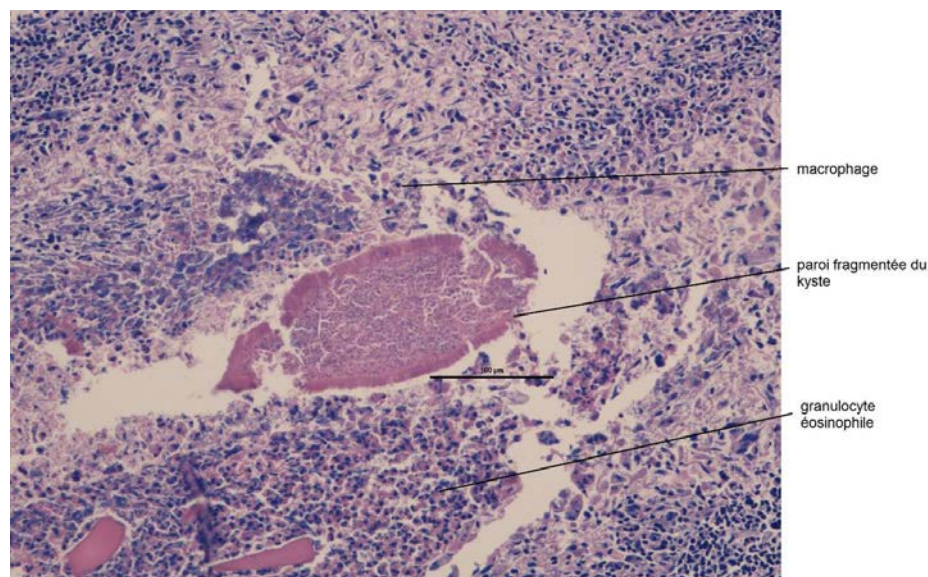


Figure 15 : Myosite éosinophilique, vue au microscope optique (Gr. x200)
(source : G. Bénard, ENVT)(**Léonard, 2014**).

Enfin, le tissu est fortement dégénéré et modifié, le centre ne contient plus que des débris cellulaires. La paroi du granulome est formée de cellules polynucléaires géantes, de lymphocytes et de tissu fibreux. Le granulome est entouré d'un tissu fibrosé contenant quelques cellules modifiées telles que des myocytes, des lymphocytes et des granulocytes éosinophiles dégradés. Les cellules entourant ces lésions sont également modifiées, d'autant plus qu'elles sont proches de la lésion.

Certaines carcasses présentent des nœuds lymphatiques régionaux également touchés par les transformations ; ils sont grisâtres et de taille augmentée. L'étendue et la localisation des lésions macroscopiques conduisent à la saisie des carcasses qui sont impropres à la consommation humaine.

Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la pathogénie des lésions de ME. L'étude histologique montre qu'au centre des lésions de ME se trouvent des sarcocystes dégénérés où en voie de dégénérescence (**Dubey et Lindsay, 2006**). Par contre en 1992, **Gajadhar et al.**, montrent que les carcasses comportant des lésions de ME contiennent moins d'éléments parasitaires que les carcasses sans lésions ; Ceci appuie l'hypothèse faite que cette lésion de ME serait révélatrice d'une réponse immunitaire de l'hôte contre la parasite (**Granstrom et al., 1989**).

Ces lésions ont été très bien décrites sur des carcasses saisies pour ME (**Jensen et al., 1986**). **Vangeel** montre en 2012 qu'il est possible de provoquer l'apparition des lésions similaires aux ME par injection intramusculaire d'un mélange d'antigènes de *Sarcocystis* provenant de kyste à paroi fine et épaisse, ceci conforte l'hypothèse primordial du système immunitaire dans l'apparition des lésions (**Vangeel et al., 2012**).

Il reste à déterminer quelles sont les causes qui entraînent l'hôte à réagir vis-à-vis de certains kystes alors que d'autres ne seront concernés par aucune réaction inflammatoire (Vangeel et al., 2013).

Aucune bactérie ni virus pathogènes et aucunes carences ne provoquent de telles lésions (Jensen et al., 1986). En revanche, il est prouvé que d'autres parasites musculaires provoquent de telles lésions: *Trichinella spiralis* (Ely, Fox, 1989) où encore la migration de trématodes ou d'échinocoques (Javadi, Doustar, 2011).

En outre, il existerait des espèces de *Sarcocystis* géantes, visibles à l'oeil nu : c'est le cas de *S. fusiformis* et *S. buffalonis* infestant les buffles d'eau ou *S. gigantea* infestant les ovins (Huong, 1999). *S. hirsuta* pourrait dans des cas très rares se présenter sous forme macroscopique lorsqu'un kyste mature contiendrait des milliers de bradyzoïtes (Lindsay et al., 1995).

Bertin, en 2013 constate qu'une infection mixte à *S. cruzi* et *S. hominis* pourrait diminuer la fréquence des myosites éosinophiliques (ME) chez les bovins abattus et qu'elle serait différente selon la race (blonde d'aquitaine et parthenaise) et la catégorie de bovins. Le taux de saisies est plus élevé chez les vaches et génisses que chez les jeunes bovins, bœuf et taureau. Cet auteur formule l'hypothèse que la qualité et la forme de cette réponse immunitaire dépendraient de l'espèce de *Sarcocystis* rencontrée par le bovin. Il existerait éventuellement une forme de réponse qui serait plutôt en faveur de l'apparition de symptômes aigus et en défaveur de l'apparition future de myosite éosinophilique, tandis que d'autres formes de réponse seraient plutôt en faveur de l'apparition de myosite éosinophilique.

S. hominis serait le principal responsable de l'apparition des lésions de myosite éosinophilique,

VIII.DIAGNOSTIC

VIII.1. Chez l'hôte intermédiaire

Le diagnostic clinique de la sarcosporidiose du vivant de l'hôte intermédiaire est très difficile, aussi bien dans la forme aiguë que dans la forme chronique de l'infection. En effet, la forme aiguë ne comporte pas toujours de symptômes et lorsqu'ils se manifestent, ils sont très frustes et non spécifiques.

Du point de vue clinique, on ne peut avoir que des éléments de suspicion (Euzéby, 1998). Par conséquent, des techniques ont été développées pour diagnostiquer la sarcosporidiose chez des bovins atteints que ce soit sur cadavre (prélèvement en abattoir) où sur un bovin vivant.

VIII.1.1 Diagnostic morphologique

Le diagnostic morphologique repose sur l'observation de sarcocystes et /ou de bradyzoites et éventuellement sur l'observation de lésions de myosites éosinophiliques. Il est généralement utilisé lors de l'examen post mortem des bovins (à l'abattoir).

Diverses techniques ont été développées pour augmenter la sensibilité de ce diagnostic. Ces tests permettent donc de savoir si un animal abattu est porteur du parasite et éventuellement de différencier les espèces de *sarcocystis* (**tableau 09**).

Tableau 09 : Les différentes techniques du diagnostic morphologique de la sarcosporidiose bovine (**Guénégan., 2009**).

Techniques (références)	Mode opératoire	Éléments recherchés	Commentaire
Inspection visuelle (Latif et al., 1999)	Observation de la surface des muscles et des surfaces de coupe à l'œil nu sur la chaîne d'abattage	Sarcocystes Couleur anormale : Myosite éosinophilique	Sensibilité quasi nulle si absence de myosite éosinophilique Facile, faible coût
Histologie (Collins et al., 1980 ; Dubey et al., 1989 b).	Observation au microscope photonique	Sarcocystes, Mérozoites, Bradyzoites Myosite éosinophilique	Faible sensibilité Distinction des sarcocystes à paroi épaisse de ceux à paroi mince
	Observation au microscope électronique	Sarcocystes, Mérozoites, Bradyzoites	Faible sensibilité détermination de l'espèce sarcocyste
Trichinoscopie (Euzéby, 1997)	Ecrasement des fibres musculaires entre deux plaques de verres : observation par transparence au microscope photonique	Sarcocystes, Mérozoites, Bradyzoites	Très faible sensibilité
Digestion enzymatique (Collins et al., 1980)	Destruction des sarcocystes et libération des bradyzoites par utilisation de la pepsine ou de la trypsine	Bradyzoites, Mérozoites	Forte sensibilité

Une fois l'animal mort, il est possible d'effectuer des prélèvements de muscles permettant d'une part, l'observation de lésions éventuelles et d'autre part, la mise en œuvre d'outils de diagnostics.

- **Observation de lésions à l'autopsie**

Lors de la forme aiguë de la sarcosporidiose, des lésions hémorragiques peuvent être observées aussi bien au niveau des muscles que sur les viscères avec des lésions nécrotiques, des adénopathies et parfois une endocardite mais les lésions ne sont pas spécifiques de la sarcosporidiose (**Euzeby, 1998**).

En ce qui concerne la sarcosporidiose chronique, il est possible d'observer des lésions typiques de kystes en particulier lorsqu'une infiltration éosinophilique a eu lieu.

- **Microscopie optique et électronique**

Il existe plusieurs techniques d'observation des échantillons au microscope optique sur coupe histologique ou après digestion enzymatique.

- Pour les coupes histologiques, les prélèvements sont fixés dans du formol à 10%. Des coupes de 4-7 μm d'épaisseur sont réalisées qui sont ensuite colorées à l'hématoxyline –Eosine (HE) (**Ono et Ohsumi, 1999 ; Vangeel et al., 2013**).

- le prélèvement de muscle peut être également broyé puis placé dans une solution de digestion enzymatique base de pepsine et d'acide chlorhydrique. Le produit de digestion est ensuite décanté et 2-3 gouttes sont récupérées pour la réalisation d'un frottis qui sera coloré au May Grunwald Giemsa (MGG). Les lames obtenues sont observées au microscope optique (**Khouni, 2009 ; Mary, 2013**).

A l'observation des différentes lames obtenues, le diagnostic de la sarcosporidiose peut ainsi être fait lorsque les sarcocystes sont mis en évidence. De plus l'observation de la paroi permet de réaliser un diagnostic d'espèce (**Dubey et al., 1989**). Dans le cas de *Sarcocystis* infectant les bovins, *S. cruzi* dont les kystes ont une paroi fine ($< 1 \mu\text{m}$) peuvent être différenciés de *S. hirsuta* et *S. hominis* pour qui les kystes ont une paroi épaisse (2-7 μm) (**Wouda et al., 2006**). Cette différenciation peut être réalisée au microscope optique.

Cependant la distinction entre les espèces à paroi épaisse nécessite l'observation des villosités de la paroi .Ce qui ne peut se faire qu'à l'aide d'un microscope électronique.

Ainsi le sarcocyste de *S.hominis* présente des villosités en palissade et en forme de doigt avec une extrémité arrondie et une base large. Celui de *S.hirsuta* a des villosités larges en forme de langue avec une base plus étroite et effilée distalement (**Moré et al., 2009 ; Wouda et al., 2006**). L'observation au microscope électronique nécessite une fixation pour une déshydratation de l'échantillon dont les dimensions doivent être de l'ordre de quelques millimètres de largeur (**Jehle et al ., 2009**).

L'intérêt de l'observation des kystes au microscope est qu'il permet d'établir un diagnostic de certitude avec la possibilité d'identifier les espèces impliquées même après congélation des échantillons bien que les parasites aient perdu leur pouvoir infectieux (**Chen et al., 2007**).

Par ailleurs prendre en compte le choix des muscles à étudiés est aussi important, notamment en fonction de la technique utilisée. Une étude menée en Belgique montre que la sensibilité de la digestion enzymatique est maximale avec l'étude des cœurs tandis que l'histologie est maximale avec l'étude des œsophages (**Vercruysse et al., 1989**) .

Au contraire d'autres études rapportent une sensibilité maximale sur l'ensemble des techniques avec le cœur (**Carvalho, 1993; Fukuyo et al., 2002; Mohanty et al., 1995; Ruas et al., 2001**).

VIII.1.2. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique recouvre l'ensemble des tests réalisés sur un animal vivant et sont surtout développés lors de suspicion clinique ; or les signes cliniques lors de la sarcosporidiose sont rares. Ces tests ont donc un intérêt limité. Ils visent à mettre en évidence une réaction des bovins suite à une infection par des *sarcocystis*.

Des examens biochimiques et hématologiques sont non spécifiques (recherche d'anémie, de lymphocytose, d'augmentation des CPK, mise en évidence de tachyzoites circulants) peuvent permettre d'étayer cette suspicion (**Euzéby, 1998 ; Dubey et al., 1989.b**).

La recherche des mérozoites dans le sang circulant libre ou inclus dans les monocytes peut être mis en place .Cependant le résultat ne sera intéressant qu'en cas de positivité auquel cas le diagnostic de la sarcosporidiose sera confirmé (**Euzéby, 1998**).

Différentes méthodes ELISA visant à la détection de anticorps dirigés contre les mérozoïtes ont été mise en place et peuvent être utilisables lors d'études épidémiologiques (Savini et al., 1997.a). Mais il existe de nombreuses réactions croisées entre les différentes espèces mais également avec *T. gondii* (3 à 4% des cas) (Tenter, 1995; Euzéby, 1998).

Les méthodes immunologiques réalisées à partir des échantillons individuels ou avec un mélange de sérums ne permettent pas de détecter la sarcosporidiose dans sa phase aiguë ou après un avortement induit par la sarcosporidiose car les niveaux d'anticorps sont trop faibles (Tenter, 1995). La réponse IgM est transitoire, elle apparaît à 20 jours et ne persiste que quatre mois. La réponse IgG apparaît 30 jours après l'infestation, atteint son pic au bout de 3 mois et dure 2 ans voire davantage (Uggla, Buxton, 1990; Euzéby, 1998).

VIII.1.3.Diagnostic moléculaire

Les méthodes de diagnostic moléculaire sont considérées comme étant un outil important dans les recherches épidémiologiques pour la sarcosporidiose bovine. La PCR ou réaction de polymérisation en chaîne est une technique d'amplification *in vitro* d'un segment particulier d'ADN à partir d'un mélange de séquences. La PCR est basée sur la répétition de cycles qui amplifie le nombre de séquences cibles. Chaque cycle est constitué de 3 étapes : dénaturation de l'ADN, hybridation des amorces et élongation.

Comme source d'ADN, on peut choisir : un morceau de muscle (Jehle et al., 2009; Moré et al., 2011; Kia et al., 2011), des kystes sarcosporidiens isolés de muscles frais (Dahlgren et al., 2007; Yang et al., 2001; Xiang et al., 2011), une solution de bradyzoïtes purifiée (Güçlü et al., 2004). L'ADN génomique est isolé, par digestion des bradyzoïtes et des mérozoïtes avec la protéinase K et la trypsine. L'ADN est extrait grâce à une méthode utilisant du phénol-chloroforme (Yang et al., 2001; Li et al., 2002; Güçlü et al., 2004; Jehle et al., 2009) et une précipitation à l'éthanol ou grâce à des kits commerciaux (Domenis et al., 2011; Moré et al., 2011; Moré et al., 2013).

Plusieurs travaux utilisant la PCR basées sur l'analyse de l'ARN Ribosomal 18S (Moré et al., 2010) ont démontré que c'était un bon marqueur pour la différenciation des espèces de *Sarcocystis* spp (Yang et al., 2002). On peut distinguer les différentes espèces de sarcosporidies grâce au séquençage du génome et à la PCR.

L'amplification de l'ADN par PCR est particulièrement étudiée. Plusieurs séquences de l'ADN ont été exploitées. Parmi elles, l'ARNr 18S de la petite sous-unité ribosomique a été utilisé dans de nombreuses études (Yang et al., 2001, 2002; Kia et al., 2011; Dahlgren et al., 2007; Dahlgren, Gjerde, 2007; Jehle et al., 2009). Cet ARN est en effet couramment utilisé pour la recherche de parenté entre espèces eucaryotes puisqu'il s'agit d'une portion qui, semble t'il évolue très peu (Tenter, 1995).

De plus, il présente une faible homologie interspécifique par rapport à l'homologie intra-spécifique (Yang et al., 2001). D'autres gènes pourraient servir de base à de futures études : le gène de l'ARN ribosomique 28S ou le gène de l'ARN ribosomique 5.8S (Yang et al., 2002; Li et al., 2002) qui sont présents dans la grande sous-unité ribosomique.

Ainsi des PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ont été appliqués sur l'ADN de cet ARN r18S. Cette technique de la PCR-permet l'amplification d'une longue séquence de l'ADN puis sa fragmentation par des enzymes de restrictions. Les différents segments sont séparés par électrophorèse et la lecture du gel permet l'identification de l'espèce impliquée ((Li et al., 2002) ; Yang et al., 2002 ; Jehle et al., 2009 ; Moré et al., 2011).

La PCR-RFLP ne permet pas de distinguer *S. hominis* et *S. sinensis*. En effet, il n'y a que 10 bases de différences entre les 2 séquences du gène de l'ARN ribosomique 18S des espèces (Jehle et al., 2009).

D'autre étude ont utilisée la PCR-RAPD ou amplification aléatoire d'ADN polymorphe est une technique qui consiste à réaliser une amplification PCR avec des amorces d'environ 10 pb choisies aléatoirement. Une électrophorèse sur gel d'agarose sépare les différents amplicons. En utilisant plusieurs amorces on obtient un nombre de fragments différent et de tailles différentes selon l'espèce de *Sarcocystis*, ce qui permet de connaître l'espèce en cause (Güçlü et al., 2004).

Des méthodes utilisant des amorces spécifiques de chaque espèce de *Sarcocystis* et visant l'ARNr 18 S ont été mis au point. Les premières amorces ne permettaient pas l'amplifier des séquences de longueurs très différentes. Le séquençage des amplicons était nécessaire pour déterminer l'espèce en cause (Vangeel et al., 2007). En 2011, Chiesa et al., ont crée des amorces rendant possible l'amplification des segments suffisamment différentes pour être distinguées à la lecture du gel d'électrophorèse (Chiesa et al., 2011).

Ainsi une PCR multiplex a été mis en place, permettant de déterminer simultanément, si le parasite est présent dans le prélèvement et le cas échéant de l'identification après amplification et migration sur gel d'électrophorèse.

Le séquençage de l'ADN ribosomique 18S a permis l'identification précise de chaque espèce de sarcosporidie et des analyses phylogénétiques des différentes espèces de sarcosporidies (**Dahlgren et Gjerde, 2007**). Les produits des PCR sont purifiés par un kit commercial (**Fischer et Odening, 1998; Dahlgren et Gjerde, 2007**) et séquencés avec des kits commerciaux et des séquenceurs automatiques. Le séquençage est réalisé selon la méthode de Sanger (**Fischer et Odening, 1998**).

Les analyses phylogénétiques ont permis de prouver que les *S. cruzi* présents chez les bovins, les zébus et les bisons étaient de la même espèce (**Fischer et Odening, 1998**). Le séquençage de l'ADN a également permis de mettre en évidence une courte séquence de nucléotides typique des espèces de sarcosporidies ayant pour hôte définitif le chien (**Dahlgren et Gjerde, 2007**).

Cependant, le séquençage du génome est une technique très coûteuse et irréalisable en routine. De plus, très peu d'espèces de sarcosporidies ont eu leur gène de l'ARN ribosomique 18S séquencé et il reste encore beaucoup d'analyse phylogénétique à faire.

En 2013, un autre gène a été étudié : la sous unité 1 du gène codant pour le cytochrome C oxydase (cox 1). Après amplification et séquençage, il a été conclu que ce gène pourra être utilisé à l'avenir afin d'établir des diagnostics d'espèces car les différences de séquences entre les espèces de *Sarcocystis* sont suffisamment importantes (**Gjerde, 2013**).

VIII.2. Chez les hôtes définitifs

VIII.2.1 La coproscopie

La cause de cette coccidiose chez l'homme est rarement identifiée dans la pratique. Le diagnostic de certitude peut être fait par la mise en évidence d'ookystes ou de sporocystes ovoïdes dans les selles, soit par examen direct, soit à l'aide de techniques d'enrichissement (**Desportes-Livage et Datry, 2005**). Pour déterminer les hôtes définitifs de certaines espèces de sarcosporidies, des essais cliniques ont été menés (**Levine, 1977; Pena et al., 2001; Xiang et al., 2011; Chen et al., 2011; Morsy et al., 2011**). Des chiens, des chats ou des volontaires humains ont reçu une quantité donnée de muscles contenant des kystes. Un suivi clinique a été réalisé et des prélèvements de selles ont été analysés grâce à des techniques de flottation, pour rechercher l'émission de sporocystes et d'ookystes.

Les techniques de flottation utilisent des solutions de haute-densité contenant du chlorure de sodium, du chlorure de césium, du sulfate de zinc ou du saccharose (**Fayer, 2004**), comme la technique de flottation au sucre (**Gajadhar et Marquardt, 1992; Pena et al., 2001**). Ces méthodes sont très longues. De plus, leur sensibilité est faible (**Tenter, 1995**).

Les sporocystes de *S. cruzi* mesurent environ 14 à 17 µm de long sur 9 à 13 µm de large, ceux de *S. hirsuta* de 11 à 14 µm de long sur 7 à 9 µm de large et ceux de *S. hominis* de 13 à 18 µm de long sur 8 à 11 µm de large (**Levine, 1977**). Cependant, il est très difficile de différencier, en microscopie, les sporocystes ou les ookystes selon des critères morphologiques. Ils ont la même taille et la même forme (**Tenter, 1995**).

VIII.2.2. Histologie

On peut réaliser un raclage de la muqueuse intestinale (**Xiang et al., 2009**) ou faire des biopsies avec analyses histologiques de portions d'intestin (**Latif et al., 1999**) pour rechercher les microgamètes, macrogamètes, les sporocystes et les ookystes. Ces méthodes sont très invasives. A l'examen histologique, on peut aussi observer des remaniements de la muqueuse intestinale avec une diminution de la longueur des villosités, une hypertrophie des cryptes et une augmentation de la cellularité caractérisée par une infiltration massive de granulocytes éosinophiles ainsi que quelques granulocytes neutrophiles et plasmocytes. En revanche, ces observations ne sont pas pathognomoniques de la sarcosporidiose (**Velásquez et al., 2008**).

VIII.2.3. PCR

Il est très difficile de différencier, en microscopie, les sporocystes ou les ookystes selon des critères morphologiques. Ils ont la même taille et la même forme (**Tenter, 1995**). Une méthode de PCR-RFLP a été développée pour identifier les sporocystes avec précision (**Xiang et al., 2011**). L'ADN est extrait des ookystes par la méthode phénol-chloroforme. Le gène ADN ribosomique 18S est amplifié par une PCR nichée, cette technique permet d'obtenir suffisamment de produits d'amplification malgré la faible taille des échantillons et la présence d'inhibiteurs de la PCR dans les fèces. Les produits de la PCR sont purifiés puis incubés séparément avec différentes enzymes de restriction : Dra1, Mbo1, Rsa1, Ssp1. Les motifs électromorphes obtenus pour les sporocystes excrétés sont identiques à ceux obtenus pour l'ADN issu de kystes et permettent ainsi l'identification de l'espèce de sarcosporidie.

IX. PROPHYLAXIE

Actuellement il n'existe aucune prophylaxie médicale en matière de sarcosporidiose bovine (**Bucca et al., 2011**). Néanmoins, lors de suspicion de sarcosporidiose aigue, des traitements anticoccidien classique peuvent être instaurés, les molécules utilisées sont : l'Amprolium, Salinomycine, l'Oxytétracycline, Totrazuril ou l'Hydroxynaphtoquinone (**Euzéby, 1998**). Les sulfamides ou la pyriméthamine (antipaludéen) pourraient être utilisés (**Dubey et Lindsay, 2006**). Chez l'hôte définitif, il doit être renouvelé toutes les semaines pendant trois mois, pour prévenir les rechutes qui pourraient survenir du fait de l'absence de réaction immunitaire. Chez l'homme, dans le cas d'un patient immunodéprimé, le triméthoprime-sulfaméthoxazole et l'albendazole avaient fait régresser provisoirement les symptômes de sarcosporidiose systémique (**Euzéby, 1998 ; Velásquez et al., 2008**).

Les moyens de lutte contre la sarcosporidiose intestinales reposent uniquement sur des mesures préventives car il n'existe pas de traitement curatif de celle-ci (**Desportes-Livage et Datry, 2005**). La prévention est essentiellement sanitaire qui vise à interrompre le cycle parasitaire.

IX.1.Chez l'hôte intermédiaire

Dans les élevages bovins, la lutte contre l'excrétion d'ookystes par les hôtes définitifs est la seule solution (**Bucca et al., 2011**). Des mesures de biosécurité sont nécessaires comme l'exclusion des carnivores domestiques ou sauvages de la zone d'élevage et aussi par la mise en place de bonne pratique d'hygiène. Il faut également contrôler la contamination des ruminants par les sporocystes en évitant la contamination des aliments, de l'environnement et de l'eau par les fèces des chiens, des chats et de l'homme contaminés (**Fayer, 2004**) .

IX.2.Chez l'hôte définitif

Il faudrait contrôler la transmission des ookystes de *S. cruzi* et *S. hirsuta* respectivement par les canidés et félinés en éloignant les carnivores domestiques ou sauvages de tout produit d'origine bovine (animaux trouvés morts, placentas) (**Fayer, 2004**) et éviter la consommation de viande bovine contenant des kystes infectieux, pour cela, il faut que la viande soit suffisamment cuite. Les bradyzoites sont tués après cuisson pendant 20 minutes à 60°C, 15 minutes à 70°C ou 5 minutes à 100°C, ou bien la congélation à -5°C pendant 48 heures ou -20°C pendant 24 heures (**Fayer, 2004**).

La cuisson dans les fours à micro-ondes des viandes n'a pas de pouvoir stérilisateur par contre l'irradiation (0,3 à 0,6 k Gy) exerce un effet létal sur les kystes sarcosporidiens (**Euzéby 1997; Euzéby, 1998**). Pour les carnivores domestiques, il est préférable de favoriser une alimentation à base d'aliments industriels ayant subi les traitements d'assainissement précité ci-dessus.

Par ailleurs, il faudrait aussi contrôler la transmission des ookystes de *S. hominis* par l'homme en favorisant le système de "tout à l'égout" dans l'élevage et en évitant toute défécation humaine près de l'eau ou de la nourriture pour bétail. Il faudrait aussi éviter l'épandage de fosses septiques ou de lisiers non traitées sur des pâtures.

Vu les risques de contamination de l'homme par la consommation de viande infectée et les habitudes alimentaires consistant à manger de la viande crue ou insuffisamment cuite, il faudrait donc informer le consommateur des comportements à risques qui augmenterait le danger d'apparition de sarcosporidiose chez l'homme.

De plus, il n'y a pas d'analyse spécifique de la viande à l'abattoir pour rechercher les kystes sarcosporidiens. Des kystes sarcosporidiens ont été retrouvés dans des steaks hachés aux États-Unis (**Prayson et al., 2008**). Au vu de la prévalence du parasite et des coûts diagnostiques, il est inenvisageable d'assainir la viande et de la retirer de la consommation lors d'infestation.

Lors de la saisie d'une carcasse à l'abattoir pour myosite éosinophilique, il faudrait mener une enquête épidémiologique sur l'exploitation dont l'animal est issu pour mettre en évidence tous les facteurs de risque (**Domenis et al., 2011**).

En pratique, il n'existe pas de vaccin pour prévenir la maladie chez l'homme ou chez les animaux, en revanche, une administration aux bovins de 100 000 à 200 000 sporocystes de *S. cruzi* protège les animaux contre une infestation (**Euzéby, 1998**).

X. IMPORTANCE ECONOMIQUE

La sarcosporidiose bovine entraîne des pertes économiques considérables notamment à cause des lésions de myosite éosinophilique et des saisies à l'abattoir. En 1986, aux Etats unis, les pertes économiques sont estimés à 95 millions de dollar/an (**Daugochies et al., 2000**).

En France, Les saisies pour sarcosporidiose des carcasses bovines sont le plus souvent totale et seraient de l'ordre de 88% (**Bertin, 2013**). L'étude de **Fradin** en **2003** portant sur la prévalence des motifs de saisies aux niveaux de 08 abattoirs montre un taux de saisies pour sarcosporidiose d'environ 2.32% sur l'ensemble des saisies totale en France.

Donc les pertes sont essentiellement dues aux saisies à l'abattoir car macroscopiquement, les kystes sont indétectables dans la majorité des cas. Les inspecteurs à l'abattoir ne remarquent que les kystes coalescents ou en voie de dégénérescence lors de l'inspection post-mortem. Les viandes atteintes de myosite éosinophilique sont déclarées impropres à la consommation humaine et saisies (**Flandrin, 2014**).

Pour aider les éleveurs, il existe des groupements interprofessionnel de la filière bovine française qui ont mis en place un fond d'assainissement régional pour indemniser ces éleveurs lorsqu'un de leur bovin est saisi pour cause de sarcosporidiose et le taux d'indemnisation est de 80% de la valeur de la carcasse (**Honoré, 2011**).

La sarcosporidiose clinique ou sub-clinique peut être responsable d'une maladie aiguë fatale entraînant une perte économique évidente pour l'éleveur. Par ailleurs, on peut observer des signes cliniques (fièvre, anorexie, anémie...) pouvant altérer les performances des bovins. Les pertes économiques sont caractérisées par des avortements, une baisse de la production laitière et une diminution de GMQ de 25% ce qui est préjudiciable à l'abattage. Par contre la présence d'une infestation par *Sarcocystis* spp. ne modifie pas la qualité organoleptique de la viande (**Daugochies et al., 2000**).

En l'occurrence, la distribution et l'importance économique qui en découlent dans chaque système et dans chaque catégorie de production restent encore à étudier (**Moré et al., 2011; Dubey et Bergeron, 1982; Daugochies et al., 2000 ; Euzéby, 1998**).

Les pertes économiques associées à la maladie intestinale chez l'homme ne peuvent pas être estimées du fait que le diagnostic est rarement fait et sont probablement assez faible du fait de la discrétion des symptômes (**Bertin, 2013**)

En matière de suivi réglementaire des saisies pour sarcosporidiose au sein de l'Union Européenne, en 2003, l'EFSA a mis en place un programme de contrôle des zoonoses dans l'UE., *S. hominis* n'était pas inclus dans la liste A des agents zoonotiques à gérer mais pouvait être inclus dans la liste « autres zoonoses » dont la stratégie de gestion dépend de la situation épidémiologique du pays.

Le règlement CE n° 854/2004 englobe *S. hominis* dans le terme générique de «maladies zoonotiques» qui doivent être surveillées à l'abattoir. Cependant, comme la sarcosporidiose n'est pas une maladie à déclarer dans les Etats membres, peu d'informations sont reçues à son propos. La conclusion du dernier compte-rendu de l'EFSA par rapport à *Sarcocystis* paru en 2010 visant à clarifier la situation dans les Etats membres de l'Union Européenne et à harmoniser la gestion et la déclaration des cas d'infestation à *Sarcocystis* chez les bovins et dans les denrées alimentaires d'origine bovine, rapporte que sans prouver l'existence d'un impact réel en santé humaine, il n'y a pas lieu de mettre en place un schéma harmonisé pour gérer *Sarcocystis* dans l'Union Européenne. La clarification de l'importance de *S. hominis* en santé humaine est essentielle pour mettre en place une gestion adaptée et unifiée dans l'Union Européenne **(Flandrin, 2014)**.

En France, les informations concernant la sarcosporidiose sont transmises à l'EFSA par le Ministère de l'Agriculture. Ces informations sont le reflet de l'inspection en routine dans les abattoirs mais il n'y a pas de réelle centralisation des données **(Flandrin, 2014)**.

Pour les espèces non-zoonotiques l'EFSA considère qu'il n'y a pas besoin d'un enregistrement au niveau européen. L'enregistrement doit se faire au niveau de l'abattoir et au niveau national **(Taylor et al., 2010)**.

En Algérie, la sarcosporidiose n'est pas connue par les professionnels des abattoirs ni même en santé publique. Aucun cas de saisie pour myosite éosinophilique n'a été déclaré ni même de sarcosporidiose humaine, de ce fait il n'existe aucune réglementation **(MADR, 2015 ; INSP, 2015)**.

Partie Pratique

Matériels et Méthodes

I. Objectif de l'étude

Notre travail a pour objectif de déterminer la prévalence de *Sarcocystis* chez l'espèce bovine. Une étude sur la sarcosporidiose bovine au niveau des abattoirs des wilayas du nord de l'Algérie a été réalisée par trois techniques de diagnostic.

La digestion enzymatique a permis la mise en évidence des bradyzoites de *Sarcocystis* spp. et la détermination de la fréquence et le degré d'infestation des carcasses.

En deuxième lieu, la recherche des kystes de *Sarcocystis* spp. a été effectuée par des techniques histologiques pour déterminer les espèces de *Sarcocystis* selon le type de paroi caractéristique des espèces de *Sarcocystis* du bovin.

Enfin en troisième partie, l'identification des espèces impliquées a été réalisée par la technique de PCR et enfin une analyse de l'influence des facteurs de risques (âge, sexe, race, saison, origine des animaux) sur la prévalence de *Sarcocystis* spp a été étudiée.

II. Matériel et Méthodes

II.1. Région d'étude

L'étude sur la sarcosporidiose bovine a été réalisée au niveau des abattoirs d'El Harrach, d'Hussein Dey (Ruisseau), d'Annaba, de Sidi Bel Abbes, et de Tipaza. Les bovins abattus dans chacun des abattoirs sont originaires de plusieurs wilayas et représentés dans la **figure 16**.

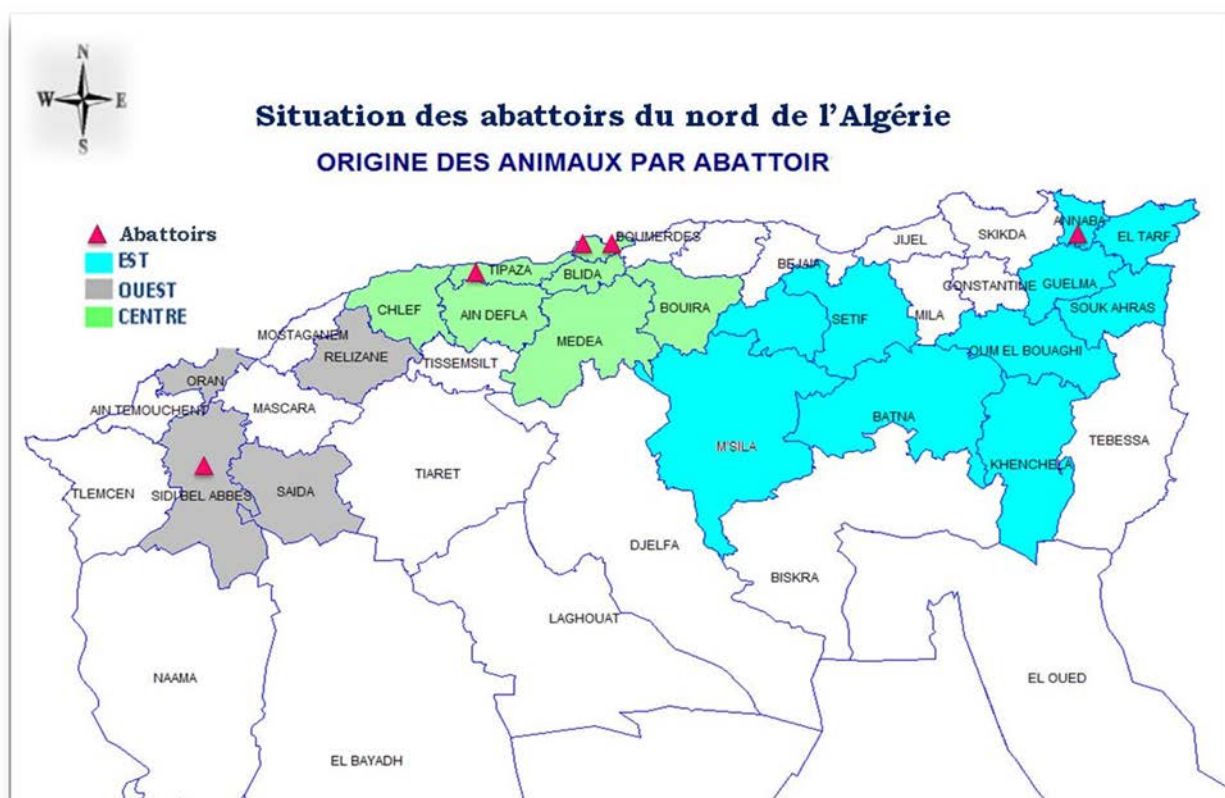


Figure 16 : Carte de la répartition des 05 abattoirs des wilayas du nord de l'Algérie et l'origine des animaux pour chaque abattoir.

II.2. Matériel biologique

Pour le dépistage de la sarcosporidiose, 1150 échantillons de muscles ont été réalisés sur un total 575 bovins (Tableau 10). Le jour des prélèvements est celui qui correspond au plus fort taux d'abattage de la semaine pour chacun des abattoirs.

Tableau 10 : Répartition des bovins prélevés par abattoir

Abattoirs	Nombre Bovins
Ruisseau	61
El Harrach	338
Annaba	103
Tipaza	58
Sidi Bel Abbes	15
Total	575

Une inspection visuelle des carcasses est d'abord réalisée pour la recherche des kystes géants (*Sarcocystis hirsuta*); les muscles ciblés sont le diaphragme, l'œsophage. Des prélèvements de diaphragmes (200g chacun) et d'œsophages de bovins (20 cm de long) sont prélevés sur chaque carcasse bovine. Les animaux prélevés sont d'âge variable et la récolte des prélèvements se fait de façon aléatoire.

L'enquête épidémiologique a été réalisée sur la base des informations récoltées au niveau de chacun des abattoirs sur les facteurs de risques éventuels tels que l'âge des bovins, le sexe, la race bovine, l'origine des bovins et la saison (date de prélèvement).

II.3. Méthodes d'analyses

II.3.1. Matériels utilisés

Dans le cadre de notre étude, le matériel utilisé à l'abattoir et à chaque étape d'analyse au laboratoire soit la digestion enzymatique, histologie et PCR est reporté dans les **Tableaux 01, 02, 03 et 04 en annexe 01-02**.

II.3.2. Méthode de prélèvements (voir annexe 03)

Au niveau de l'abattoir, un dénombrement des carcasses (**Fig.01.A**) a été opéré, suivi d'une inspection des œsophages (**Fig.01.C**) et des diaphragmes (**Fig.01.B**) afin de déceler la présence de kystes macroscopiques. Après une inspection individuelle des carcasses, des échantillons d'environ 20 cm de longueur des diaphragmes et d'œsophages ont été prélevés et déposés dans des sacs de congélation étiquetés. Le diaphragme et l'œsophage de chaque bovin, ont été mis ensemble dans un même sac avec tous les renseignements : date et numéro du prélèvement, l'origine, le sexe, la race (robe) et l'âge du bovin prélevé (**Fig.01.D**).

II.3.3. Préparation des échantillons au laboratoire

Les prélèvements sont acheminés le jour même au laboratoire de parasitologie- mycologie de l'E.N.S.V – Alger. Au laboratoire, les échantillons sont nettoyés et lavés sous l'eau du robinet afin d'éliminer le sang et le contenu alimentaire résiduel de l'œsophage ensuite séparés en deux. Une partie est bien nettoyée à l'aide de ciseaux afin d'éliminer un maximum de graisse ainsi que l'aponévrose qui peuvent gêner la digestion. Cet échantillon est conservé au congélateur pour son analyse par la technique de digestion enzymatique. Tandis que l'autre partie est conservée dans du formol à 10 % pour l'étude histologique.

II.4. Techniques d'analyse des échantillons

II.4.1. Digestion enzymatique

Le principe de cette technique est de reconstituer un suc digestif artificiel (eau, HCl, NaCl et pepsine) appelé solution de digestion.

Cette dernière réunit les facteurs favorisant la digestion des kystes et la libération de bradyzoïtes, en créant d'une part un pH optimale (pH : 1-3) qui permet l'activation de la pepsine (enzyme protéolytique) et la dénaturation des protéines.

Pour la digestion pepsique de nos échantillons de diaphragmes et œsophages, la technique utilisée est la méthode modifiée de **Seneviratna et al., (1975)** (citée par **Latif et al.,1999**), qui a été adapté aux moyens dont nous disposons dans le laboratoire de parasitologie-mycologie de l'E.N.S.V- Alger.

II.4.1.1.Etapes de la technique de digestion enzymatique (voir annexe 04-05)

- Pesée et broyage des échantillons

Une fois décongelée, la viande est broyée dans un robot qui est rincé après chaque utilisation (**Fig.02.A**), puis pesée dans une balance électronique (**Fig.02.B**). 10g de diaphragme et 10g d'œsophage d'une carcasse d'un même bovin soit 20 g de muscles sont rassemblés dans un tube conique en plastique.

- Mélange du broyat avec la solution de digestion et incubation

Dans des tubes coniques, 50 ml de solution de digestion préparé préalablement sont mélangés avec les 20 g de muscles broyés, le tout est bien homogénéisé à l'aide d'une spatule. Ces tubes sont ensuite placés dans un agitateur permanent à tube (**Fig.02.C**) et incubés à 40°C dans une étuve pendant 30 min sous agitation constante (**Fig.02.D**).

- Filtration des échantillons

Le digestat de chaque bovin est ensuite filtré dans un bécher à travers les mailles d'une passoire sur laquelle 2 couches de gaze sont déposées, pour éliminer les gros débris musculaires, laisser égoutter puis récupérer le filtrat (**Fig.02.D**).

- Centrifugation des filtrats

Les filtrats récupérés dans les tubes coniques sont d'abord centrifugés à 3000 rpm pendant 5min (**Fig.02.F**), les culots obtenus sont récupérés après avoir jeté le surnageant. Puis la même opération est réalisée encore 2 fois successives, en ajoutant $\frac{1}{2}$ du volume du tube de PBS (Ph : 7.2), préparé préalablement (**annexe 04**) qui permet de stopper rapidement la digestion et de rétablir un pH physiologique (**Fig.02.G**).

A l'issue de cette étape, le broyat obtenu est filtré à l'aide d'un Filtre métallique de 400 μ m. Le filtrat est mis à décanter dans une ampoule de décantation pendant 30 minutes. Le culot de décantation est récupéré dans 1 tube de 5 ml qui sont congelés à -20°C en attente d'une analyse moléculaire (PCR).

II.4.1.2. Préparation des frottis

Après centrifugation des échantillons, le surnageant est jeté et le culot est récupéré pour la préparation des lames. A l'aide d'une pipette pasteur une goutte du culot est aspirée et étalée sur une lame numérotée (**Fig.02.H**) de façon à obtenir un frottis mince (**Fig.02.I**). Les lames sont ensuite séchées à l'étuve à 37°C.

II.4.1.3. Coloration des lames au May Grünwald Giemsa (M.G.G.)

La coloration au M.G.G. a été appliquée à toutes les lames, selon la méthode citée par (**Bussiéras et Chermette, 1992**).

Technique

- Les frottis sont fixés au méthanol durant 5min.
- Une pré-coloration au May Grünwald durant 3 min est réalisée.
- Incubation avec de l'eau distillée tamponnée pH 7,2 pendant 5min.
- Le tout est jeté sans rincer.
- Le frottis est coloré pendant 20min au Giemsa dilué (5ml de Giemsa dilué par lame) (**Fig.02.J**). Le Giemsa dilué est préalablement préparé (2 gouttes de Giemsa pur pour 1ml d'eau distillée).
- L'excès du colorant est chassé sous un fin jet d'eau du robinet (**Fig.02.K**), puis les lames sont séchées entre les plis d'un papier filtre (**Fig.02.L**).

II.4.1.4. Examen des lames

Les lames colorées sont ensuite examinées au microscope optique (LEICA® DMLS) au grossissement (x400 ; x1000). Un échantillon est considéré positif pour la sarcosporidiose lorsque des bradyzoïtes de *Sarcocystis* (en forme de banane) sont observés. Le May-Grünwald colore le noyau (acide) des bradyzoïtes en rose, et le Giemsa colore le cytoplasme (alcalin) en bleu.

II.4.2. Technique histologique

La technique histologique permet, non seulement de déceler la présence des kystes sarcosporidiens, mais aussi d'identifier les espèces impliquées sur les échantillons de diaphragmes et œsophages de 366 bovins ont été analysés.

Vu la quantité importante d'échantillons, l'analyse histologique a été réalisée au niveau de trois laboratoires d'anatomie et cytologie pathologique : C.H.U Bab El Oued (ex. Maillot), CHU Nefissa Hamoud d'Hussein Dey (ex : Parnet) et l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV). La méthode utilisée est celle citée par **Hould (1984)** avec une coloration à l'hématoxyline et l'éosine (**H.E.**).

II.4.2.1. Etapes de la technique histologique (voir annexe 06)

- Fixation

La fixation des échantillons a pour but de conserver le tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Elle est assurée par un agent fixateur, le formol, qui empêche la lyse des tissus et garde leur structure intacte ; il entraîne également le durcissement des tissus, permettant ainsi la confection des coupes. La fixation est effectuée par immersion des échantillons pendant 24h ou plus, dans du formol à 10% (9 volumes d'eau distillée pour 1 volume de formol à 37 %).

Après la fixation, des pièces d'environ 1 à 2 cm de long sur 1 cm de large sont coupées à partir des muscles à l'aide d'un bistouri (**Fig.03.A**). Ces pièces sont placées ensuite dans des cassettes en plastique, numérotées au crayon (**Fig.03.B**). Les coupes d'œsophages et diaphragme par bovin sont placés dans une même cassette.

- Circulation

Les cassettes sont placées dans un circulateur automatique appelé appareil de circulation ou de déshydratation. Cet appareil comporte un ensemble de 12 baignoires disposés en cercle, il permet un transfert automatique du panier contenant les cassettes des prélèvements toutes les 2h, d'un bain à un autre (**Fig.03.C**).

La circulation dure 24h, elle est réalisée en 3 phases : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

La déshydratation permet la suppression de toute l'eau extractible en vue de l'inclusion dans un milieu non hydrosoluble, par passage des organes dans des bains d'éthanol de degrés croissants **(Martoja et Martoja –Pierson, 1967)**. Les cassettes sont plongées tout d'abord dans un premier bain de formol pour une fixation supplémentaire, puis une déshydratation dans 5 bains successifs d'éthanol (agent déshydratant) de concentrations croissantes de 70% à 100%. L'éthanol pénètre dans les prélèvements tout en chassant l'eau tissulaire.

Afin de faire durcir les prélèvements d'avantage, l'imprégnation par de la paraffine liquide est obligatoire et permet de préparer l'étape d'inclusion à la paraffine. Cependant, la paraffine n'est pas miscible à l'alcool, c'est pourquoi, un passage dans un liquide intermédiaire, le xylène, qui est miscible à la fois à l'alcool et à la paraffine est nécessaire. Les cassettes sont donc immergées dans 4 bains de xylène (agent éclaircissant), le xylène remplace dans un premier temps l'éthanol dans les tissus en les rendant transparents et dans un second temps, laisse place à la paraffine.

Enfin les cassettes sont trempées dans deux derniers bains de paraffine chauffées à 60°C, point de fusion de la paraffine. Les prélèvements sont alors imprégnés de la paraffine liquide.

- Inclusion (coulage des blocs)

L'inclusion permet la préparation des organes par la transformation du tissu hétérogène du point de vue consistance et élasticité en une masse homogène pour la mise en bloc. Elle consiste en une imprégnation des pièces dans un bain de paraffine «neuve» afin de faciliter la coupe. L'inclusion est réalisée grâce à un appareil constitué d'un circuit chauffé à 60°C se terminant par un distributeur d'où s'écoule la paraffine liquide et d'une plaque froide permettant le durcissement en bloc de la paraffine liquide **(Fig.03.D)**.

Dans un premier temps, de la paraffine liquide est versée dans un moule en acier inoxydable **(Fig.03.E)**. Puis la pièce à inclure est déposée dans le moule à l'aide d'une pince **(Fig.03.F)**. Sur la plaque froide, la pièce est figée avec la pince **(Fig.03.F)**. Ensuite, la cassette servant de support à la pièce est ajustée sur le moule **(Fig.03.G)** et la paraffine liquide est reversée sur la cassette afin qu'elle adhère à la pièce **(Fig.03.H)**. Enfin, le moule est remis sur la plaque froide afin que la paraffine durcisse **(Fig.03.I)**.

Le bloc obtenu est démoulé après 15 mn environ **(Fig.03.J)**, puis congelé 10 mn ou plus pour accélérer le durcissement de la paraffine.

- Microtomie

Elle consiste à confectionner des coupes minces de 1 à 3 μm d'épaisseur à partir d'un bloc à l'aide d'un microtome de marque *Leica* gradué de 0 à 60 μm . Le bloc est introduit dans le microtome de façon à ce que sa surface soit verticale, parallèle et ajustée à la lame coupante du microtome (jetable).

Le microtome fonctionne par un système de rotation. La roue motrice est tournée à l'aide d'une manivelle, ce qui entraîne un déplacement vertical du bloc pour le mettre au contact du rasoir.

Pour commencer, il faut enlever d'abord l'excès de la paraffine qui recouvre les tissus. Cette opération est appelée dégrossissement. Pour l'effectuer, le microtome doit être réglé entre 10 et 20 μm . Une fois le dégrossissement terminé, la confection des coupes peut avoir lieu. Pour ce faire, l'échelle du microtome doit être réajustée entre 1 à 3 μm ce qui permet d'avoir des coupes minces sous formes de rubans.

- Etalement

Lors de la coupe, les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés et pour atténuer cette compression et enlever les plis du tissu, les rubans obtenus doivent être étalés à chaud dans un bain marie (**Fig.03.L**) réglé à 40°C et récupérés sur des lames en verre comprenant le numéro de la pièce (**Fig.03.M**) préalablement recouvert d'eau gélatinée 0.4% pour éviter la perte des coupes au cours des étapes suivantes. Enfin, les lames sont placées dans un portoir et mises dans une étuve réglée à 37°C pendant 20 mn (**Fig.03.N**). Ce qui permet à la paraffine imprégnée dans les tissus de fondre complètement.

- Déparaffinage et hydratation

Le déparaffinage permet d'éliminer le milieu d'inclusion. C'est une étape préparatoire à la coloration, elle permet à la coupe de recevoir les colorants. Une fois la paraffine fondue, les lames sont plongées immédiatement dans un bain de xylène pendant 15 mn afin de la dissoudre (**Fig.03.O**).

Pour les coupes étalées à la gélatine, procéder à un tannage avant la réhydratation. Cela consiste en un lavage de quelques secondes des lames dans une solution de tannage afin d'éliminer l'excès de gélatine ou bien les lames sont mises à sécher à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures.

Après avoir retiré toute la paraffine des tissus, il est nécessaire de les hydrater. L'hydratation consiste à retirer le xylène des tissus et le remplacer par de l'eau, c'est pourquoi les lames sont plongées d'abord dans 4 bains d'éthanol (2 mn chacun) de concentration décroissantes retrouvés dans une batterie de colorants. Puis sont rincées dans un bac d'eau du robinet.

La batterie de colorants et de réactifs utilisée servira à la coloration juste après, elle est constituée respectivement de 4 bains d'alcool à concentration décroissantes, 3 bains d'hématoxyline, 1 bain d'eau acidifié (5ml de Hcl concentré dans 1000ml d'eau distillée), 1 bain d'eau ammoniacale, 1 bain d'éosine et enfin 2 bains d'alcool absolu (**Fig.03.P**).

- Coloration à l'Hématoxyline et à l'Eosine

Les lames sont d'abord plongées dans l'hématoxyline durant 5 à 7 mn afin de colorer les noyaux en bleu, elles sont rincées dans un bain d'eau du robinet puis trempées 1 ou 2 fois dans l'eau acide pour éliminer l'excès de l'hématoxyline, ensuite rincées à l'eau du robinet. Elles sont ensuite plongées 1 ou 2 fois dans l'eau ammoniacale puis rincées et plongées dans l'éosine pendant 2 mn pour colorer les cytoplasmes en rose. Les lames sont ensuite rincées encore à l'eau du robinet. Enfin, elles sont trempées 1 ou 2 fois dans l'alcool absolu afin d'enlever l'excès de l'éosine et de déshydrater également les coupes. Elles sont ensuite séchées dans l'étuve à 37°C.

- Montage

Cette opération consiste à fixer une lamelle sur la coupe histologique afin de la protéger. Une goutte de colle synthétique (EUKITT) est appliquée sur la coupe (**Fig.19.Q**), quelques gouttes de xylène sont ajoutées pour aider à la diffusion de la colle sur toute la surface que recouvre la lamelle. Une lamelle (24 x 50mm) est fixée ensuite sur la coupe histologique (**Fig.19.R**). Les lames sont séchées à l'air libre, elles sont prêtes à l'observation.

II.4.2.2. Examen des lames

La lecture des lames est effectuée au microscope optique (**Fig.19.S**), au grossissement (x 100, x 400, x 1000). Elle consiste en la recherche de la présence des kystes de *Sarcocystis*, de leur identification ainsi que de leur dénombrement.

Les fibres musculaires apparaissent colorées en rose et leurs noyaux en bleu. Les lames positives révèlent la présence, à l'intérieur des fibres musculaires, de kystes de *Sarcocystis* refermant des bradyzoïtes colorés en bleu.

Pour chaque lame, il est observé :

- La présence ou non de kystes de *Sarcocystis* (x400)
- Le nombre de kystes sarcosporidiens présents (x400)
- L'épaisseur de la paroi des kystes (x1000)

II.4.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)

L'analyse moléculaire a été réalisée au niveau de l'Ecole Vétérinaire ONIRIS Nantes France au niveau de l'URM SECALIM (Sécurité Alimentaire), Les culots obtenus lors de la digestion enzymatique conservés dans des tubes additionnés de PBS à pH 7.2 ont subi les étapes suivantes :

II.4.3.1. Extraction de l'ADN

Un tube de 1,5 ml pour chaque échantillon est mis à décongeler avant le début des manipulations. Nous avons utilisé pour cette étape un kit "NucléoSpin[®] Tissue" (Macherey-Nagel). Le matériel utilisé et le protocole détaillé est présenté en annexes 07(Fig 04) - 08.

L'objectif de cette étape est d'extraire l'ADN présent dans l'échantillon, et notamment l'ADN de *Sarcocystis*. Les premières étapes du protocole permettent la lyse des constituants cellulaires ainsi que l'optimisation des conditions pour l'étape suivante qui consiste à fixer l'ADN sur une membrane de silice. Les étapes suivantes servent à laver la membrane de silice de tout constituant n'étant pas de l'ADN.

La dernière étape est une étape d'élution qui permet de détacher l'ADN de la membrane de silice. Les quelques µl finaux sont placés dans des tubes eppendorf identifié et congelés à -20°C en attente de l'étape PCR.

II.4.3.2. PCR pour *sarcocystis* spp.

Pour la PCR de détection du genre *Sarcocystis*, deux amorces sont utilisées qui permettent l'amplification d'une zone d'ADN ribosomal 18S des trois espèces cibles de *Sarcocystis*.

- SAR forward (5'-TGGCTAATACATGCGCAAATA-3')
- SAR reverse (5'-AACTTGAATGATCTATCGCCA-3')

Le détail du protocole est donné en annexe 09 et le programme est activé de manière suivante (**figure 17**):

- 1 cycle à 94°C pendant 4 minutes ;
- 40 cycles $\left\{ \begin{array}{l} 94^{\circ}\text{C pendant 1 minute,} \\ 63^{\circ}\text{C pendant 1 minute} \\ 72^{\circ}\text{C pendant 1 minute} \end{array} \right.$
- 1 cycle à 72 °C pendant 10 minutes ;
- Refroidissement et maintien à 14 °C.

Le temps d'une PCR est d'environ 2 heures 30 minutes.

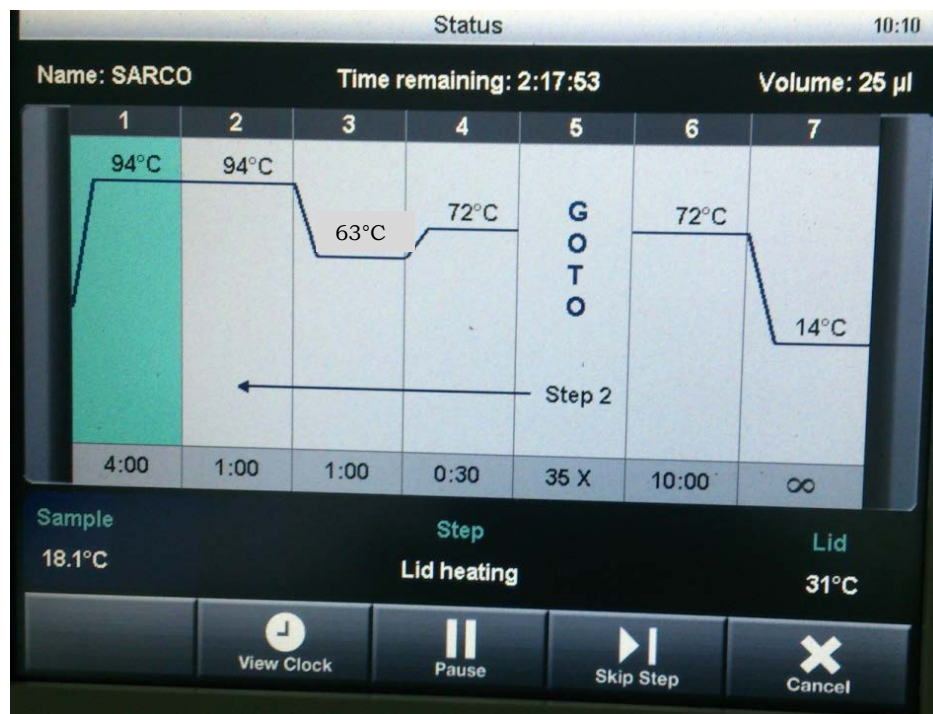


Figure 17 : Courbe de réglage des cycles du thermocycleur pour l'amplification de l'ADN de nos échantillons

II.4.3.3. PCR multiplex et électrophorèse

Cette étape est primordiale, elle permet l'amplification de l'ADN de *Sarcocystis* spp. et sa détection. Les 3 espèces de *Sarcocystis* présentes chez les bovins peuvent être mises en évidence en utilisant une méthode PCR multiplex mise au point par **Chiesa et al., 2011**. Le détail du protocole est donné en annexe 10.

Tous les réactifs nécessaires à la PCR sont mélangés dans le Master mix qui contient, notamment la Taq polymérase, les nucléotides libres et les amorces spécifiques des espèces de *Sarcocystis*.

Quatre amorces différentes sont utilisées : 1 amorce anti-sens commune aux 3 espèces de *Sarcocystis*, et 3 amorces sens, chacune étant spécifique d'une des 3 espèces de *Sarcocystis* (tableau 11).

Tableau 11: Localisation des amorces et taille des amplicons obtenus, (**Chiesa et al., 2011**).

Espèces	Position de l'amorce sens (taille)	Position de l'amorce Anti -sens (taille)	Taille de l'amplicon
<i>S. hirsuta</i>	250-268 (18 pb)	342-380 (18 pb)	108 pb
<i>S. hominis</i>	165-182 (17pb)		182 pb
<i>S. cruzi</i>	50-74 (24 pb)		284 pb

Pb : paire de bases

Un volume de 5 µl est réparti dans des tubes à PCR. Les échantillons sont introduits dans un thermocycleur iCycler de BIORAD®.

Le programme est activé selon le protocole suivant :

- 1 cycle à 94°C pendant 4 minutes ;
- 35 cycles $\left\{ \begin{array}{l} 94^{\circ}\text{C pendant 1 minute,} \\ 56^{\circ}\text{C pendant 1 minute} \\ 72^{\circ}\text{C pendant 30 secondes ;} \end{array} \right.$
- 1 cycle à 72 °C pendant 10 minutes ;
- Refroidissement et maintien à 14 °C.

Le temps d'une PCR est d'environ 2 heures.

Ensuite, une électrophorèse est réalisée pour l'analyse des produits de PCR. Elle est réalisée sur un gel d'agarose 2% dans du TBE 0,5X. Dans chaque puits sont déposés 5 µl du produit de PCR et 5 µl de solution de dépôt. La migration a lieu à 100 Volts pendant 50 minutes dans du TBE 0,5X.

La lecture du gel d'électrophorèse se fait sous lumière UV et à l'aide du logiciel Quantity One® grâce à une caméra reliée à l'ordinateur. Les échantillons positifs présentent au moins une bande blanche entre 100 pb et 300 pb. La présence d'une ou plusieurs bandes indique la présence du parasite dans l'échantillon testé.

Les poids moléculaires sont repérés à l'aide d'un marqueur de poids moléculaire. Les espèces du parasite sont facilement différenciées par l'observation des bandes obtenues à l'électrophorèse, chaque espèce étant à l'origine d'une bande de poids moléculaire différent et spécifique.

Un exemple de gel obtenu est donné dans la figure 18. L'ensemble des gels obtenus dans notre étude est visible dans la partie résultat.

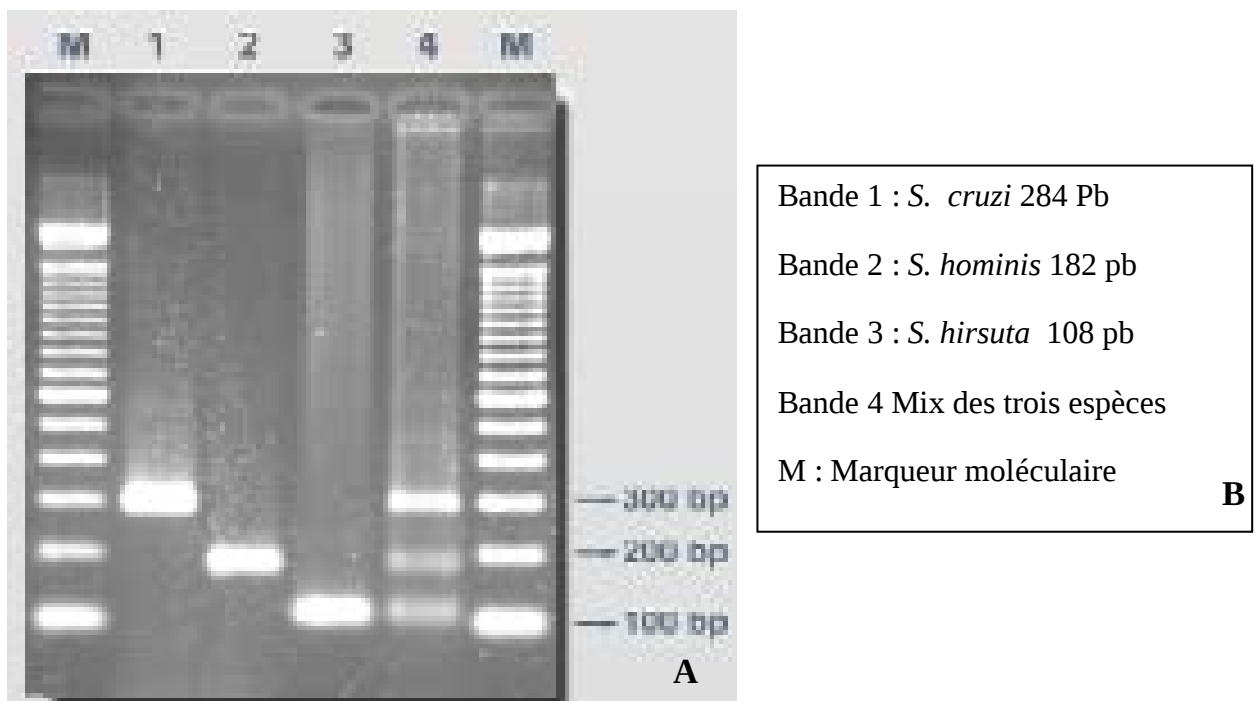


Figure 18: Exemple de gel d'électrophorèse (A) et sa grille de lecture (B) (Chiesa et al., 2011).

Pour vérifier le bon fonctionnement de notre PCR et l'absence de contamination technique des différents prélèvements, nous avons utilisé un témoin négatif et un témoin positif. Le témoin négatif était composé d'eau filtrée et stérilisée. Le témoin positif était au départ un échantillon ayant déjà été trouvé positif lors d'une PCR précédente.

II.5. Interprétation statistique

Toutes les données ont été saisies dans une base informatique classique (Excel 2010).

La vérification et le traitement statistique des données sont effectués sur Excel 2010. On a commencé par une étude descriptive par le calcul de la prévalence de *Sarcocystis* par les trois techniques, ensuite l'intervalle de confiance à un seuil de signification de 95 % de chaque facteur pour l'ensemble de données, ainsi que selon les facteurs âge, sexe, race, saison et région.

L'analyse statistique a été réalisée à partir des valeurs observées par l'application de tests non paramétrique le khi deux d'indépendance pour l'étude des effets des différents facteurs de risque pour la prévalence de *Sarcocystis*.

La différence est considérée comme significative si la probabilité ($p < 5\%$). Dans le cas contraire, la différence est considérée comme non significative ($P \geq 5\%$).

La mise en forme des données brutes a été réalisée sous forme de graphes en formes de secteurs éclatés et d'histogrammes en formes cylindriques.

Pour l'évaluation des tests de diagnostic (digestion enzymatique, histologie et PCR), on a résumé les résultats qu'ils ont fourni au moyen de deux indices, appelés sensibilité et spécificité qui correspondent aux proportions d'individus correctement diagnostiqués par ces examens.

➤ La sensibilité (Se) est l'indice qui évalue la capacité d'une mesure à bien classer les malades.
(ne manquera pas les malades)

➤ La spécificité (Sp) est l'indice qui évalue la capacité d'une mesure à bien classer les non malades.

$$\text{RV positif} = \frac{\text{Se}}{1-\text{Sp}} = \frac{\text{VP / malades}}{\text{FP / non- malades}}$$

$$\text{RV négatif} = \frac{1- \text{Se}}{\text{Sp}} = \frac{\text{FN / malades}}{\text{VN / non- malades}}$$

Pour décrire les performances d'un test, le **rapport de vraisemblance (RV) "Likelihood ratios"** est une façon alternative de comparer la probabilité du résultat d'un test chez les positifs et chez les négatifs.

$$\text{RV} = \text{LR} = \frac{\text{Se}}{1-\text{Sp}}$$

- | | | |
|--|---|-----------------------------------|
| - RV + > 10 ou RV- < 0.1 | ⇒ le test a un très fort gain diagnostic | } Confiance dans
le diagnostic |
| - RV + entre 5 et 10 ou RV- entre 0.1 et 0.2 | ⇒ le test a un fort gain diagnostic | |
| - RV + entre 2 et 5 ou RV- entre 0.2 et 0.5 | ⇒ le test a un gain diagnostic modéré | } Information
du diagnostic |
| - RV + < 2 ou RV- > 0.5 | ⇒ le test a un gain diagnostic faible | |

Résultats et discussion

III. RESULTATS

L'étude sur la sarcosporidiose bovine a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche «Santé et Productions Animales» de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (E.N.S.V) , du laboratoire de parasitologie mycologie de l'ENSV-Alger , CHU-Bab El Oued ex Maillot, Nefissa Hamoud Hussein dey : ex Parnet) et l'Ecole vétérinaire ONIRIS Nantes France de 2011 à 2015.

Pour la recherche de sarcosporidies chez les 575 bovins, nous avons procédé dans un premier temps à un examen macroscopique des diaphragmes et œsophages au niveau des abattoirs, suivi par un examen microscopique au niveau des laboratoires cités précédemment.

III.1. Recherche de *Sarcocystis* par examen macroscopique

L'examen macroscopique des muscles des 575 bovins a révélé l'absence de kystes sarcosporidiens à l'exception d'un seul bovin au niveau de l'abattoir d'El Harrach. Les lésions étaient représentées par des kystes fusiformes de couleur blanchâtre localisés au niveau des diaphragmes conduisant à leurs saisies (**Fig.19**). Ces kystes géants sont causés par l'espèce *Sarcocystis hirsuta* ayant comme hôte définitif le chat.

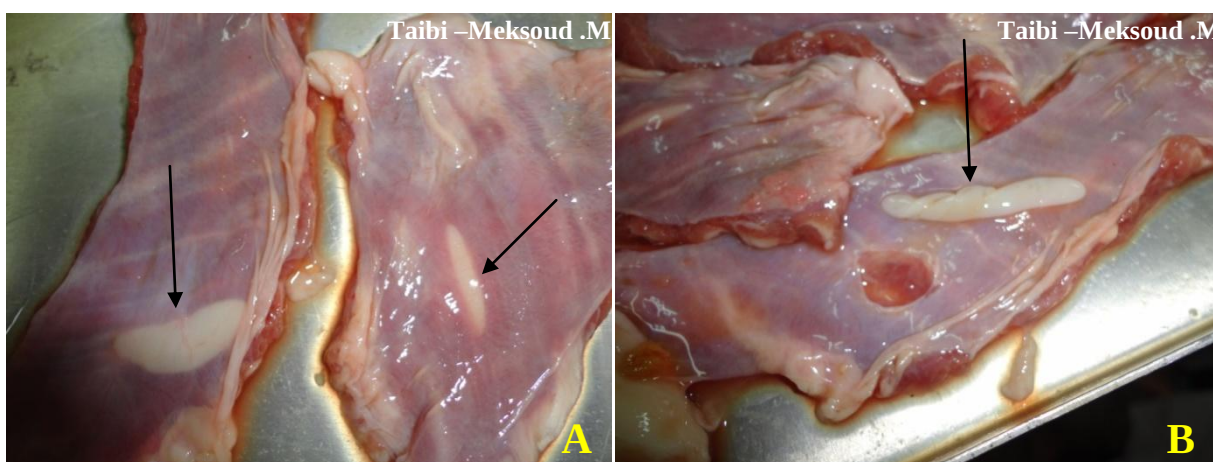


Figure 19 : kystes macroscopiques (géants) fusiformes au niveau des diaphragmes bovins(A), (B) Photos Taibi-Meksoud M., 2013, laboratoire parasitologie et mycologie ENSV et abattoir d'El Harrach).

Les kystes ont été écrasés et étalés sur des lames et couvertes de lamelles pour un examen direct au microscope photonique (Gr x 40, x100). L'examen microscopique des kystes observés sur les diaphragmes a montré des formes en banane représentant des bradyzoites du genre *Sarcocystis* spp. (**Fig.20**).

Aucun cas de saisie pour cause de myosites eosinophilique n'a été enregistré au niveau de tous les abattoirs.

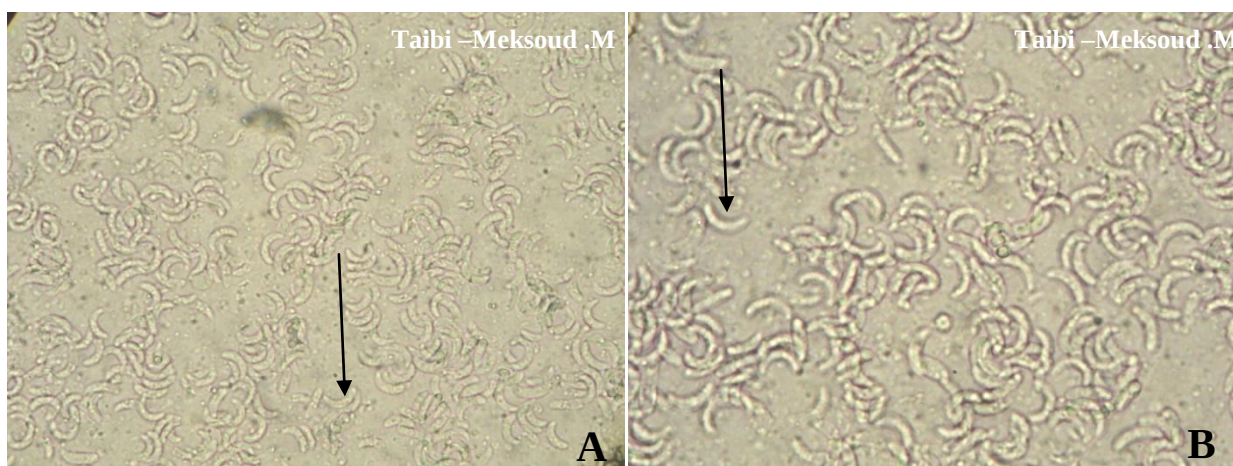


Figure 20 : Bradyzoites en forme de banane observés au niveau des kystes isolés des diaphragmes (**A** : Gr x 40, **B** : Gr x 100) (**Photos Taibi-Meksoud M., 2013, laboratoire parasitologie et mycologie ENSV et abattoir d'El Harrach**).

III.2. Recherche de *Sarcocystis* par examen microscopique

Pour la recherche de *Sarcocystis* par examen microscopique, nous avons utilisé deux techniques différentes : la digestion enzymatique et l'analyse histologique.

III.2.1. Recherche des bradyzoïtes de *Sarcocystis* par digestion enzymatique

III.2.1.1. Prévalence

III.2.1.1.1. Prévalence globale de *Sarcocystis* spp.

La digestion enzymatique a été réalisée sur un total de **1150** prélèvements de muscles (œsophage et diaphragme) provenant de **575** bovins.

Les résultats ont révélé la présence de **bradyzoïtes** de *Sarcocystis* spp. en forme de «banane» mesurant en moyenne (12.5x : 2.5µm) (longueur x largeur) et un taux de positivité important sur les deux muscles.

La coloration au May Grunwald Giemsa (M.G.G.) à partir des examens directs a permis de mettre en évidence des bradyzoïtes avec un cytoplasme coloré en bleu foncé et un apex et un noyau de couleur rose clair.

L'analyse des échantillons a révélé **516** bovins positifs soit une prévalence de la sarcosporidiose bovine de **90 %**. Seul **59** bovins sur **575** se sont avérés négatifs soit un taux de **10 %** (**Fig.21**).

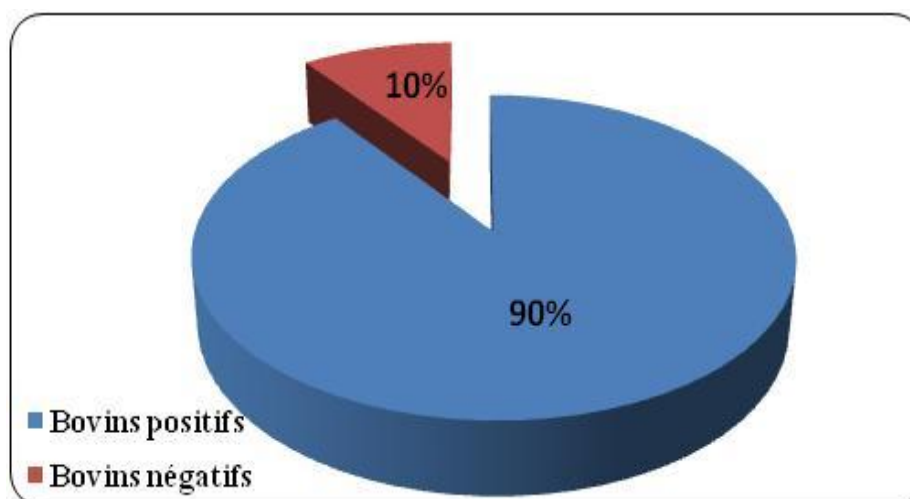


Figure 21 : Prévalence de la sarcosporidiose bovine par la technique de digestion enzymatique

Les bradyzoïtes, en forme de banane, libérés après digestion enzymatique des diaphragmes et des œsophages sont observés au microscope optique (**Fig 22**). Parfois, les bradyzoïtes se situaient sous des débris musculaires donc moins visibles.

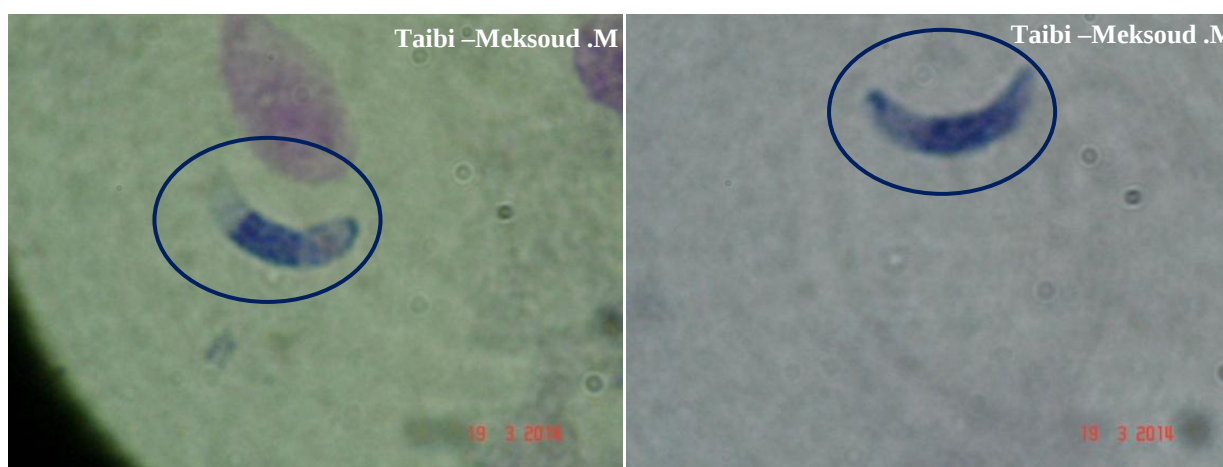


Figure 22. Bradyzoïtes de *Sarcocystis* observés dans les échantillons de diaphragme et d'œsophage (Coloration M.G.G, Gr x1000) (**Photos Taibi-Meksoud M., 2015**).

III.2.1.1.2. Prévalence de *Sarcocystis* spp. par abattoir

La prévalence par abattoir a été évaluée pour l'ensemble des animaux abattus et les taux sont représentés dans le tableau 12.

Tableau 12: Résultats de la prévalence (%) de *Sarcocystis* spp. par lieu d'abattage avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5 % « valeur de P ».

Paramètres	Variables	Positifs	IC %	Degré de signification
Abattoirs	El Harrach	52,17%	[48,1 - 56,3]	Significatif P < 0,05
	Ruisseau	9,22%	[6,9 - 11,6]	
	Tipaza	10 %	[7,6 - 12,5]	
	Sidi Bel Abbes	2,09%	[0,9 - 3,3]	
	Annaba	16,70%	[13,6 - 19,7]	

Les prévalences pour l'ensemble des abattoirs faisant objet de notre étude montrent des taux de 52.17% pour El Harrach, 16.70% pour Annaba, 10 % pour Tipaza, 9,22 % pour le Ruisseau et 2.09% pour Sidi Bel Abbes.

L'analyse de l'influence du lieu d'abattage sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. a montré une différence significative ($p < 0.05$) donc l'abattoir a un impact sur la prévalence en rapport avec le nombre de bovins prélevés en fonction des capacités d'abattage. L'abattoir d'El Harrach montre le taux le plus élevé.

III.2.1.2. Analyse de l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. obtenue par la technique de digestion enzymatique

Les facteurs de risque pris en considération dans notre présente étude sont le sexe, l'âge, la saison, la région et l'origine des animaux. L'analyse de ces derniers a permis d'évaluer leur impact sur la prévalence de *Sarcocystis* sur les 575 bovins testés et les résultats sont regroupés dans le tableau 13.

III.2.1.2.1. Influence de l'effet sexe sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans les muscles (diaphragmes et œsophages) est de 59,48% chez les mâles contre 30,26 % chez les femelles (**Fig. 23**).

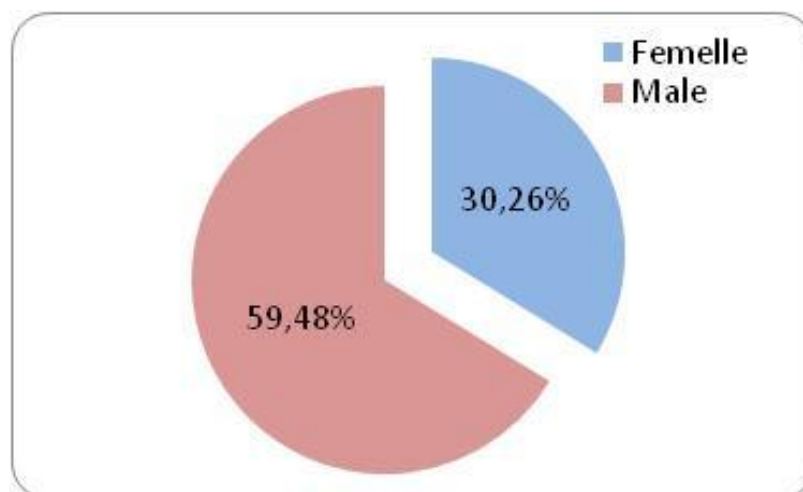


Figure 23 : Résultats des l'effet sexe sur la prévalence bovine de *Sarcocystis* spp.

L'analyse de l'influence du sexe sur la prévalence de *sarcocystis* montre que chez les deux sexes , des taux presque similaires. Il en résulte que le sexe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* ($p > 0.05$) chez les 575 bovins étudiés (**Tab.13**).

III.2.1.2.2. Influence de l'effet âge sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans nos échantillons, chez les 4 catégories d'âge définies est de 23.3.% chez les bovins âgés de moins de 2 ans , 21.74 % pour ceux âgés de plus de deux ans, 29.22% entre 3 et 4 ans et de 15,48% pour les bovins âgés de plus de 4 ans (**Fig.24**).

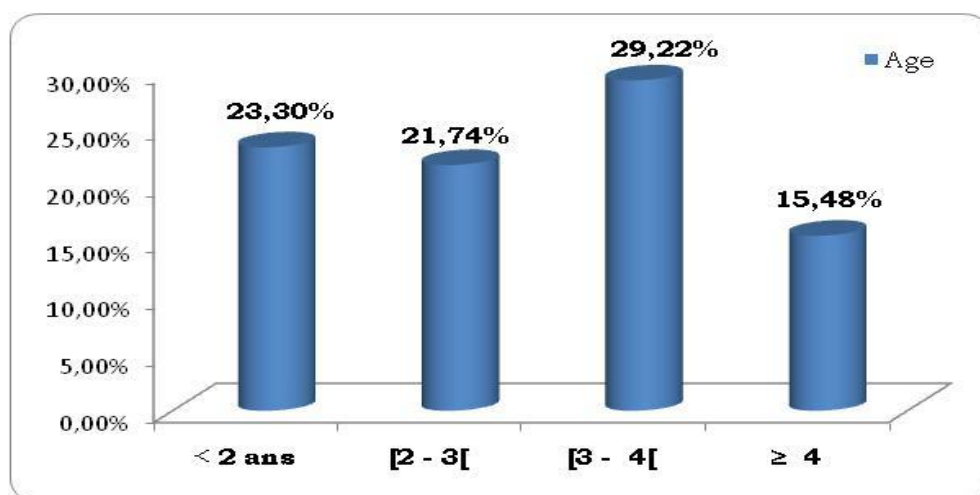


Figure 24 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par tranches d'âges.

La prévalence de *Sarcocystis* spp. montre une différence très significative ($p < 0.001$) entre les 4 tranches d'âge, il en résulte que l'âge des bovins entre 3 et 4 ans montre une prévalence de *Sarcocystis* plus importante chez les 575 bovins étudiés (**Tab. 13**)

III.2.1.2.3. Influence de l'effet race (robe) sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

Pour analyser ce facteur de risque, les données ont été regroupées en trois classes à savoir les robes PN et PR regroupant différentes races et la race croisée. A l'exception des races locales.

La prévalence de *Sarcocystis* chez les bovins est de 47.13 % chez les bovins de robe PN (Holstein...), 31,13 % pour les bovins PR (Montbéliarde, Flekvieh) et de 11.48% les bovins de races croisées (Fig.25).

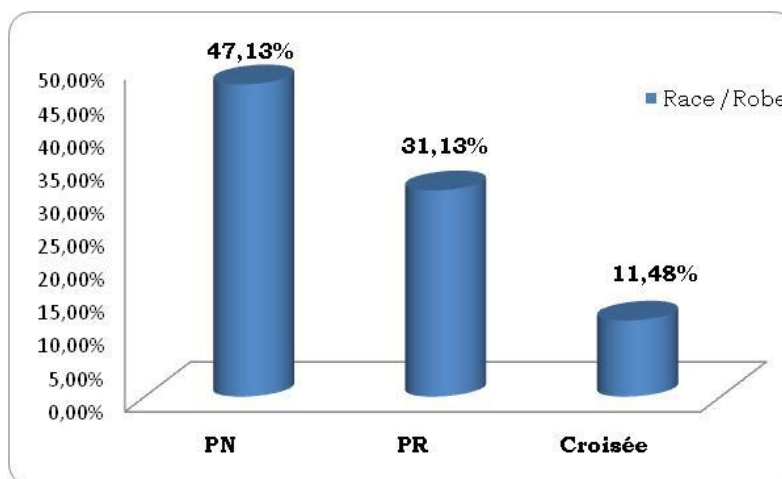


Figure 25 : Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence bovine de *Sarcocystis* spp.

La prévalence du parasite chez les différentes classes est presque similaire. Il en résulte que la race et/ou robe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. ($p > 0.05$) chez les 575 bovins étudiés (Tab.13).

III.2.1.2.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans nos échantillons, au niveau des 04 régions définies de l'Algérie est de 37,74% au Centre, 34.43% à l'Est, 15.65% à l'Ouest et 1.91% pour le Sud. (Fig.26).

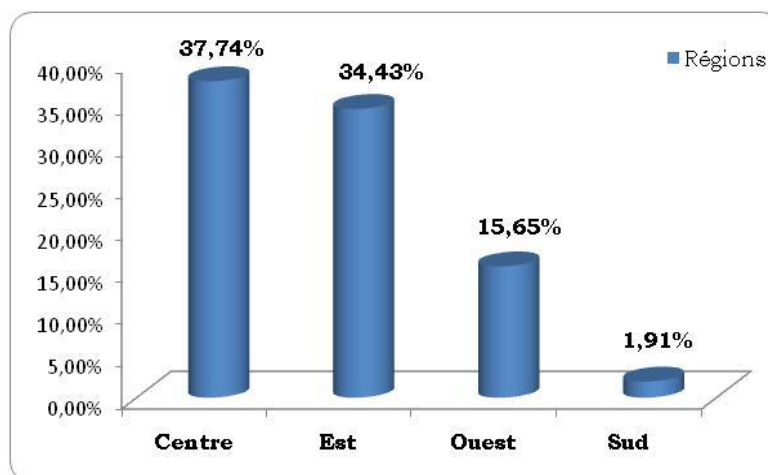


Figure 26 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par région.

Les différentes régions ne montrent aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* spp ($p > 0.05$) (Tab.13).

L'analyse de la distribution des 516 bovins infectés par *Sarcocystis* spp. détectés par la technique de digestion enzymatique au niveau des différentes wilayas (21) montre que Bouira (Région Est) présente le nombre le plus élevé de bovins infectés (82) suivie d'Ain Defla (70) et Alger (69) (Centre) ensuite Annaba (53) et Sétif (52) (Est) et Tipaza (42)(Centre) et la wilaya Relizane (41) à l'Ouest. Le restant des wilayas montre un faible nombre variant de 1 à 25 bovins atteints (Fig. 27).

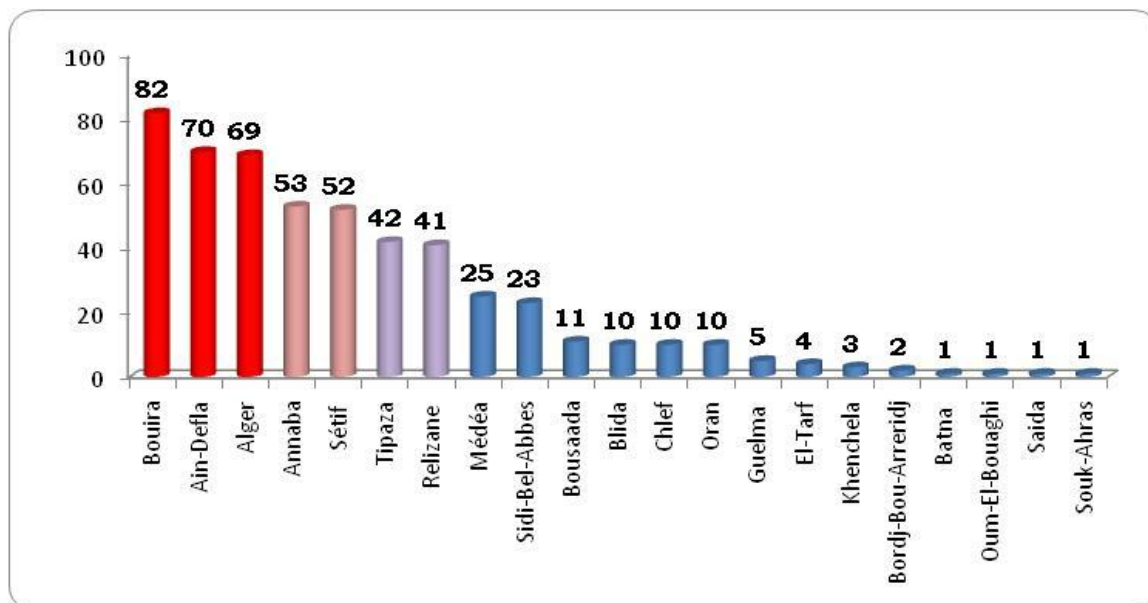


Figure 27 : Répartition des bovins infectés par *Sarcocystis* spp. par wilaya.

III.2.1.2.5. Influence de l'effet saison sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* pour les 04 saisons est de 36.70 % pour l'hiver, 29.22% au printemps et 21.22% en été et seulement de 2.61% pour l'automne (Fig.28).

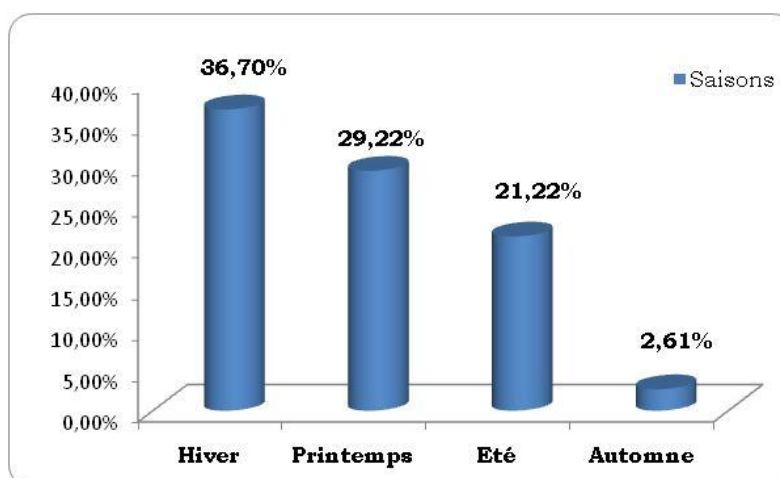


Figure 28 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par saisons

L'analyse démontre une différence très significative ($p < 0.001$) entre les saisons. En effet l'hiver est la saison la plus prévalente pour *Sarcocystis* spp. suivi du printemps et ensuite de l'été (Tab.13).

Pour la digestion enzymatique, l'ensemble des résultats de l'analyse de chacun des facteurs de risque (sexe, âge, race, régions, saisons) pouvant influencer sur la prévalence de *Sarcocystis* spp avec un seuil de signification $p < 0.05$ est reporté dans le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats de la prévalence (%) de *Sarcocystis* spp par la technique de digestion enzymatique avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5 % « valeur de P » par le test de chi-deux (X^2) et comparaison des facteurs de risque.

Paramètres	Variables	Positifs	IC %	Degré de signification
Sexe	Femelle	30,26%	[26,5 - 34,0]	Non significatif $P > 0,05$
	Male	59,48%	[55,5 - 63,5]	
Age	< 2 ans	23,30%	[19,8 - 26,80]	Très significatif $P < 0,001$
	[2 - 3[	21,74%	[18,4 - 25,10]	
	[3 - 4[	29,22%	[25,5 - 32,90]	
	≥ 4	15,48%	[12,5 - 18,40]	
Race	PN	47,13%	[43,1 - 51,2]	Non significatif $P > 0,05$
	PR	31,13%	[27,3 - 34,9]	
	Croisée	11,48%	[8,9 - 14,1]	
Région	Centre	37,74%	[33,8 - 41,7]	Non significatif $P > 0,05$
	Est	34,43%	[30,6 - 38,3]	
	Ouest	15,65%	[12,7 - 18,6]	
	Sud	1,91%	/	
Saison	Automne	2,61%	[1,3 - 3,9]	Très Significatif $P < 0,001$
	Hiver	36,70%	[32,8 - 40,6]	
	Printemps	29,22%	[25,5 - 32,9]	
	Été	21,22%	[17,9 - 24,6]	

III.2.2. Recherche des kystes de *Sarcocystis* par la technique histologique

En histologie, un prélèvement est déclaré positif dès lors qu'au moins un kyste y est observé. Un bovin est donc déclaré infecté quand au moins un kyste est observé sur l'ensemble des échantillons (œsophage, diaphragme) issus de ce bovin (Bertin, 2013).

L'analyse histologique permet de dénombrer les kystes de *Sarcocystis* et d'identifier les espèces mises en cause. En effet, en se basant sur des critères morphologiques à l'observation des coupes histologiques au microscope optique, 2 types de kystes ont été observés à l'intérieur des fibres musculaires. Le premier type est à paroi mince, caractéristique de *Sarcocystis cruzi* (Fig.29) alors que le deuxième type est à paroi épaisse, il pourrait s'agir soit de *Sarcocystis hominis* soit de *Sarcocystis hirsuta* (Fig.30).

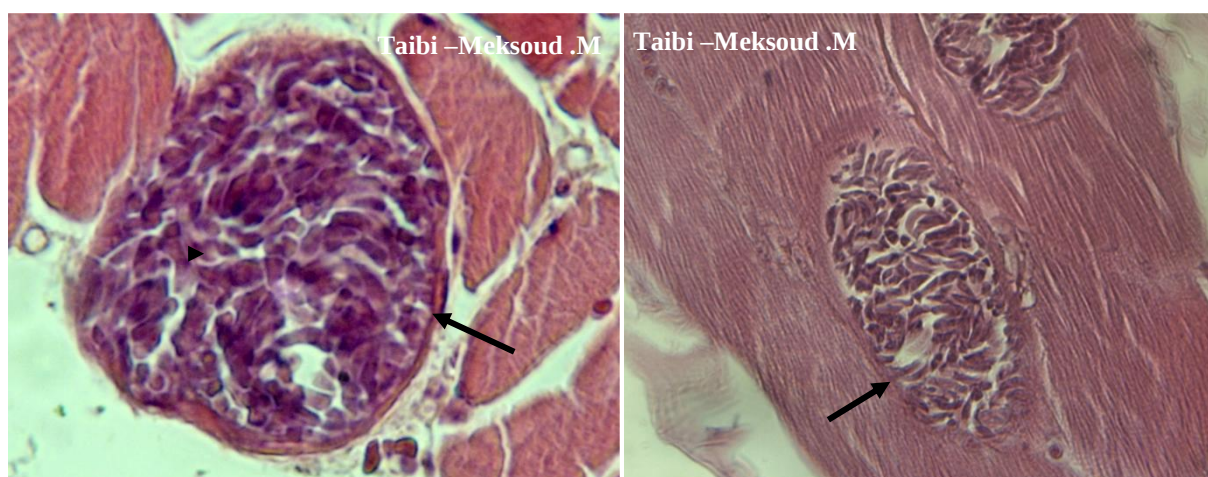


Figure 29 : Coupe transversale de 2 kystes de *Sarcocystis* à paroi mince observé au niveau d'un diaphragme (H&E, A : Gr x400 ; B : Grx1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015).

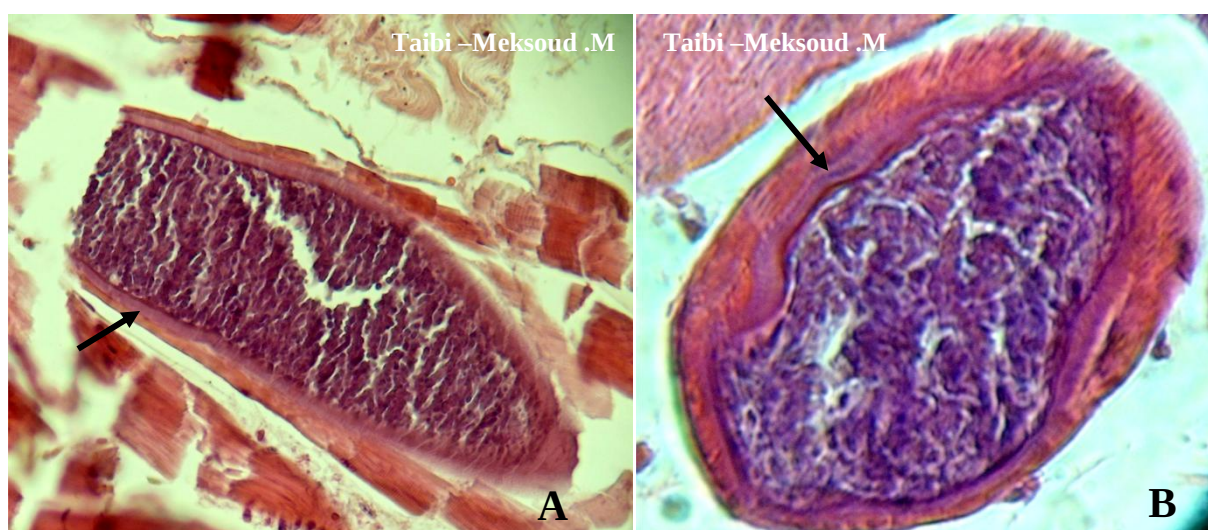


Figure 30 : Kystes de *Sarcocystis* à paroi épaisse en coupe longitudinale (A) et transversale (B) observés au niveau des diaphragmes (H&E, Gr x1000) (Photos Taibi-Meksoud M., 2015).

Cependant la méthode histologique exige une observation précise pour différencier les kystes de *S. hominis* ou de *S. hirsuta* lorsque celui ci présente une paroi épaisse. Les kystes à paroi fine quant à eux sont nécessairement des kystes de *S. cruzi*. L'examen au microscope des kystes à paroi épaisse observés au niveau des prélèvements de muscles ( sophage, diaphragme) nous a permis d'observer les cytophanères de formes longues et cylindriques (en forme de doigts) et presque perpendiculaires à la surface de la paroi (**Fig. 31.A**). Il pourrait donc s'agir de *S. hominis* (l'espèce zoonotique) (**Fig. 31.B**).

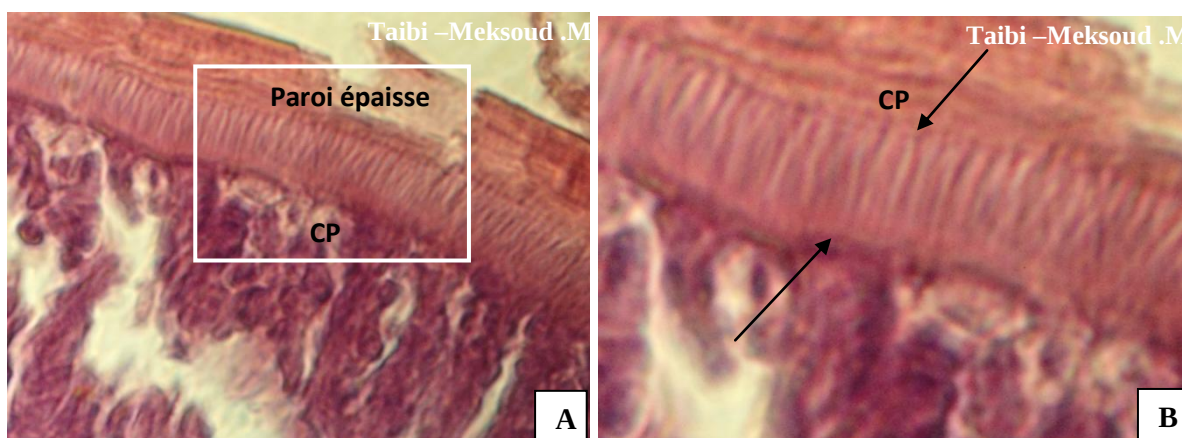


Figure 31 : Kystes de *Sarcocystis*   paroi épaisse en coupe transversale (**A**) observation des cytophanères (**CP**) en forme de doigts spécifique de l'espèce zoonotique *S. hominis* (**B**) observés au niveau des diaphragmes (H&E, Gr x1000) (**Photos Taibi-Meksoud M., 2015**).

III.2.2.1. Prévalence globale des kystes microscopiques de *Sarcocystis* spp.

Seuls 366 échantillons sur les 575 bovins prélevés ont été analysés par la technique histologique et ce suite au manque de moyens au niveau de l'ensemble des laboratoires d'histologie sollicités. L'analyse histologique a révélé la présence de kystes sarcosporidiens chez 251 bovins sur les 366, soit une prévalence de 69% et 115 bovins négatifs soit 31% (**Fig.32**)

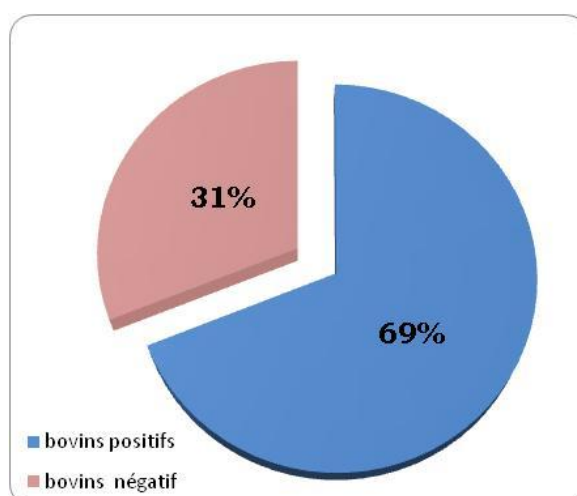


Figure 32 : Prévalence de kystes sarcosporidiens chez les bovins testés par la technique histologique

III.2.2.2. Prévalence des kystes sarcosporidiens selon le type de paroi

Chez les bovins porteurs de kystes de *Sarcocystis*, l'observation microscopique a permis de révéler deux catégories de répartition :

- Infestation par un seul type de kystes soit à paroi mince ou à paroi épaisse donc des cas de mono-infestations.
- Infestation en même temps par des kystes à paroi mince et des kystes à paroi épaisse donc des doubles infestations ou infestations mixtes.

Le dénombrement des kystes réalisé sur 251 bovins parasités a révélé que 246 bovins étaient infestés par des kystes à paroi mince soit 98 % tandis que 22 bovins avaient des kystes à paroi épaisse soit 9%. Seul 19 bovins étaient doublement infestés par des kystes à paroi mince et épaisse soit 7.56 % (**Fig.33**).

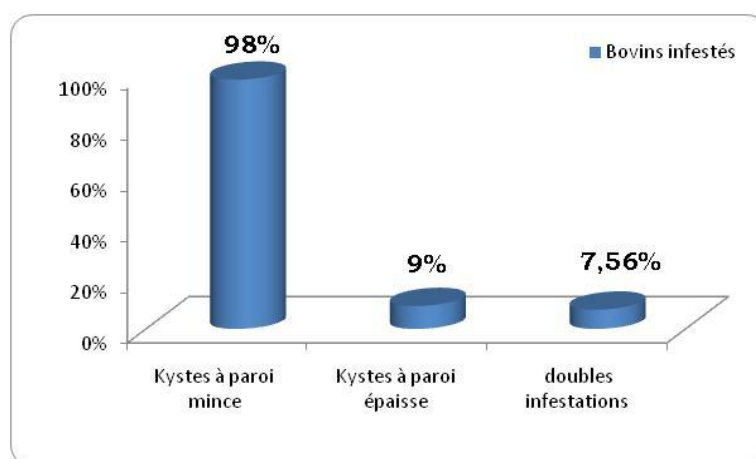


Figure 33 : Prévalence des kystes sarcosporidiens à paroi mince et épaisse et des doubles infestations chez les bovins parasités.

III.2.2.3. Densité des kystes de *Sarcocystis* spp. chez les bovins parasités.

Le nombre de kyste a été calculé sur toute la surface du champ de chaque lame pour chacun des muscles (œsophage et diaphragme) et ensuite la somme des kystes a été réalisée pour les deux muscles de chaque bovin.

Chez les bovins parasités, un total de 1941 kystes de *Sarcocystis* spp. a été dénombré. Ces kystes se distribuaient dans les échantillons de diaphragmes et d'œsophages, selon l'épaisseur de leur paroi. Un nombre de 1910 kystes à paroi mince et 31 kystes à paroi épaisse a été observé sur l'ensemble des échantillons des bovins parasités (**Fig.34**).

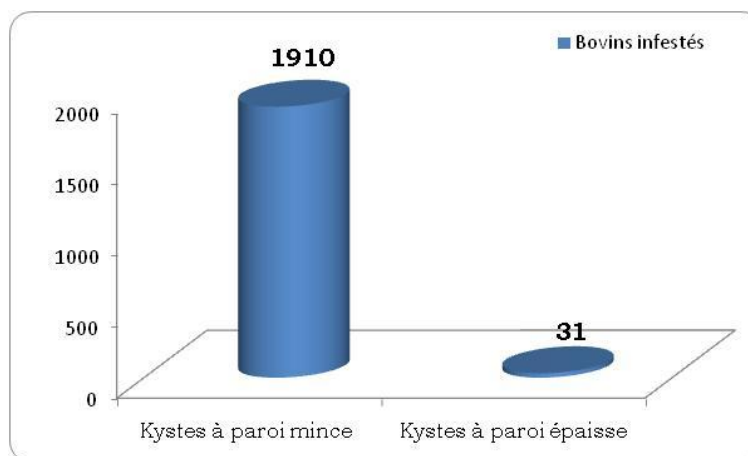


Figure 34 : Nombre de kystes sarcosporidiens à paroi mince et de kystes à paroi épaisse dans les échantillons des bovins parasités.

Tableau 14 : Densité du parasitisme des échantillons de diaphragmes et d'œsophages par des kystes à paroi mince et à paroi épaisse.

	1 à 3 kystes		4 à 10 kystes		Plus de 10 kystes	
	PM	PE	PM	PE	PM	PE
Nombre de Bovins parasités	133	22	71	0	42	0
Nombre total de kystes	220	31	436	0	1254	0

PM : Paroi mince, PE : paroi épaisse

L'examen des lames histologiques des échantillons de muscles (diaphragmes, œsophages) présentant un nombre entre 1 et 3 kystes à paroi mince représente le nombre le plus faible sur un nombre le plus élevé de bovins (133) par contre seulement 22 bovins montrent le nombre le plus élevé de kystes à paroi épaisse (31).

Pour les lames entre 3-10 kystes, 71 bovins présentent un total de 436 kystes à paroi mince, aucun ne présentait de kystes à paroi épaisse.

En ce qui concerne les lames qui présentaient plus de 10 kystes à paroi mince, 42 bovins parasités montrent un nombre important de kystes soit un total de 1254.

Les lames du bovin n° 170 présentaient le plus grand nombre de kystes à paroi mince avec un total de 107 kystes.

On note que les kystes à paroi mince sont présents en plus grand nombre par rapport aux kystes à paroi épaisse (**Tab. 14**).

III.2.2.4. Etude des facteurs de risque sur la prévalence des kystes de *S. cruzi*

Vu que nous avons observé la présence d'une forte prévalence de *S. cruzi* et que cette espèce est considérée comme la plus pathogène chez les bovins (Dubey, Lindsay., 2006), il nous a semblé intéressant d'étudier sa prévalence en fonction du sexe et de l'âge.

III.2.2.4.1. Prévalence des kystes de *Sarcocystis cruzi* selon le sexe

Sur les 251 bovins révélés positifs à la sarcosporidiose, nous avons pu compter 130 mâles et 121 femelles. Les kystes de *S. cruzi* sont présents chez 126/130 mâles et chez 108/121 femelles (Fig.35).

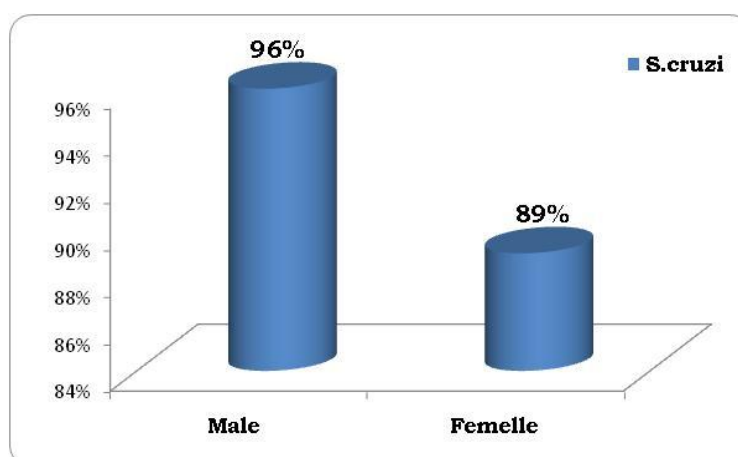


Figure 35 : Prévalence des kystes de *Sarcocystis cruzi* chez les mâles et les femelles infestés.

III.2.2.4.2 Prévalence des kystes de *Sarcocystis cruzi* selon l'âge

Sur les 246 bovins présentant des kystes de *Sarcocystis cruzi* , 70 bovins âgés de moins de 2 ans et 132 de plus de 2 ans , 4 de plus de 3 ans et 40 de plus de 4 ans présentaient des kystes à paroi mince avec une prévalence de 28%, 54%, 2% et 16% respectivement.

Les kystes à paroi mince de *Sarcocystis cruzi* sont prédominants chez les bovins âgés de plus de 2 ans (Fig.36).

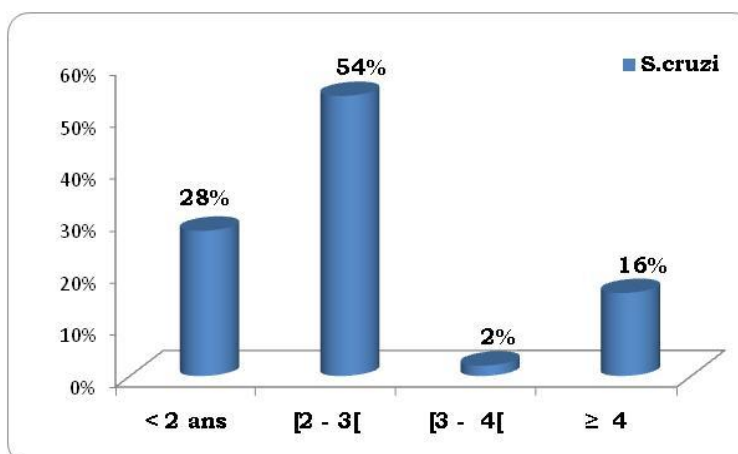


Figure 36 : Prévalence des kystes de *S. cruzi* chez les bovins parasités selon les tranches d'âges

III.2.2.5. Analyse de l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. obtenue par la technique histologique

Les mêmes facteurs de risque que pour la digestion enzymatique (sexe, l'âge, saison, région et race / robe) ont été analysés. L'analyse de ces derniers a permis d'évaluer leur impact sur la prévalence de *Sarcocystis* sur les 366 bovins testés par la technique histologique et les résultats sont regroupés dans le **tableau 15**.

III.2.2.5.1. Influence de l'effet sexe sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans les muscles (diaphragmes et œsophages) est de 35,79% chez les mâles contre 32,79 % chez les femelles (**Tab.15**)

La prévalence du parasite chez les deux sexes est presque similaire. Il en résulte que le sexe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* ($p > 0.05$) chez les 366 bovins détectés positifs en histologie (**Fig.37**).

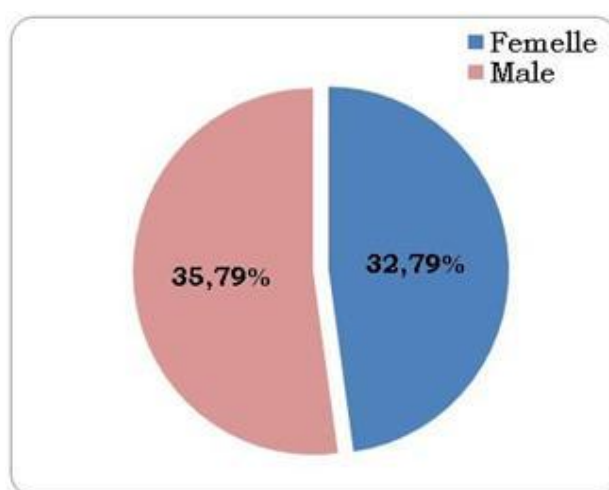


Figure 37: Résultats de l'effet sexe sur la prévalence bovine de *Sarcocystis* spp.

III.2.2.5.2. Influence de l'effet âge sur la prévalence de *sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans nos échantillons, chez les 4 catégories d'âge définies est de 19,67% chez les bovins âgés de moins de 2 ans , 36.89 % pour ceux âgés de plus de deux ans , 1,09% entre 3 et 4 ans et de 10,93% pour les bovins âgés de plus de 4 ans. (**Tab.15**). La prévalence de *Sarcocystis* spp. montre une différence très significative ($p < 0.001$) entre les 4 catégories d'âge, il en résulte que l'âge des bovins entre 2 et 3 ans montre une prévalence de *Sarcocystis* plus importante chez les 366 bovins étudiés (**Fig.38**).

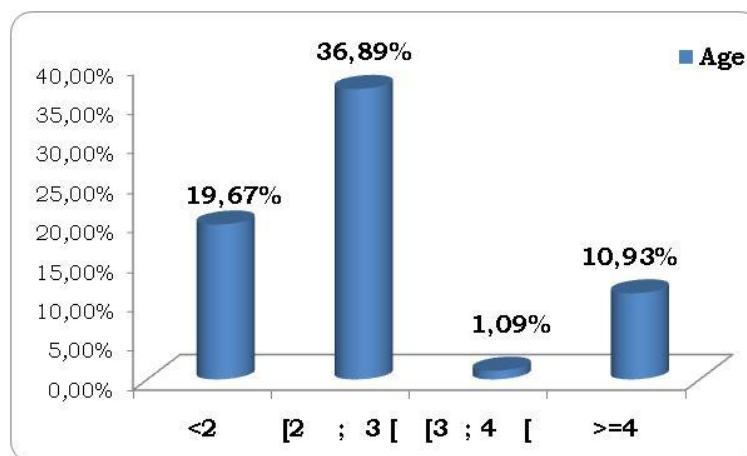


Figure 38: Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins infectés par tranches d'âges

III.2.2.5.3. Influence de l'effet race (robe) sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

Pour analyser ce facteur de risque, les données ont été regroupées en deux classes à savoir les robes PN et PR regroupant différentes races et la race croisée excepté les races locales.

La prévalence de *Sarcocystis* chez les bovins est de 36,89% chez les bovins de robe PN (Holstein....), 31,69% pour les bovins PR (Montbéliarde, Flekvieh....) (Fig.39).

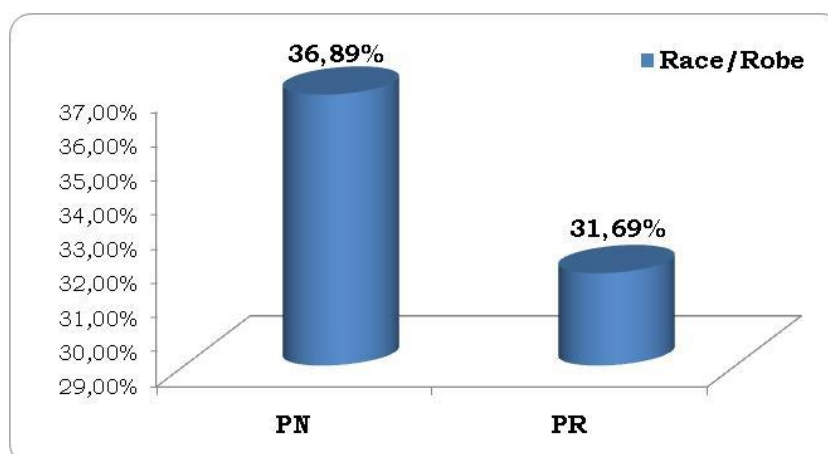


Figure 39: Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence bovine de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* spp. pour les différentes classes est presque similaire. Il en résulte que la race et/ou robe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. ($p > 0.05$) chez les 366 bovins étudiés (Tab.15).

III.2.2.5.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans nos échantillons, au niveau des 04 régions définies de l'Algérie est de 32,51% au Centre, 20,49% à l'Est, 13,37% à l'Ouest et 2,19% pour le Sud. (Fig.40).

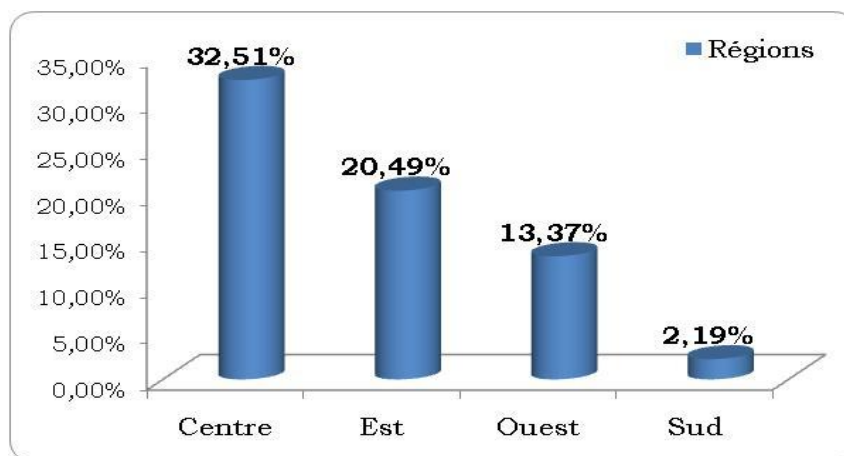


Figure 40 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par régions

La prévalence de *Sarcocystis* spp. au niveau des différentes régions ne montre aucune différence ($p > 0.05$) (Tab.15).

L'analyse de la répartition des 251 bovins infectés par *Sarcocystis* spp. détectés par la technique histologique au niveau des différentes wilayas (12) montre que Bouira (Région Est) présente le nombre le plus élevé de bovins infectés (57) suivie d'Ain Defla (43) et Alger (32) (Centre) ensuite Relizane (26) et la wilaya de Tipaza (24), (Centre- à l'Ouest). Le restant des wilayas montre un faible nombre de variant de 20 à 2 bovins atteints (Fig.41).

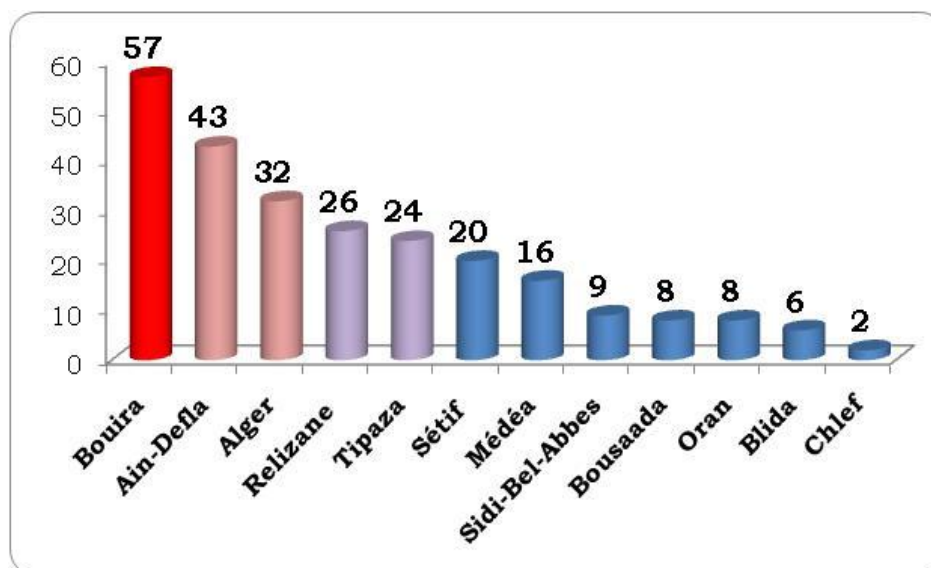


Figure 41 : Répartition des bovins infectés par *Sarcocystis* spp. par wilaya.

III.2.2.5.5. Influence de l'effet saison sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* pour les 04 saisons est de 34,97% pour l'hiver, 24,59% au printemps et 6,56% en été et seulement de 2,46% pour l'automne (Fig.42).

.

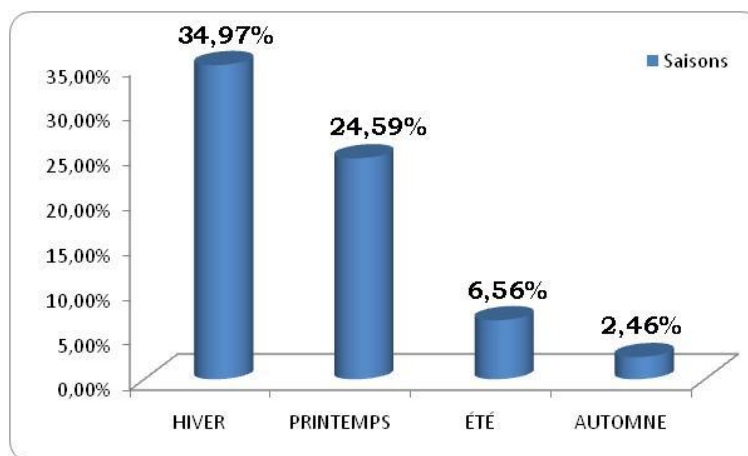


Figure 42 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par saisons

L'analyse démontre une différence très significative ($p < 0.001$) entre les saisons. En effet l'hiver est la saison la plus prévalente pour *Sarcocystis* spp. suivi du printemps (**Tab.15**).

Pour l'histologie, l'ensemble des résultats de l'analyse de chacun des facteurs de risque (sexe, âge, race, régions, saisons) pouvant influencer sur la prévalence de *Sarcocystis* spp avec un seuil de signification $p < 0.05$ est reporté dans le tableau 15.

Tableau 15 : Résultats de la prévalence (%) de *Sarcocystis* spp. par la technique d'histologie avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5% « valeur de P » par le test de chi-deux (X^2) et comparaison des facteurs de risque.

Paramètres	Variables	Positifs	IC %	Degré de signification
Sexe	Femelle	32,79%	[28 - 37,6]	Non significatif $P > 0,05$
	Male	35,79%	[30,9 - 40,7]	
Age	< 2 ans	19,67%	[15,6 - 23,7]	Très significatif $P < 0,001$
	[2 - 3[	36,89%	[31,9 - 41,8]	
	[3 - 4[	1,09%	[0,0 - 2,2]	
	≥ 4	10,93%	[7,7 - 14,1]	
Race	PN	36,88%	[31,9 - 41,8]	Non significatif $P > 0,05$
	PR	31,69%	[26,9 - 36,9]	
Région	Centre	32,51%	[27,7 - 37,3]	Non significatif $P > 0,05$
	Est	20,49%	[16,4 - 24,6]	
	Ouest	13,99%	[9,9 - 16,9]	
	Sud	2,19%	/	
Saison	Automne	2,46%	[0,9 - 4,0]	Très Significatif $P < 0,001$
	Hiver	34,97%	[30,1 - 39,9]	
	Printemps	24,59%	[20,0 - 29,0]	
	Eté	6,56%	[4,0 - 9,1]	

III.3. PCR

En PCR, un prélèvement est déclaré positif pour le portage du parasite si au moins une fois à l'électrophorèse, une bande apparaît pour l'une ou l'autre des espèces de *Sarcocystis* identifiées. Un bovin est déclaré infecté par le parasite dès lors que l'un de ses prélèvements est déclaré positif.

Vu l'impossibilité de traiter l'ensemble des prélèvements bovins, le choix s'est portée sur la richesse des échantillons en bradyzoïtes lors de l'analyse par la digestion enzymatique. Ainsi, l'analyse PCR a été réalisée sur 168 culots de digestion conservés à -20 °C issus de 163 bovins sur les 575 bovins ayant fait l'objet de notre étude.

III.3.1.Prévalence de *Sarcocystis* spp.

Les résultats de l'analyse des prélèvements pour chaque bovin par la PCR pour toutes espèces confondues de *Sarcocystis* sont résumés dans le **tableau 16**.

La prévalence obtenue est élevée de l'ordre de 76% pour l'ensemble de bovins positifs donc le genre *Sarcocystis* est bien détecté par PCR et confirme le diagnostic histologique.

Tableau 16 : Résultats de la PCR pour *Sarcocystis* spp.

	PCR (N=163)		
	Positifs	Négatifs	Prévalence
Extraits d'ADN	124	39	76,1 %

III.3.2.Prévalence des espèces de *Sarcocystis*

La PCR multiplex est un outil intéressant et performant pour déterminer les espèces de *Sarcocystis* incriminées. L'analyse des amplifiats d'ADN a permis de détecter deux espèces identifiées comme *S. cruzi* et *S. hominis* avec des prévalences de 42% et 33% respectivement. L'espèce *S. hirsuta* n'a pas été décelée dans nos échantillons. Des co-infestations *S. cruzi*-*S. hominis* ont été décelées avec une prévalence de 16% (**Tab.17**). Par contre 31 bovins positifs en genre de *Sarcocystis*, sont négatifs en PCR multiplex pour les espèces de *Sarcocystis*. En effet, aucun de ces prélèvements n'ont présenté en PCR de bande visible sur le gel d'électrophorèse avec les amorces spécifiques de *S. cruzi*, *hominis* et *hirsuta*.

Tableau 17: Résultats de la PCR Multiplex pour *Sarcocystis cruzi*, *hominis* et co-infestations.

Espèces de <i>Sarcocystis</i>	PCR Multiplex (N=163)			
	Positifs	Négatifs	Douteux	Prévalence
<i>S. cruzi</i>	68	94	1	42% [34,1 - 49,3]
<i>S. hominis</i>	53	110	0	33% [25,3 - 39,7]
<i>S. hirsuta</i>	0	163	0	0%
Co-infestation <i>S. cruzi</i> / <i>S. hominis</i>	26	67	0	16% [10,3 - 21,6]

Les différents types de bandes visibles obtenues dans cette étude sont illustrés dans la **figure 43**. La lecture se fait sur la base du poids moléculaire de chaque bande avec pour référence le marqueur de poids moléculaire (M) avec les témoins positif (T+) et négatif (T-) (**Tab 18**) :

- 284 pb pour *S. cruzi* (1)
- 182 pb pour *S. hominis* (2)
- T+, T-, et M (3)

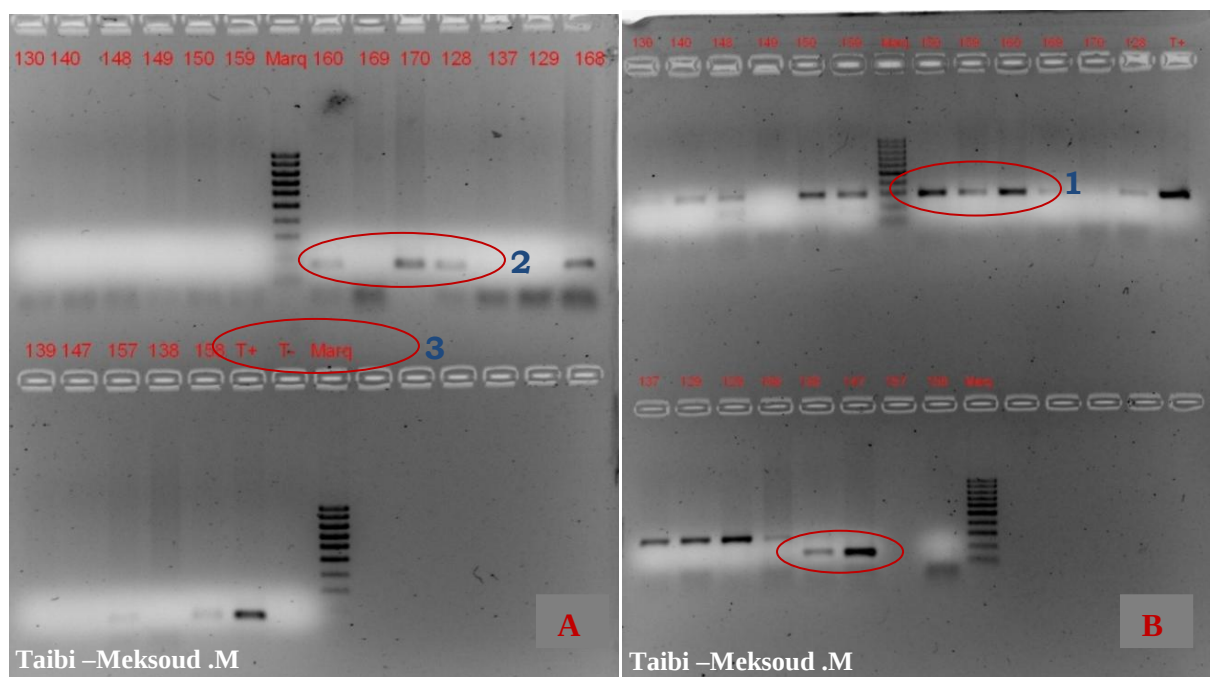


Figure 43 : Clichés des bandes obtenues sur le gel électrophorèse, (A) pour *Sarcocystis* spp, (B) pour les espèces de *Sarcocystis* : *S. cruzi*, *S. hominis* (ONIRIS Nantes, Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 18: Résultats de la PCR pour *Sarcocystis* spp. et PCR Multiplex pour les espèces de *Sarcocystis*.

N°	Echantillon	PCR		PCR Multiplex			
		<i>Sarcocystis</i> Spp.	P M*	<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	P M*
01	130	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
02	140	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
03	148	Positif	182 pb	Positif	Positif	Négatif	284 +182 pb
04	149	Positif	182 pb	Positif	Positif	Négatif	284 +182 pb
05	150	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
06	159	Positif	182 pb	Positif	Positif	Négatif	284 +182 pb
07	160	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
08	169	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
09	170	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
10	128	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
11	137	Positif	182 pb	Positif	Positif	Négatif	284 +182 pb
12	129	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
13	168	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
14	139	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
15	147	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
16	157	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
17	138	Positif	182 pb	Positif	négatif	Négatif	284 pb
18	158	Positif	182 pb	Négatif	Positif	Négatif	182 pb

*PM : poids moléculaire

Tous les résultats obtenus en PCR *Sarcocystis* spp. et PCR multiplex et les gels d'électrophorèse observées aux ultraviolets (UV) sont représentés par les clichés suivants (URM Sécalim , ONIRIS Nantes, Clichés Taibi-Meksoud M., 2015) :

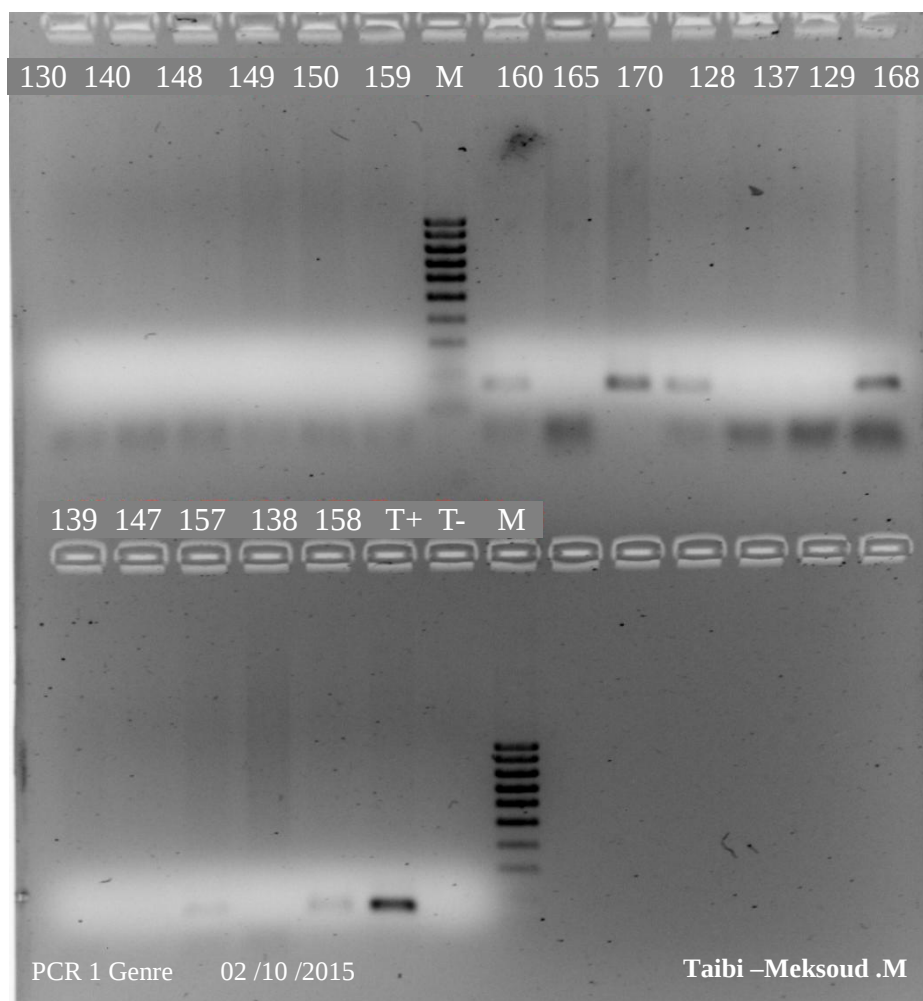


Figure 44 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp. (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 19 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp. (18 extraits d'ADN) (PCR 1).

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	P M
01	130	Positif	182 pb
02	140	Positif	182 pb
03	148	Positif	182 pb
04	149	Positif	182 pb
05	150	Positif	182 pb
06	159	Positif	182 pb
07	160	Positif	182 pb
08	169	Positif	182 pb
09	170	Positif	182 pb
10	128	Positif	182 pb
11	137	Positif	182 pb
12	129	Positif	182 pb
13	168	Positif	182 pb
14	139	Positif	182 pb
15	147	Positif	182 pb
16	157	Positif	182 pb
17	138	Positif	182 pb
18	158	Positif	182 pb

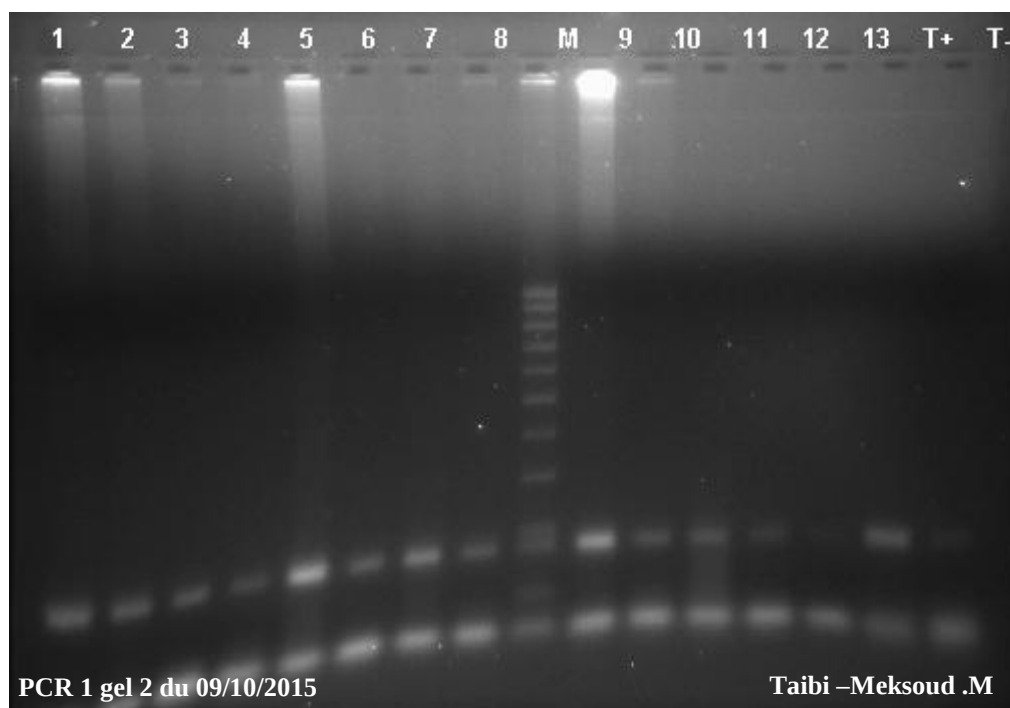


Figure 45 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp. (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 20 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .2)

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
1	1	Positif	182 pb
2	2	Positif	182 pb
3	3	Positif	182 pb
4	4	Positif	182 pb
5	5	Positif	182 pb
6	6	Positif	182 pb
7	7	Positif	182 pb
8	8	Positif	182 pb
9	9	Positif	182 pb
10	10	Positif	182 pb
11	11	Positif	182 pb
12	12	Positif	182 pb
13	13	Douteux	182 pb

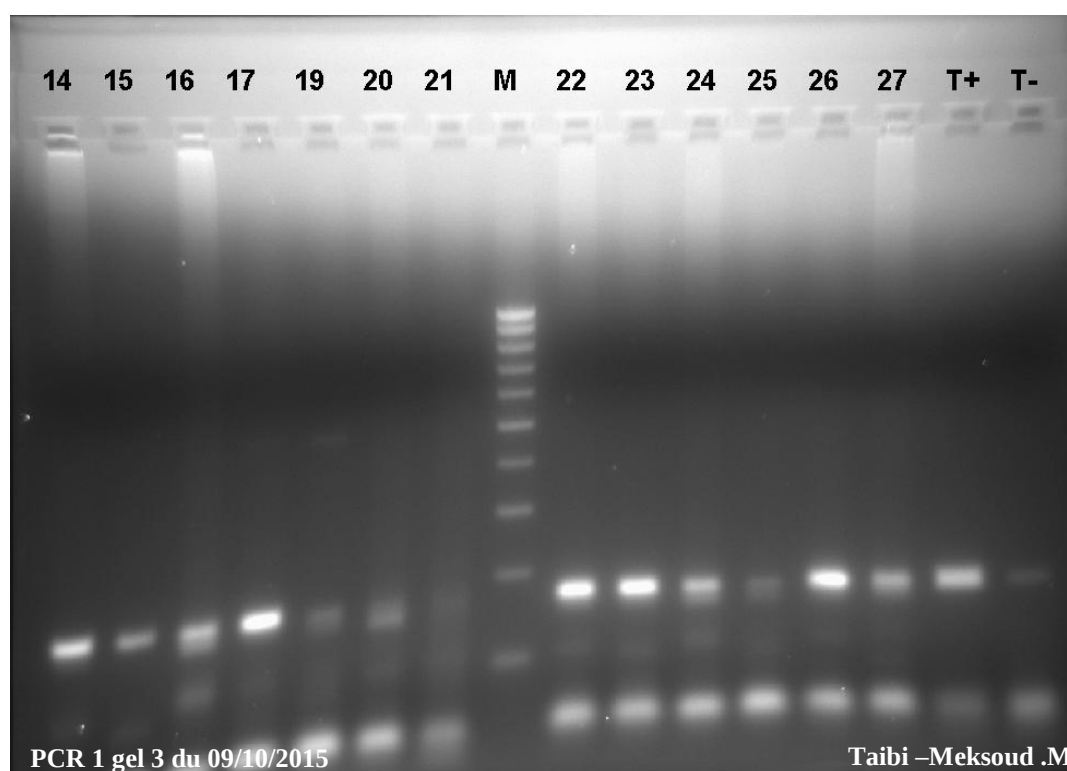


Figure 46 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 21 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .3)

N°	Extraits	PCR	
		Sarcocystis spp	PM
1	14	Positif	182 pb
2	15	Positif	182 pb
3	16	Positif	182 pb
4	17	Positif	182 pb
5	19	Positif	182 pb
6	20	Positif	182 pb
7	21	Négatif	/
8	22	Positif	182 pb
9	23	Positif	182 pb
10	24	Positif	182 pb
11	25	Positif	182 pb
12	26	Positif	182 pb
13	27	Positif	182 pb

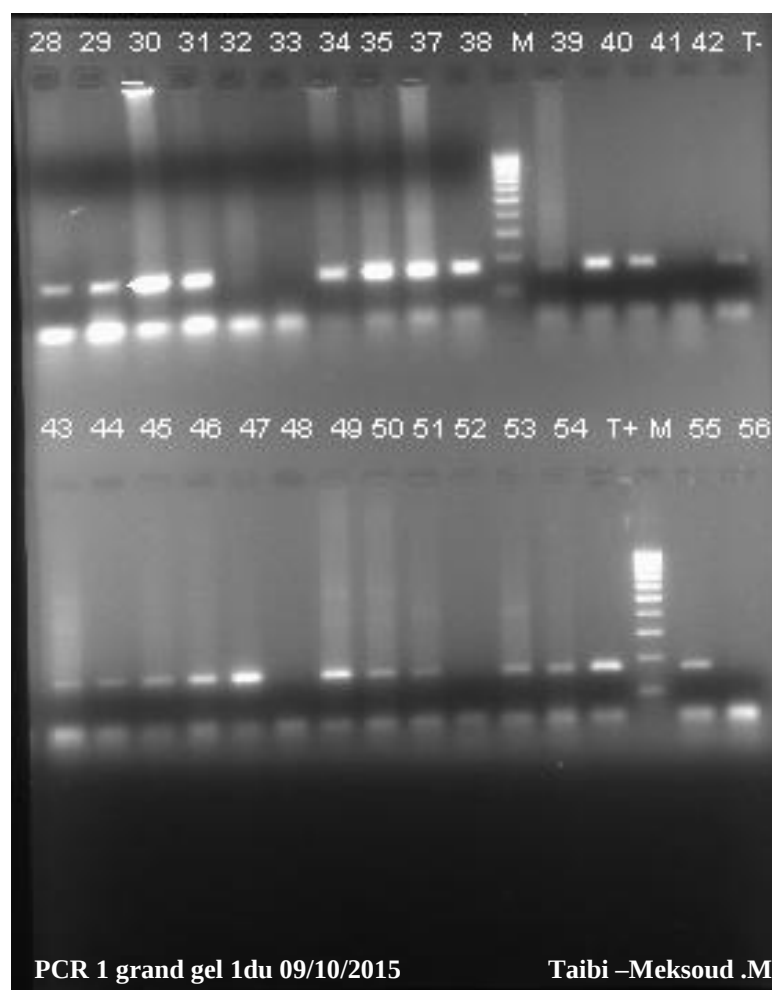


Figure 47 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp. (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 22 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp (28 extraits d'ADN) (PCR 1 grand gel .1)

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
1	28	Douteux	182 pb
2	29	Positif	182 pb
3	30	Positif	182 pb
4	31	Positif	182 pb
5	32	Positif	182 pb
6	33	Négatif	/
7	34	Positif	182 pb
8	35	Positif	182 pb
9	37	Positif	182 pb
10	38	Positif	182 pb
11	39	Douteux	182 pb
12	40	Positif	182 pb
13	41	Positif	182 pb
14	42	Négatif	/

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
15	43	Positif	182 pb
16	44	Positif	182 pb
17	45	Positif	182 pb
18	46	Positif	182 pb
19	47	Positif	182 pb
20	48	Négatif	/
21	49	Positif	182 pb
22	50	Positif	182 pb
23	51	Positif	182 pb
24	52	Négatif	/
25	53	Positif	182 pb
26	54	Positif	182 pb
27	55	Positif	182 pb
28	56	Négatif	/

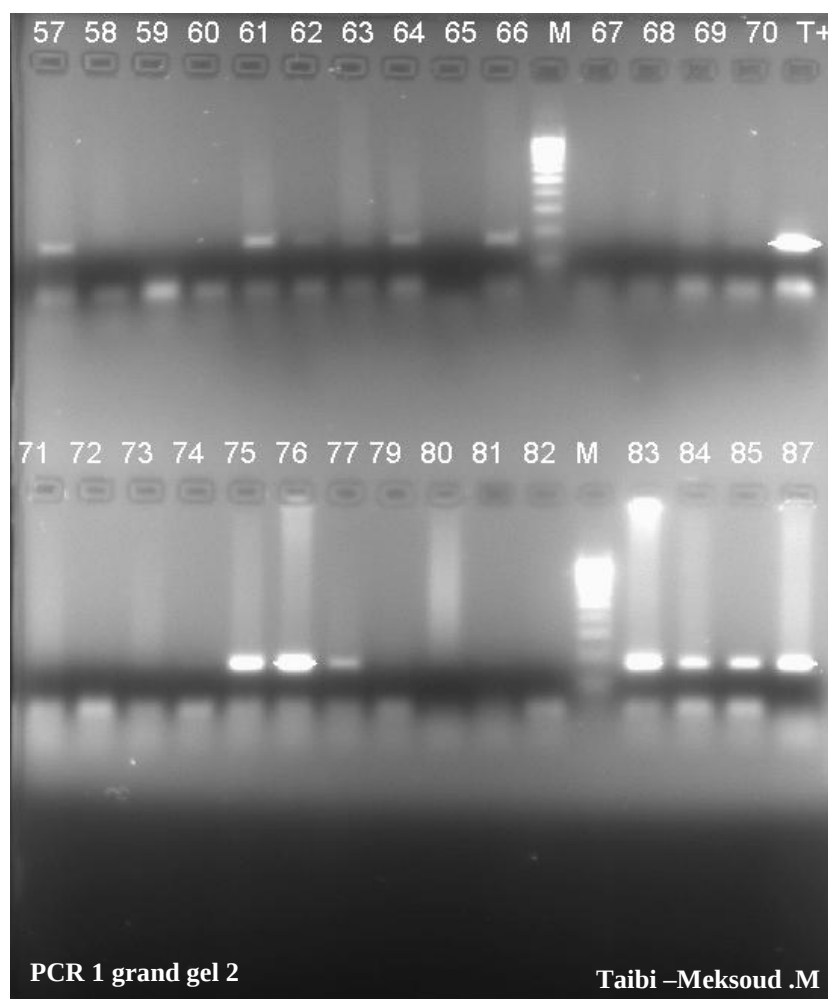


Figure 48 : Clichés du gel d lectrophor se de la PCR *Sarcocystis* spp (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 23 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp (29 extraits d'ADN) (PCR 1 grand gel 2)

N�	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp	PM
1	57	Positif	182 pb
2	58	Négatif	/
3	59	Négatif	/
4	60	Négatif	/
5	61	Positif	182 pb
6	62	Positif	182 pb
7	63	Positif	182 pb
8	64	Positif	182 pb
9	65	Négatif	/
10	66	Positif	182 pb
11	67	Négatif	/
12	68	Négatif	/
13	69	Négatif	/
14	70	Négatif	/
15	71	Positif	182 pb

N�	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
16	72	Positif	182 pb
17	73	Positif	182 pb
18	74	Positif	182 pb
19	75	Positif	182 pb
20	76	Négatif	/
21	77	Positif	182 pb
22	79	Positif	182 pb
23	80	Négatif	/
24	81	Positif	182 pb
25	82	Positif	182 pb
26	83	Positif	182 pb
27	84	Positif	182 pb
28	85	Positif	182 pb
29	87	Positif	182 pb

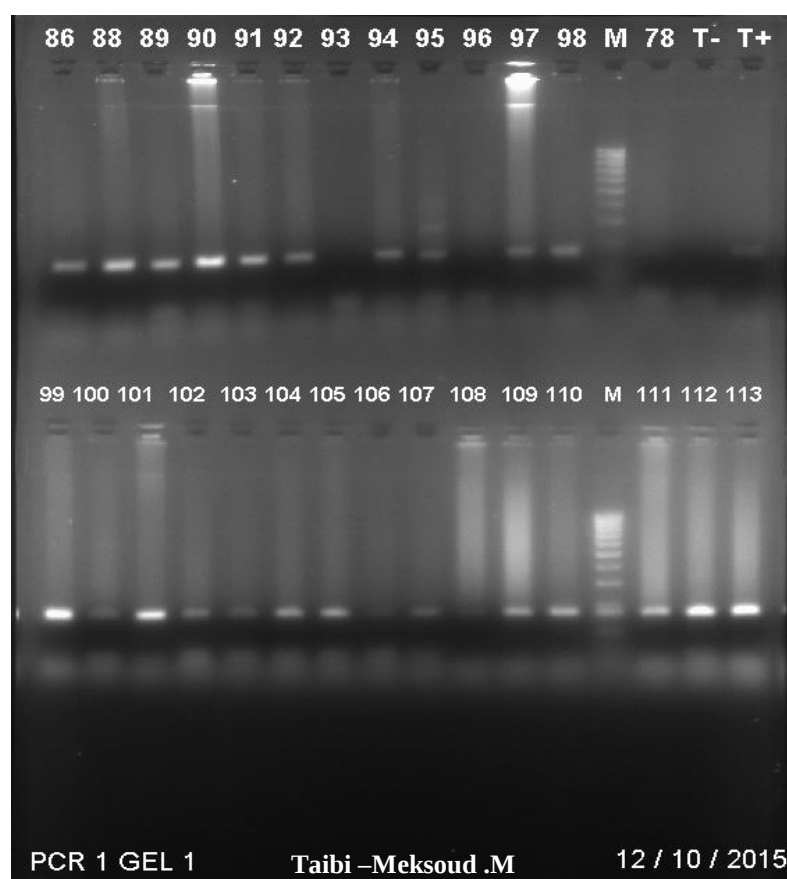


Figure 49 : Clichés du gel d lectrophor se de la PCR *Sarcocystis* spp (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 24 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp (28 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .1)

N�	Extraits	PCR	
		Sarcocystis spp	PM
1	86	Positif	182 pb
2	88	Positif	182 pb
3	89	Positif	182 pb
4	90	Positif	182 pb
5	91	Positif	182 pb
6	92	Positif	182 pb
7	93	Négatif	/
8	94	Positif	182 pb
9	95	Positif	182 pb
10	96	Négatif	/
11	97	Positif	182 pb
12	98	Positif	182 pb
13	78	Négatif	/
14	99	Positif	182 pb

N�	Extraits	PCR	
		Sarcocystis spp	PM
15	100	Positif	182 pb
16	101	Positif	182 pb
17	102	Positif	182 pb
18	103	Positif	182 pb
19	104	Positif	182 pb
20	105	Positif	182 pb
21	106	Positif	182 pb
22	107	Positif	182 pb
23	108	Positif	182 pb
24	109	Positif	182 pb
25	110	Positif	182 pb
26	111	Positif	182 pb
27	112	Positif	182 pb
28	113	Positif	182 pb

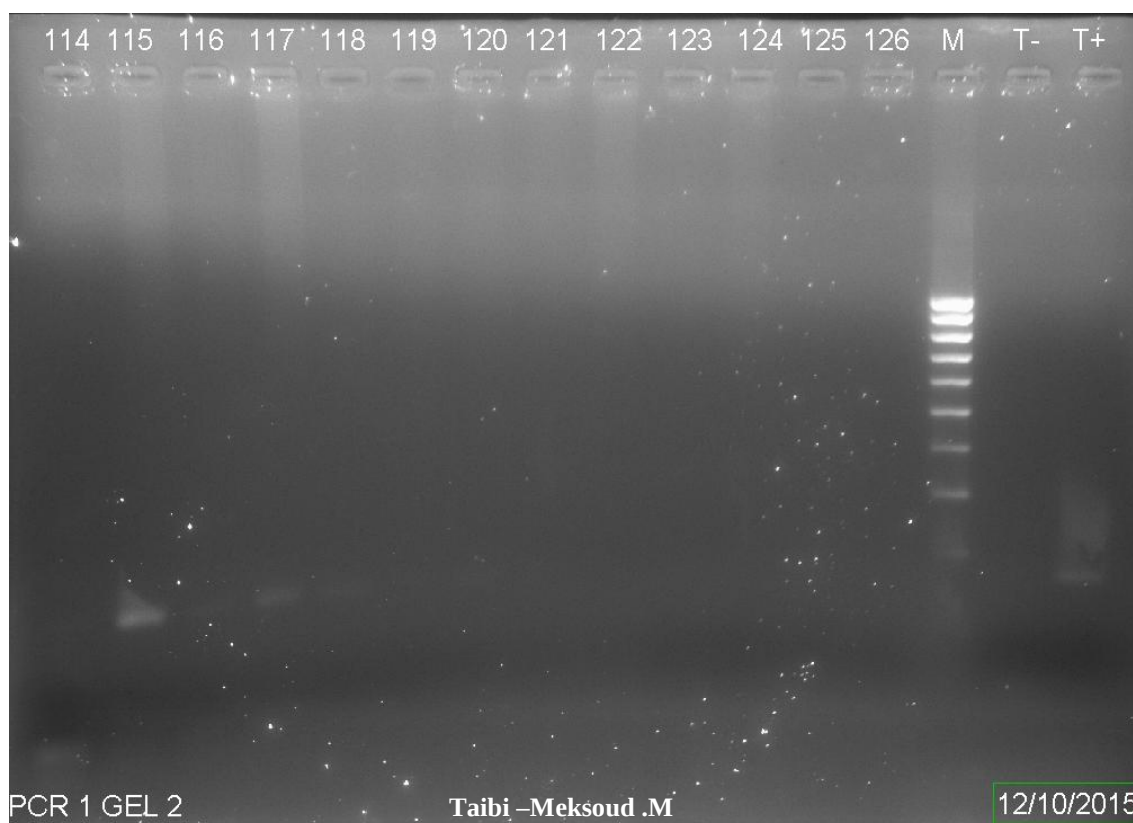


Figure 50 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 25 : Résultats PCR *Sarcocystis* spp. (14 extraits d'ADN) (PCR 1 gel. 2)

N��	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
1	114	Négatif	/
2	115	Positif	182 pb
3	116	Positif	182 pb
4	117	Positif	182 pb
5	118	Positif	182 pb
6	119	Négatif	/
7	120	Négatif	/
8	121	Négatif	/
9	122	Négatif	/
10	123	Négatif	/
11	124	Négatif	/
12	125	Négatif	/
14	126	Négatif	/

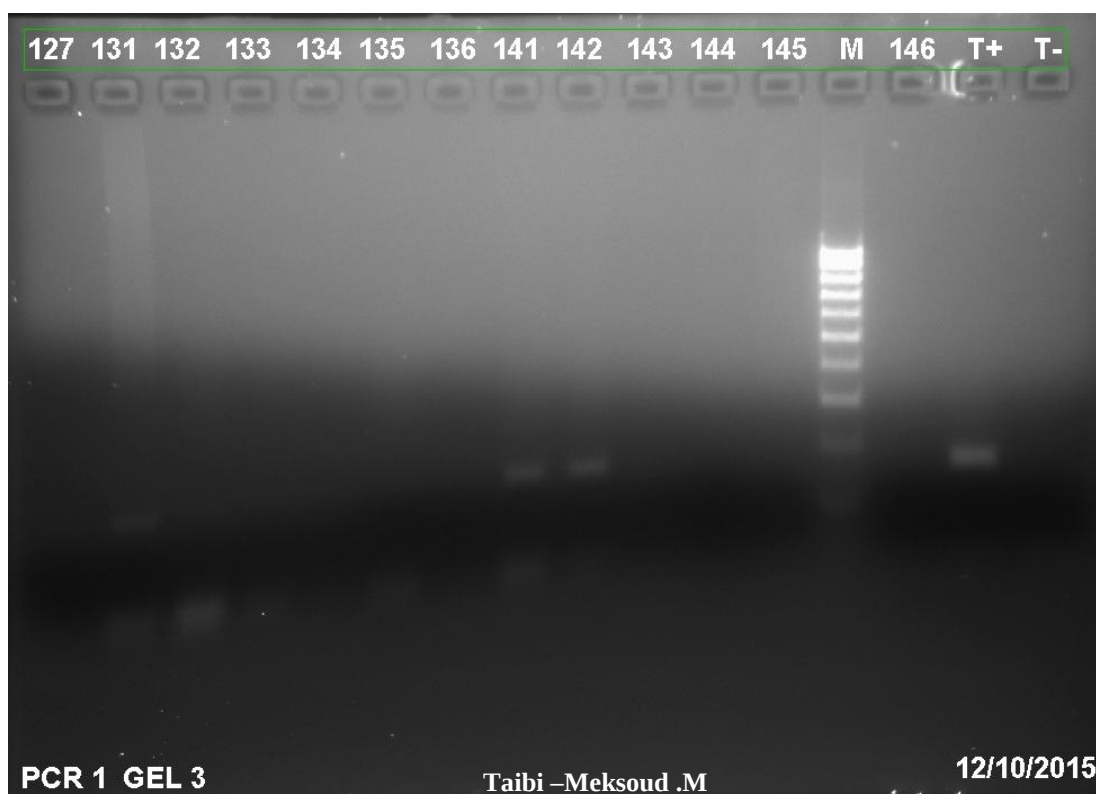


Figure 51 : Clichés du gel d  lectrophor  se de la PCR *Sarcocystis* spp (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 26 : Résultats PCR multiplex (14 extraits d  ADN) (PCR 1 gel. 3)

N��	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp.	PM
1	127	Négatif	/
2	131	Positif	182 pb
3	132	Négatif	/
4	133	Négatif	/
5	134	Négatif	/
6	135	Négatif	/
7	136	Négatif	/
8	141	Positif	182 pb
9	142	Positif	182 pb
10	143	Négatif	/
11	144	Négatif	/
12	145	Négatif	/
14	146	Négatif	/

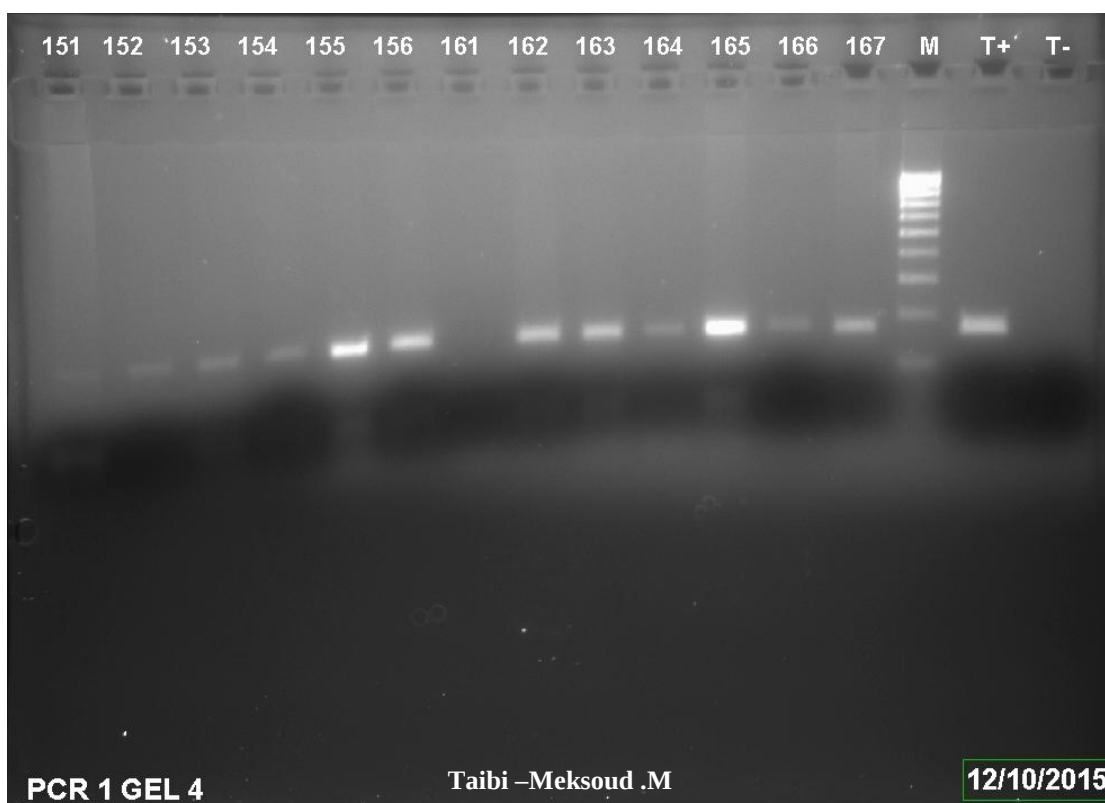


Figure 52 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp (PCR 1 gel .4)
(Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 27 : Résultats PCR *sarcocystis* spp (13 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .4)

N°	Extraits	PCR	
		Sarcocystis spp	PM
1	151	Douteux	182 pb
2	152	Positif	182 pb
3	153	Positif	182 pb
4	154	Positif	182 pb
5	155	Positif	182 pb
6	156	Positif	182 pb
7	161	Négatif	/
8	162	Positif	182 pb
9	163	Positif	182 pb
10	164	Positif	182 pb
11	165	Positif	182 pb
12	166	Positif	182 pb
13	167	Positif	182 pb

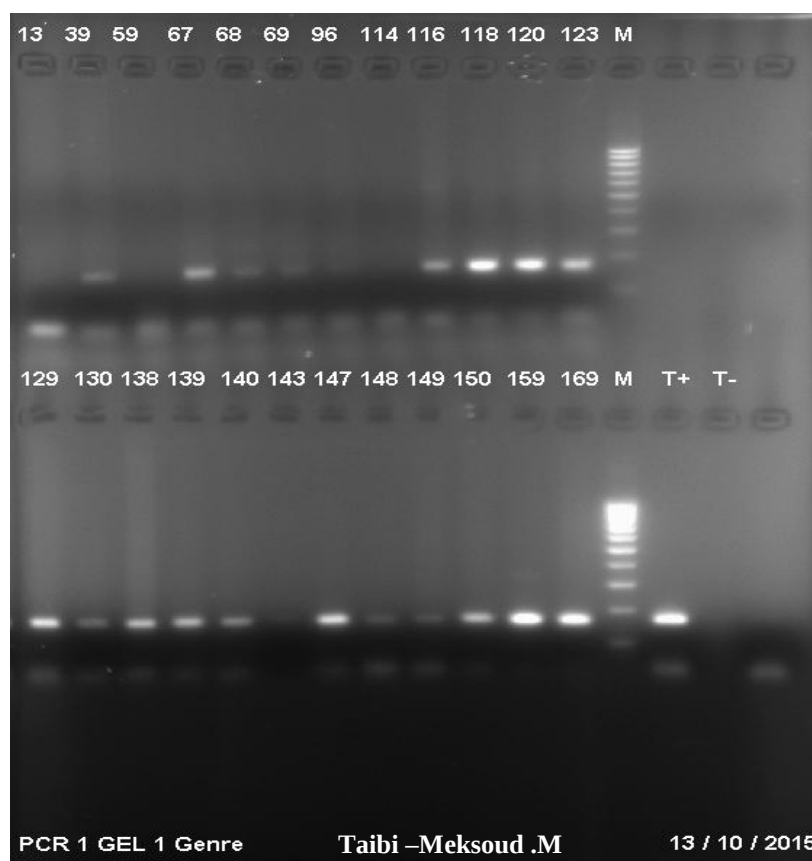


Figure 53 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *Sarcocystis* spp (PCR 1 gel .1)
(Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 28 : Résultats PCR *sarcocystis* spp (24 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .1)

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp	PM
1	13	Négatif	/
2	39	Positif	182 pb
3	59	Négatif	/
4	67	Positif	182 pb
5	68	Positif	182 pb
6	69	Douteux	182 pb
7	96	Négatif	/
8	114	Négatif	/
9	116	Positif	182 pb
10	118	Positif	182 pb
11	120	Positif	182 pb
12	123	Positif	182 pb

N°	Extraits	PCR	
		<i>Sarcocystis</i> spp	PM
13	129	Positif	182 pb
14	130	Positif	182 pb
15	138	Positif	182 pb
16	139	Positif	182 pb
17	140	Positif	182 pb
18	143	Négatif	/
19	147	Positif	182 pb
20	148	Positif	182 pb
21	149	Positif	182 pb
22	150	Positif	182 pb
23	159	Positif	182 pb
24	169	Positif	182 pb

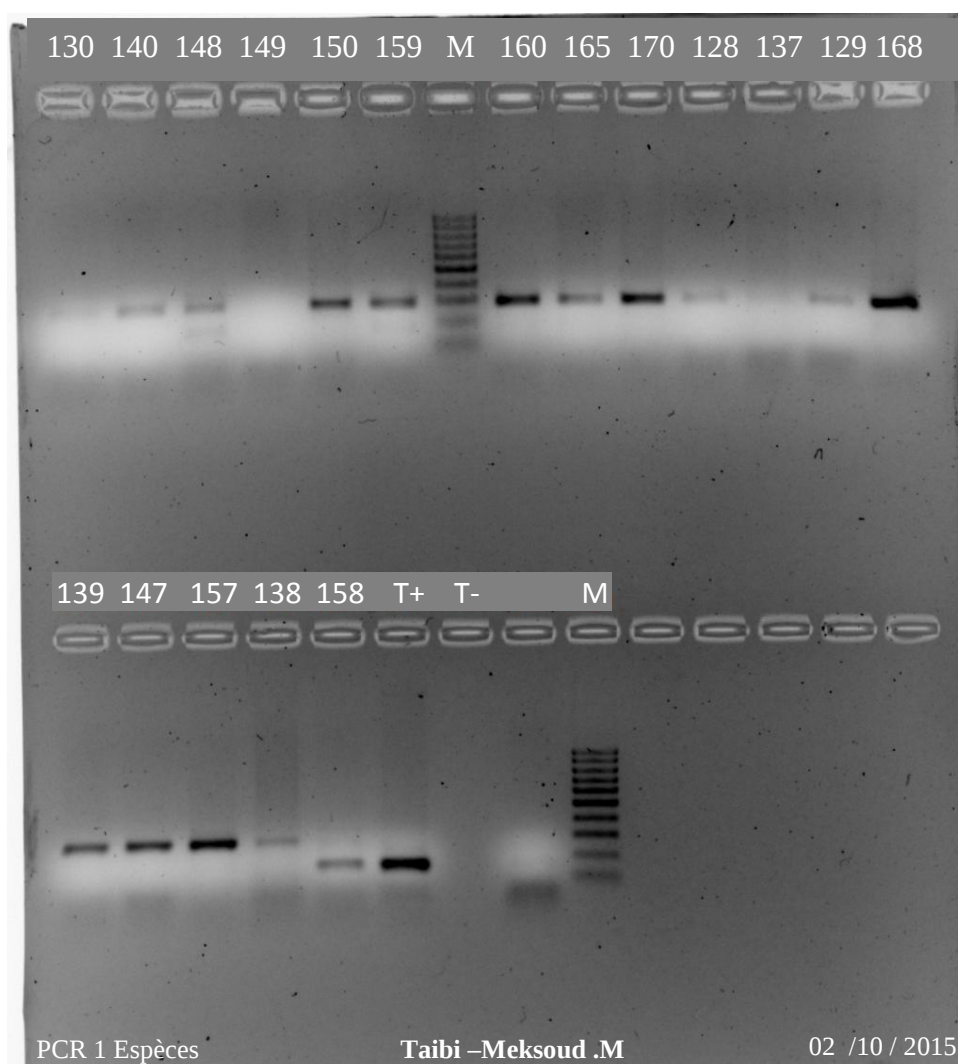


Figure 54 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 29 : Résultats PCR multiplex (18 extraits d'ADN) (PCR 1).

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
01	130	Positif	négatif	Négatif	284 pb
02	140	Positif	négatif	Négatif	284 pb
03	148	Positif	positif	Négatif	284+ 182 pb
04	149	Positif	positif	Négatif	284+ 182 pb
05	150	Positif	négatif	Négatif	284 pb
06	159	Positif	positif	Négatif	284+ 182 pb
07	160	Positif	négatif	Négatif	284 pb
08	169	Positif	négatif	Négatif	284 pb
09	170	Positif	négatif	Négatif	284 pb
10	128	Positif	négatif	Négatif	284 pb
11	137	Positif	positif	Négatif	284+ 182 pb
12	129	Positif	négatif	Négatif	284 pb
13	168	Positif	négatif	Négatif	284 pb
14	139	Positif	négatif	Négatif	284 pb
15	147	Positif	négatif	Négatif	284 pb
16	157	Positif	négatif	Négatif	284 pb
17	138	Positif	négatif	Négatif	284 pb
18	158	Négatif	positif	Négatif	182 pb

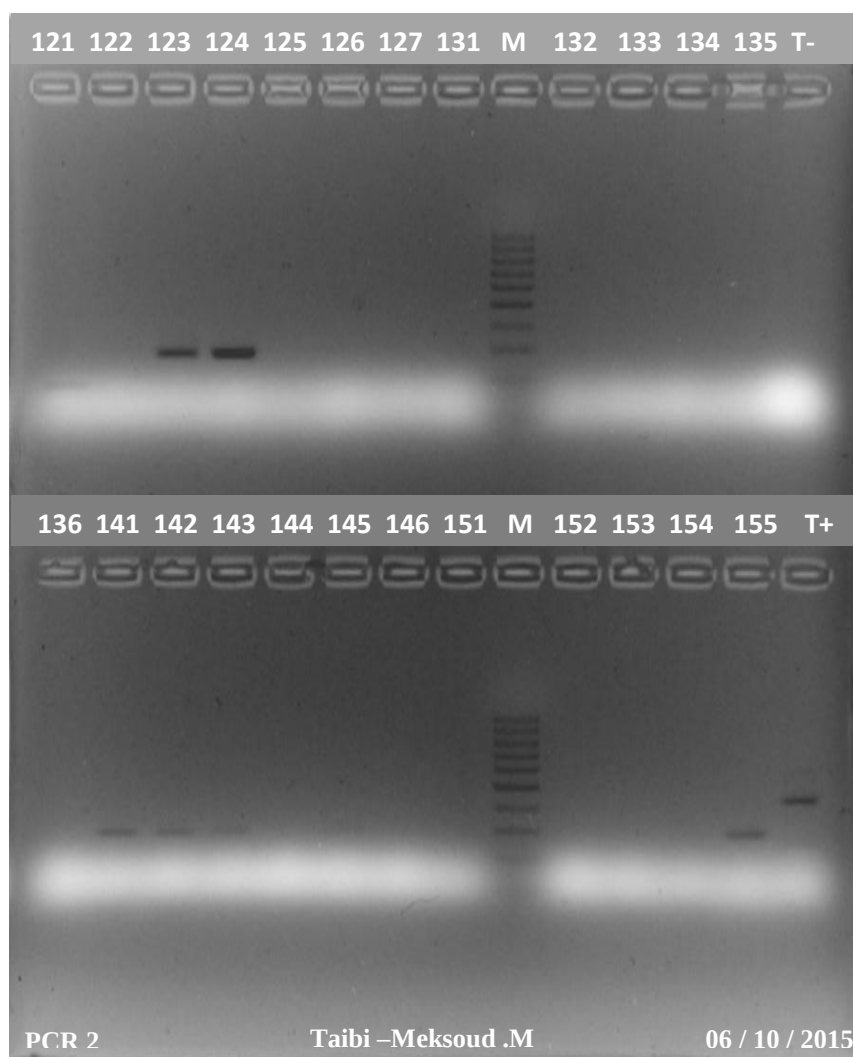


Figure 55: Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR *multiplex* (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 30 : Résultats PCR *multiplex* (24 extraits d'ADN) (PCR 2).

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
1	121	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	122	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	123	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
4	124	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
5	125	Négatif	Négatif	Négatif	/
6	126	Négatif	Négatif	Négatif	/
7	127	Négatif	Négatif	Négatif	/
8	131	Positif	Positif	Négatif	284+182 pb
9	132	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	133	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	134	Négatif	Négatif	Négatif	/
12	135	Négatif	Négatif	Négatif	/

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
13	136	Négatif	Négatif	Négatif	/
14	141	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
15	142	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
16	143	Douteux	Négatif	Négatif	284 pb
17	144	Négatif	Négatif	Négatif	/
18	145	Négatif	Négatif	Négatif	/
19	146	Négatif	Négatif	Négatif	/
20	151	Négatif	Négatif	Négatif	/
21	152	Négatif	Négatif	Négatif	/
22	153	Négatif	Négatif	Négatif	/
23	154	Négatif	Négatif	Négatif	/
24	155	Positif	Négatif	Négatif	284 pb

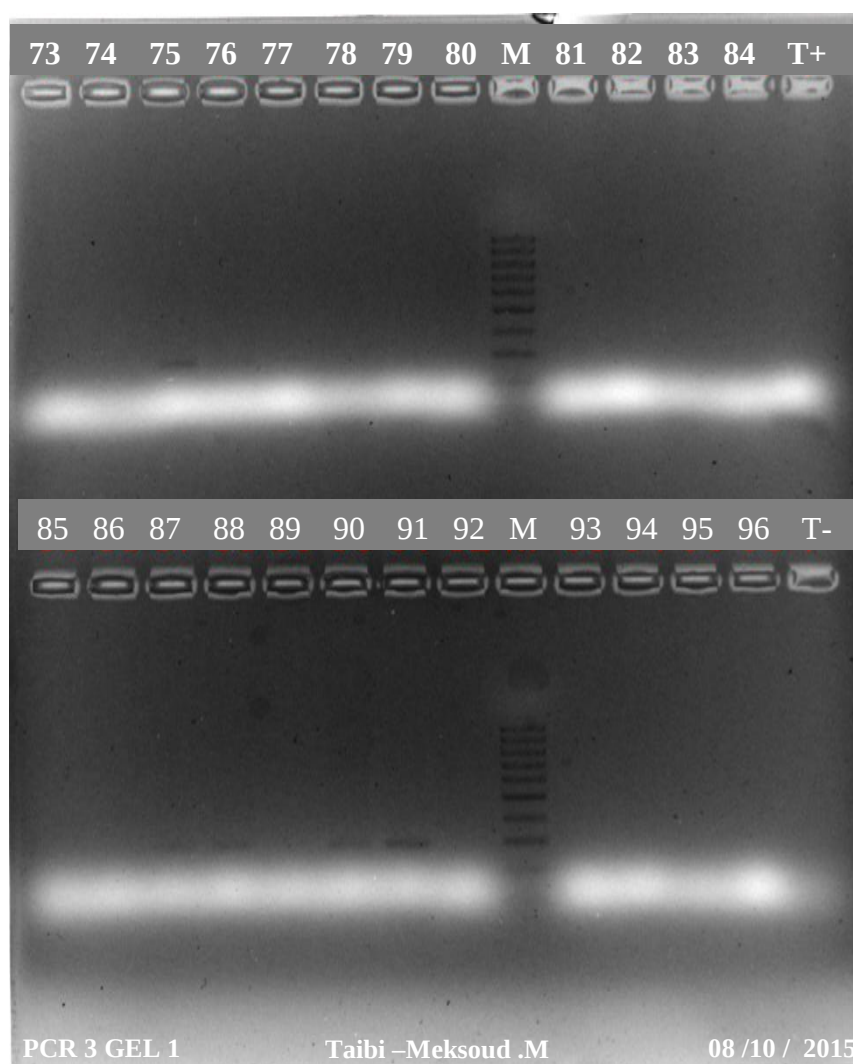


Figure 56 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 31 : Résultats PCR multiplex (24 extraits d'ADN) (PCR 3 gel .1)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
1	73	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	74	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	75	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
4	76	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
5	77	Négatif	Négatif	Négatif	/
6	78	Négatif	Négatif	Négatif	/
7	79	Négatif	Négatif	Négatif	/
8	80	Négatif	Négatif	Négatif	/
9	81	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	82	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	83	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
12	84	Douteux	Négatif	Négatif	284 pb

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
13	85	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
14	86	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
15	87	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
16	88	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
17	89	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
18	90	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
19	91	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
20	92	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
21	93	Négatif	Négatif	Négatif	/
22	94	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
23	95	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
24	96	Négatif	Positif	Négatif	182 pb

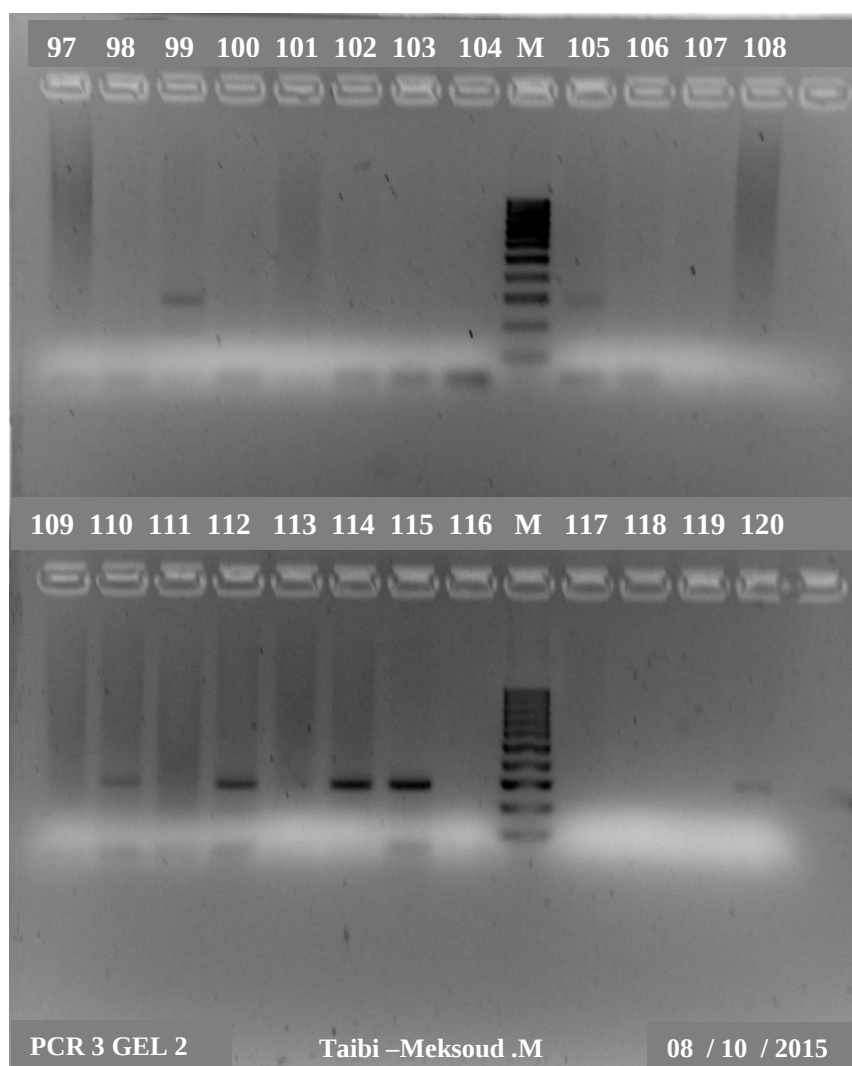


Figure 57 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 32: Résultats PCR multiplex (24 extraits d'ADN) (PCR 3 gel .2)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
01	97	Négatif	Négatif	Négatif	/
02	98	Négatif	Négatif	Négatif	/
03	99	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
04	100	Négatif	Négatif	Négatif	/
05	101	Négatif	Négatif	Négatif	/
06	102	Négatif	Négatif	Négatif	/
07	103	Négatif	Négatif	Négatif	/
08	104	Négatif	Négatif	Négatif	/
09	105	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
10	106	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	107	Négatif	Négatif	Négatif	/
12	108	Négatif	Négatif	Négatif	/
13	109	Négatif	Négatif	Négatif	/
14	110	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
15	111	Négatif	Négatif	Négatif	/
16	112	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
17	113	Négatif	Négatif	Négatif	/
18	114	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
19	115	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
20	116	Négatif	Négatif	Négatif	/
21	117	Négatif	Négatif	Négatif	/
22	118	Négatif	Négatif	Négatif	/
23	119	Négatif	Négatif	Négatif	/
24	120	Négatif	Positif	Négatif	182 pb

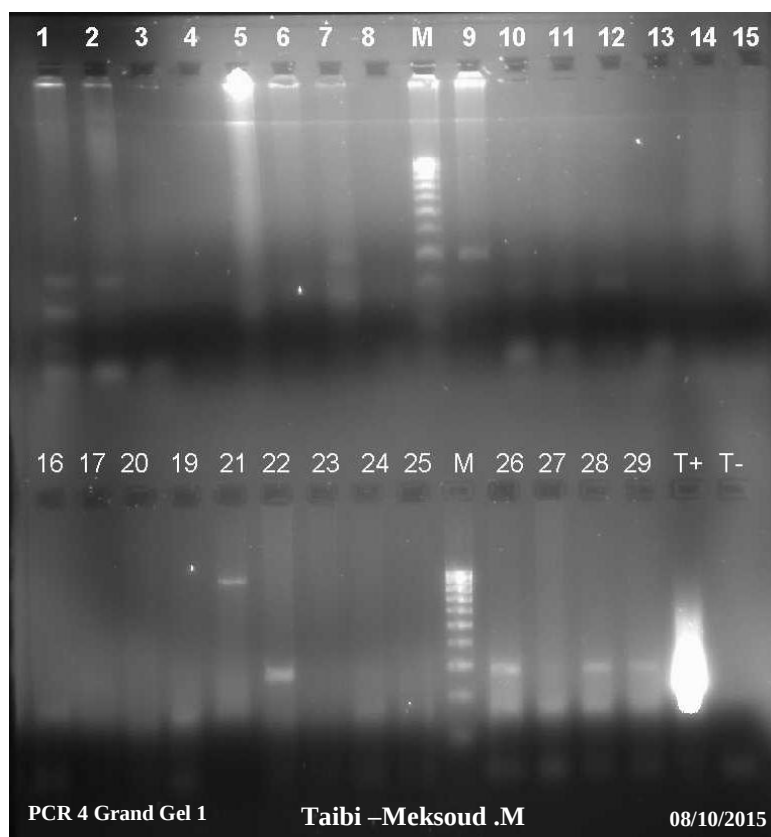


Figure 58: Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 33 : Résultats PCR multiplex (29 extraits d'ADN) (PCR 4 grand gel .1)

N°	Extraits	PCR Multiplex				N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM			<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
1	1	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb	16	16	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	2	Positif	Négatif	Négatif	284 pb	17	17	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	3	Négatif	Négatif	Négatif	/	18	18	Négatif	Positif	Négatif	182pb
4	4	Négatif	Négatif	Négatif	/	19	19	Négatif	Positif	Négatif	182pb
5	5	Négatif	Négatif	Négatif	/	20	20	Négatif	Positif	Négatif	182pb
6	6	Négatif	Négatif	Négatif	/	21	21	Négatif	Négatif	Négatif	/
7	7	Négatif	Négatif	Négatif	/	22	22	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
8	8	Négatif	Négatif	Négatif	/	23	23	Négatif	Négatif	Négatif	/
9	9	Positif	Négatif	Négatif	284 pb	24	24	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	10	Négatif	Négatif	Négatif	/	25	25	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	11	Négatif	Négatif	Négatif	/	26	26	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
12	12	Négatif	Positif	Négatif	182 pb	27	27	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
13	13	Négatif	Négatif	Négatif	/	28	28	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
14	14	Négatif	Négatif	Négatif	/	29	29	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
15	15	Négatif	Négatif	Négatif	/						

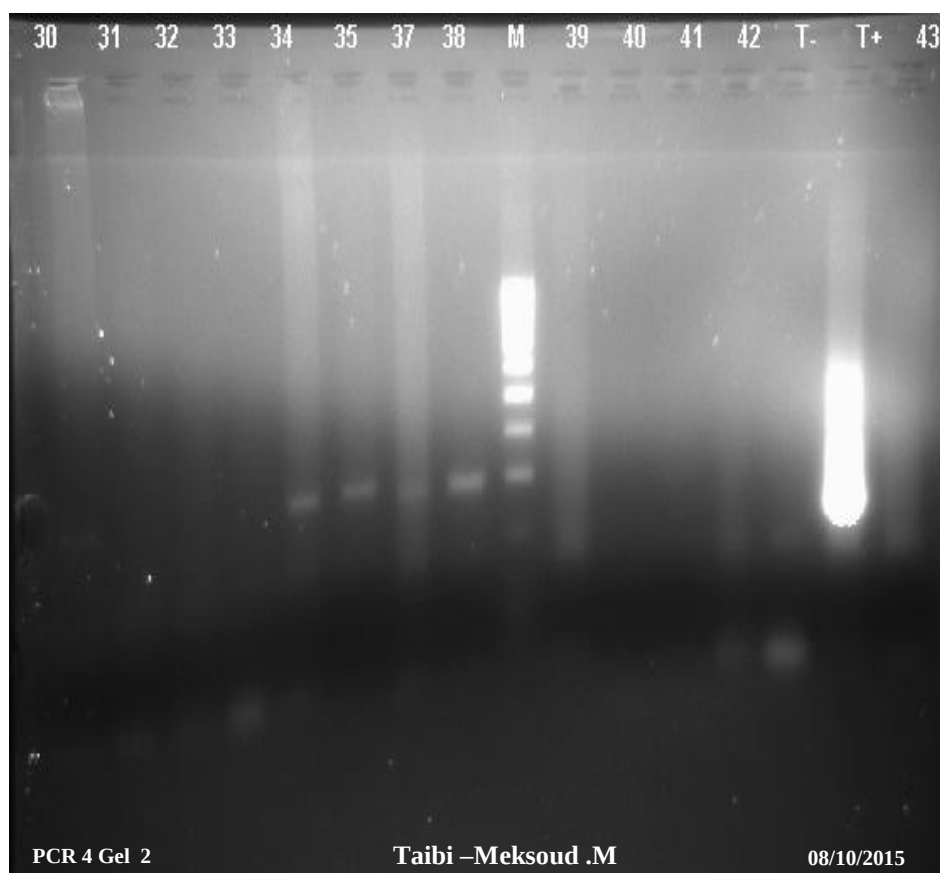


Figure 59: Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 34 : Résultats PCR multiplex (13 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .2)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
01	30	Négatif	Négatif	Négatif	/
02	31	Négatif	Négatif	Négatif	/
03	32	Négatif	Négatif	Négatif	/
04	33	Négatif	Négatif	Négatif	/
05	34	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
06	35	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
07	37	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
08	38	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
09	39	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	40	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	41	Négatif	Négatif	Négatif	/
12	42	Négatif	Négatif	Négatif	/
13	43	Négatif	Négatif	Négatif	/

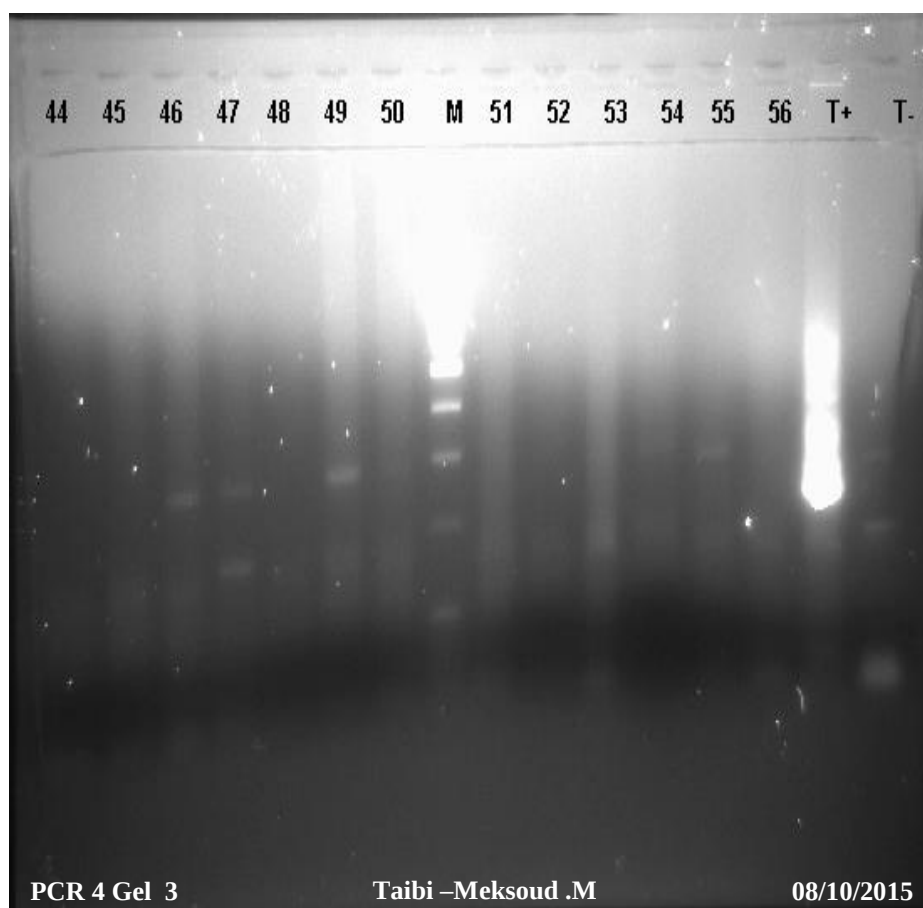


Figure 60 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 35 : Résultats PCR multiplex (13 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .3)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
01	44	Négatif	Négatif	Négatif	/
02	45	Négatif	Négatif	Négatif	/
03	46	Négatif	Négatif	Négatif	/
04	47	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
05	48	Négatif	Négatif	Négatif	/
06	49	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
07	50	Négatif	Négatif	Négatif	/
08	51	Négatif	Négatif	Négatif	/
09	52	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	53	Négatif	Négatif	Négatif	/
11	54	Négatif	Négatif	Négatif	/
12	55	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
13	56	Négatif	Négatif	Négatif	/

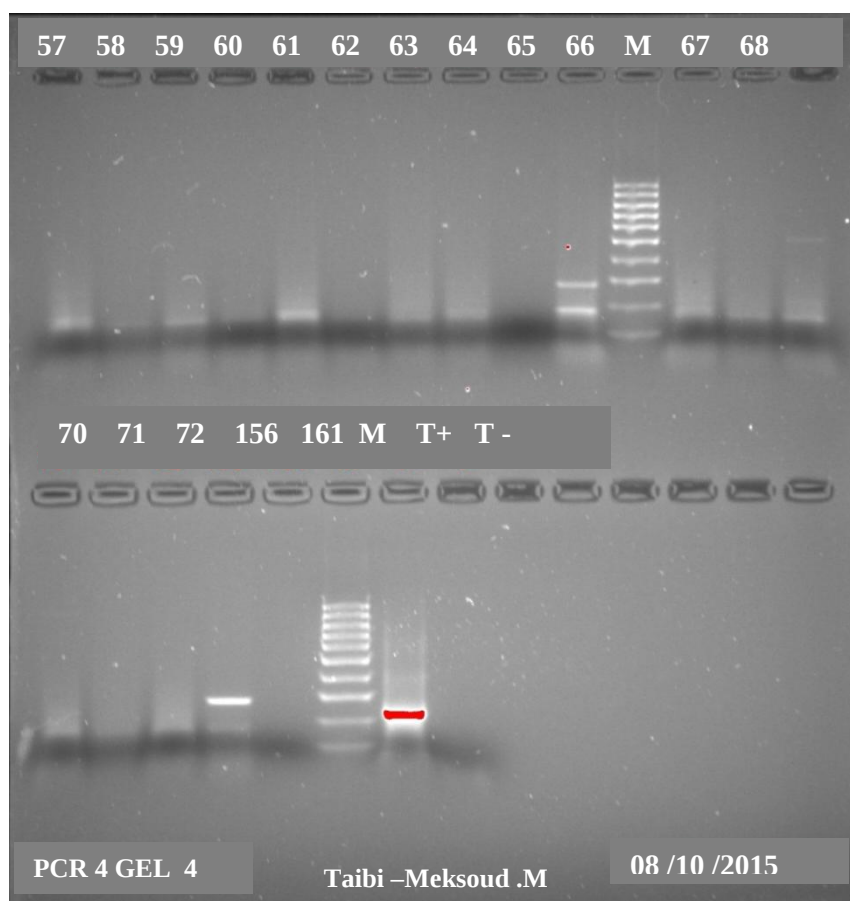


Figure 61 : Cliché du gel d lectrophor se de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 36 : Résultats PCR multiplex (18 extraits d'ADN) (PCR 4 gel .4)

N�	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
01	57	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
02	58	Négatif	Négatif	Négatif	/
03	59	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
04	60	Négatif	Négatif	Négatif	/
05	61	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
06	62	Négatif	Négatif	Négatif	/
07	63	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
08	64	Négatif	Négatif	Négatif	/
09	65	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	66	Positif	Positif	Négatif	284+ 182 pb
11	67	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
12	68	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
13	69	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
14	70	Négatif	Négatif	Négatif	/
15	71	Négatif	Négatif	Négatif	/
16	72	Négatif	Négatif	Négatif	/
17	156	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
18	161	Négatif	Négatif	Négatif	/

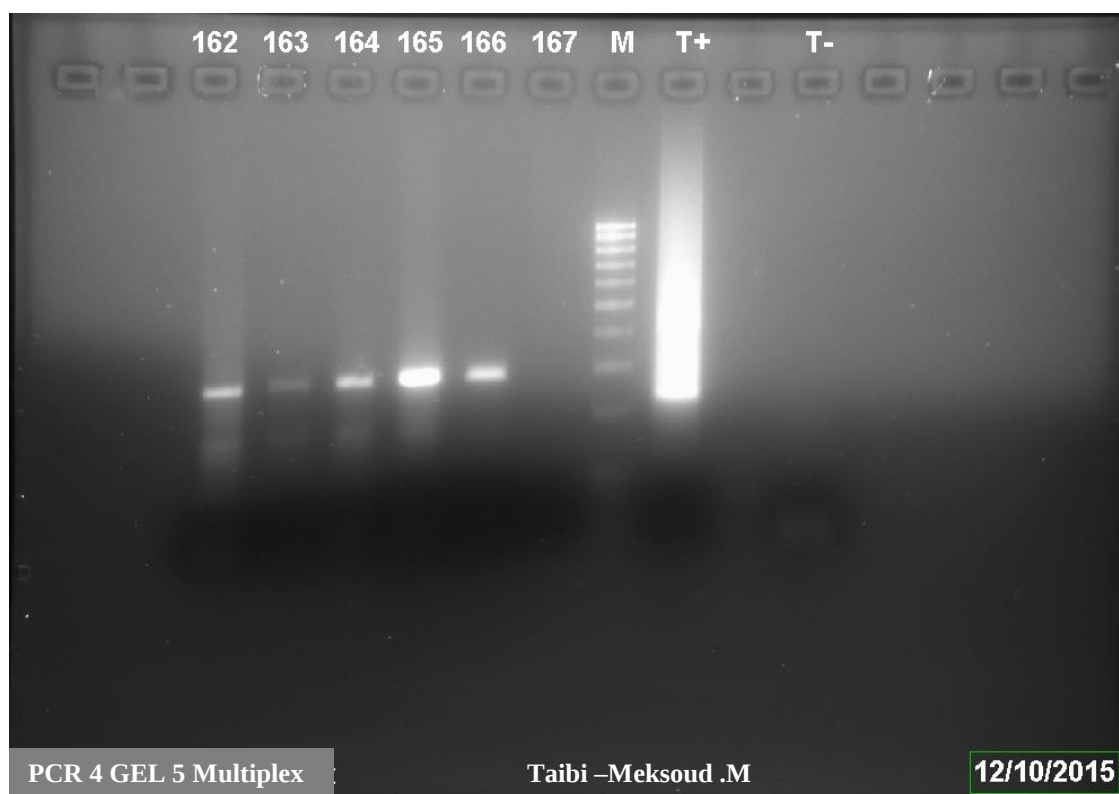


Figure 62 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 37 : Résultats PCR multiplex (06 extraits d'ADN) (PCR 1 gel .5)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
1	162	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
2	163	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
3	164	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
4	165	Positif	Négatif	Négatif	284pb
5	166	Positif	Négatif	Négatif	284pb
6	167	Négatif	Négatif	Négatif	/

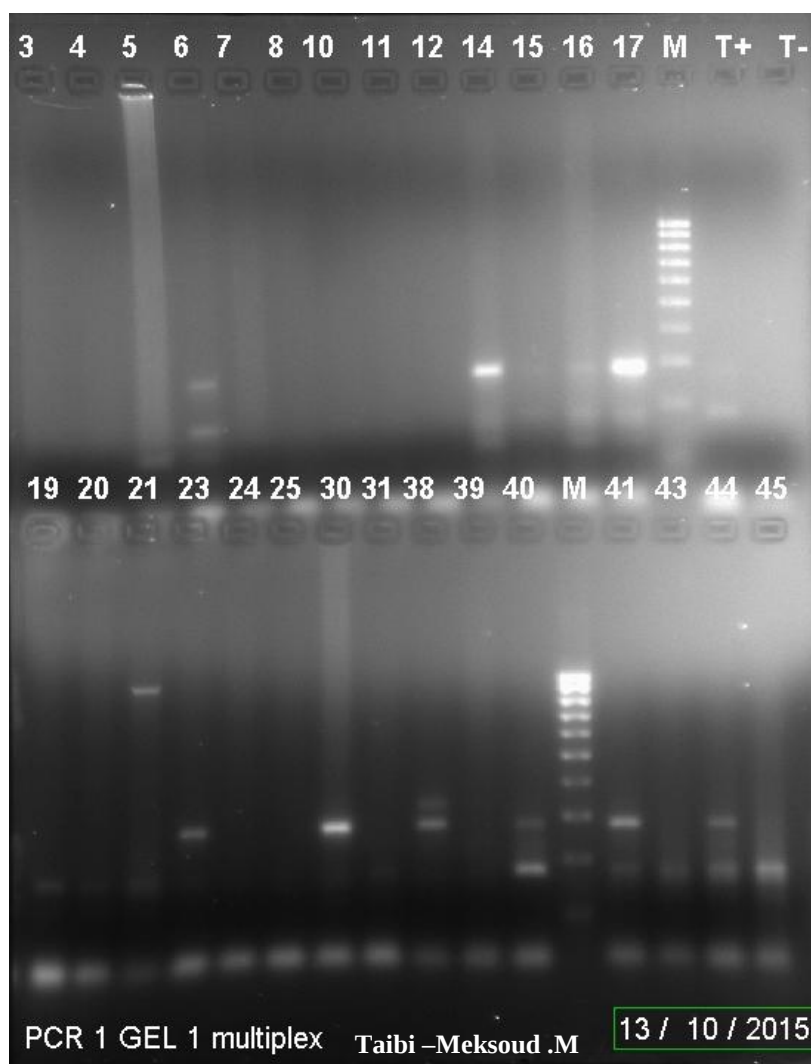


Figure 63 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 38 : Résultats PCR multiplex (31 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .1)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
1	3	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	4	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	5	Négatif	Négatif	Négatif	/
4	6	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
5	7	Négatif	Négatif	Négatif	/
6	8	Négatif	Négatif	Négatif	/
7	10	Négatif	Négatif	Négatif	/
8	11	Négatif	Négatif	Négatif	/
9	12	Négatif	Négatif	Négatif	/
10	14	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
11	15	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
12	16	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
14	17	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
15	19	Négatif	Positif	Négatif	182 pb

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
16	20	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
17	21	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
19	23	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
20	24	Négatif	Négatif	Négatif	/
21	25	Négatif	Négatif	Négatif	/
23	30	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
24	31	Négatif	Négatif	Négatif	/
25	38	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
26	39	Négatif	Négatif	Négatif	/
27	40	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
28	41	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
29	43	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
30	44	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
31	45	Négatif	Positif	Négatif	182 pb

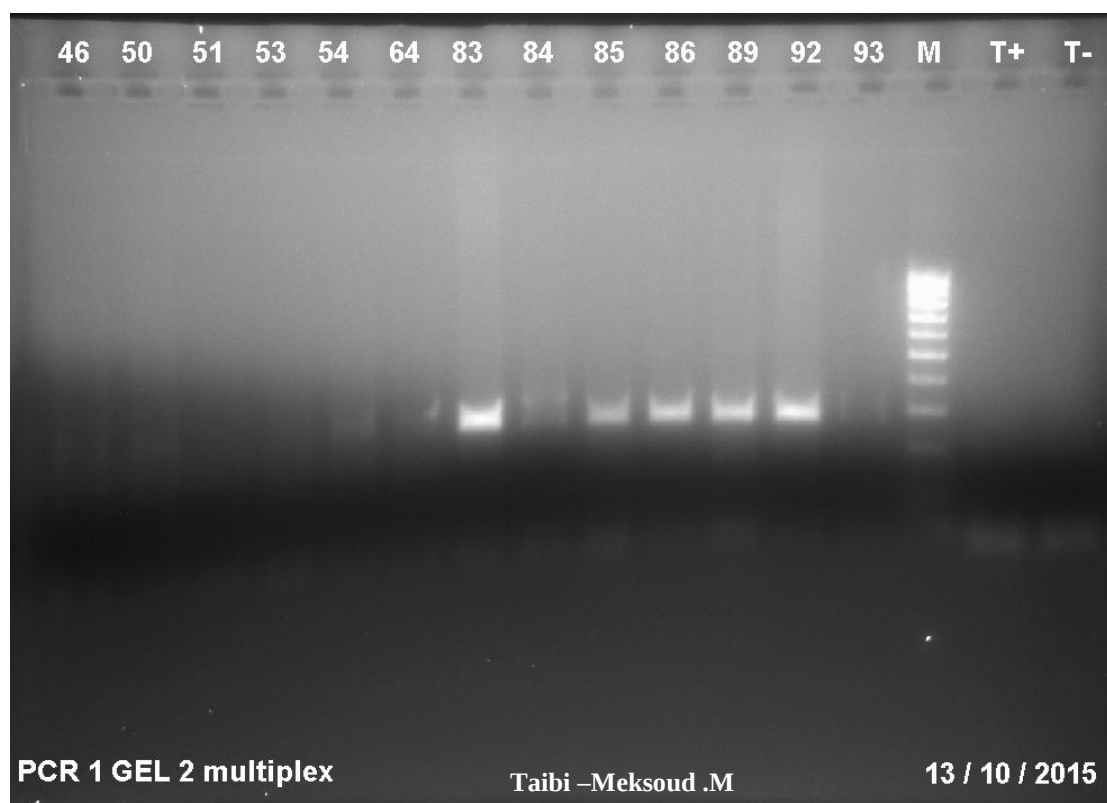


Figure 64 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 39 : Résultats PCR multiplex (14 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .2)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
1	46	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	50	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	51	Négatif	Négatif	Négatif	/
4	53	Négatif	Négatif	Négatif	/
5	54	Négatif	Négatif	Négatif	/
6	64	Négatif	Négatif	Négatif	/
7	83	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
8	84	Douteux	Négatif	Négatif	284 pb
9	85	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
10	86	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
11	89	Positif	Négatif	Négatif	284pb
12	92	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
14	93	Négatif	Négatif	Négatif	/

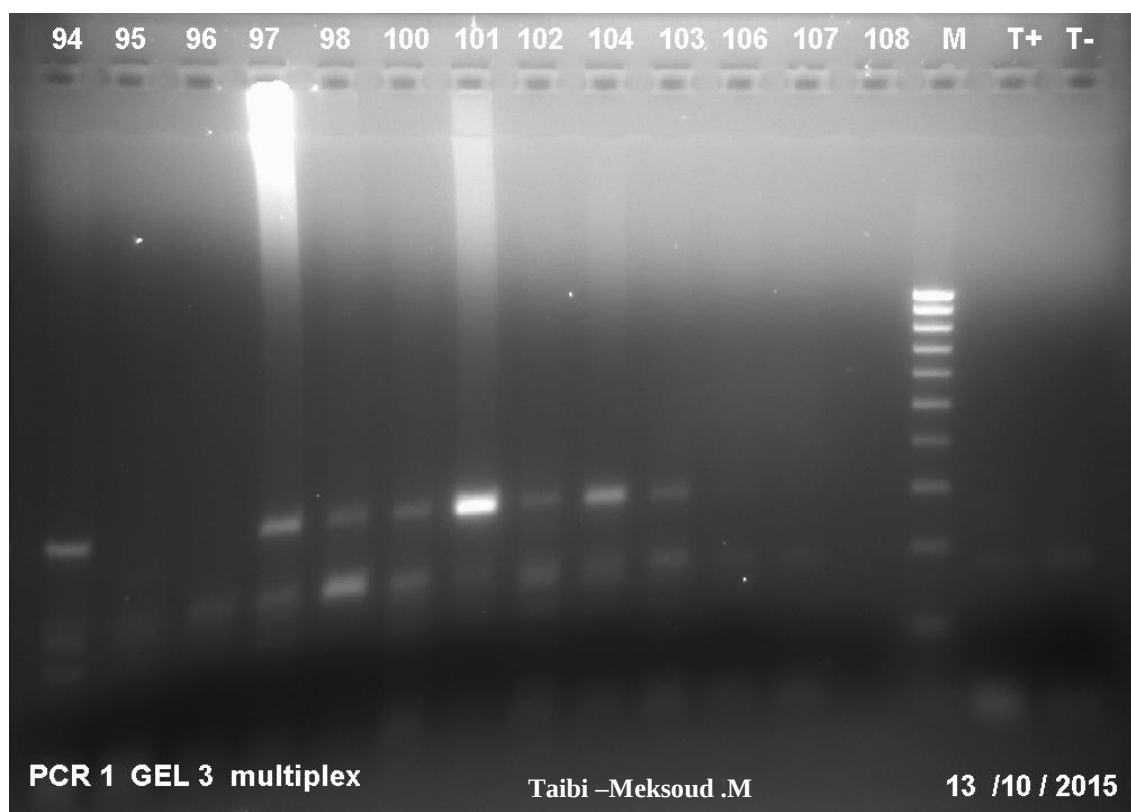


Figure 65: Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (Taibi-Meksoud M., 2015).

Tableau 40 : Résultats PCR multiplex (14 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .3)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.hirsuta</i>	PM
1	94	Négatif	Positif	Négatif	182 pb
2	95	Négatif	Négatif	Négatif	/
3	96	Négatif	Négatif	Négatif	/
4	97	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
5	98	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
6	100	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
7	101	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
8	102	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
9	104	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
10	103	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
11	106	Négatif	Négatif	Négatif	/
12	107	Négatif	Négatif	Négatif	/
14	108	Négatif	Négatif	Négatif	/

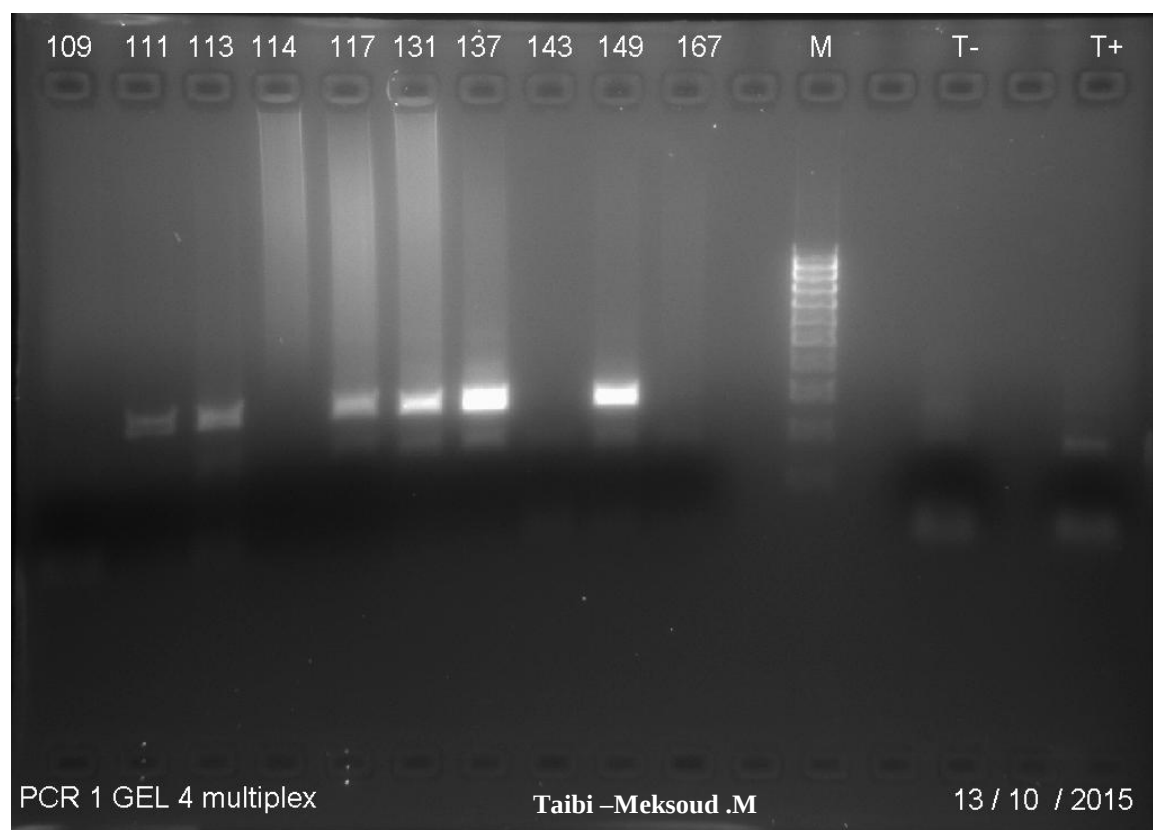


Figure 66 : Clichés du gel d'électrophorèse de la PCR Multiplex (**Taibi-Meksoud M., 2015**).

Tableau 41 : Résultats PCR multiplex (10 extraits d'ADN retestés) (PCR 1 gel .4)

N°	Extraits	PCR Multiplex			
		<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	PM
1	109	Négatif	Négatif	Négatif	/
2	111	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
3	113	Positif	Négatif	Négatif	284 pb
4	114	Négatif	Négatif	Négatif	/
5	117	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
6	131	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
7	137	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
8	143	Négatif	Négatif	Négatif	/
9	149	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb
10	167	Positif	Positif	Négatif	284-182 pb

III.3.3. Analyse de l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. obtenue par la technique PCR

Les facteurs de risque pris en considération sont le sexe, l'âge, la saison, la région et l'origine des animaux. L'analyse de ces derniers a permis d'évaluer leur impact sur la prévalence de *Sarcocystis* sur les 163 bovins testés et les résultats sont regroupés dans le **tableau 42**.

III.3.3.1. Influence du sexe sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* observée dans nos échantillons est de 9,20% chez les femelles contre 66,87% chez les mâles (**Tab. 42**). La prévalence du parasite chez les deux sexes est presque similaire. Il en résulte que le sexe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* ($p>0.05$) chez les 163 bovins étudiés (**Fig. 67**).

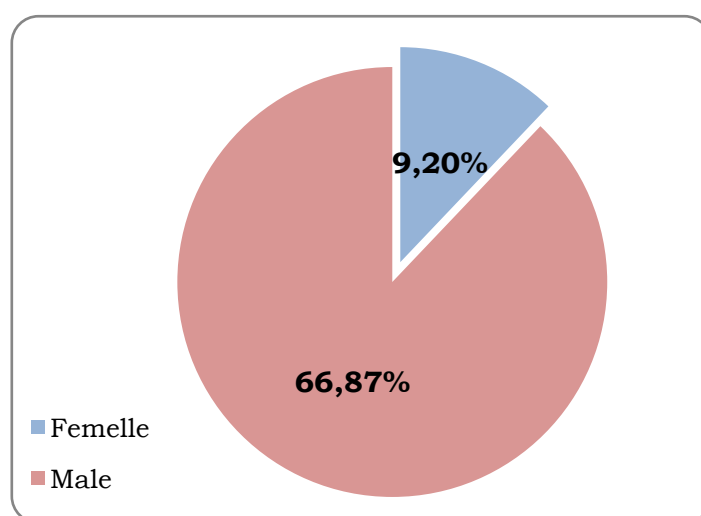


Figure 67 : Résultats des l'effet sexe sur la prévalence bovine de *Sarcocystis* spp.

III.3.3.2. Influence de l'âge sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* dans nos échantillons, chez les 3 catégories d'âge définies est de 19,02% chez les bovins âgés de moins de 2 ans, 38,65% pour ceux âgés entre 2 et 3 ans et de 18,40% pour les bovins âgés de plus de 3 ans (**Tab. 42**).

La prévalence de *Sarcocystis* spp. montre une différence non significative ($p>0.05$) entre les 3 tranches d'âge, cependant l'âge des bovins entre 2 et 3 ans montre une prévalence de *Sarcocystis* plus importante chez les 163 bovins étudiés (**Fig. 68**).

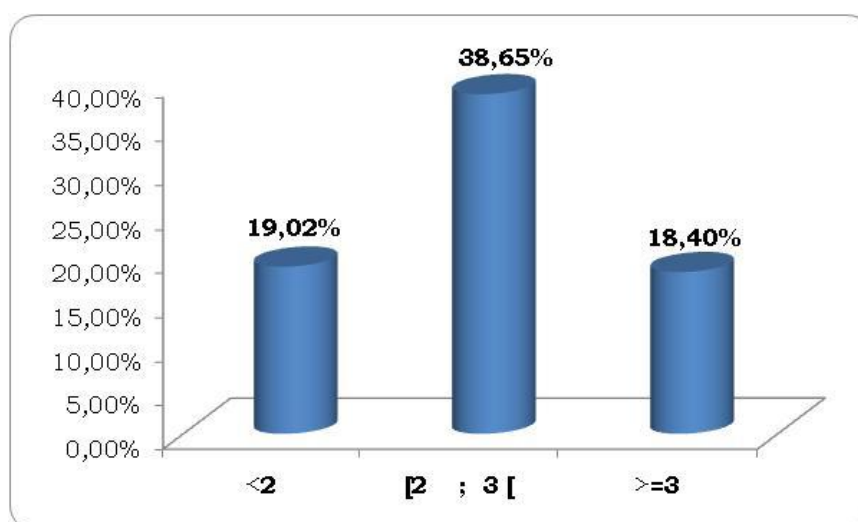


Figure 68 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par tranches d'âges

III.3.3.3. Influence de la race (robe) sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

Pour analyser ce facteur de risque, les données ont été regroupées en trois classes à savoir les robes PN et PR et la race croisée.

La prévalence de *Sarcocystis* chez les bovins est de 36,2% chez les bovins de robe PN, 25,15% pour les bovins PR et de 14,72% pour les bovins de races croisées (**Tab. 42**).

La prévalence du parasite chez les différentes classes est presque similaire. Il en résulte que la race et/ou robe n'a aucune influence sur la prévalence de *Sarcocystis* spp. ($p > 0.05$) chez les 163 bovins étudiés (**Fig.69**).

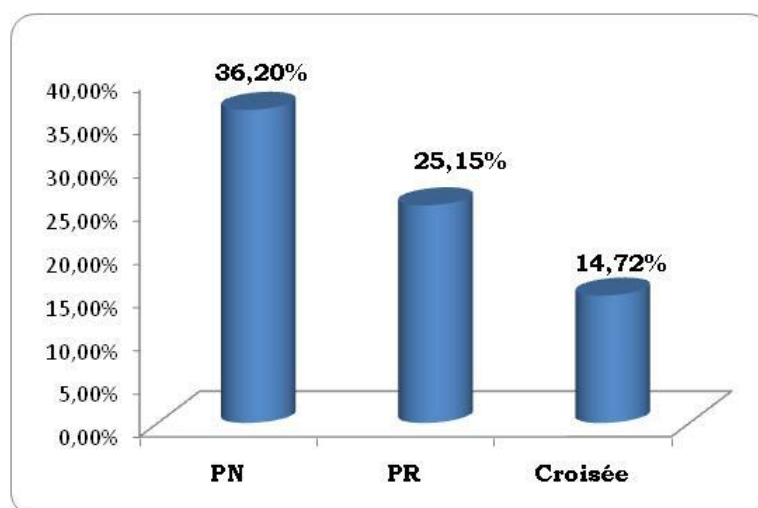


Figure 69 : Résultats de l'effet race/robe sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

III.3.3.4. Influence de l'effet région sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* spp. au niveau des 03 régions de l'Algérie étudiées est de 47,85% à l'Est, 22,09% au Centre et 6,13% à l'Ouest (**Tab.42**). Les différentes régions ne montrent aucune influence ($p > 0.05$) (**Fig. 70**).

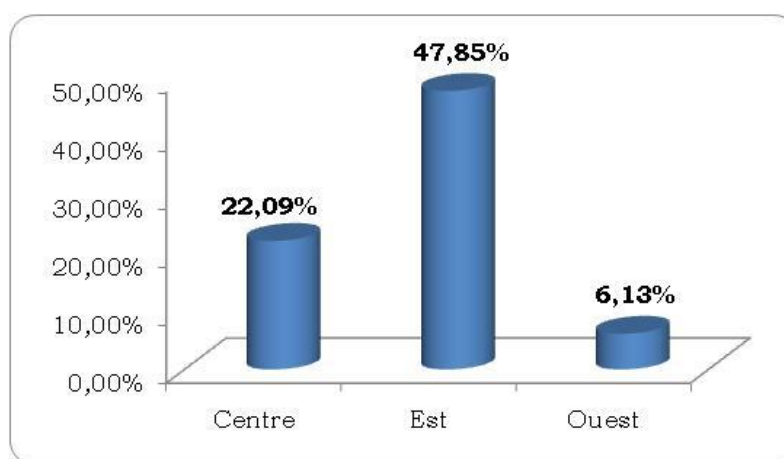


Figure 70 : Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par régions

L'analyse de la distribution des 163 bovins infectés par *Sarcocystis* spp. détectés par la technique de PCR au niveau des différentes wilayas (15) montre que pour la région Est les wilayas de Annaba (37) présente le nombre le plus élevé de bovins infectés suivi de Sétif (19) et Bouira (11). Des taux plus faibles sont détectés au centre à Ain Defla (13) et Alger (12) suivi de la wilaya Relizane (7) à l'Ouest. Le restant des wilayas montre un faible nombre de variant de 2 à 6 bovins atteints (**Fig. 71**). Aucun *Sarcocystis* n'est détecté à Batna et Souk Ahras.

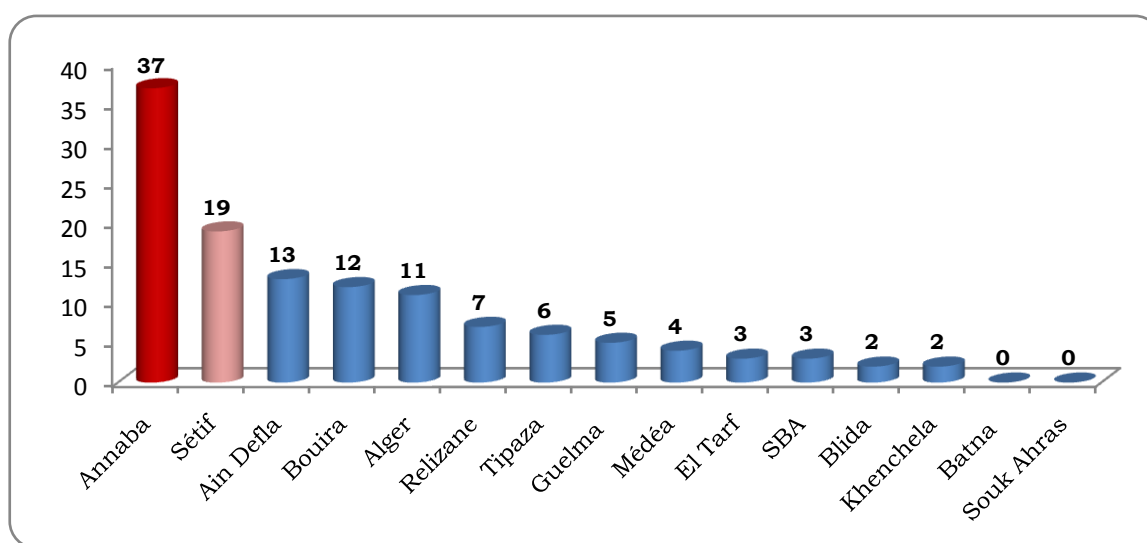


Figure 71 : Répartition des bovins infectés par *Sarcocystis* spp. par wilaya.

III.3.3.5. Influence de la saison sur la prévalence de *Sarcocystis* spp.

La prévalence de *Sarcocystis* pour les 04 saisons est de 38,65 % pour l'été, 19,63 % en hiver et 17,18% en printemps et seulement de 0,61% pour l'automne (**Tab.42**). L'automne est regroupé avec l'hiver vu le nombre insuffisant de bovins atteints. L'analyse démontre une différence non significative ($p > 0,05$) entre les saisons. (**Fig.72**).

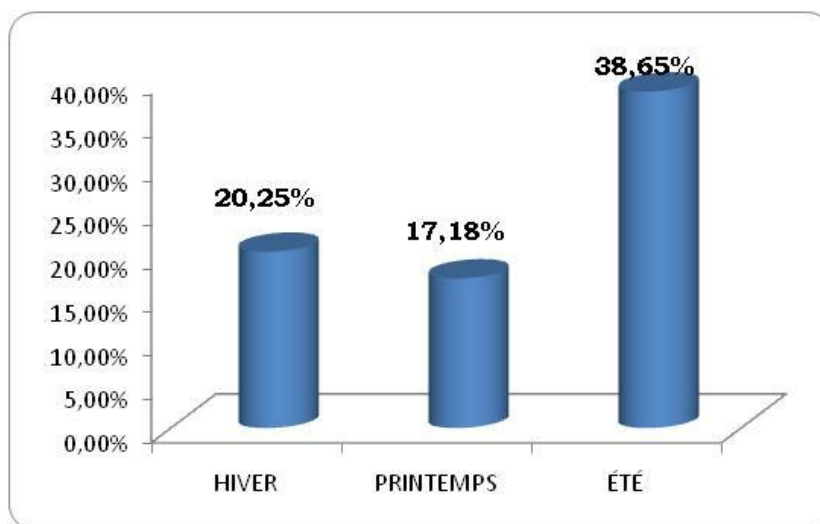


Figure 72: Prévalence de *Sarcocystis* spp. chez les bovins par saison

Tableau 42 : Résultats de la prévalence (%) de *Sarcocystis* spp. par la technique PCR avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et un degré de signification de 5% « valeur de P » par le test de chi-deux (χ^2) et comparaison des facteurs de risque.

Paramètres	Variables	Positifs	IC %	Degré de signification
Sexe	Femelle	9,20%	[4,8 - 13,6]	Non significatif P > 0,05
	Male	66,87%	[59,6 - 74,1]	
Age	< 2 ans	19,02%	[13,0 - 25,00]	Non significatif P > 0,05
	[2 - 3[	38,65%	[31,2 - 46,10]	
	≥ 3	18,40%	[12,5 - 24,40]	
Race	PN	36,20%	[28,8 - 43,6]	Non significatif P > 0,05
	PR	25,15%	[18,5 - 31,8]	
	Croisée	14,72%	[9,3 - 20,2]	
Région	Centre	22,09%	[15,7 - 28,5]	Non significatif P > 0,05
	Est	47,85%	[40,2 - 55,5]	
	Ouest	6,13%	[2,5 - 9,8]	
Saison	Automne	0,61%	/	Non Significatif P > 0,05
	Hiver	19,63%	[13,5 - 25,7]	
	Printemps	17,18%	[11,4 - 23,0]	
	Eté	38,65%	[31,2 - 46,1]	

III.4. Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les méthodes de diagnostic

Nous nous sommes intéressés à la sensibilité des méthodes de diagnostic utilisées dans notre étude. La comparaison a été étudiée deux à deux à savoir pour la digestion enzymatique / histologie et digestion enzymatique / PCR. Malheureusement nous n'avons pas pu faire la comparaison de l'histologie avec la PCR car le regroupement des effectifs positifs pour les deux techniques était trop faible.

III.4.1. Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre la digestion enzymatique et l'histologie.

L'analyse des échantillons (œsophage, diaphragme) par les deux techniques sont au nombre 366. Les résultats pour la technique de la digestion enzymatique révèle que 89% des bovins étaient infestés par *Sarcocystis* spp, alors que pour l'histologie, un taux de positivité de 69% (Tab.43, Fig. 73).

Tableau 43 : Comparaison des prévalences de la Sarcosporidiose par les deux méthodes de diagnostic (digestion enzymatique et histologie) chez les bovins étudiés.

	Digestion enzymatique		Histologie	
	Nombre	Taux de positivité	Nombre	Taux de positivité
Bovins infestés	322	88%	251	69%
Bovins non infestés	44	12%	115	31%

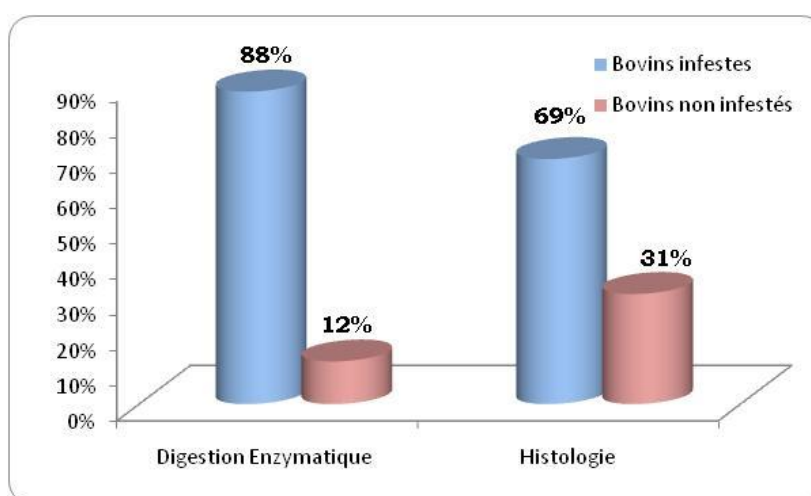


Figure 73 : Comparaison des prévalences obtenues par les deux méthodes de diagnostic (Digestion enzymatique et analyse histologique).

L'analyse statistique par le test de « khi deux », démontre qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre la technique de digestion enzymatique et la technique histologique. En effet, on a observé plus de cas positifs avec la digestion enzymatique qu'avec la technique histologique 88% par rapport à 69%. Pour les échantillons négatifs, 31% avec la technique histologie et que 12% avec la digestion enzymatique.

La comparaison entre la technique de la digestion enzymatique et l'histologie a révélé que :

- Sur les 251 bovins positifs par l'histologie, 233 bovins ont été correctement diagnostiqués par la digestion enzymatique. Ces 233 cas représentent les vrais positifs (VP) de la digestion enzymatiques, et la sensibilité est égale à 233/251 soit 92,83% (**Tab. 44**).
- La sensibilité est la proportion observée de positifs d'après la digestion enzymatique parmi les individus vraiment positifs, c'est-à-dire classées comme telles par l'histologie. La digestion enzymatique est positive chez 92.83% des prélèvements, cette valeur correspond à une bonne sensibilité.
- Chez 115 bovins négatifs à l'histologie, 26 bovins sont correctement déclarés comme négatifs par la technique de la digestion enzymatique. Ces 26 bovins représentent les vrais négatifs (VN) de la technique de la digestion enzymatique, avec une spécificité de 26/115 soit 22,61% (**Tab. 44**).
- La spécificité est la proportion observée de bovins négatifs d'après la technique de la digestion enzymatique parmi les bovins vraiment négatifs. De ce fait l'examen est positif chez 89/115 soit 77.39% des prélèvements négatifs par la technique histologie .

Rapport de vraisemblance (Likelihood Ratio) :

Le rapport de vraisemblance permet de combiner la sensibilité et la spécificité:

On trouve RV ou LR=1.20

Ceci signifie qu'un sujet dont le prélèvement est positif à 1,20 fois plus de chances d'avoir un résultat positif avec la technique de la digestion enzymatique qu'un sujet dont le prélèvement est négatif. La technique de digestion enzymatique décèle plus les positifs que les négatifs. Comme $RV < 2$ le test a un gain diagnostique faible.

Tableau 44: Comparaison entre la sensibilité et la spécificité de la technique de la digestion enzymatique et celles de la technique histologique.

		Histologie		
		+	-	T
Digestion Enzymatique	+	233 (VP)	89 (FP)	322
	-	18 (FN)	26 (VN)	44
	T	251	115	366

En conclusion, la technique de la digestion enzymatique est un examen sensible 92,83% [89.64% - 96.02%], car il identifie bien les positifs, mais il est peu spécifique 22,61% [14.96% - 30.25%] puisqu'il considère à tort comme négatif plus de 77.39% (1-21.61%) des échantillons négatifs.

Un bon test de dépistage doit être très sensible (ne pas laisser passer un cas positif) et très spécifique.

Cependant, généralement, plus un test est sensible, moins il est spécifique.

Et, à l'inverse, souvent, plus il est spécifique, moins il sera sensible autrement dit, beaucoup de positifs ont un test négatif.

III.4.2. Comparaison de la sensibilité entre la digestion enzymatique et la PCR

L'analyse des échantillons (œsophage, diaphragme) par les deux techniques sont au nombre 163. Les résultats pour la technique de la digestion enzymatique révèle que **94%** des bovins étaient infestés par *Sarcocystis* spp, alors que pour la PCR, un taux de positivité de **76%**(Tab.46, Fig76).

Tableau 45 : Comparaison des prévalences de la Sarcosporidiose par les deux méthodes de diagnostic (digestion enzymatique et PCR) chez les bovins étudiés.

	Digestion enzymatique		PCR	
	Nombre	Taux de positivité	Nombre	Taux de positivité
Bovins infestés	153	94 %	124	76%
Bovins non infestés	10	6%	39	24 %

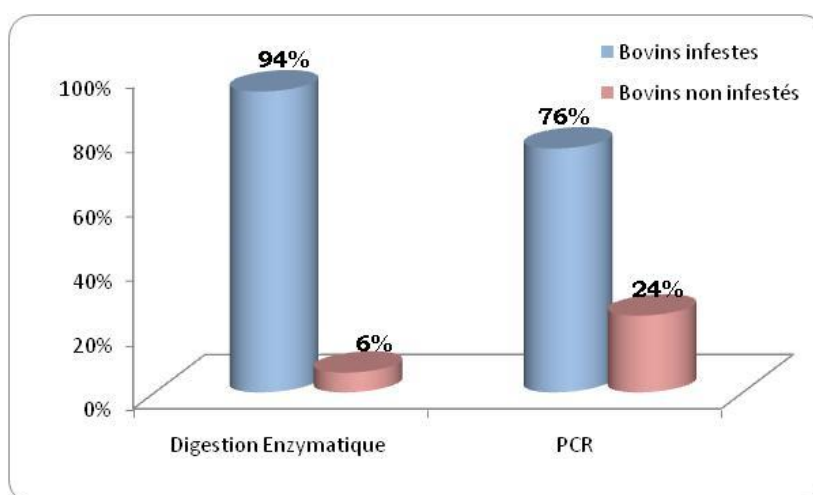


Figure 74 : Comparaison des prévalences obtenues par les deux méthodes de diagnostic (Digestion enzymatique et PCR).

Le test de « khi deux », démontre qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre la technique de digestion enzymatique et la PCR.. En effet, on a observé plus de cas positifs avec la digestion enzymatique 94% qu'avec la PCR 76%. Pour les échantillons négatifs, 6% avec la technique de digestion enzymatique et que 12% avec la PCR.

En effet, la digestion enzymatique s'est révélée la plus sensible que la PCR

La comparaison entre la technique de la digestion enzymatique et la PCR a révélée que :

- Sur les 124 bovins positifs par la PCR, 119 bovins ont été correctement diagnostiqués par la digestion enzymatique. Ces 119 cas représentent les vrais positifs (VP) de la digestion enzymatique, et la sensibilité est égale à $119/124$ soit 95,97% (**Tab.46**).
- La sensibilité est la proportion observée de positifs d'après la digestion enzymatique parmi les individus vraiment positifs, c'est-à-dire classées comme telles par la PCR. La digestion enzymatique est positive chez 95.97% des prélèvements, cette valeur correspond à une bonne sensibilité.
- Chez 39 bovins négatifs par la PCR, 5 bovins sont correctement déclarés comme négatifs par la technique de la digestion enzymatique. Ces 5 bovins représentent les vrais négatifs (VN), et la spécificité est de $5/39=12,82\%$. (**Tab..46**)
- La spécificité est la proportion observée de bovins négatifs d'après la technique de la digestion enzymatique parmi les bovins vraiment négatifs. De ce fait l'examen est positif chez $34/39$ soit 87.18% des prélèvements négatifs par la PCR.

Tableau 46: Comparaison entre la sensibilité et la spécificité de la technique de la digestion enzymatique et celles de la PCR.

		PCR		
		+	-	T
Digestion Enzymatique	+	119(VP)	34(FP)	153
	-	5(FN)	5(VN)	10
	T	124	39	163

Rapport de vraisemblance (Likelihood Ratio) :

Pour le rapport de vraisemblance : LR ou RV = 1.10

Ceci signifie qu'un sujet dont le prélèvement est positif à 1,10 fois plus de chances d'avoir un résultat, positif avec la technique de la digestion enzymatique qu'un sujet dont le prélèvement est négatif. . La technique de digestion enzymatique décèle plus les positifs que les négatifs.

Comme $RV < 2$, le test a un gain diagnostique faible.

En conclusion, la technique de la digestion enzymatique est un examen sensible 95.97% [92.51% - 99.43%], car il identifie bien les positifs, mais il est légèrement spécifique 12,82% [2.33% - 23.31%]

IV. DISCUSSION

La sarcosporidiose bovine est une des parasitoses les plus répandues à travers la population bovine domestique du monde entier. Sa prévalence atteint dans certaines régions 100% (**Euzéby, 1997**). *Sarcocystis* spp. est l'un des protozoaires responsables de la formation des kystes musculaires et infectant plusieurs espèces animales à sang chaud (**Dubey et Beattie, 1988; Dubey et Lindsay, 2006**) qui n'a aucune incidence en matière de pertes économiques au niveau des cheptels mais il semble être impliqué dans les avortements chez le bétail (**Fayer et Dubey, 1986**). Les animaux infectés constituent une source importante d'infection pour les carnivores agissant comme hôtes définitifs et en conséquence, pour les autres animaux sauvages et herbivores domestiques (**Dubey et al., 1989b**). Dans la majorité des cas les bovins infestés par *Sarcocystis* spp. ne présentent pas de signes cliniques. Si on en décrit, les symptômes de la sarcosporidiose bovine ne sont pas spécifiques, le parasite n'est que rarement recherché, et l'étiologie de la sarcosporidiose clinique reste ainsi le plus souvent indéterminée (**Dubey, Lindsay, 2006**). L'importance de la sarcosporidiose bovine semble donc sous-estimée.

Dans notre étude, les données obtenues nous ont permis d'orienter la discussion en rapportant les prévalences obtenues par les examens macroscopiques et microscopiques avec les trois techniques de diagnostic de laboratoire utilisées à savoir la digestion enzymatique, l'analyse histologique et enfin la PCR. Enfin, pour compléter l'évaluation de notre travail, une analyse des facteurs de risque pris en considération (âge, sexe, race/robe, origine des animaux) sera estimée. Les résultats de notre étude ont montré des prévalences élevées variables entre les différentes techniques utilisées ; 90 % pour la digestion enzymatique, 69% pour l'analyse histologique et 76 % pour la PCR.

- **Prévalence des kystes macroscopiques**

Lors de l'examen macroscopique des **1150** échantillons d'œsophages et de diaphragmes des 575 bovins, nous avons noté des kystes macroscopiques au niveau du diaphragme d'un seul bovin soit une prévalence de **0.2 %**. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Latif et al. (1999)**, en effet, ils ont noté à Baghdâd (Irak), une prévalence de **0,2%** de kystes macroscopiques, après un examen d'œsophages, de cœurs, de diaphragmes et de muscles squelettiques de 1080 bovins. De même que, **Nahed et al., (2014)** en Egypte ont observé des kystes macroscopiques dans 3% des 61 carcasses bovines inspectées.

Les plus fortes prévalences ont été enregistrées en Chine par **Shi et Zhao (1987)** qui ont détecté, des kystes géants dans **64,78%** des 159 carcasses bovines inspectées dans un abattoir de la province de Jilin.

Contrairement en Algérie, **Nedjari**, en **2002** publie l'absence de kystes macroscopiques dans 573 œsophages de bovins prélevés dans les abattoirs d'Alger et de ses environs; de **Harhoura et al.**, en **2010** qui ont étudié 170 diaphragmes et 170 œsophages de bovins dans l'abattoir de Rouïba constatent également l'absence de kystes macroscopiques, ainsi que ceux de **Dekkiche, 2014** ; **Lardjane et al., 2014**, qui n'ont observé aucun kyste macroscopique sur les 63 et 110 carcasses bovines au niveau des abattoirs d'El Harrach, et de Ruisseaux respectivement et enfin de **Boussebata et al., 2014** lors de l'inspection de 103 carcasses bovines aux niveaux des abattoirs de l'Est de l'Algérie. L'absence de ces kystes a également été constatée dans d'autres régions du monde, notamment en Iran, où aucun kyste macroscopique n'a été mis en évidence dans 02 études différentes. La première réalisée par **Nourollahi Fard et al. (2009)** sur des échantillons d'œsophages, de cœurs, de langues et de muscles squelettiques de 480 bovins prélevés à l'abattoir de la ville de Kermân. La deuxième étude effectuée par **Nourani et al. (2010)** sur des échantillons de diaphragmes et œsophages de 100 bovins prélevés au niveau de l'abattoir d'Isfahan. De même, **Aldemir et Güçlü (2004)** n'ont observé aucun kyste macroscopique en inspectant les échantillons de cœurs, d'œsophages et de diaphragmes de 100 bovins prélevés dans un abattoir de la province de Konya en Turquie.

Des auteurs ont effectué des infestations expérimentales avec des kystes géants sur les hôtes définitifs. Ces expériences ont permis aux auteurs d'établir avec une certitude que les kystes macroscopiques étaient ceux de *S. hirsuta*. A titre d'exemple, **Böttner et al., (1987a)** ont infesté expérimentalement 2 chats, 2 chiens et un homme volontaire par des kystes macroscopiques d'environ 8 mm de long et 1 mm de large, isolés à partir de muscles squelettiques de bovins. Seuls les chats ont excrété des oocystes prouvant ainsi que les kystes géants étaient infestant pour les chats seulement. La même expérimentation a été réalisée par l'équipe de **Aissi et al., (2013)** qui ont mis en évidence les oocystes de *S. cruzii* après infestation de chats, chiens et primates (singes magots) avec des portions de muscles infestés par des kystes microscopiques.

Dans notre étude, l'observation sur un seul bovin des kystes visibles à l'œil nu est probablement liée à la présence de l'espèce féline mais la faible prévalence (0,2%) pourrait être expliquée par la rareté de la présence du chat dans l'environnement des bovins (les pâturages et les fermes).

Dans la réalisation de notre travail, pour l'analyse des échantillons de muscles, nous avons mélangé les œsophages et les diaphragmes ; En effet, selon **Fassi-fehri et al. (1978)** ; **Euzéby (1987)**, l'infestation de ces deux muscles par *Sarcocystis* est presque similaire. Ainsi, le mélange des œsophages avec les diaphragmes augmente les chances de la mise en évidence du parasite.

• Prévalence par la digestion enzymatique

Le protocole de digestion enzymatique utilisé est largement cité dans la littérature scientifique (**Vercruysse et al., 1989**; **Savini et al., 1992**) et est facile à réaliser permettant d'atteindre une excellente répétabilité.

L'examen microscopique de nos échantillons (œsophage, diaphragme) par la technique de digestion enzymatique a révélé une quasi-totalité des bovins infectés. Cette technique détermine une prévalence importante de **90%** avec seulement **59** bovins négatifs soit **10 %**. Cependant, il est possible que les bradyzoïtes aient été abîmés dans les échantillons congelés, ce qui aurait pu engendrer des faux-négatifs.

La prévalence obtenue dans notre étude est relativement similaire aux études rapportées dans notre pays. En effet, en Algérie, quelques études de prévalence de la sarcosporidiose bovine ont été réalisées par **Nedjari en 2002** dans la région d'Alger qui révèle une prévalence de 63 % sur 513 carcasses bovines et **Khouni et al., (2009)** signale une prévalence de 100% sur 170 bovins au niveau des abattoirs de Ruisseau et Rouiba. En **2014**, **Dekkiche, Lardjane et al.** et **Boussebata et al.**, ont rapporté des prévalences de 88% sur 61 bovins à l'abattoir d'El Harrach, 89 % sur 110 Bovins à l'abattoir d'El Harrach et Ruisseau, 93% sur 103 bovins à l'abattoir d'Annaba respectivement. Plus récemment, **Zououiouche, Chaouadi et Djouhri (2015)** rapporte une prévalence de 100 % sur 59 bovins à l'abattoir de Tipaza et 95 % sur 200 Bovins à l'abattoir d'El Harrach pour chacune des études.

Au Maroc, l'étude de **Fassi-Fehri et al., (1978)** ont montré un taux d'infestation de **100%** chez les bovins. En Belgique, une analyse de muscles provenant de 100 bovins abattus, a montré un taux d'infection de **97 %** par **Vercruysse et al., (1989)**, ce qui a aussi été démontré plus récemment en France par **Mary en 2005** par un portage de *Sarcocystis* spp. de **97 %** sur 37 bovins étudiés. De même que dans les travaux de **Bertin, (2013)** et **Lemieux, (2014)** qui démontrent des prévalences de 100% sur des prélèvements de cœurs, de diaphragmes et caparaçon sur 75 et 123 bovins respectivement.

En Afrique et plus précisément au Nigeria, **Obijiaku et al., (2013)** notent une prévalence de 88 % sur des prélèvements d'œsophages et 65 % sur les diaphragmes de 200 bovins testés.

En Iran, **Nourollahi Fard et al., (2009)** ont trouvé 100% des échantillons de cœurs, d'œsophages, de langues et de muscles squelettiques de 480 bovins positifs à l'infestation par *Sarcocystis*.

En Egypte, **Nahed et al., (2014)** ont révélé la présence de bradyzoïtes dans 60% des bovins prélevés des différents abattoirs du Caire et de Gizeh de même que **El-Dakhly et al., (2011)**, une prévalence de 78.9% sur des prélèvements de cœurs, d'œsophages et de langues de 379 Buffles. Egalement en Irak, **Latif et al., (1999)**, révèlent une prévalence de 97.8 % sur des muscles de bovins.

Dans le Sud de la Chine, la prévalence de *Sarcocystis* spp. est proche de **100%** dans les troupeaux de bovins et de buffles sauvages (**Xiang et al., 2011**). De façon générale, dans beaucoup de régions du monde, la prévalence de *Sarcocystis* spp. dans le muscle de bovin adulte est aux alentours de **100 %**.

Dans notre étude, la forte infestation des bovins par les *Sarcocystis* pourrait être attribuée à une pollution très étendue des pâturages et des fermes par les sporocystes de *Sarcocystis* éliminés dans les fèces des hôtes définitifs. Le taux d'infestation en *Sarcocystis* spp. est remarquablement élevé de façon ubiquitaire (**Fassi-Fehri et al., 1978**). D'une part, le chien, le chat et l'homme pourraient être à l'origine de cette forte infestation s'ils émettaient en quantité importante de sporocystes dans les fèces (**Fayer, 1974**). D'autre part, une multiplication intense des tachyzoïtes pourrait en être la cause (**Jacobs et al., 1957**).

• Recherche des kystes de *Sarcocystis* par l'étude histologique

L'examen histologique des muscles a montré que 69% des 575 bovins sont infestés par des kystes de *Sarcocystis* ce qui est très élevée. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Harhoura et al., (2010)** qui ont noté une forte prévalence de 90,8 % de 120 bovins abattus à l'abattoir de Rouiba et ceux de **Chaouadi et Djouhri, (2015)** qui ont obtenus 80% des 200 bovins infestés par des kystes de *Sarcocystis* spp. Ils concordent également avec ceux obtenus par **Woldemeskel et Gebreab (1996)**, en Éthiopie, qui ont noté une prévalence de 82% sur des échantillons de diaphragmes, de masséters, de cœurs et d'œsophages de bovins. **Godoy et al. (1977)**, au Venezuela, ont estimé le taux d'infestation par *Sarcocystis* à 92,8% sur 630 échantillons de myocardi de bovins examinés.

Mary (2005) en France, a détecté la présence de kystes de *Sarcocystis* spp. dans 89% des bovins étudiés. **Fassi-Fehri et al. (1978)** au Maroc, ont décelé la présence de kystes de *Sarcocystis* spp. chez 100% des bovins. **Nourani et al. (2010)** en Iran, 92% de bovins infestés par des kystes de *Sarcocystis* spp. En Italie, **Bucca et al., (2011)** ont trouvé une prévalence de 96 % sur 50 bovins analysés.

• Prévalence des kystes sarcosporidiens selon l'organe

Dans notre étude, un total de 1941 kystes de *Sarcocystis* spp. a été dénombré sur les 251 bovins parasités. La quantification du nombre des kystes est réalisée pour l'ensemble des deux types d'organes et non séparément. Mais des études montrent que selon l'organe de fortes prévalences de kystes sarcosporidiens ont été obtenus, avec des taux d'infestation au niveau de l'œsophage et du diaphragme presque similaires. Néanmoins, les travaux de **Chaouadi et Djouhri (2015)** montrent que l'œsophage était l'organe le plus fréquemment infesté par les kystes de *Sarcocystis* spp. suivi du diaphragme, avec des taux d'infestation de 70,5 % et de 60,5 % respectivement.

Aldemir et Güçlü (2004) en Turquie ont révélé une prévalence plus élevée des kystes microscopiques de *Sarcocystis* au niveau de l'œsophage avec 92% de cas positifs, suivi du cœur et du diaphragme avec des taux d'infestation de 84% et 63 % respectivement. Par ailleurs, ces auteurs ont constaté que l'œsophage contenait également le nombre le plus élevé de kystes de *Sarcocystis*. **Fassi-Fehri et al. (1978)** ont également montré que l'organe le plus régulièrement infesté est l'œsophage, suivi du diaphragme et du masséter.

En revanche, certains auteurs ont obtenus des résultats différents notamment **Harhoura et al. (2010)** qui ont observé une prédominance des kystes au niveau du diaphragme plutôt que dans l'œsophage avec des taux d'infestation de 84% et 63,3% respectivement et **Mary, (2005)** a observé une forte infestation dans le myocarde suivi du masséter, puis du diaphragme.

Selon **Fassi-Fehri et al. (1978)**, l'œsophage semble donc être l'organe le plus infesté qui présente sûrement les meilleures conditions pour le développement du parasite, qu'il est donc l'organe le plus sensible, le plus fidèle et par conséquent, le plus sûr pour le diagnostic de la sarcosporidiose. **Flandrin et Léonard (2014)** ont également choisi l'œsophage comme site d'échantillonnage car selon **Domenis et al. (2011)**, il est l'un des meilleurs sites d'échantillonnages avec le diaphragme pour la surveillance à l'abattoir. En effet, *S. cruzi* se localise préférentiellement dans le myocarde et l'œsophage, *S. hirsuta* est rare et confiné à l'œsophage et *S. hominis* a un tropisme pour l'œsophage et le diaphragme.

• Prévalence des kystes sarcosporidiens selon le type de paroi

Dans notre étude, les résultats des examens histologiques ont montré que 98% des bovins parasités étaient infestés par des kystes à paroi mince (*S. cruzi*), contre 9 % seulement avec des kystes à paroi épaisse (*S. hirsuta* et/ou *S. hominis*). On constate que la prévalence des kystes à paroi fine est supérieure à celle des kystes à paroi épaisse. Cela confirme que *S. cruzi*, est la seule espèce de sarcosporidie présente chez les bovins dont les kystes ont une paroi fine, est prédominante par rapport aux autres espèces.

Nos résultats sont homologues à ceux obtenus par **Nedjari (2002)** qui relève la présence de kystes de *S. cruzi* chez 60,2% des bovins alors que 39,8% avaient des kystes de *S. hirsuta* et/ou *S. hominis* et **Harhoura et al. (2010)** note la présence de kystes de *S. cruzi* chez 85,8% des bovins analysés, alors que les kystes à paroi épaisse étaient présents chez 25% des bovins. Ces kystes à paroi fine étaient plus largement présents au niveau des deux organes, œsophages (60,8%) et des diaphragmes (79,8%). Par contre **Ruas et al. (2001)** révèle des taux d'infestation par les kystes de *S. cruzi* de 100% dans les deux organes. Dans d'autres études, il semblerait que les kystes de *S. cruzi* se localisaient préférentiellement au niveau de l'œsophage; comme l'étude de **Moré et al. (2008)** qui signale une infestation plus fréquente de l'œsophage par les kystes de *S. cruzi* comparé au diaphragme, avec des prévalences respectives de 71% et de 28%. Des résultats similaires ont été observés en France, par **Flandrin (2014)** qui a constaté une localisation préférentielle de *S. cruzi* dans l'œsophage avec une prévalence de 57%.

Selon **Ruas et al. (2001)**, cette forte prévalence de *S. cruzi* est aussi favorisée par la capacité et la durée d'élimination des sporocystes par les chiens.

Dans une autre étude réalisée en Turquie, **Aldemir et Güçlü (2004)** notent la présence de *S. cruzi* chez 74% des bovins, la présence de *S. hirsuta* et *S. hominis* fût rapportée respectivement chez 15% et 3% des bovins. En Argentine, **Moré et al. (2011)** notent que 71,5% des kystes étaient à paroi mince, alors que 23,1% seulement avaient une paroi épaisse de *S. hirsuta* et/ou *S. hominis*.

Dans notre étude, une très faible prévalence de kystes à paroi épaisse a été observée (9%) sur les muscles des bovins parasités. Nos résultats sont similaires à ceux de **Ruas et al. (2001)**. Ces auteurs ont démontré que les kystes de *S. hirsuta* étaient retrouvés uniquement dans les diaphragmes avec une faible prévalence (1,4%). De même **Harhoura et al. (2010)** ont démontré que les kystes à paroi épaisse de *S. hirsuta* et/ou *S. hominis* étaient présents dans les diaphragmes (23,5%) mais aussi dans les œsophages avec une plus faible prévalence (7.5%).

Par contre, certains auteurs ont noté une prédominance des kystes à paroi épaisse de *S. hominis*. En effet, en France, **Lemieux (2014)** a observé que 88,6% des bovins infestés par des kystes à paroi épaisse de *S. hominis*, 61% par l'espèce *S. cruzi* alors que 1,6% contenaient des kystes à paroi épaisse de *S. hirsuta*. En Belgique, **Vangeel et al. (2007)** ont noté une prévalence élevée des kystes de *S. hominis* qui étaient présents dans 97,4% des échantillons de viande de bœuf hachée crue.

Dans la littérature, des données similaires sur des prévalence élevées des kystes à paroi épaisse sont signalées : 32% en France (**Flandrin, 2014**), 56 % en Belgique (**Vercruysse et al., 1989**), 44.5% en Italie (**Domenis et al., 2011**), et 49.8% en Allemagne (**Moré et al., 2014**).

Vu que les kystes à paroi mince sont prédominants dans notre étude, nous pouvons affirmer que les chiens et les canidés sauvages sont responsables de la contamination des pâturages et des points d'abreuvement du bétail avec les sporocystes éliminés dans leurs fèces. De même que la présence de kystes à paroi épaisse et dont certains ont été identifiés comme étant l'espèce *S.hominis* nous permet d'affirmer dans ce cas, que les bovins étaient directement exposés aux excréments humains et que ces animaux auraient broutés de l'herbe dans des zones polluées par des déversements des eaux usées des habitations.

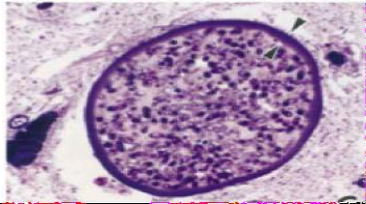
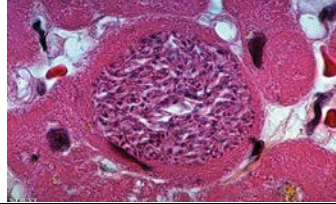
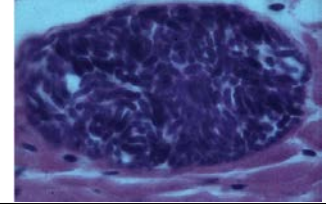
• Prévalence des Infestations mixtes

L'examen histologique a montré la présence d'infestation mixte chez un même bovin. Nous avons noté la présence des deux types de kystes avec une fréquence de 7,56% pour plusieurs bovins (19). De nombreuses études ont révélé la présence de doubles infestations au sein d'un même animal domestique, chez les ovins (**Beyazit et al., 2007a**), les buffles d'Asie (**Jehle et al., 2009**) mais aussi, les bovins. En effet, **Harhoura et al., 2010** ont noté la présence d'infestations mixtes aussi bien dans l'œsophage que dans le diaphragme avec des fréquences respectives de 5% et de 19,3%. **Mary (2005)** a également observé 27% des bovins infestés simultanément par des kystes à paroi mince et paroi épaisse, et localisaient beaucoup plus dans le myocarde.

Des cas de doubles infestations ont été également observés chez les animaux sauvages comme le cerf à queue blanche (**Atkinson et al., 1993**) et le tatou (**DE Lucia et al., 2002**). **Flandrin, 2014** note une prévalence de la co-infestation de 21%. Par contre des taux plus élevés dans certains pays ont été publiés : 96% au Brésil (**Pena et al., 2001**), 57% en Italie (**Domenis et al., 2011**).

La présence des infestations mixtes indique que les bovins peuvent être infestés simultanément par plusieurs espèces de *Sarcocystis* comme cela a été observé dans notre étude. Cependant, des kystes de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* peuvent également être présents au sein de leurs muscles et doivent être différenciés de *Sarcocystis*. La paroi de ces kystes est fine. Cela peut être une source de confusion. Selon **Fassi-Fehri et al., 1978**, on peut distinguer les kystes sarcosporidiens des kystes de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* par les critères définis dans le **tableau 48**. Mais malgré ces critères, la confusion est toujours possible en histologie (**Wouda et al., 2006**).

Tableau 47 : Principaux critères de diagnose différentielle entre les kystes de *Sarcocystis* sp , *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* (**Chermette et Marquer, 2000, Boireau et al., 2002 ; Hesse, 2002 ; Dubey et al., 2002 ; Guinot, 2005**).

	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Sarcocystis</i> sp.
Structure générale	Aspect identique au microscope optique		
	PAS* négatif	PAS* positif	
Structure du kyste	• Paroi plus épaisse (1-4µm) que la largeur des bradyzoïtes • Kyste tissulaire non septé	• Paroi plus fine (0,5µm) que la largeur des bradyzoïtes	• Paroi épaisse • Kyste tissulaire septé
Identification des kystes			

*PAS : Coloration à l'Acide Périodique-Schiff

• Intensité du parasitisme des échantillons de bovins infestés

Il nous a semblé intéressant d'évaluer l'intensité du parasitisme des animaux positifs. Le nombre de kystes visibles dans chaque prélèvement est une information intéressante que nous fournit l'étude histologique et que ne peut fournir la PCR multiplex. Nous avons noté la présence de 1941 kystes de *Sarcocystis* spp. chez les 251 bovins parasités. D'une part, nous avons trouvé un nombre très important de kystes à paroi mince (1910 kystes). Ces résultats sont comparables à ceux de **Harhoura et al. (2010)** qui ont noté la présence de 619 et 694 kystes à paroi mince dans les diaphragmes et œsophages respectivement. D'autre part, nous avons trouvé 31 kystes à paroi épaisse seulement contrairement **Harhoura et al. (2010)** qui ont noté 109 et 26 kystes à paroi épaisse respectivement dans les diaphragmes et œsophages.

Dans notre étude, la majorité des bovins parasités (133) présentaient moins de 03 kystes à paroi mince et seulement 22 bovins des kystes à paroi épaisse. Aucun des bovins infestés n'avaient plus de 4 kystes à paroi épaisse par contre 113 bovins avaient plus de 4 kystes à paroi mince dont 42 bovins avec plus de 10 kystes.

Nos résultats concordent avec ceux de **Chaouadi et al. (2015)** qui ont noté d'une part un nombre très important de kystes à paroi mince dans les diaphragmes (675 kystes) et les œsophages (745 kystes) et d'autre part, 10 kystes à paroi épaisse seulement qui se localisaient tous au niveau du diaphragme. De même que **Léonard (2014)** qui constate une prévalence des kystes à paroi mince (49 % à 83 %) supérieure à celle des kystes à paroi épaisse (28 % à 50 %) sur 446 œsophages bovins. **Flandrin (2014)** enregistre également une prédominance de kystes à paroi mince (57 %) contre 33% kystes à paroi épaisse sur 462 échantillons d'œsophages de bovins. L'étude de **Bertin (2013)**, établit que chez les animaux saisis pour myosite éosinophilique, une valeur de 1 à 2 kystes par lame (maximum 6 kystes,) soit une moyenne de 1,44 kystes ont été trouvés par contre chez les animaux témoins (sans lésions) un nombre plus élevés, principalement dans les cœurs (10- 30 kystes) avec une moyenne de 3,96 kystes par prélèvement a été calculé.

Dans notre étude, on peut confirmer que *S. cruzi*, seule espèce de sarcosporidie présente chez les bovins est prédominante par rapport aux autres espèces comme dans les travaux de **Léonard (2014)** ou les diaphragmes et les œsophages ayant un nombre important de kystes augmentent probablement le risque d'infestation des hôtes définitifs.

En effet, l'étude de **Aissi et al. (2013)** sur l'infestation expérimentale des chiens, des chats et des singes avec de la viande hachée bovine contaminée par les 2 types de kystes ont révélée qu'une faible concentration en kystes dans la viande n'était pas suffisamment infestante pour les hôtes définitifs. Il est également possible que l'évolution d'un type de réaction plutôt qu'un autre ne dépende pas uniquement ou pas du tout de l'espèce incriminée, mais bien de facteurs individuels, génétiques (**Granstrom et al., 1989**).

• Prévalence par la technique PCR

La PCR multiplex est un puissant outil permettant la détermination des espèces incriminées.

En effet, il existe d'autres méthodes qui le permettent, la RAPD PCR en est une (**Güclü et al., 2004**), mais elle est moins facile à mettre en place que la PCR multiplex.

Les caractéristiques exactes de cette méthode multiplex est très récente en ce qui concerne l'étude de la sarcosporidiose et donc sont encore à explorer. Il serait intéressant, par exemple, de déterminer pour cette méthode, la quantité d'ADN minimale nécessaire à l'apparition de la bande de positivité, et ce pour chaque espèce (**Honoré, 2011**). Dans le cas de prélèvements doublement positifs, il faudrait connaître si ce seuil est modifié pour chacune des espèces présentes (**Bertin, 2013**).

Il serait essentiel de déterminer une sensibilité et une spécificité exactes pour cette PCR multiplex. Les spécificités de méthodes similaires ont été déterminées en réalisant ces méthodes sur des mélanges d'espèces. Pour cela, la confirmation des espèces de *Sarcocystis* s'est avérée nécessaire et par conséquent la prévalence des espèces de *Sarcocystis* *S. cruzi*, *S. hirsuta* et de *S. hominis* a été déterminée par l'amplification génique (PCR).

Dans notre étude, les résultats ont démontré que 76% des bovins (124/163) sont effectivement positifs au genre *Sarcocystis* et que 24% se sont avérés négatifs (39/163). Des prévalences plus élevées sont observées dans les travaux de **Bertin (2013)** qui obtient une prévalence par PCR multiplex de 100 % chez les bovins témoins et 98,2 % chez les animaux saisis pour myosite éosinophilique et ceux de **Vercruysse et al., (1989)**, **Bucca et al.,(2011)** et **More et al. (2010)** qui ont respectivement publié des valeurs de prévalence de 97 %, 96 % et 99,7 %. La valeur de 99,7%, notamment, est basée sur une étude employant des techniques d'analyse moléculaire (**More et al., 2010**).

Concernant la PCR multiplex, celle-ci a permis l'identification de deux espèces impliquées avec des prévalences de **42 %** pour *S. cruzi*, **33 %** pour *S. hominis* et enfin **0 %** pour *S. hirsuta*.

Pour les espèces identifiées, en combinant nos résultats obtenus par PCR avec ceux obtenus par l'étude histologique, il semblerait que les kystes à paroi épaisse, serait uniquement des kystes de *S. hominis*. En effet, aucun prélèvement n'a présenté en PCR de bande visible autour de 100 paires de bases, bande caractéristique de *S. hirsuta*.

L'absence de cette espèce de *Sarcocystis* peut sembler surprenante du fait de la présence de chats errants à proximité des exploitations ; même observation pour **Bertin (2013)** où *S. hirsuta* n'est pas observé mais par contre *S. hominis* a été identifié dans les échantillons des bovins saisi pour myosite éosinophilique avec pour site électif les muscles striés squelettiques. *S. cruzi* a été aussi identifiée et est significativement plus représenté dans le myocarde des bovins témoins (sans lésions).

Par contre, des faibles prévalences (1.6%) sont rapportées en France dans les travaux de **Lemieux (2014)** et aussi sur des bovins du nord ouest de l'Italie. **Chiesa et al. (2014)** met en évidence une prévalence de 4%. Dans une autre étude en Argentine, **Moré et al. (2013)** publie une prévalence de 3.7 % sur des prélèvements de bovins. Cependant une forte prévalence (44 %) est rapportée par **Jehle et al. (2009)** au Vietnam.

L'absence de *S. hirsuta* dans nos prélèvements, nous permet de supposer d'une part que l'alimentation du chat et du chien domestiques sont légèrement différentes car le chien est souvent nourri avec les restes de tables alors que le chat de ferme devait plus souvent subvenir par lui-même à ses besoins. Le chat est donc peut être moins en contact avec la viande bovine que le chien. D'autre part, les zones d'alimentation des bovins sont peut être moins superposables avec les zones de déjection du chat par rapport à celles du chien et des animaux de la faune sauvage porteurs de *S. cruzi*. Enfin, le chat est décrit comme étant moins bon excréteur que le chien (**Bertin, 2013**).

S. cruzi est réputé plus pathogène que *S. hominis*. Il est plus fréquemment responsable de la forme aiguë de sarcosporidiose, et à des doses d'ingestion plus faibles. Il est envisageable qu'il existe une différence dans la forme de réponse immunitaire selon que l'infection soit due à *S. hominis* ou à *S. cruzi*. Il est connu qu'une immunité de prémunition se met en place lorsque le bovin est exposé à des doses relativement faibles de sporocystes avant d'être exposé à une dose beaucoup plus importante. Il est également connu que la qualité de l'immunité est proportionnelle aux doses auxquelles le bovin est exposé. L'immunité est par ailleurs entretenue par une exposition répétée puisque les kystes dégénèrent après environ 3 mois (**Euzéby, 1998**).

Dans notre étude, Aucun cas de saisie pour myosite eosinophilique (ME) sur l'ensemble des carcasses des 575 bovins, ayant fait l'objet de notre étude. Ceci n'est pas le cas en France où les saisies pour myosites eosinophilique sont en nette augmentation depuis plusieurs années et concernent des animaux en bonne santé et de grande valeur bouchère engendrant des pertes de quelques millions d'Euros (**Cappelier et al., 2015**). Les différentes études menées à ONIRIS Nantes révèlent qu'une infection mixte par *S. hominis* et *S. cruzi* n'a pas d'influence sur le déclenchement de la réaction de ME (**Cappelier et al., 2015**).

En revanche *S. cruzi* est significativement plus présent chez les animaux sains (sans lésions ME) que chez ceux saisis pour ME. *S. hominis* semble isolé seul plus souvent chez les bovins saisis que chez les témoins (Lemieux, 2014). Honoré en 2011 avait déjà mis en évidence une prévalence de 96% de *S. hominis* contre 4% de *S. cruzi* parmi les bovins saisis, dont le résultat de PCR était positif. La même observation est faite dans une étude menée en Italie (Chiesa et al., 2011).

Des co-infestations de *S. cruzi* / *S. hominis* ont été décelées avec une prévalence de 16 %. Des résultats comparables ont montré une prévalence de co-infestation un peu plus élevée de 24% pour *S. cruzi* / *S. hominis* mais d'autres co-infestations ont été détectées telle que pour *S. cruzi* / *S. sinensis* (30%) et 55% pour *S. hominis* / *S. sinensis* (Flandrin, 2014). Des taux variables ont été trouvés : 8.9% toutes espèces confondues en Argentine (Moré et al., 2013), 28% toutes espèces confondues en Allemagne (Moré et al., 2014).

Il est à noter que 31 échantillons d'extrait d'ADN traités en PCR étaient positifs pour le genre *Sarcocystis* mais aucune des espèces n'a été détectée par la PCR multiplex pour les amorces spécifiques de *S. cruzi*, *hominis* et *hirsuta*. Cela suppose qu'il pourrait s'agir d'une autre espèce de *Sarcocystis* : peut être *S. sinensis* ?. Effectivement, une étude récente a mis en évidence qu'il existait une quatrième espèce chez les bovins: *S. sinensis* dont l'hôte définitif n'est pas connu (More et al., 2014). Dans leur étude, ces auteurs publient que *S. sinensis* peut infecter les bovins et est particulièrement présente chez les bovins élevés en Allemagne avec une prévalence de 37 % contre 6.2 % pour *S. hominis*. Ainsi les fortes similitudes histologiques des kystes et les très faibles différences biomoléculaires qui existent entre les deux espèces pourrait conduire à une surestimation de la prévalence de *S. hominis* au dépend de *S. sinensis*. Cependant cette hypothèse est contredite par une autre étude qui considère que comme la description de *S. sinensis* n'a jamais été publiée selon les règles en vigueur du code international de nomenclature zoologique (ICZN, 1999), on ne peut pas considérer *S. sinensis* comme une nouvelle espèce (Dubey et al., 2014).

D'autres études seront nécessaires afin d'approfondir cette situation et déterminer si *S. sinensis* est une nouvelle espèce et/ou une sous espèce de *S. hominis* (Lemieux, 2014). Une nouvelle appellation est proposée pour dénommer cette espèce ; *S. sinensis* par *S. rommeli* des bovins (Dubey et al., 2015).

• Analyse des facteurs de risque

L'étude des facteurs de risque (sexe, âge, race, saison et région) a permis d'identifier quelques facteurs pouvant jouer un rôle dans la prévalence de *Sarcocystis* dans les carcasses bovines. La comparaison de nos données avec celles des autres pays est parfois difficile due au fait que ces pays sont très différents de l'Algérie par rapport au climat, aux races des bovins ou aux modes d'élevage. Notre travail sur la prévalence de *Sarcocystis* vient compléter le peu de données existantes en Algérie.

- Le Facteur âge

Dans notre étude, la prévalence de *Sarcocystis* spp. et des kystes microscopiques chez les bovins est influencée par l'âge. La tranche d'âge qui influe sur la prévalence de *Sarcocystis* est représentée par les animaux âgés entre 2 et 4 ans. En Algérie, nos résultats ne concordent pas à ceux de **Harhoura et al., (2010)**, **Dekkiche (2014)**, **Lardjane et al. (2014)** et **Boussebata et al. (2014)** qui ne trouvent pas d'influence de l'âge sur la prévalence des *Sarcocystis*. En Iran, **Nourollahi Fard et al. (2009)** ; **Najafiyani et al. (2008)**, et **Fassi-Fehri et al., 1978** au Maroc, ont également constaté l'absence de l'influence de l'âge sur la prévalence des *Sarcocystis*.

Par contre, d'autres auteurs ont trouvé qu'il existait une influence de l'âge sur la prévalence de *Sarcocystis*. En effet, en France, L'étude réalisée par **Fradin et al. (2002)** et **Guénégan (2009)** montrent qu'il existe une relation entre l'âge des bovins et le taux de saisie pour la sarcosporidiose. Effectivement, la totalité des saisies concernait des bovins âgés, alors qu'aucun veau n'a été saisi pour ce motif. **Seneviratna et al. (1975)** et **Park et al. (1992)** ont constaté l'absence de l'infestation chez les veaux âgés de moins d'une année, alors que des bovins plus âgés étaient infestés. D'après **Guénégan (2009)**, ce faible risque d'être exposé à l'infestation chez les jeunes bovins peut être expliqué par le fait que ces derniers sont élevés pendant la majorité de leur vie dans des bâtiments clos. Donc les contacts directs ou indirects avec des carnivores domestiques ou sauvages sont a priori quasi-inexistants. Ainsi, l'accès au pâturage se limite aux vaches allaitantes. Selon **Fukuyo et al. (2002b)**, cette augmentation du parasitisme avec l'âge peut être due au fait que l'animal subi des infestations à répétition, ce qui, progressivement entraînerait une accumulation des kystes au niveau des muscles avec l'âge.

En revanche, **Savini et al. (1992)** ont obtenu des résultats contradictoires. Selon eux, l'immunité acquise avec l'âge de l'hôte va réduire le nombre de kystes avec le temps. Ainsi, la prévalence de *Sarcocystis* spp. baissait de façon significative chez les plus âgés. Par contre pour **Léonard (2014)** établit que la prévalence atteint un pic à 6-7 ans.

- Le Facteur sexe

Dans la présente étude, la prévalence de *Sarcocystis* spp. et des kystes microscopiques de *Sarcocystis* chez les bovins n'est pas influencée par le sexe. Les mêmes résultats ont été trouvés par **Harhoura et al. (2010)** et **Dekkiche (2014)** qui n'ont trouvé aucune influence du sexe sur la prévalence de *Sarcocystis*. En Iran, **Nourollahi Fard et al. (2009)** et **Najafiyan et al. (2008)** ont également constaté l'absence de l'influence du sexe sur la prévalence des *Sarcocystis*.

Par contre, d'après **Edwards (1984)**, **Corner et al. (1961)** et **Reiten et al. (1966)**, il existerait une différence significative entre le degré d'infestation des mâles et des femelles. En effet, dans leurs études les femelles étaient plus infestées que les mâles. **Edwards (1984)** justifie ce taux élevé d'infestation chez les femelles par un tropisme musculaire des *Sarcocystis* variable selon le sexe. Le parasite se localise préférentiellement au niveau de l'utérus. Cette hypothèse est confortée selon lui par les cas d'avortements signalés chez les bovins lors de sarcosporidiose aiguë. En France, **Bertin (2013)**, a constaté que les femelles étaient également plus infestées que les mâles. Selon ce dernier, ceci pourrait être dû au mode d'élevage (accès aux pâtures, modalités d'alimentation) légèrement différents pour les mâles et les femelles. Par contre, **Savini et al., (1992)** ont noté une prévalence plus élevée chez les mâles que chez les femelles.

En général, les animaux des deux sexes quel que soit leur race, sont contaminés du fait de leur exposition à une grande pollution de leur environnement par les ookystes sporulés et les sporocystes infectants de *Sarcocystis* qui sont constamment et intensément éliminés par les fèces des hôtes définitifs (**Euzeby, 1997**).

- Le facteur race

La prévalence de *Sarcocystis* spp. n'est pas influencée par la race mais la variabilité est dans les différents types de races (robres). **Qiu JH et al. (2012)** démontrent que malgré la prédominance de cheptels bovins élevés de façon intensive par rapport aux élevages bovins laitiers élevés en semi-intensif, aucune différence n'était constatée dans les régions du Nord Est de la Chine.

Nourollahi Fard et al. (2009) ont trouvé une influence du facteur race sur la prévalence de *Sarcocystis* spp, chez les bovins; Par contre, **Claveria et al. (1997)** ont noté une prévalence plus faible chez la race locale aux Philippines par rapport à la race Brahman importée d'Australie.

Ono et Ohsumi (1999) au Japon ont trouvé également une prévalence des *Sarcocystis* spp. chez les bœufs japonais plus faible que celle chez les bœufs importés d'Amérique et d'Australie.

Selon ces auteurs, les facteurs qui sont le plus probablement à l'origine de cette faible prévalence chez les bœufs Japonais sont d'une part, la faible population d'hôtes définitifs, tel que les canidés sauvages (renards, chiens errants) et le mode d'élevage puisque les bœufs sont maintenus dans des élevages clos. La mise en pâtures est rare, ce qui limite le contact entre les bœufs et les canidés.

En France, **Cappelier et al. (2015)** précise qu'il a été mis en évidence une prédisposition raciale : la Blonde d'aquitaine qui présente un taux de saisie supérieur à 0.4 % pour myosite éosinophilique tout âge confondu et **Leonard (2014)** constate aussi en plus dans une moindre mesure que la race Limousine semble prédisposée à développer ce type de lésion.

- Le facteur région

Nous avons voulu connaître l'impact de la région sur la prévalence de *Sarcocystis*. La région n'a aucune influence sur *Sarcocystis* spp. Notons qu'une prévalence de 93,2 % a été retrouvée pour *Sarcocystis* spp. dans la région Est (**Boussebata et al., 2014**) et 89.09% dans la région centre de l'Algérie (**Lardjane et al., 2014**). (Est et Centre), l'influence de ces régions sur la prévalence de *Sarcocystis* chez les bovins pourrait être expliquée par le climat méditerranéen connu pour les étés longs, chauds et secs avec des hivers doux et humides.

D'autres facteurs peuvent influencer la prévalence de l'infestation par les espèces de *Sarcocystis* comme les facteurs environnementaux et de gestion telle que le mode d'élevage et de pâturage (**Meshkov, 1975**). En effet, il constate que les cas d'infestation les plus faibles, s'observent chez les veaux gardés dans des élevages fermés, ce qui révèle une faible charge parasitaire chez les veaux broutant de l'herbe dans des zones non contaminées respectant une bonne hygiène et donc non exposés à des facteurs de risque tel que les pâturages contaminés.

Le taux d'infestation en *Sarcocystis* spp. est remarquablement élevé parce que le chien, chat et l'homme pourraient être à l'origine de cette forte infestation s'ils émettaient en quantité importante des sporocystes dans leurs fèces (**Fayer, 1974**).

Par ailleurs, une étude réalisée au nord de l'Australie occidentale par **Savini et al. (1994)** a montré que les élevages étaient moins infestés par les sarcosporidies. Ces auteurs ont trouvé une prévalence de 31.2% de bovins infestés par le parasite en question. Ils ont expliqué cette faible prévalence par un climat défavorable à la survie des sporocystes, en effet la partie nord de l'Australie occidentale se caractérise par un climat très aride, la survie des sporocystes n'est donc pas favorisée dans ce milieu (**Savini et al., 1994**).

- Le facteur saison

Dans notre étude, la prévalence de *Sarcocystis* est plus importante en hiver par rapport aux autres saisons. Le facteur saison pourrait influencer la prévalence des *Sarcocystis* spp. car ces protozoaires sont caractérisés par leur résistance dans un milieu extérieur (humide et sec), ce qui explique une prévalence plus élevée en hiver comparé au printemps et à l'automne. Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par **Khouni (2009)** qui ne trouve aucune influence de la saison mais par contre **Boussebata et al. (2014)** trouvent une prévalence plus élevée (100%) en hiver, 95% au printemps et 93% en été et 87,5% en automne.

Ces résultats, concordent avec ceux obtenus par d'autres auteurs, chez les bovins (**Najafiyani et al., 2008**), à l'ouest de l'Australie, **Savini et al., (1992)** ont observé chez les bovins, une prévalence plus élevée dans les régions tropicales (87%) et tempérées (60%) par rapport aux régions arides (9%) et semi-arides (31 %). Au Viêt-Nam, une étude menée par **Huong, (1999)** chez les buffles d'Asie, a révélé que dans la partie nord où la température moyenne et la plus basse du pays, avec des températures en dessous de 0° en hiver et la plus forte population de buffles d'Asie du Viêt-Nam, une prévalence des *Sarcocystis* plus élevée (89%), que celle dans la partie aride au sud (69%) du Viêt-Nam caractérisée par de grandes fluctuations entre les températures minimales et maximale. **Omata et al., (1994)** expliquent que ce faible taux d'infestation serait conditionné par des facteurs climatiques défavorables à la survie des ookystes de *Sarcocystis* dans les pâturages au Japon, caractérisées par une faible humidité relative en été et par une baisse de la température en dessous de 0°C durant la saison hivernale.

Par contre au Sri Lanka, **Kalubowila et al., (2004)**, ont observé chez les bovins et les buffles une prévalence plus élevée dans la zone aride (75%) que dans la zone humide (57,8%). Ils ont ainsi conclu que les conditions climatiques peuvent influencer l'établissement et le développement de l'infection chez les buffles. La viabilité des sporocystes de *Sarcocystis* spp. diminue plus rapidement durant l'été, où les températures sont élevées et le rayonnement solaire est à son maximum (**Mckenna et Charleston, 1994**).

Cependant les travaux de **Savini et al., (1996)** ont démontré que les sporocystes de *Sarcocystis cruzi* peuvent rester infestant pour des potentiels hôtes intermédiaires pendant plusieurs mois. Cette période est susceptible d'être plus longue dans des climats plus frais, mais peut être réduite lors de grandes fluctuations dans les températures journalières minimales et maximales.

Les expériences de ces auteurs ont également démontré la capacité de survie des sporocystes de *Sarcocystis cruzi* durant des mois, à la dessiccation avec des températures élevées et un faible taux d'humidité ; la durée de survie des sporocystes étant liée à la température et à l'humidité relative

- **Comparaison des prévalences obtenues par les méthodes de diagnostic**

Dans notre étude, nous avons comparé la sensibilité de trois méthodes de diagnostic de la Sarcosporidiose (digestion enzymatique et histologie et PCR).

- La comparaison entre la digestion enzymatique et histologie pour les 366 bovins analysés, nos résultats ont montré une sensibilité élevée de la digestion enzymatique avec un taux de détection des cas positifs de **88%** par rapport à la technique histologique avec **69%**. Effectivement, plusieurs auteurs ont prouvé la forte sensibilité de la digestion enzymatique dans la détection des *Sarcocystis*. En comparant la sensibilité des deux méthodes, **Mary (2005)** et **Vercruysse et al. (1989)** et ont eu plus de bovins positifs par la digestion que par l'histologie. **Harhoura et al., (2010)** ont démontré que la digestion artificielle avec de la pepsine était plus sensible dans la détection des infestations à *Sarcocystis* que l'analyse histologique. Ces auteurs, ont trouvé un taux de détection de 100% en digestion enzymatique et de 90,8% en histologie.

Dans notre étude, la recherche des *Sarcocystis* par la méthode de digestion pepsique a été réalisée dans 200g de muscles. Ceci a augmenté nos chances de retrouver le parasite. Alors qu'avec la technique histologique la détection des kystes a été réalisée dans une surface de 1 à 2 cm² de tissu seulement, ce qui a limité le champ de recherche.

D'après **Desportes-Livage et Datry (2005)**, la sensibilité élevée de la technique de digestion pepsique peut être expliquée aussi par le fait que les kystes matures de *Sarcocystis* contiennent des milliers de bradyzoïtes qui peuvent être libérés par la digestion des kystes.

Par contre, les résultats négatifs que nous avons obtenus par la technique histologique seraient peut être liés au faible nombre de kystes de *Sarcocystis* dans les échantillons examinés.

Dans certaines études, **Beyazit et al., (2007a,b)**, n'ont statistiquement montré aucune différence significative de sensibilité entre la digestion enzymatique et la méthode histologique dans la détection des espèces de *Sarcocystis*. En effet, selon **Gajadhar et Marquardt (1992)**, même la digestion enzymatique peut présenter des inconvénients qui peuvent sous estimer la prévalence et l'intensité de l'infestation. Dans certains cas, les tissus ne sont pas digérés en totalité et les parasites peuvent être emprisonnés et jetés avec la matière non filtrée.

La comparaison entre la technique de la digestion enzymatique et la PCR sur les 163 bovins analysés nos résultats ont montré une sensibilité élevée de la digestion enzymatique avec un taux de détection des cas positifs de **96%** par rapport à la technique histologique avec **76 %**.

En **2014** dans l'étude de **Flandrin**, en prenant comme méthode de référence l'histologie, les sensibilités et les spécificités de chaque PCR ont été calculées. La sensibilité de la PCR *S. cruzi* est de 56% et la spécificité est de 50%. Ces valeurs sont très moyennes. La sensibilité de la PCR pour les kystes à paroi épaisse est de 51% et la spécificité est de 94%. Moré avec sa PCR multiplex trouve des sensibilités et des spécificités différentes. Pour *S. cruzi*, la sensibilité était de 91.5% et la sensibilité était de 41.7%. Pour les kystes à paroi épaisse, la sensibilité était de 36.3% et la spécificité était de 95.9% (**Moré et al., 2013**).

La valeur prédictive positive (VPP) de la PCR *S. cruzi* est de 60% et la valeur prédictive négative (VPN) est de 46%. La VPP de la PCR pour les kystes à paroi épaisse est de 98% et la VPN est de 29%.

Cette méthode PCR pourrait être améliorée. En effet, si les 4 sondes pouvaient fonctionner en même temps cela serait moins chronophage. Il faudrait adapter les concentrations des différentes sondes pour faire une véritable PCR multiplex (**Flandrin, 2014**)

Lemieux 2014 affirme que le protocole de la PCR semble avoir une très bonne sensibilité et permet une bonne détection des animaux porteurs du parasites .Cependant ces valeurs sont données à l'échelle individus .La comparaison de ces résultats à l'échelle du prélèvement montre une prévalence de 89 % ceci démontre que la détection à partir d'un prélèvement semble risquée car elle augmente les proportions de faux négatifs.

Dans notre étude la digestion enzymatique s'est montrée plus sensible que l'histologie et la PCR car elle détecte bien les animaux positifs, nos résultats concordent avec les travaux de **Khouni, 2009 ; Chaouadi ,2015** . L'histologie et la PCR sont plus spécifiques car elles détectent mieux les animaux négatifs.

La combinaison des trois techniques à savoir la digestion enzymatique, l'histologie et la biologie moléculaire permet une meilleure évaluation de la prévalence de la sarcosporidiose musculaire chez les bovins.

Conclusion générale

V. CONCLUSION

Ce travail a permis de connaître la prévalence de la sarcosporidiose chez les bovins au niveau de 05 abattoirs du nord de l'Algérie. Cette étude sur la prévalence de l'infestation par *Sarcocystis* spp. sur 575 bovins, a été réalisée par l'utilisation de trois techniques de diagnostic : la digestion enzymatique, l'analyse histologique et la PCR

La digestion enzymatique a révélé un taux de positivité de 90 % pour les bovins analysés, reflétant une très forte présence de *Sarcocystis* au niveau des carcasses bovines. Un seul bovin a présenté des kystes macroscopiques au niveau du diaphragme à l'abattoir d'EL Harrach qui suppose que l'espèce féline (*S. hirsuta*) est incriminée mais cela n'a pas été confirmé par PCR. Aucune lésion de myosite éosinophilique n'a été observée au niveau des carcasses bovines inspectées dans les 05 abattoirs ayant fait l'objet de l'étude et pourtant en France, c'est un problème sanitaire en nette augmentation par le nombre de saisies. La question est : pourquoi ce type de lésions n'est pas observé en Algérie ?

Des taux d'infestation de 90 %, 69 % et 76 % ont été également trouvés par les trois méthodes d'analyses : la digestion enzymatique, l'histologie et la PCR respectivement (nombre d'échantillons différents). Les fortes prévalences détectées par les trois techniques confirment l'existence d'une large contamination de l'environnement par les sporocystes.

L'examen histologique a révélé la présence de deux types de kystes de *Sarcocystis*, ceux à paroi mince de *S. cruzi* qui est l'espèce prédominante au niveau des carcasses bovines et à paroi épaisse qui sont moins nombreux. La PCR a permis de déterminer les espèces incriminées qui sont *S. cruzi* et *S. hominis* mais l'espèce *S. hirsuta* n'a pas été identifiée dans nos échantillons, ce qui nous permet de confirmer que le chat est moins en contact que le chien avec les bovins

Par ailleurs, les quelques bovins (22) porteurs de kystes à paroi épaisse dont certains ont pu être identifiés comme étant *S. hominis* au microscope photonique et confirmé par la PCR multiplex (amorce spécifique) est en faveur d'une contribution de l'homme dans la contamination des bovins par *Sarcocystis*, par ailleurs, ceci reflèterait certaines habitudes alimentaires avec des conséquences néfastes sur la santé publique.

La présence des infestations mixtes : *S. cruzi* / *S. hominis* que se soit en histologie et ou en PCR multiplex, indique que les bovins peuvent être des hôtes intermédiaires de plusieurs espèces de *Sarcocystis*. Dans notre étude, 31 bovins positifs pour le genre *Sarcocystis* sont négatifs pour les 03 espèces recherchées : *S. cruzi*, *S. hominis* et *S. hirsuta*. La question serait : quelle est cette autre espèce qui est présente dans ces carcasses bovines ? Peut être *S. sinensis*.

Pour l'analyse des facteurs de risques, l'âge des animaux et la saison influe sur la prévalence de la sarcosporidiose bovine. Les bovins dont l'âge compris entre 2 et 4 ans sont plus prédisposés et la saison d'hivernale est plus favorable à l'infection par *Sarcocystis*. En revanche le sexe, la région et la race ne semblent avoir aucune influence.

En comparant la prévalence de la sarcosporidiose par les trois méthodes de diagnostic, la digestion pepsique s'est révélée plus sensible que l'histologie pour le diagnostic de la sarcosporidiose bovine. La technique PCR quant à elle est moins sensible que les deux autres techniques. La quantité d'ADN du parasite doit être suffisante pour pouvoir être détectée.

Enfin pour conclure, les aspects sanitaires et économiques de la sarcosporidiose bovine sont difficiles à estimer car il s'agit d'une parasitose souvent asymptomatique. Les pertes économiques liées à l'infection sont très peu documentées. En raison de la forte prévalence de l'infection, elles pourraient être non négligeables et résulter en un ralentissement de croissance, en des troubles de la reproduction et en une diminution de la production laitière.

Recommendations et Perspectives

VI. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Vu les prévalences très élevées du portage de *Sarcocystis*, et la présence de l'espèce zoonotique (*S. hominis*), la lutte contre ce parasite s'impose. L'application de certaines mesures préventives est nécessaire afin de rompre le cycle parasitaire entre l'hôte intermédiaire et l'hôte définitif.

Face à la présence de *S. cruzi* et *S. hominis* dans les viandes bovines, une prophylaxie sanitaire pourrait s'appuyer sur des mesures de biosécurité visant à empêcher la contamination des aliments et de l'eau de boisson des bovins par des matières fécales de chiens, d'hommes et de chats infestés par *Sarcocystis* spp. : éviter les contacts directs entre bovins et carnivores domestiques, isolement des aliments destinés aux bovins, mise en place de WC raccordés à une fosse septique au niveau des fermes. La sensibilisation des éleveurs à ces règles de biosécurité semble donc l'axe prioritaire dans la gestion de la sarcosporidiose bovine.

Ainsi, les recommandations majeures à édicter, sont la préservation de l'eau et des aliments destinés aux animaux d'élevages des souillures par les fèces des chats et surtout des chiens qui sont les plus incriminés dans l'infestation des bovins chez nous. Il faut éviter de donner de la viande crue ou insuffisamment cuite aux chiens et aux chats. Les carcasses d'animaux morts dans les pâturages ne doivent pas être abandonnées aux chiens errants et aux autres canidés ou chats sauvages mais dénaturées puis enfouies sous terre ou incinérées.

En ce qui concerne l'homme, la présence de kystes à paroi épaisse de *S. hominis* dans les viandes bovines impose des mesures sanitaires rigoureuses, en évitant la pollution des pâturages par les infiltrations d'eaux usées ; et comme mesures d'hygiène alimentaire, il est recommandé de bien cuire la viande et d'éviter l'utilisation des micro-ondes. Traiter l'homme diagnostiqué positif et effectuer des contrôles coprologiques réguliers (tous les 6 mois),

Ce travail n'étant qu'un début, nous permet de proposer les perspectives suivantes :

Il serait souhaitable de réaliser une PCR multiplex avec l'amorce spécifique de *S. sinensis* pour identifier cette espèce dans nos prélèvements positifs en genre *Sarcocystis* et négatifs pour les 3 espèces. Il faudrait étendre notre étude par réalisation de la technique de séquençage sur nos échantillons d'extrait d'ADN pour faire la différenciation des espèces et confirmer que la prévalence de *S. cruzi* est plus importante que *S. hominis*.

Une étude pourrait être envisagée sur d'autres muscles squelettiques pour mieux identifier les sites de prédilection de l'espèce zoonotique et de prendre ainsi les mesures qui s'imposent pour la sensibilisation du consommateur.

De même que des infestations expérimentales des hôtes définitifs peuvent également présenter une méthode efficace pour l'identification des espèces de *Sarcocystis*, en particulier celles à paroi épaisse.

Afin d'identifier les sources de contamination des bovins, une enquête simultanée concernant la conduite d'élevage devrait être menée surtout sur les pratiques d'épandage, la proximité des stations d'épuration, la gestion des eaux usées des habitations et des exploitations, l'alimentation des bovins et la qualité des pâturages.

Parallèlement une étude du rôle épidémiologique de chacune des trois espèces de *Sarcocystis* infectant les bovins permettrait probablement d'orienter la prophylaxie sanitaire de la sarcosporidiose sur la contamination des bovins plutôt d'origine animale ou plutôt humaine et donc de mieux cibler la lutte contre ce parasite.

Dans ce même contexte, afin d'approfondir les données sur la sarcosporidiose bovine, il serait intéressant de réaliser une étude épidémiologique sur le portage intestinal de *S. hominis* chez l'homme.

Il serait souhaitable de compléter l'étude de cette parasitose dans l'Ouest du pays pour évaluer sa prévalence dans cette région.

Il serait aussi intéressant de faire une enquête sérologique pour déterminer la réponse sérologique des bovins afin d'évaluer la prévalence de *Sarcocystis* et donc des Kits ELISA devraient être produits et commercialisés.

Enfin, mettre au point un vaccin efficace afin de protéger les bovins qui sont exposés au risque d'infestation.

Malheureusement le contexte réglementaire actuel en Algérie ne prévoit aucun texte en matière de sarcosporidiose bovine. La mise en place de mesures sanitaires réglementées pourrait permettre la diminution de la prévalence de l'infestation par *Sarcocystis* spp.

Références bibliographiques

- **ACHA P.N., SZYFRES B., 2005.** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, 3ème édition, Vol III : Zoonoses parasitaires, OIE, 399 p.
- **AISSI M., HARHOURA KH., KHOUNI F., 2013.** Prevalence and Study of the Bovine *Sarcocystis* Species in the Slaughterhouses of Rouiba (Algiers). *J Veterinar Sci Techno*4: 127.
- **ALDEMIR O.S., GÜÇLÜ F., 2004.** Diagnosis of *Sarcocystis* species in cattle in Konya region. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 10: 147-149.
- **ARYEETAY M. E., PIEKARSKI G., 1976.** Serologische *Sarcocystis*-studien an menschen und ratten. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 50, 109-124.
- **ATKINSON C.T., WRIGHT S.D., TELFORD S.R. JR., MCLAUGHLIN G.S., FORRESTER D.J., ROELKE M.E., MC COWN J.W. 1993.** Morphology, prevalence, and distribution of *Sarcocystis* spp. In white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Florida. *Journal of Wildlife Diseases*. 29: 73-84.
- **BERGER F., GOULET V., LE STRAT Y., DESENCLOS J.C., 2008.** Toxoplasmose chez les femmes enceintes en France : évolution de la séroprévalence et de l'incidence et facteurs associés, 1995-2003. *BEH thématique*. avril 2008. Vol. 14-15, pp. 117-121.
- **BERTIN M., 2013.** myosite eosinophilique et sarcosporidiose bovins : implication des différentes espèces de *sarcocystis* spp. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes, Oniris : Ecole nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes atlantique, Nantes. 136p.
- **BEYAZIT A., YAZICIOĞLU Ö., KARAER Z. 2007a.** The prevalence of ovine *Sarcocystis* species in Izmir province. *Veterinary Journal of Ankara University*. 54: 111-116
- **BEYAZIT A., YAZICIOĞLU Ö., KARAER Z. 2007b.** The prevalence of caprine *Sarcocystis* species in Izmir province. *The Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute*. 29: 17-23.
- **BOIREAU P., GUILLOT J., POLACK B., VALLEE I., CHERMETTE, R., 2002.** Risques parasitaires liés aux aliments d'origine animale. *Revue Française des Laboratoires*. 348: 71-89.
- **BÖTTNER A., CHARLESTON W.A.G., HOPCROFT D., 1987a.** The structure and identity of macroscopically visible *Sarcocystis* cysts in cattle. *Veterinary Parasitology*. 24: 35-45.
- **BOURDOISE AUG., 1993 :** Coccidioses digestives des carnivores domestiques. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 169, 3987-3991.

- BOUSSEBATA K., CHAOUIA D., SOUAT N., 2014.** Contribution à l'étude de la sarcosporidiose bovine dans la région de l'Est de l'Algérie. Mémoire. Master : parasites : Biologie, Ecologie et environnement. Alger, USTHB, 36p.
- BOWMAN D., HENDRIX C., LINDSAY D., BARR S., 2002.** The protozoa in Feline clinical parasitology. 1ère éd. Ames, Iowa state, University Press – A blackwell science company, p. 34-37.
- BRIGGS M., FORYET W., 1985.** Sarcocystosis in cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 7(7), S396-S400.
- BRUGERE PICOUX J., LACOMBE B., 1987.** La sarcosporidiose chez les ruminants et les suidés domestiques ou sauvages. Bulletin de la société vétérinaire. Pratique de France 71, 509-527.
- BUCCA M., BRIANTI E., GIUFFRIDA A., ZIINO G., CICCARI S., PANEBIANCO, A., 2011.** Prevalence and distribution of *Sarcocystis* spp. cysts in several muscles of cattle slaughtered in Sicily, Southern Italy. Food control, 22, 105-108.
- **BUSSIERAS J., CHERMETTE R., 1992.** Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule II : protozoologie. Service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (Ed), Maisons-Alfort, 186 pages.
- **BUSSIERAS J., 1994.** Un exemple d'holozoonose : les coccidioses humaines à *Sarcocystis* spp. Bull Acad Natle Méd , 613.
- **BUTSCHLI O., 1982-1989.** Protozoa. Bronn's Kl. u. Ordn. d. Thier-reiche Leipzig.7.
- **CAPPELIER J.M., HONOREA., 2012.** La sarcosporidiose bovine. Le point vétérinaire : Parasitologie interne des ruminants, 96-104.
- **CAPPELIER J.M., LEMIEUX D., BERTIN M., 2015.** Sarcosporidiose et myosite éosinophilique, des causes occultes de saisie totale. Le point vétérinaire : Parasitose en élevage bovin ,46-52.
- **CARLETTI T., MARTIN M., ROMERO S., MORRISON D.A., MARCOPPIDON G., FLORIN-CHRISTENSEN M., SCHNITTGER L., 2013.** Molecular identification of *Sarcocystis aucheniaeas* the macrocyst-forming parasite of llamas. Veterinary Parasitology 198 ,396– 400 .
- **CARVALHO S.P., 1993.** Prevalência e identidade de quistos de *Sarcocystis* spp. de bovinos abatidos em Lisboa. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 88 (505),36-41
- **CHAOUADI M., DJOUHRI Y., 2015.** Contribution à l'étude de la sarcosporidiose bovine au niveau de l'abattoir d'El Harrach Mémoire. Master : Parasites : Biologie, Ecologie et environnement. Alger, USTHB, p 41.

- **CHERMETTE R., MARQUER A., 2000.** *Neospora caninum*: un nouveau parasite ? *Le Point vétérinaire*, 31, 208, 9-14.
- **CHEN X.W., ZUO Y.X., HU, J. J., 2003.** Experimental Sarcocystis hominis infection in a water buffalo (*Bubalus bubalis*). *The Journal of Parasitology*.89: 393-394.
- **CHEN X., ZUO Y., ROSENTHAL B., HE Y., CUI L., YANG Z., 2011.** *Sarcocystis sinensis* is an ultrastructurally distinct parasite of water buffalo that can cause foodborn illness but cannot complete its life-cycle in human beings. *Veterinary Parasitology*, 178, 35-39.
- **CHIESA F., DALMASSO A., DOMENIS L., CIVERA T., 2011.** A Novel Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection and Identification of Sarcocystis spp. in Cattle. IAFP's European Symposium on Food Safety.
- **CHIESA F., BIASIBETTI E., CAPUCCHIO M.T., CIVERA T., 2014.** Eosinophilic myositis in piedmontes cattle Breed , the role of Sarcocystis hominis Food micro 24th international. ICFMH Conference Nantes Abstract Book ,437.
- **CLAVERIA F.G., PETERSEN B.,MACABAGDAL M.R., FAROLAN R.J., FARROL M.A., GONZALVO F., CADIZ R., AJERO R., ROQUE R., LOZANO G., 1997.** A survey of bovine, bubaline and swine sarcocystosis in the Philippines. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 28 (Suppl. 1): 173-178.
- **COLLINS G.H., CHARLESTON W.A.G. WIENS B.G., 1980.** Studies on *Sarcocystis* spp. A comparison of three methods for the detection of *Sarcocystis* spp in muscles. *New Zealand Vet. J.*, 28: 173-173.
- **COOLEY A.J., BARR B., REJMANEK D., 2007.***Sarcocystis neurona*. Encephalitis in a Dog .*Veterinary Pathology* .44:956-961.
- **CORNER A.H., MITCHELL D., MEADS E.B., TAYLOR P.A., 1961.** Dalmeny disease, an infection of cattle presumed to be caused by an unidentified protozoan. *Can. Vet. J.* 4, 252-264.
- **CORNER A.H., MITCHELL D., MEADS E.B., TAYLOR P.A., 1963.** Dalmeny disease. An infection of cattle presumed to be caused by an unidentified protozoon. *Canadian Veterinary Journal*. 4:252-264.
- **CURRENT W. L., 1985.** Human enteric coccidia. II. *Isospora belli* and *Sarcocystis* spp. *Clinical Microbiology Newsletter*.7: 175-178.
- **DAHLGREN S., GJERDE B., 2007.** Genetic characterisation of six *Sarcocystis* species from reindeer (*Rangifertarandustarandus*) in Norway based on the small subunit rRNA gene. *Veterinary Parasitology*, 146, 204-213.
- **DAHLGREN S., GJERDE B., SKIRNISSON K., GUDMUNDSDOTTIR B., 2007.** Morphological and molecular identification of three species of *Sarcocystis* in reindeer (*Rangifertarandustarandus*) in Iceland. *Veterinary Parasitology*, 149, 191-198.

- DAUGSCHIES A. HINTZ J., HENNING M., ROMMEL M., 2000.** Growth performance, meat quality and activities of glycolytic enzymes in the blood and muscle tissue of calves infected with *Sarcocystis cruzi*. *Vet Parasitol*, , 88, 7-16.
- DEKKICHE T., 2014.** Prévalence de la sarcosporidiose bovine au niveau de l'abattoir d'El Harrach. Mémoire de docteur vétérinaire. Alger, école nationale supérieure vétérinaire. 54p.
- DE LUCIA P.M., CHEADLE M.A., GREINER E.C., 2002.** Prevalence of *Sarcocystis* sarcocysts in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) from Florida. *Veterinary Parasitology*. 103:203-205.
- DESORTES-LIVAGE I., DATRY A., 2005.** Infections à microsporidies, Isospora et *Sarcocystis*. *EMC-Maladies infectieuses* 2, 178-196.
- DOMENIS L., PELETTI S., SACCHI L., CLEMENTI E., GENCHI M., FELISARI L., FELISARI C., MO, P., MODESTO P., ZUCCON F., CAMPANELLA C., MAURELLAC., GUIDETTI C., ACUTIS P.L., 2011.** Detection of a morphogenetically novel *Sarcocystis hominis*-like in the context of a prevalence study in semi-intensively bred cattle in Italy. *Parasitol. Res.* 109,1677–1687.
- DUBEY J.P., BERGERON J.A., 1982.** *Sarcocystis* as a Cause of Placentitis and Abortion in Cattle, *Veterinary Pathology Online*, 19, 315-318.
- DUBEY J.P., FAYER R., 1983.** Zoonoses in practice: *Sarcocystis* British. *Veterinary journal* 139,371-377.
- DUBEY J.P., FAYER R., SPEER A., 1988.** Experimental *Sarcocystis hominis* infection in Cattle: Lesions and Ultrastructure of *Sarcocystis*. *The journal of parasitology*, 74(5), 875-879.
- DUBEY J.P., BEATTIE C.P., 1988.** *Toxoplasmosis in Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 220 pp.
- DUBEY J.P., FAYER R., SPEER C.A., 1988.** *Sarcocystosis of animals and man*, CRC Press, Boca Raton, 215 p.
- DUBEY J.P., SPEER C.A., CHARLESTON W.A., 1989a.** Ultrastructural differentiation between sarcocysts of *Sarcocystis hirsuta* and *Sarcocystis hominis*. *Veterinary Parasitology*, 34(1-2), 153-157.
- DUBEY J.P., SPEER C.A., FAYER R., 1989b:** *Sarcocystosis of animals and Man*, CRC Press, Boca raton, Floride, 205 p.
- DUBEY J.P., HEDSTROM O.R., 1993.** Meningoencephalitis in mink associated with a *sarcocystisneurona* like organism. *Journal of Veterinary Diagnostic investigation*. 5:467-471. 34, 153–157.

- DUBEY J.P. , BWANGAMOI O., 1994.** *Sarcocystis felis* (Protozoa: Sarcocystidae) from the African lion (*Panthera leo*). Journal of the Helminthological Society of Washington, 61, 113–114.
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S., FRITZ D., SPEER C.A., 2001a.** Structure of *Sarcocystis neurona* sarcocysts. J. Parasitol. 87, 1323–1327.
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S., SAVILLE W.J., REED S.M., GRANSTROM D.E., SPEER C.A., 2001b.** A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Vet. Parasitol. 95, 89–131.
- DUBEY J.P., HAMIR A.N., TOPPER M. J., 2002.** *Sarcocystis mephitis* n.sp (Protozoa :Sarcocystidae), *Sarcocystis neurona*-like and *Toxoplasma*-like infections in striped shunks (*Mephitis mephitis*). The journal of Parasitology. 88:113-117.
- **DUBEY J.P., LINDSAY D.S., 2006.** Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, 22(3), 645-671.
- **DUBEY J.P., FAYER R., ROSENTHAL B.M., CALERO-BERNAL R., ULA A., 2014.** Identity of *sarcocystis* species of the water buffalo (*Bubalus bubalis*) and cattle (*Bos Taurus*) and the suppression of *sarcocystis sinensis* as a nomen nudum .Vétérinary Parasitology 1-6.
- **DUBEY J.P, MORE G., WILPE E., BERNAL R., VERMA S., SCHARES G., 2015.** *Sarcocystis rommeli* n.sp (Apicomplexa: Sarcocystidae) from cattle (*Bos Taurus*) and its differentiation from *Sarcocystis hominis* .
- **EDWARDS G.T., 1984.** Prevalence of equine *Sarcocystis* in British horses and a comparison of two detection methods. *The Veterinary Record*. 115: 265-267.
- **EFSA, Scientific Panels on Biological Hazards (BIOHAZ) and on Animal Health and Welfare (AHAW), 2006a.** Scientific Opinion on the Review of the Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the European Union in 2004, 2006. The EFSA Journal
- **EFSA Scientific Panels on Biological Hazards (BIOHAZ) and on Animal Health and Welfare (AHAW), 2007a.** Scientific Opinion on the Review of the Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the European Union in 2005, 2007. The EFSA Journal.
- **EL-DAKHLY KM., EL-NESR KH. A., EL-NAHASS EL.SH., HIRATA A., SAKAI H., YANAI T. 2011.** Prevalence and distribution patterns of *Sarcocystis* spp. in buffaloes in Beni-Suef, Egypt Trop Anim Health Prod (2011) 43:1549–1554 DOI 10.1007/s11250-011-9840-2
- **ELY R., FOX C., 1989.** Elevated IgG antibody to *Sarcocystis cruzi* associated with eosinophilic myositis in cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 1, 53-56.

- **EUZEBY J., 1997.** Les sarcocystoses zoonotiques : des coccidioses à *Sarcocystis* à la myosite éosinophile sarcocystique. Bulletin de la société de pathologie exotique, 90, 200-204.
- **EUZEBY J., 1998.** Les parasites des viandes : Épidémiologie, physiopathologie, incidences zoonosiques. Editions médicales internationales. Tec & Doc Lavoisier, p. 20-44.
- **FASSI-FEHRI N., CABARET J., AMAQDOUF A., DARDAR R., 1978.** La sarcosporidiose des ruminants au Maroc étude épidémiologique par deux techniques histologiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*. 9: 409-417.
- **FATHY A.G., MEHLHORN H., BASHTARA.R., AL-RASHEID K., SAKRAN T., EL-FAYOUMI H., 2009.** Life cycle of *Sarcocystis cameli canis* infecting the camel (*Camelus dromedarius*) and the dog (*Canis familiaris*), light and electron microscopic study. *Parasitology Research*, 106 (1):189-95.
- **FAYER R., DUBEY J.P., LEEK R.G. 1982a.** Infectivity of *Sarcocystis* spp. from bison, elk, moose, and cattle for cattle via sporocysts from coyotes. *The Journal of Parasitology*. 68: 681-685.
- **FAYER R., DUBEY J.P., 1986.** Bovine sarcocystosis. *Compendium on Continuing Education for the practicing Veterinarian*, 8(12), F130-F142.
- **FAYER R., 2004.** *Sarcocystis* spp. In *Human Infections*. *Clinical Microbiology reviews* 17(4), 894-902.
- **FISHER S., ODENING K., 1998.** Characterization of bovine *Sarcocystis* species by analysis of their 18S ribosomal DNA sequences. *The Journal of parasitology*, 84(1), 50-54.
- **FLANDRIN C., 2014.** Etude de la prévalence de la Sarcosporidiose chez les bovins abattus en région Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes, Oniris : Ecole nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes atlantique, Nantes. 96p.
- **FOSSE J., CAPPELIER J.M., LAROCHE M., 2006.** Viandes bovines : une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir. *Rencontre Recherche Ruminants* 13: 411-414.
- **FOSSE J., MAGRAS C., SEEGER H., 2007.** Evaluation quantitative des risques biologiques pour le consommateur de viande de porc. *Journées Recherche Porcine*, 39, 207-214.
- **FRADIN N., MAGRA C., CAPPELIER J.M., 2002** .les motifs de saisies en abattoir de bovins pour l'année 2002.J, *Bovine Nantaise*, Nantes.2003.
- **FRADIN N., 2003** : Evaluation de la fréquence et de la répartition des motifs de saisies en abattoir de ruminants et de porcs. th.med.vet. Faculté de Médecine, ENVN, Nantes, 155p.

- **FUKUYO M., BATTSETSEG G., BYAMBAA B., 2002b.** Prevalence of *Sarcocystis* infection in horses in Mongolia. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 33: 718-719.

- **GAJADHAR A.A., MARQUARDT W.C., BLAIR C.D. 1992.** Development of a Model Ribosomal RNA Hybridization Assay for the Detection of *Sarcocystis* and other Coccidia. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 56: 208-213.

- **GAJADHAR A.A., MARQUARDT W.C., 1992.** Ultrastructural and transmission evidence of *Sarcocystis cruzi* associated with eosinophilic myositis in cattle. *Canadian journal on Veterinary Research*, 56(1), 41-46.

- **GAUERT B., JUNGSMANN R., HIEPE T., 1983.** Relationship between intestinal disturbances and infections with intestinal parasites in man, with particular reference to *Sarcocystis* infections. *Deutsch. Gesundheitsw.* 38:62–66

- **GBATI O.B., KONE P.S., KOFFI M., KAMGA WALADJO A.R., MUSABYERMARIYA B., DAHOUROU D.L., EKOUC.D., DIATTA C., ASSAMOI J.B., KESSE B.N., BAKOU S.N., BONFOH B., PANGUI L.J. 2013.** Sarcosporidiose bovine et porcine au Sénégal : Prévalence et identification moléculaire sur les carcasses d'animaux abattus aux abattoirs de Dakar. EISMV - Dakar, 9ème Congrès International Francophone de la Société de Pathologie Exotique.

- **GHISLENI G., ROBBA S., GERMANI O., SCANZIANI E., 2006.** Identification and prevalence of *Sarcocystis spp.* Cysts in bovine canned meat. *Food Control*, 17(9), 691-694.

- **GILES R.C., TRAMONTIN R., KADEL W.L., WHITAKER K., MIKSCH D., BRYANT D.W., FAYERR., 1980.** Sarcocystosis in cattle in Kentucky. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 176: 543-548.

- **GJERDE B., 2013.** Phylogenetic relationships among *Sarcocystis* species in cervids, cattle and sheep inferred from the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. *International Journal for Parasitology*, 43(7), 579–591.

- **GODOY G.A., VOLCAN G.G., GUEVARA R., 1977.** *Sarcocystis fusiformis* en bovinos delestado Bolivar, Venezuela. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 19: 68-72.

- **GOLDOVÁ M., TÓTH S., LETKOVÁ V., MOJZISOVÁ J., CIBEREJ J., KONJEVIC D., KOCISOVA A., SLAVICA A., 2008.** Sarcocystosis in cloven-hoofed game in Slovak Republic ,original scientific paper / izvorniznanstveni rad NAT. CROAT. VOL. 17 No 4 303-309 ZAGREB December 31, 2008.

- **GRANSTROM D.E., RIDLEY R.K., BAOAN Y., GERSHWIN L.J., NESBITT P.M., WEMPE L.A., 1989.** Type-I hypersensitivity as a component of eosinophilic myositis (muscular sarcocystosis) in cattle. *Am J Vet Res*, 50, 571-574.

- **GRAPPE J.P., 2009.** Maladies du gibier à poil et à plume www.edhomme.com 10 p ; 7,

- **GÜCLÜ F., ALDEM O.S., GÜLER L., 2004.** Differential identification of cattle *Sarcocystis* spp. By random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR). *Revue de Médecine vétérinaire*, 155, 440-444.

- **GUINOT P., 2005.** *Etude séroépidémiologique de la Néosporose bovine dans 42 élevages des Pyrénées-Atlantiques*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 125 p.

- **GUENEGAN C., 2009.** Facteurs de risque de saisie en abattoir pour sarcosporidiose chez les bovins : étude en région pays de la Loire. Thèse de docteur d'état : santé des animaux d'élevage et santé public. Nantes, école nationale vétérinaire de Nantes, 124p.

- **HAMIR A.N., MOSER G., GALLIGAN D.T., DAVIS S.W., GRANSTROM D.E., DUBEY J.P., 1993.** *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* 5: 418-422. Hasselmann G. 1923.

- **HAMIR A.N., DUBEY J.P., 2001.** Myocarditis and Encephalitis associated with *sarcocystis neurona* infection raccoons (*Procyon lotor*), *Veterinary of parasitology* 95: 335-340.

- **HARHOURA K., KHOUNI F., AISSI M., 2010.** Etude de la sarcosporidiose bovine au niveau de l'abattoir de Rouiba (Alger) .*Proceeding médimonde ICOPA Italie*.

- **HESSE C., 2002.** *Neospora caninum*, description du parasite, étude bibliographique .Ecole nationale vétérinaire de Lyon thèse 54. 70 p

- **HEYDORN A. O., GESTRIEH R., MELHORN H., ROMMEL M., 1975.** Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 48: 73-82.

- **HONG C.B., GILES R.C., NEWMAN L.E., FAYER R., 1982.** Sarcocystosis in an aborted bovine fetus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 181: 585-588.

- **HONORÉ A., 2011.** Etude de l'implication de *Sarcocystis* spp. dans le développement des myosites éosinophiliques chez les bovins. Th. Méd. Vét. Faculté de Médecine, Oniris : Ecole nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, 105p

- **HOULD R., 1984.** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie .Décarie édition. Montréal Parasitology. 86 ; 33-39.

- **HUONG L.T.T.,1999.** Prevalence of *Sarcocystis* spp. in water buffaloes in Vietnam. *Veterinary Parasitology*. 86: 33-39.
- **International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN), 1985.** International Code of Zoological Nomenclature. Third Edition adopted by the XX General Assembly of the International Union of Biological Sciences. London/Berkeley and Los Angeles: International Trust for Zoological Nomenclature in association with British Museum (Natural History)/University of California Press, 338 pp.
- **International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN), 1999.**International code of zoological nomenclature. 4th, 306. In: The International Trust for Zoological Nomenclature, The Natural History Museum, London, U. K.
- **JAKEL T.,ARCHER- BAUMANN C., BOEHMLER A.M., SORGER I., HENKE M., KLIEMT D., MACKENSTEDT U., 1999.** Identification of a subpopulation of merozoites of *Sarcocystis singaporensis* that invade and partially develops inside muscle cells in vitro ,*Parasitology*. 118:235-244.
- **JACOBS L., REMINGTON J.S., MELTON M.L., 1957.** A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. *J. Parasitol.* 43, 23-28.
- **JAVADI A., DOUSTAR Y., 2011.** A case report of eosinophilic myositis in a slaughtered female cattle. *Journal of animal and veterinary advances*, 10(7), 920-921.
- **JEHLE C., DINKEL A., SANDER A., MORENT M., ROMIG T., LUC P.V., DE T.V. THAI V.V., MACKENSTEDT U., 2009.** Diagnosis of *Sarcocystis* spp. in cattle (*Bos taurus*) and water buffalo (*Bubalus bubalis*) in northern Vietnam. *Veterinary Parasitology*. 166: 314-320.
- **JENSEN R., ALEXANDER A.F., DAHLGREN R.R., JOLLEY W.R., MARQUARDT W.C., FLACK D.E., BENNETT B.W., COX M.F., HARRIS C.W., HOFFMANN G.A., TOUTMAN R.S., HOFF R.L., JONES R.L.; COLLINS J.K., HAMAR D.W., CRAVANS R.L., 1986.** Eosinophilic myositis and muscular sarcocystosis in the carcasses of slaughtered cattle and lambs. *American journal on VeterinaryResearch*, 47(3), 587-593.
- **KALUBOWILA D.G., UDAGAMA-RANDENIYA P.V., PERERA N.A., RAJAPAKSE R.P. 2004.** Seroprevalence of *Sarcocystis* spp. in cattle and buffaloes from the wet and dry zones of Sri Lanka: a preliminary study. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 51: 89-93.
- **KAMOUN M., TARHOUNI D.E., 2009.**La sarcosporidiose chez les animaux de boucherie. *El baytary*, 35 (53-54) : 12-14.
- **KHOUNI F., 2009.** Contribution à l'étude de la sarcosporidiose bovine au niveau de l'abattoir de Rouïba (Alger).Thèse de Magistère, option : hygiène et sécurité alimentaire. Alger, Ecole Nationale Supérieur Vétérinaire-El Harrach, p129.

- **KIA E., MIRHENDI H., REZAEIAN M., ZAHABIUN F., SHARBATKHORI M., 2011.**First molecular identification of *Sarcocystis miescheriana* (Protozoa, Apicomplexa) from wild boar (*Sus Scrofa*) in Iran. *Experimental Parasitology*, 127, 724-726.

- **KIMURA T., 2011.**Eosinophilic myositis resulted from *Sarcocystis* infection in prime marbled beef of Japanese black cattle. *Veterinary World*, 4(11), 500-502.

- **KIRMSE P., MOHANBABU B., 1986.** *Sarcocystis* sp. in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) from Afghanistan. *British Veterinary Journal*, 142 (1) : 73-74.

- **KLUMPP S.A., ANDERSON D.C., MC-CLURE H.M., DUBEY J.P.1994.** Encephalomyelitis due to a *Sarcocystis neurona*- like protozoan in a rhesus monkey (*Macacamulata*) infected with simian immunodeficiency virus .*The American journal of Tropical Medecine and Hygiène* . 51: 332-338

- **LAINSON R., PAPERNA I., 2000.** The life-cycle and ultrastructure of *Sarcocystis ameiva mastigodryasi* n. sp., in the lizard *Ameiva Ameiva* (Teiidae) and the snake *mastigodryas bifossatus* (colubridae)(1)*Parasite*, 2000, Volume 7, Number 4, December 2000 Page(s) 263 – 274.

- **LANKASTER E.R. 1882.** On *Drepanidium ranarum*, the cell parasite of the frog's blood and spleen (Gaule'sWiirmschen). *Quarterly Journal of Microscopical Science* 22: 53-65.

- **LARDJANE N., MENASRI F., TIGHOUART F., 2014.**Contribution à l'étude de la sarcosporidiose bovine dans la région du Centre de l'Algérie. Mémoire. Master : Parasites : Biologie, Ecologie et environnement. Alger, USTHB, p30.

- **LATIF B.M., AL-DELEMI J.K., MOHAMMED B.S., AL-BAYATI S.M., AL-AMIRY A.M., 1999.** Prevalence of *Sarcocystis* spp. in meat-producing animals in Iraq. *Veterinary Parasitology*, 84, 85-90.

- **LEMIEUX D.,2014.** Myosite Eosinophilique et Sarcosporidiose Bovine : Etude Ciblée Chez La Blonde D'aquitaine. Thèse de docteur d'état : Biologie, Pathologie et Science de l'aliment. Nantes, Ecole nationale Vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation ,140p.

- **LEONARD V.,2014.** Facteurs de risque de la sarcosporidiose bovine : Etude de cas en Midi Pyrénées. Thèse pour le grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse ENVT ,191 p.

- **LEVINE D., 1977.** Nomenclature of *Sarcocystis* in the ox and sheep and of fecal coccidia of the dog and cat. *The Journal of Parasitology*. 1977. Vol. 63, n° 1, pp. 36-51.

- **LI Q-Q., YANG Z-Q., ZUO Y-X., ATTWOOD S.W., CHEN X-W., ZHANG Y-P., 2002.** A PCR based RFLP analysis of *Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Sarcocystidae) in Yunnan province, PR China, reveals the water buffalo (*Bubalus bubalis*) as a natural intermediate host. *The Journal of Parasitology*. 88: 1259-1261.

- **LIANG Y.L., XIE Y. F., ZUO Y.X., TAN D.Y., SHU K.X., CHEN X.W., 2006.**A comparative study on iso enzymes of *Sarcocystis* spp. from cattle and water buffaloes. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing ZaZhi*. 24: 111-113.

- **LINDSAY D., BLAGBURN B., BRAUND K., 1995.** *Sarcocystis* spp. and Sarcocystosis. *Bacteriological Analytical Manual*, 5(3), 249-254.

- **LUNDE M., FAYER R., 1977.**Serologic Tests for Antibody to *Sarcocystis* in Cattle. *The Journal of Parasitology*, 63(2), 222-225.

- **MANAL Y. I., MAJID A.M., MAGZOUN A.M., 2006.** Isolation of a new *Sarcocystis* species from Sudanese camels (*Camelus dromedarius*). *International Journal of Tropical Médecine*, 1 (4) : 167-169

- **MARKUS M.B., 1978b.** *Sarcocystis* and sarcocystosis in domestic animals and man. *Advances in Veterinary Sciences and Comparative Medicine*, 22, 159-193.

- **MARSH A.E., DENVER M., HILL F.I., MC-ELHANEY M.R., TRUPKIEWIEZ J.G., STEWART J.,TELL L., 2000.** Detection of *Sarcocystis neurona* in the brain of a Grant's zebra (*Equus burchellibohmi*) .*Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 31,82-85.

- **MARTOJA R., MARTOJA M-PIERSON., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale Paris, Masson, 1967, 345 p.

- **MARY N., 2005.** La sarcosporidiose bovine: Rôle dans les lésions de myosite éosinophilique et espèces impliquées. Thèse de doctorat vétérinaire. ENVN, Nantes, 83p.

- **MASON F.E., 1910.** *Sarcocystis* in the camel in Egypt. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 23: 168-176.

- **MATUSCHKA F.R., 1987.** Reptiles as intermediate and/or final hosts of Sarcosporidia. *Parasitology Research*. 73: 22-32.

- **MATHIEU A.M., MBOYO O., 1986.** Fréquence des sarcosporidies chez les bovins au Shaba (Zaïre). *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*. 39: 193-195.

- **MCKENNA P.B., CHARLESTON W.A.1994.** *Sarcocystis* spp. infectious in naturally infected cats and dog: levels of sporocyst production and the influence of host , environnemental and seasonal factors on the prevalence of infection.*The New Zeland Veterinary Journal*.31:49-52

- **MEHLHORN N.H., 1975.** Elektronenmikroskopischer Nachweis von alkalischer Phosphatase und ATP-ase in Cystenstadien von *Sarcocystis tenella* (Sporozoa, Coccidia) aus der Schlundmuskulatur von Schalen. Zeitschrift für Parasitenkunde. 46: 95-109.
- **MESHKOV S., 1975.** Sarcosporidia and sarcosporidiosis in agricultural animals. II. Sarcosporidiosis in cattle. Veterinarno-Meditsinski Nauki. 12: 55-61.
- **METWALLY A., ABD ELLAH M., AL-HOSARY A., OMAR M., 2013.** Microscopical and serological studies on *Sarcocystis* infection with first report of *S. cruzi* in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Assiut, Egypt. Journal of parasitic diseases, 38(4), 378-382.
- **MIESCHER F., 1843.** Überigenthümliche in den Muskeleiner Hausmaus. Ber Verhandl Naturf Ges Basel, 5, 198.
- **MOHANTY B., MISRA S., PANDA D., PANDA M., 1995.** Prevalence of *Sarcocystis* infection in ruminants in Orissa. Indian Veterinary Journal, 72(10), 1026-1030.
- **MORÉ G., BASSO W., BACIGALUPE D., VENTURINI M. C., VENTURINI L., 2007.** Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. Parasitology Research. 8 December 2007. Vol. 102, n° 4, pp. 671-675. DOI 10.1007/s00436-007-0810-6.
- **MORE G., BASSO W., BACIGALUPE D., VENTURINI M.C., VENTURINI L., 2008.** Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitology Research*. 102: 671-675.
- **MORE G., BACIGALUPE D., BASSO W., RAMBEAUD M., BELTRAME F., RAMIREZ B., VENTURINI M.C., VENTURINI L., 2009.** Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, 160(1-2), 51-54.
- **MORE G., BACIGALUPE D., BASSO W., RAMBEAUD M., VENTURINI M., VENTURINI L., 2010.** Serologic profiles for *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* and productive performance in naturally infected beef calves. *Parasitology research*, 106, 689-693.
- **MORE G., ABRAHAMOVICH P., JURADO S., BACIGALUPE D., MARIN J.C., RAMBEAUD M., VENTURINI L., VENTURINI M.C., 2011.** Prevalence of *Sarcocystis* spp. in Argentinean cattle. *Veterinary parasitology*, 177, 162-165.
- **MORE G., SCHARESS., MAKSIKOVA., CONRATHS F., VENTURINI M., SCHARES G., 2013.** Development of a multiplex real time PCR to differentiate *Sarcocystis* spp. Affecting cattle. *Veterinary Parasitology*, 197(1-2), 85-94.

- MORE G., PANTCHEV A., SKUBALLA J., LANGENMAYER M., MAKSIMOV P., CONRATHS F., VENTURINI M., SCHARES G., 2014:** *Sarcocystis sinensis* is the most prevalent thick walled *Sarcocystis* species in beef on sale for consumers in Germany. Parasitology research. DOI 10.1007/s00436-014-3877-x.
- MORSY K., SALEHA A., AL-GHAMDIB A., ABDEL-GHAFFARAA F., AL-RASHEID K., BASHTARA A.R., AL-QURAISHY S., MEHLHORND H., 2011.** Prevalence pattern and biology of *Sarcocystis capracanis* infection in the Egyptian goats: A light and ultrastructural study. Veterinary Parasitology, 181, 75-82.
- MULLANEY T., MURPHY A.J., KIUPELM., BELL J.A., ROSSANOM G., MANSFIELD L.S. 2005.** Evidence to support horses as natural intermediate hosts for *Sarcocystis neurona*. Veterinary Parasitology 2005; 133:27–36.
- MUNDAY B.L., BLACK H., 1976.** Suspected *Sarcocystis* infections of bovine placenta and foetus. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 51: 129-132.
- NAHED H., GHONEIM W., WAFAA-REDA M., SARA- NADE M., 2014.** Occurrence of Zoonotic Sarcosporidiosis in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Different Abattoirs in Egypt. *Global Veterinaria*. 13 (5), pp. 809-813.
- NAJAFIYAN H. R., MOHEBALI M., KESHAVARZ H., 2008.** Study on frequency of *Sarcocystis* spp. By macroscopic and microscopic methods in slaughtered cattle in Shahriar district and their public health importance. *Pajouhesh-va-Sazandegi*. 77: 15-19.
- NEDJARI M.T., 2002.** La sarcosporidiose animale. Résultats d'une enquête dans la région D'Alger. Science & technologie. pp. 71-73.
- NOURANI H., MATIN S., NOURI A., AZIZI H.R., 2010.** Prevalence of thin-walled *Sarcocystis cruzi* and thick-walled *Sarcocystis hirsuta* or *Sarcocystis hominis* from cattle in Iran. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42: 1225-1227.
- NOUROLLAHI FARD S.R., ASGHARI M., NOURI F., 2009.** Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran. *Tropical Animal Health and Production*. 41: 1633-1636.
- O.M.S., 1982.** Infections intestinales à protozoaires et à helminthes. Série de Rapports techniques n°666. Organisation Mondiales de la Santé. Genève. p: 59. 168p.
- OBIJIAKU I.N., AJOG I., UMOH J.U., LAWAL I.A., ATU B.O., 2013.** *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in Zango abattoir, Zaria, Nigeria. *Vet World*. 2013; 6(6): 346-349. doi:10.5455/vetworld.2013.346-349

- ODENING K., STOLTE M., BOCKHARDT I., 1996. On the diagnostics of *Sarcocystis* in cattle: sarcocysts of a species unusual for *Bos taurus* in a dwarf zebu. *Vet Parasitol*, 66, 19-24.
- ODENING K., WESEMEIER H.H., WALTER G., BOCKHARDT I., 1994. The wisent (*Bison bonasus*, Bovidae) as an intermediate host of three *Sarcocystis* species (Apicomplexa: Sarcocystidae) of cattle. *Folia Parasitologica*. 41: 115-121.
- ODENING K., WESEMEIER H.H., WALTER G., BOCKHARDT I. 1995. On the morphological diagnostics and host specificity of the *Sarcocystis* species of some domesticated and wild bovini (cattle, banteng and bison). *Applied Parasitology*. 36: 161-178.
- ODENING K., 1998. The present state of species-systematic in *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Protista, Sporozoa, Coccidia) *Systematic Parasitology* 41: 209–233, 1998. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- ODENING K., FISHER, S., 1998. Characterization of bovine *Sarcocystis* species by analysis of their 18S ribosomal DNA sequences. *The Journal of parasitology*, 84(1), 50-54.
- OMATA Y., XU S-Z., IGARASHI I., SAITO A., TOBA H., SUZUKI N. 1994. Survey of *Sarcocystis* infection in cattle in East Hokkaido, Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 56: 557-558.
- ONO M., OHSUMI T., 1999. Prevalence of *Sarcocystis* spp. cysts in Japanese and imported beef (Loin: *Musculus longissimus*). *Parasitology international*, 48, 91-94.
- PARKY. J., KIM J.S., CHUNG D.S., PARK Y.S., SIN M.K., KIM K.S., 1992. A Survey of *Sarcocystis* infections in the slaughtered cattle and identification of *Sarcocystis cruzi*. *Korean Journal of Veterinary Service*. 15: 109-120.
- PARLEMENT EUROPEEN, CONSEIL, 2004. Règlement (CE) n°854/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 20 04 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animales destinés à la consommation humaine. *Journal officiel de l'union européenne*, L.226.
- PENA H.F., OGASSAWARA S., SINHORIN I., 2001. Occurrence of cattle *sarcocystis* species in raw kibbe from arabian food establishment in the city of Sao Paulo, Brazil and experimental transmission to humans. *Journal of parasitology*, 87(6), 1459-1465.
- PÉREZ-CREO A., PANADERO R., LÓPEZ C., DÍAZ P., VÁZQUEZ L., DÍEZ-BAÑOS P., MORRONDO P., 2013. Prevalence and identity of *Sarcocystis* spp. in roe deer (*Capreolus capreolus*) in Spain: a morphological study. *Research in Veterinary Science*, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.08.003>.
- PERROTIN C., GRABER M., 1977. Note de synthèse sur le cycle évolutif des Sarcosporidies affectant les animaux domestiques. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*. 30: 377-382.

- PRAYSON B., MC-MAHON J., PRAYSON R., 2008 . Fast food hamburgers: what are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12, 406-409.
- PYZIEL A.M., DEMIASZKIEWICZ A.W., 2009. *Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystiidae) infection in european bison (*Bison bonasus*) from Białowieża forest, Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*. 55: 31-34.
- QIU J.H., WANG C.R., ZHANG X., SHENG Z.H., CHANG Q.C., ZHAO Q., WU, S.M., ZOU F.C., ZHU X. Q., 2012. Séroprévalence of *Toxoplasma gondii* in beef cattle and dairy cattle in northeast China. *Foodborne Pathog Dis.* 7: 579-82.
- RADOSTIS O.M., GAY C.C., HINCHCLIFF K.W., CONSTABLE P.D., 2008. Diseases associated with protozoa. In: *Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10 th. Spain : Saunders, Elsevier.
- REITEN A.C., JENSEN R., GRINER L.A., 1966. Eosinophilic Myositis (*Sarcocystosis*; Sarco) in Beef Cattle. *American Journal of Veterinary Research*. Juillet 1966. Vol. 27, n° 119, pp. 903-906.
- RUAS J.L., CUNHA C.W., SILVA S.S., 2001. Prevalência de *Sarcocystis* spp. (Lankester, 1882) em bovinos clinicamente sadios, da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Agrociência*. 7: 227-230.
- SAITO M., SHIBATA Y., KUBO M., SAKAKIBARA I., YAMADA A., ITAGAKI H., 1998. First isolation of *Sarcocystis hominis* from cattle in Japan. *Journal of veterinary Medical Science*, 61 (3), 307-309.
- SAVINI G., DUNSMOR, J.D., ROBERTSON I.D., SENEVIRATNA P., 1992. The epidemiology of *Sarcocystis* spp. in cattle of Western Australia. *Epidemiol Infect*, 108, 107-113.
- SAVINI G., ROBERTSON I.D., DUNSMORE J.D. 1994a. Risk factors associated with the occurrence of sarcocystosis in western Australia: results of a postal survey. *Preventive Veterinary Medicine*. 19: 137-144.
- SAVINI G., DUNSMORE J.D., ROBERTSON I.D., 1996. Viability of the sporocysts of *Sarcocystis cruzi* after exposure to different temperatures and relative humidities. *Veterinary parasitology*, 67, 153-160.
- SAVINI G., DUNSMORE J.D., ROBERTSON I.D., 1996. Studies on pathogenesis, tissue infection and congenital transmission in cows experimentally infected with *Sarcocystis cruzi* by various routes. *Vet Parasitol*, 64, 319-327
- SAVINI G., DUNSMORE J.D., ROBERTSON I.D., 1997. Sensitivities and specificities of two ELISA tests for detecting infection with *Sarcocystis* in cattle of Western Australia. *Prev Vet Med*, 32, 35-40.

- **SENAUD J., 1967.** Contribution à l'étude des sarcosporidies et des toxoplasmes (Toxoplasmea). *Protistologica*, 3, 167–232
- **SENEVIRATNA P., EDWARD A.G., DEGIUSTI D.L., 1975.** Frequency of *Sarcocystis* spp in Detroit, metropolitan area, Michigan. *American Journal of Veterinary Research*. 36: 337-339.
- **SHI L.Z., ZHAO H.Y., 1987.** Evaluation of an enzyme immunoassay for the detection of antibodies against *Sarcocystis* spp. in naturally infected cattle in China. *Vet Parasitol*, 24, 185-194.
- **STANEK J.F., DUBEY J.P., OGLESBEE M.J., REED S.M., LINDSAY D.S., CAPITINI L.A., NJOKU C.J., VITTITOW K.L., SAVILLE W.A., 2002 .**Life cycle of *Sarcocystis* neurona in its natural intermediary host , the raccoon , *Procyon lotor* . *The journal of Parasitology*. 88: 1151-1158.
- **TAYLOR M. A., COOP R. L., WALL R. L., 2007.** *Veterinary Parasitology*. Third edition. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. 904p.
- **TAYLOR M., BOES J., BOIREAU P., BOUE F., CLAES M., COOK A. J.C., DORNY P., ENEMARK H., VAN DER GIESSEN J., HUNT K. R., HOWELL M., KIRJUSINAM., NOCKLERK., POZIO E., ROSSIE P., SNOW L., THEODOROUPOULOS G., VALLEE I., VIEIRA-PINTO M., ZIMMER I.A., 2010.** Scientific report submitted to EFSA, Development of harmonized schemes for the monitoring and reporting of *Sarcocystis* in animals and foodstuffs in the European Union.
- **TENTER A., 1995.** Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. *International journal of parasitology*, 25(11), 1311-1330.
- **TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.J., SHAW., MOUTOU F., LOUZA A. , 2001.** Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 2^{ème} Edition AEEMA .43-102
- **UGGLA A., BUXTON D., 1990.** Immune responses against *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. *Revue scientifique et technique de l'office international des épizooties*, 9 (2), 441-462.
- **VALINEZHAD A., ORYAN A., AHMADI N., 2008.** *Sarcocystis* and its complications in camels (*Camelus dromedarius*) of eastern provinces of Iran. *Korean J Parasitol*, 46, 229-234.130
- **VANGEEL L., HOUF K., CHIERS K., VERCRUYSSSE J., D'HERDE K., DUCATELLE R., 2007.** Molecular-based identification of *Sarcocystis* hominis in Belgian minced beef. *J. Food Prot.* 70, 1523–1526.
- **VANGEEL, L., HOUF, K., GELDHOF, P., NOLLET, H., VERCRUYSSSE, J., DUCATELLE, R., CHIERS, K., 2012.** Intramuscular inoculation of cattle with *Sarcocystis* antigen results in focal eosinophilic myositis. *Veterinary Parasitology*, 183, 224-230.

- VANGEEL L., HOUF K., GELDHOF P., DE-PRETER K., VERCRUYSSSE J., DUCATELLE R., CHIERS K., 2013. Different *Sarcocystis* spp. are present in bovine eosinophilic myositis. *Veterinary Parasitology*, 197, 543– 548.
- VELASQUEZ J.N., DI-RISIO C., ETCHART C.B., CHERTCOFF A.V., MENDEZ N., CABRERA M.G., CARNEVALE S., 2008. Systemic sarcocystosis in a patient with acquired immune deficiency syndrome. *Human pathology*, 39(8), 1263–1267.
- VERCRUYSSSE J., VAN MARCK E., 1981. Les sarcosporidies des petits ruminants au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 34 (4) : 377-382.
- VERCRUYSSSE J., FRANSEN J., VAN-GOUBERGEN M., 1989. The prevalence and identity of *Sarcocystis* cysts in cattle in Belgium. *Journal of Veterinary Medicine*. 36: 148-153.
- VOUNBA P., 2010 .Etude de la prévalence de la sarcosporidiose musculaire du dromadaire (*Camelus dromedarius*) aux abattoirs de N'djamena (Tchad) et de Nouakchott (Mauritanie), E.I.S.M.V de Dakar. 100 p.
- WOLDEMESKEL M., GEBREAB F., 1996. Prevalence of sarcocystis in livestock of northwest Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine*. 43: 55-58
- WOLDEMESKEL M., GUMI B., 2001. Prevalence of *Sarcocystis* in one-humped camel (*camelus dromedarius*) from Southern Ethiopia. *J. Vet. Med. Ser. B*, 48: 223-223.
- WOUDA W., SNOEP J.J., DUBEY J.P., 2006. Eosinophilic myositis due to *sarcocystis* hominis in beef cow. *Journal of comparative pathology*, 135(4), 249-253.
- XIANG Z., CHEN X., YANG L., HE Y., JIANG R., ROSENTHAL B., LUAN P., ATTWOOD S.W., ZUO Y., ZANG Y.P., YANG Z., 2009. Non-invasive methods for identifying oocysts of *Sarcocystis* spp. from definitive hosts. *Parasitology international*, 58, 293-296.
- XIANG Z., HE Y., ZHAO H., ROSENTHAL B., DUMANS D., LI X, ZUO, Y., FENG G., CUI L., YANG Z., 2011.*Sarcocystiscruzi*: Comparative studies confirm natural infections of buffaloes. *Experimental parasitology*, 127, 460-466.
- YANG Z.Q., ZUO Y.X., YAO Y.G., CHEN X.W., YANG G.C., ZHANG Y.P., 2001. Analysis on the 18S Rna genes of *Sarcocystis* species suggests that the morphologically similar organisms from cattle and water buffalo should be considered the same species. *Mol Biochem Parasitol*, 115, 283-288.
- YANG Z-Q., LI Q-Q., ZUO Y-X., CHEN X-W., CHEN Y-J, NIE L., WEI C-G., ZEN J-S., ATTWOOD SW., ZHANG X-Z., ZHANG Y-P., 2002. Characterization of *Sarcocystis* species in domestic animals using a PCR-RFLP analysis of variation in the 18S rRNA gene: a cost-effective and simple technique for routine species identification. *Experimental parasitology*, 102, 212-217.
- ZOUOUIOUCHE H., 2015. Contribution à l'étude de la sarcosporidiose bovine au niveau des deux tueries de la wilaya de Tipaza. Mémoire de docteur vétérinaire. Alger, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. 56 p.

Annexes

ANNEXE 01

Tableau 01 : Matériels utilisés à l'abattoir.

Matériel non biologique	Matériel biologique
- Blouse blanche - Bottes - Sacs en plastiques - Marqueur - Etiquettes - Couteau	- Diaphragmes - Œsophages

Tableau 02 : Matériels utilisés en digestion enzymatique

Verrerie	Appareillage	Autres	Produits et solutions
- Béchers - Pipettes pasteur - Lames	- Robot (MOULINEX) - Balance électronique (SCALTEC5[®] 200g) - pH mètre (HANNA[®]) - Agitateur magnétique (YELLOWLINE[®]) - Agitateur permanent (JOUAN[®]) - Etuve (JOUAN[®]) - Centrifugeuse (SIGMA[®] 6 x15ml) - Microscope optique (LEICA[®] DMLS) - Autoclave (pbi international[®])	- Spatules - Tubes coniques (FLACO N[®] 50ml) - Passoires - Compresses - Papier filtre - Blouse - Gants	- Eau distillée - Pepsine - NaCl - HCl - Na₂HPO₄ - NaH₂PO₄ - Méthanol - May Grunwald - Giemsa

ANNEXE 02

Tableau 03 : Matériels utilisés en histologie

Verrerie	Appareillage	Produits et solutions	Autres
- Lames - Lamelles	-Circulateur automatique (LEICA® TP 1020) - Appareil d'inclusion (LEICA® EG1160) - Microtome (LEICA® RM2125RT) - Bain marie (SBS®) - Etuve (SAKURA®) - Microscope optique (LEICA® DMLS)	- Formol - Ethanol - Xylène - Paraffine - Colle synthétique - Hématoxyline - Eau acidifiée - Eau ammoniacale - Eosine	- Blouse - Gants, - Bavettes - Lames de bistouri - Pincés - Cassettes en plastique - Moule en acier inoxydable - Portoirs de lames

Tableau 04 : Matériels utilisés en PCR

Appareillage	Produits Et Solutions
- Tubes PCR - Micropipettes Et Cônes - Tube Eppendorf 1,5 Ml - Petits tubes Eppendorf pour la congélation des extraits - Portoirs - Bain Marie Sec 70°C - Vortex - Thermocycleur - Cuve A Electrophorèse - Lecteur de gel : couplé à un ordinateur : Marque BIORAD Molecular Imager Gel doc TM X R with image LabTM Software - Logiciel Quantity One®	- Kit "NucléoSpin® Tissue " (Macherey-Nagel) 250 extraction - Réactifs PCR - Ethanol 95% - TBE 0,5 X - Gel d'agarose 2% - Gants vinyle

ANNEXE 03



Figure 01 : Dénombrement des Carcasses (A) ; Diaphragme (B) ; Œsophage (C) ; Mise en sac du diaphragme et l'œsophage (D). (Photos Taibi-Meksoud .M, abattoir d'El Harrach, 2015).

ANNEXE 04

1. Protocole de la technique de digestion enzymatique

Principe :

Repose sur la reconstitution du suc digestif artificiel (HCL, eau, pepsine et sel) de réunir les facteurs favorisant la digestion.

Technique :

Pour préparer de la solution de digestion enzymatique, pour traiter 10 échantillons, il faut mélanger dans un bécher :

- 500 ml d'eau distillée,
- 1.3g de pepsine,
- 2.5g NaCl
- 3.5 ml Hcl à 25% : En vue de préparer un volume de 10 ml de Hcl à 25%, 7ml d'une solution concentrée de Hcl à 36% sont pipetés dans un petit bécher puis complétés à 10ml d'eau distillée.

Le tout est bien mélangé et homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique avec un aimant **(A)**. Le pH de la solution est ensuite vérifié grâce à un pH mètre **(B)**. Le pH optimal 1-3.

- Récupérer environ 10 ml du culot de décantation dans un tube de prélèvement.
- Placer 1,5 ml à l'aide d'une pipette graduée dans chaque tube (5 tubes) de congélation.
- Les placer dans une boîte de stockage.
- Placer la boîte au congélateur à -20°C en attente des étapes suivantes.

2. Préparation de la solution de PBS

La préparation du PBS, est basée selon la norme (NF-V08-055) à laquelle nous avons apporté une légère modification.

Mélanger dans un bécher :

- 1000ml d'eau distillée,
- 8.98g de Na_2HPO_4
- 2.71g de NaH_2PO_4
- 8.5g de NaCl

Le bécher est placé sur un agitateur magnétique avec un aimant pour que tous les réactifs se dissolvent sous agitation. Le pH de la solution est ensuite vérifié grâce à un pH mètre qui doit avoisiner 7.2. Le tampon PBS est ensuite stérilisé à 130°C pendant 1h.

ANNEXE 05



Figure 02 : Etapes de la digestion enzymatique
 (Photos Taibi-Meksoud .M, laboratoire de Parasitologie Mycologie, E.N.S.V- Alger, 2015).

ANNEXE 06

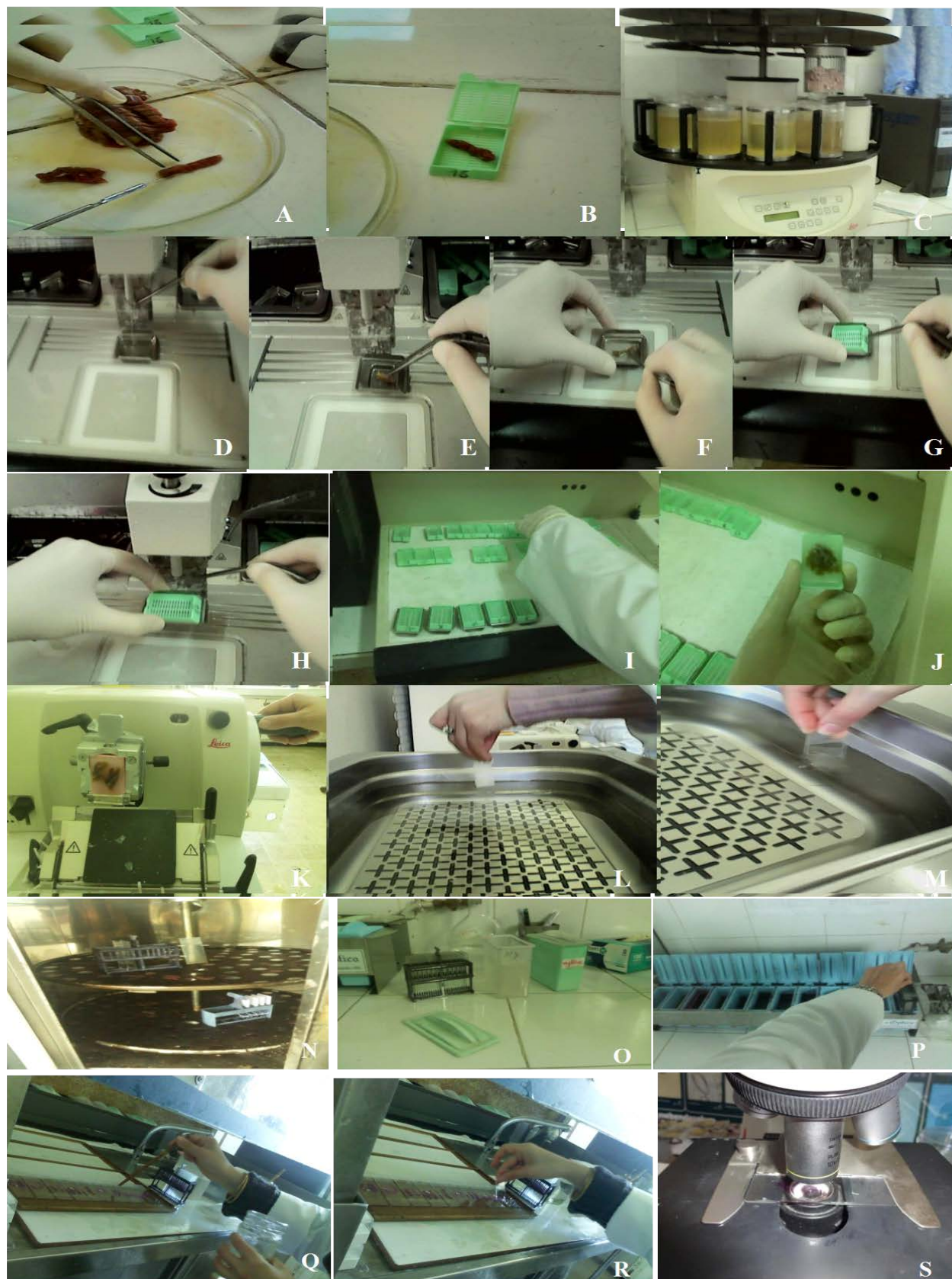


Figure 03 : Etapes de la technique histologique (Photos Taibi-Meksoud .M, laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique du C.H.U Bab El Oued, Hussein Dey et ENSV, 2015).

ANNEXE 07



Figure 04: Matériels utilisés pour la PCR
 (Photos Taibi-Meksoud .M, Ecole Vétérinaire ONIRIS Nantes , URM Secalim, 2015).

ANNEXE 08

2- Protocole d'extraction de l'ADN**Matériel :**

- Kit "NucléoSpin® tissue" (Machery –Nagel)
- Micropipettes et cônes
- Tubes eppendorf 1.5 ml
- Bain marie sec 70°C
- Vortex
- centrifugeuse
- Petits tubes eppendorf pour la décongélation des extraits
- Hotte (Sorbonne)

Réactifs :

Les réactifs utilisés pour l'extraction de l'ADN sont récapitulés dans le tableau ci-joint :

Matériels utilisés		Quantité par prélèvement
Kit NucleoSpin®tissue		
	Buffer TE	1ml
	Buffer T1	0.2-1 ml
	Buffer Proteinase K	25 µl
	Buffer B3	200 µl
	Kit NucleoSpin®tissue colonne	1
	Buffer BW	500 µl
	Buffer B5	600 µl
	Buffer BE	100 µl
Ethanol 96 %		210 µl
Tubes		3

Technique :

Les étapes de l'extraction de l'ADN se répartissent comme suit :

1. Préparation des échantillons

Les échantillons conservés à – 20°C dans du PBS sont décongelés à température ambiante le jour de l'analyse. Une agitation est réalisée avec un vortex pour que le culot puisse se détacher et s'homogénéiser. Ensuite 200 µl de la solution est transférée dans un autre tube de 1.5 ml pour chaque échantillon à traiter. Mettre à chauffer le bain marie une heure avant le début des manipulations.

2. Pré-lyse des échantillons

Dans le tube contenant 200 µl d'échantillon, ajouter 180 µl de solution Buffer T1 et 25 µl de protéinase K sont additionnés dans chaque tube. La suspension doit être bien mélangée avec un agitateur vortex et puis incubés dans un bain marie pendant 1-3heures (pour que la lyse complète soit réalisée) à 56 °C. Il est possible de laisser les prélèvements incuber pendant une nuit à 56 °C.

3. Lyse des échantillons

Les échantillons sont encore une fois bien mélangés avec un agitateur vortex et 200 µl de solution B3 est additionnée. Chaque échantillon est mélangé énergiquement avec un agitateur vortex et mis en incubation à 70 °C pendant 10 mn. Au terme de ce temps une agitation est réalisée. Pendant ce temps préparer les colonnes à silices et les petits tubes finaux en les identifiants.

4. Précipitation de l'ADN

Pour la précipitation de l'ADN, rajouter 210 µl d'éthanol pur (99%) et une agitation est réalisée avec un agitateur vortex.

5. Fixation à la membrane de silice

Mettre l'ensemble du contenu des tubes dans une colonne à silice, elle-même placée dans un tube collecteur. Procéder à une centrifugation pendant une minute à 11000x/1mn puis éliminer le liquide dans le tube collecteur.

6. Lavage sur membrane de silice

Deux lavages sont effectués :

Lavage 1 : Ajouter 500 µl de BW, centrifugation 1 minute à 11000g et jeter le liquide contenu dans le tube collecteur.

Lavage 2 : Ajouter 600 µl de B5, centrifugation 1 minute à 11000g et jeter le liquide contenu dans le tube collecteur.

7. Séchage de la membrane de silice

Procéder à une centrifugation 1 minute à 11000g pour éliminer les résidus d'éthanol.

8. Elution de l'ADN pur

Placer les colonnes dans des tubes eppendorf auxquels on retirera le couvercle. Ajoutez 50 µl de BE au centre de la membrane et laisser incuber 03 mn et centrifuger 11000 x g/1mn et répétez cette opération en ajoutant 50 µl de BE. Pour optimiser l'action du BE, on le place dans un bain marie à 70 °C. Le volume total de l'extrait d'ADN est de 100 µl.

Jetez les colonnes et collecter l'extrait d'ADN dans des tubes Eppendorf. Placez les tubes identifiés dans une salle de stockage au congélateur – 20°C en attente de la Polymérase Chain Réaction (PCR).

Il est préférable d'aliquoter les extraits d'ADN afin d'éviter les opérations de congélation / décongélation.

ANNEXE 09

3- Protocole de la PCR *Sarcocystis* spp.**Matériel :**

- Tubes PCR
- Micropipettes et cônes
- Tubes eppendorf 1.5 ml
- Agitateur Vortex
- Centrifugeuse
- Thermocycleur
- Cuve à électrophorèse
- TBE 0.5 X
- Réactifs PCR

Technique :**•Préparation du Master mix**

Le Master mix est un mélange contenant tous les réactifs nécessaire à la PCR, excepté les échantillons d'extrait d'ADN. Dans un tube eppendorf stérile, ajouter chacun des réactifs dans l'ordre ci-dessous :

Les quantités sont données pour le traitement d'un échantillon (multiplier par le nombre d'échantillons à traiter en prenant en compte les témoins).

Réactifs	Concentration finale	Volume à ajouter en μl
H ₂ O		12.65
Tampon PCR 10 X	1mM	2.5
MgCl ₂ mM	1.5mM	2.5
Amorce SARf 25 μM	1 μM	1
Amorce SARr 25 μM	1 μM	1
dNTP 10 mM	0.2 mM	0.25
Taq polymérase 5u/ μl (EurobioTaq)	0.5 unité /25 μl	0.1

Le Master Mix est bien mélangé avec un vortex puis répartir 20 μl pour chaque tube PCR et ensuite déposer 5 μl de chaque échantillon d'extrait d'ADN.

Pour la PCR de détection du genre *Sarcocystis*, deux amorces sont utilisées qui permettent l'amplification d'une zone d'ADN ribosomal 18S des trois espèces cibles de *sarcocystis*.

- SAR forward (5'-TGGCTAATACATGCGCAAATA-3')
- SAR reverse (5'-AACTTGAATGATCTATCGCCA-3')

•**PCR (amplification)**

Placer les tubes PCR dans le thermocycleur iCycler® Biorad en vérifiant qu'ils sont bien fermés et que l'échantillon est bien déposé au fond du tube afin d'éviter tous problèmes d'évaporation. Le programme est activé selon le protocole suivant :

- 1 cycle à 94°C pendant 4 minutes ;
- 40 cycles de 94°C pendant 1 minute , 63 °C pendant 1 minute , 72 °C pendant 1 minute ;
- 1 cycle à 72 °C pendant 10 minutes ;
- Refroidissement et maintien à 14 °C.

Le temps d'une PCR est d'environ 2 heures 30 minutes.

ANNEXE 10

4- Protocole de la PCR multiplex *Sarcocystis* spp.**Matériel :**

- Tubes PCR
- Micropipettes et cônes
- Tubes eppendorf 1.5 ml
- Agitateur Vortex
- Centrifugeuse
- Thermocycleur
- Cuve à électrophorèse
- TBE 0.5 X
- Réactifs PCR

Technique :**•Préparation du Master mix**

Le Master mix est un mélange contenant tous les réactifs nécessaire à la PCR, excepté les échantillons d'extrait d'ADN. Dans un tube eppendorf stérile, ajouter dans l'ordre chacun des réactifs ci-dessous :

Les quantités sont données pour le traitement d'un échantillon (multiplier par le nombre d'échantillons à traiter en prenant en compte les témoins).

Réactifs	Concentration finale	Volume à ajouter en µl
H ₂ O		12.15
Tampon PCR	1mM	2.5
MgCl ₂ (à 25mM)	1.5mM	0.75
Amorce 1	1 µM	1
Amorce 2	1 µM	1
Amorce 3	1 µM	1
Amorce 4	1 µM	1
dNTP 10 mM	0.2 mM	0.5
Taq polymerase (5u/µl) (EurobioTaq)	0.5 unité /25 µl	0.1

Les quantités sont données pour le traitement d'un échantillon (multiplier par le nombre d'échantillons à traiter en prenant les témoins en compte).

Amorce 1 : Amorce reverse 3 *Sarcocystis* spp. : 5'AACCCTAATTCCCCGTTA 3'

Amorce 2 : Amorce sens *Sarcocystis cruzi*. : 5'ATCAGATGAAAATCTACTACATGG3'

Amorce 3 : Amorce sens *Sarcocystis hominis* : 5'ACAGAACCAACACGCTC 3'

Amorce 4 : Amorce sens *Sarcocystis hirsuta* : 5' CATTTCGGTGATTATTGG 3'

•Préparation des échantillons

- Bien mélanger le tube contenant le Master Mix avec un vortex ;
- Répartir 20 µl de Master Mix dans chaque tube PCR à paroi fine ;
- Ajouter 5 µl d'échantillon d'ADN dans chaque tube.

•PCR (amplification)

Placer les tubes PCR dans le thermocycleur iCycler® BIORAD en vérifiant qu'ils sont bien fermés et que l'échantillon est bien déposé au fond du tube afin d'éviter tous problèmes d'évaporation. Le programme est activé selon le protocole suivant :

- 1 cycle à 94°C pendant 4 minutes ;
- 35 cycles de 94°C pendant 1 minute , 56 °C pendant 1 minute , 72 °C pendant 30 seconde ;
- 1 cycle à 72 °C pendant 10 minutes ;
- Refroidissement et maintien à 14 °C.

Le temps d'une PCR est d'environ 2 heures.

•Analyse des produits PCR par électrophorèse

Gel d'agarose 2 % dans du TBE 0.5 X

Introduire dans chaque puit 20 µl de produit de PCR + 4 µl de solution de dépôt

Faire migrer dans du tampon TBE 0.5 X pendant 45 à 60 minutes (1 heure) à 100 volts et 400 mA (générateur).

•Interprétation

Fragments amplifiés selon l'espèce de *Sarcocystis* :

Sarcocystis hirsuta 108 pb

Sarcocystis hominis 182 pb

Sarcocystis cruzi 284 pb

ANNEXE 11

5- Préparation du gel et dépôt des échantillons

•Préparation du gel

Le TBE (4V) est préparé pour 80 ml d'eau distillée et 20 ml de TBE concentré

- Prendre 100 ml de TBE 0.5X dans une éprouvette et verser dans un bécher
- Peser 2.1 grammes d'agarose
- Déposer 2.1 Gr d'agarose dans 100 ml de TBE 0.5X pour avoir une concentration finale de 2.1 %
- Placer le bécher sur un agitateur (mvt 5-6 et T max de 250°C) avec aimant jusqu'à obtenir un mélange homogène.
- Laisser refroidir la préparation jusqu'à atteindre une Température de 45°C.
- Verser 20 µl de Sbr Safe (quantité nécessaire pour 100 ml de gel) et bien mélanger sur un agitateur ou bien mettre quelque goutte (1 goutte / 50 ml de gel) de Bromure d'éthyldium (BET) lorsque le gel d'agarose est coulé.
- Verser le gel dans la cuve d'électrophorèse, laisser refroidir.
- Recouvrir d'une feuille aluminium (dans l'attente du dépôt des échantillons).

•Dépôt des échantillons

- Prendre un petit ruban de parafilm qui est placé à côté de la cuve avec gel déposé (coté décollé qui est plus propre);
- Déposer 4µl de solution de dépôt "Gel Loading Dye 6 X (y compris pour les témoins positif (T+) et négatif (T-) ;
- Prendre la totalité de l'échantillon avec une pipette réglée à 30 µl que l'on dépose sur la goutte de solution de dépôt (Gel Loading Dye 6 X) disposé sur le parafilm, on mélange bien et on dépose l'échantillon coloré (bleu violet) dans le puits du gel ;
- Déposer 2 µl de T+ et T- et dans les puits de l'extrémité de la plaque ;
- Placer 7 µl de marqueur de poids moléculaire (Ladder) dans l'un des puits au milieu ;
- Remplir la cuve d'électrophorèse avec du TBE et placer la plaque de gel à l'intérieur en l'immergeant doucement pour ne pas faire sortir les échantillons de leurs puits et fermer ;
- Brancher les électrodes avec la cuve et avec le générateur et allumer le générateur avec une densité de 100 V et à 400 mA.
- Laisser migrer pendant 1 Heure (50-60 mn).

•Lecture des gels

Celle est réalisée avec une chambre de lecture sous lampe UV de marque BIORAD et observé grâce à une caméra relié à un ordinateur avec le logiciel Quantity One®.

Les échantillons positifs présentent une bande blanche entre 100 et 300 bpm.

Résumés

Résumé

La sarcosporidiose est une maladie parasitaire cosmopolite, causée par de coccidies kystogènes appartenant au genre *Sarcocystis*, formant des kystes musculaires chez le bovin (hôte intermédiaire) et une affection intestinale chez le chien, le chat et l'homme (hôtes définitifs). Trois espèces sont impliquées dans cette parasitose *S. cruzi*, *S. hirsuta* et l'espèce zoonotique *S. hominis*.

Notre étude a été réalisée au niveau de cinq (05) abattoirs du nord de l'Algérie avec pour objectif de déterminer la prévalence de la sarcosporidiose dans les carcasses bovines, la distinction des différentes espèces de sarcosporidies par le type de paroi et l'identification des espèces de *Sarcocystis* impliquées par analyse moléculaire.

L'infection des bovins a été étudiée par trois techniques de diagnostic : la digestion pepsique, l'étude histologique et la PCR sur des échantillons d'œsophages et de diaphragmes de 575 bovins.

A l'inspection des carcasses, un seul bovin a présenté des kystes macroscopiques sur le diaphragme soit un taux de 0,2 %. Par contre la digestion enzymatique et l'analyse histologique ont révélé des taux d'infestations très importantes (90%) et (69%) respectivement. La PCR a montré une prévalence de 76 %.

Les kystes à paroi mince de *S. cruzi* étaient prédominants (98 %) par rapport aux kystes à paroi épaisse de *S. hirsuta* et/ou *S. hominis* qui étaient faiblement présents (9 %). 7.6 % des bovins ont présenté une double infestation.

L'analyse moléculaire a permis de détecter deux espèces *S. cruzi* (42 %) et *S. hominis* (33%) mais *S. hirsuta* n'a pas été décelé dans nos échantillons. Des co-infestations de *S. cruzi* / *S. hominis* ont été décelées avec une prévalence de 16 % qui confirme que le chien et l'homme sont fortement incriminés dans la transmission du parasite chez le bovin et donc la contamination de la viande bovine. Notre étude a révélé que l'âge des bovins entre 2 et 4 ans et la saison hivernale ont une influence sur l'apparition de la maladie.

Mots clés: *Sarcocystis*, *S. hominis*, *S. hirsuta*, *S. cruzi*, diaphragmes, Œsophages, bovins, abattoirs, prévalence, digestion pepsique, histologie, PCR, facteurs de risque.

Summary

The sarcosporidiosis is a cosmopolitan parasitic disease caused by coccidia of the genus *Sarcocystis* kystogènes forming muscular cysts in cattle (intermediate host) and bowel disease in dogs, cats and humans (definitive host). Three species are involved in this parasite *S. cruzi*, *S. hirsuta* and zoonotic species of *S. hominis*.

Our study was conducted at five (05) slaughterhouses in northern Algeria with the aim of determining the prevalence of sarcosporidiosis in bovine carcasses, distinguishing different species sarcosporidia by the type of wall and identification *Sarcocystis* species involved in molecular analysis.

The infection in cattle has been studied by three diagnostic techniques: pepsin digestion, histology and PCR on samples of esophagus and diaphragm of 575 cattle.

At the inspection of carcasses, one cattle presented macroscopic cysts on the diaphragm or a rate of 0.2%. By against enzymatic digestion and histological analysis revealed very important infestation rate (90%) (69%) respectively. PCR showed a prevalence of 76%.

Cysts thin wall of *S. cruzi* were predominant (98%) relative to the cyst wall thickness *S. hirsuta* and / or *S. hominis* were weakly present (9%). 7.6% of cattle showed a double infestation.

Molecular analysis detected two species *S. cruzi* (42%) and *S. hominis* (33%) but *S. hirsuta* (0%) was not detected in our samples. Co-infections of *S. cruzi* / *S. hominis* was detected with a prevalence of 16% confirming that dogs and humans are strongly implicated in the transmission of the parasite in cattle and therefore the contamination of beef. Our study revealed that the age of cattle between 2 and 4 years and the winter season influence the onset of the disease.

Keywords: *Sarcocystis*, *S. hominis*, *S. hirsuta*, *S. cruzi*, diaphragm, esophagus, cattle, slaughterhouses, prevalence, pepsin digestion, histology, PCR, risk factors.

الملخص

الساركوسبوريديوز هو مرض طفيل، منتشر على المستوى العالمي ناجم عن كوكسيديا ذات حويصلات والتي تنتمي الى الجنس *Sarcocystis*، تتمثل في شكل حويصلات في العضلات عند الابقار (مضيف وسيط) و عدوى معوية عند الكلاب القطط و البشر (مضيف نهائي). يوجد ثلاثة انواع معنية في *S. hirsuta*، *S. cruzi* والنوع المنقول بين الانسان و *S. hominis*.

دراستنا اجريت على مستوى 05 مباح في شمال الجزائر بهدف تحديد مدى انتشار داء الساركوسبوريديوز عند الابقار، التمييز بين مختلف انواع الساركوسبوريديا يتم حسب نوع الحائط و نوع الساركوسيسيتيس الموجودة و ذلك بالقيام بتحليل جزيئية.

لقد تمت دراسة العدوى عند الابقار حسب ثلاث تقنيات للتشخيص: الهضم بالببسين، دراسة الانسج PCR على عينات من المرئ و الحجاب الحاجز ل 575 بقرة.

عند القيام بعملية التفقيش، حالة واحدة من الابقار قدمت حويصلات عيانية على مستوى الحجاب الحاجز بنسبة 0.2%، من جهة اخرى الهضم الانزيمي و تحاليل الانسجة كشفوا ان معدل الاصابة مهم جدا 90% و 69% PCR لي اما كشفت نسبة اصابة 76%.

الحويصلات ذات الحائط الرقيق *S. hirsuta*، *S. hominis* مثلت الاغلبية 98% بالنسبة إلى الحويصلات ذات الحائط السد *S. hominis* التي مثلت (9%). (7,6%) من الابقار اظهروا إصابة مزدوجة.

التحليل الجزيئي سمح بالكشف على *S. cruzi* (42%) *S. hominis* (33%) لكن *S. hirsuta* (0%) لم تتواجد في عيناتنا.

تم الكشف كذلك على التهابات مضاء *S. cruzi* / *S. hominis* بنسبة 16% و هذا الذي يؤكد أن الكلب و الإنسان متورطان في انتقال الطفيليات عند الابقار و بذلك فالحوم تصبح ملوثة.

بالتالي دراستنا كشفت ان عمر الابقار يتراوح بـ 2 4 سنوات و ظهور المرض متعلق بفصل الشتاء

الكلمات المفتاحية *Sarcocystis* *S. hominis* *S. hirsuta* *S. cruzi*، المرئ، الحجاب الحاجز، الابقار، المباح، النسب، الهضم بالببسين، PCR عوامل الخطر.