



Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation

**Rapport du groupe de travail
« *Toxoplasma gondii* » de l'Afssa**

- Décembre 2005 -

Coordination rédactionnelle

Francis DEROUIN

Coralie BULTEL

Servane ROZE

Coordination éditoriale

Carole THOMANN

Florence RIBEIRO

Sommaire

Composition du groupe de travail	11
Préambule et remerciements	12
Glossaire	13
Synthèse du rapport	15
Abstract of the report	16
Résumé du rapport	17
Summary of the report	27
Introduction	36
Contexte et justification du projet.....	36
Organisation du travail du groupe.....	37
Section A : <i>Toxoplasma gondii</i>	40
Description du parasite	40
Cycle parasitaire	41
Historique.....	43
Aspects génétiques et phylogénétiques	43
Section B : toxoplasmose humaine et animale	49
Question 1 : quelles sont les manifestations cliniques de la toxoplasmose chez l'homme ?	50
1. Toxoplasmose chez le sujet immunocompétent.....	50
2. Toxoplasmose chez l'immunodéprimé	51
3. Toxoplasmose congénitale	52
Question 2 : quelles sont les méthodes de diagnostic de la toxoplasmose humaine ?	60
1. Diagnostic parasitologique.....	60
2. Diagnostic sérologique.....	61
3. Conduite du diagnostic de la toxoplasmose	62
Question 3 : quels sont les principaux schémas thérapeutiques de la toxoplasmose humaine ?	70
1. Principaux médicaments.....	70
2. Principaux schémas thérapeutiques	71
Question 4 : quelles sont les manifestations cliniques de la toxoplasmose chez l'animal ?	75
1. Toxoplasmose du chat.....	75
2. Toxoplasmose du mouton et de la chèvre	76
3. Toxoplasmose des autres mammifères domestiques.....	76
4. Toxoplasmose dans la faune sauvage et chez les oiseaux.....	77
Question 5 : quelles sont les méthodes de diagnostic de la toxoplasmose chez l'animal ?	80
1. Différentes méthodes et leurs limites	80
2. Applications.....	82
Section C : physiopathologie de la toxoplasmose	84
Question 6 : quels sont les facteurs de pathogénicité de <i>Toxoplasma gondii</i> ?	85
1. Critères de pathogénicité	85
2. Rôle de la souche infectante.....	86
3. Rôle du stade infectant	88
4. Rôle de l'inoculum.....	88
5. Rôle de la voie de contamination	89
Question 7 : existe-t-il des facteurs de sensibilité de l'hôte, génétique ou immunitaire ?	96
1. Facteurs de sensibilité génétiques.....	96
2. Facteurs de sensibilité immunitaires	97

Question 8 : que sait-on de la physiopathologie de la toxoplasmose chez l'homme (immunocompétent, immunodéprimé) et chez l'animal ?	104
1. Contamination par voie orale et atteinte digestive	104
2. Diffusion lymphatique et sanguine. Adénopathies	105
3. Diffusion tissulaire	105
4. Encéphalite toxoplasmique	105
5. Œil	106
6. Placenta et fœtus	106
Section D : épidémiologie humaine	108
Question 9 : quelles sont les différentes sources et modalités d'infection de l'homme ?	109
1. Infection par ingestion	109
2. Transmission <i>in utero</i>	110
3. Greffe d'organe et transfusion	110
4. Contamination de laboratoire	110
Question 10 : quelle est la séroprévalence de la toxoplasmose dans le monde (hors France) ?	112
Question 11 : quelle est la séroprévalence de la toxoplasmose en France ?	117
Question 12 : que sait-on des fluctuations saisonnières et/ou climatiques sur l'incidence et la prévalence de la toxoplasmose ?	125
Question 13 : quels sont les facteurs de risques alimentaires ou comportementaux pour la toxoplasmose ?	127
Question 14 : existe-t-il des cas groupés ou des épidémies de toxoplasmoses ?	131
Question 15 : que sait-on de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse et en dehors du contexte de la grossesse ?	136
1. Incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse	136
2. En dehors du contexte de grossesse	138
Question 16 : quel est l'impact en termes de santé publique de la toxoplasmose en France (morbidité/mortalité) ?	144
1. Introduction	144
2. Mortalité	144
3. Morbidité	146
Section E : épidémiologie animale	152
Question 17 : quel est le rôle du chat et des félinés ?	153
1. Excrétion d'oocystes par le chat	153
2. Prévalence chez le chat	154
3. Prévalence chez les félinés sauvages	156
Question 18 : quel est le rôle des animaux d'élevage ?	159
1. Moutons	159
2. Chèvres	161
3. Porcs	161
4. Bovins	163
5. Chevaux	165
6. Lapins	166
7. Volaille domestique	166
Question 19 : quel est le rôle des animaux sauvages ?	171
1. Mammifères sauvages terrestres	171
2. Mammifères marins	173
3. Oiseaux sauvages	174
Question 20 : quel est le rôle des insectes et des annélides ?	178
Section F : épidémiologie environnementale et alimentaire	179
Question 21 : que sait-on de la présence et de la survie des oocystes de <i>Toxoplasma gondii</i> dans l'environnement ?	180

1. Dans l'eau (surface, loisirs, eau de mer)	180
2. Dans le sol	181
3. Dans d'autres supports (fèces, boues, etc.)	182
Question 22 : que sait-on de la présence et de la survie de <i>T. gondii</i> dans les denrées alimentaires ?	185
1. Dans les denrées d'origine animale	185
2. Dans les denrées alimentaires d'origine végétale	186
3. Dans l'eau de boisson.....	186
4. Dans les coquillages et les produits de la mer.....	187
Question 23 : existe-t-il des systèmes de surveillance de <i>T. gondii</i> en France dans l'environnement et les denrées alimentaires ?	189
Section G : isolement et identification	190
Question 24 : quelles sont les méthodes de détection et d'isolement de <i>T. gondii</i> dans les denrées alimentaires et l'eau ?.....	190
1. Dans les denrées alimentaires d'origine animale	190
2. Dans l'eau	191
3. Dans les denrées alimentaires d'origine végétale	194
Question 25 : Existe-t-il des méthodes pour évaluer la viabilité et l'infectiosité de <i>T. gondii</i> ?	197
1. Bio-essais	197
2. Observation microscopique	197
3. Méthodes de biologie moléculaire de type RT-PCR (détection d'ARNm par reverse transcription polymérase chain reaction)	198
Section H : résistance et sensibilité de <i>Toxoplasma gondii</i>	199
Question 26 : que sait-on du comportement de <i>Toxoplasma gondii</i> vis-à-vis des facteurs physico-chimiques ?	199
1. Effets de la température.....	199
2. pH	203
3. NaCl.....	204
Question 27 : que sait-on du comportement de <i>Toxoplasma gondii</i> vis-à-vis des procédés utilisés pour la préparation et la conservation des aliments (sauf la cuisson et la réfrigération/congélation) ?	206
1. Condiments.....	206
2. Aérobiose-anaérobiose.....	206
3. Micro-ondes	206
4. Dessiccation.....	207
5. Ionisation.....	207
6. Rayonnements UV – Infra rouge	208
7. Hautes pressions	208
8. Salaison –Fumaison	208
9. Saumure et exhausteurs de goût.....	209
Question 28 : que sait-on du comportement de <i>Toxoplasma gondii</i> vis-à-vis des désinfectants utilisés en agro-alimentaire ?.....	211
1. Chlore	211
2. Ozone	212
3. Ammoniaque.....	212
4. Solution de formol à 10 %.....	212
5. Solution d'iode	212
6. Alcools	212
Section I : dose/réponse. Modélisation – appréciation quantitative du risque	213
Question 29 : quels sont les modèles expérimentaux utilisés pour établir la relation dose-réponse ?.....	214

1. Données disponibles pour l'établissement d'une relation dose/infection.....	214
2. Premières estimations des relations dose-(relatives)-infections et comparaison des virulences issues des expérimentations animales ; possibilités d'extrapolation	215
3. Résultats	217
4. Relation infection / maladie.....	223
5. Analyse de sensibilité	225
6. Conclusion	226
Question 30 : dans quels domaines peut-on envisager une appréciation quantitative du risque pour la toxoplasmose humaine ?	227
1. Quels objectifs pour une appréciation quantitative du risque ?	227
2. Etapes de l'appréciation quantitative du risque	228
3. Conduite d'une appréciation quantitative du risque pour la toxoplasmose	233
Section J : réglementation	239
Question 31 : quelle est la position actuelle de la législation sur la toxoplasmose humaine et animale ?	239
1. En France	239
2. Dans les autres pays	240
Section K : mesures de prévention	244
Question 32 : quelles sont les possibilités vaccinales chez l'homme et l'animal ?.....	245
1. Bases moléculaires de la vaccination	245
2. Vaccination chez l'animal.....	247
3. Perspectives vaccinales chez l'homme	250
Question 33 : quelles sont les recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte (prévention primaire) ?	252
Question 34 : en fonction des données actualisées sur la biologie et l'épidémiologie de <i>Toxoplasma gondii</i> , les recommandations actuelles de prévention de la toxoplasmose chez les femmes enceintes sont-elles toujours valables ? Quelles autres mesures pourraient être préconisées ?	255
1. Justification des mesures de prévention.....	255
2. Pertinence et hiérarchisation des recommandations actuelles.....	255
3. Mesures indispensables	256
4. Autres mesures.....	256
5. Mesures inefficaces et idées fausses	258
Question 35 : les recommandations actuelles de prévention de la toxoplasmose sont-elles connues et appliquées ? Sont-elles évaluées ?	260
1. Connaissance des recommandations par les femmes enceintes.....	260
2. Application des recommandations par les femmes enceintes	260
3. Evaluation de l'efficacité des programmes d'éducation pour la santé	261
Question 36 : quelles sont les mesures de prévention de la toxoplasmose chez les patients immunodéprimés ?	266
1. Identification des patients à risque.....	266
2. Nature des mesures préventives	267
Question 37 : quelles sont les mesures de prévention de la toxoplasmose en milieu professionnel ?	270
1. Cadre réglementaire	270
2. Prévention de la contamination par ingestion de parasites	271
3. Prévention des autres modes de contamination.....	271
4. Spécificités de la prévention dans certaines professions	271
Conclusions.....	274
Points clés du rapport.....	274
1. Données épidémiologiques sur la toxoplasmose.....	274
2. Contamination des aliments.....	275

3. Prévention de la toxoplasmose humaine	276
Propositions	278
1. PROPOSITION 1 : évaluation de la contamination des denrées alimentaires et de l'eau par <i>Toxoplasma gondii</i>	281
2. PROPOSITION 2 : vers la mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose	288
3. PROPOSITION 3 : renforcement et évaluation de la prévention primaire de la toxoplasmose chez la femme enceinte	292
Annexes	296
Annexe I : Détail sur la méthode d'analyse des paramètres de la relation dose-réponse	296
Annexe II : Modèles expérimentaux utilisables pour l'étude de la relation dose-réponse	298
Annexe III : Données de consommation en eaux, viandes, fruits et légumes susceptibles d'héberger le parasite <i>Toxoplasma gondii</i>	303
Annexe IV : Modes de cuisson des viandes en France - Premier bilan des données disponibles	313
Annexe V : Mesures et définitions des niveaux de confinement minimum à mettre en oeuvre dans les laboratoires de recherche, de développement et d'enseignement où sont utilisés des agents biologiques pathogènes des groupes 2, 3 ou 4 (annexe de l'arrêté du 13 août 1996)	315

Liste des Figures

Figure 1 : Distribution des sections suivant le plan d'évaluation du risque	39
Figure 2 : Shéma du cycle de <i>Toxoplasma gondii</i>	43
Figure 3 : Schéma de conduite à tenir devant une sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte immunocompétente	63
Figure 4 : Stratégie de diagnostic d'une toxoplasmose congénitale devant une séroconversion ou une infection toxoplasmique récente pendant la grossesse	66
Figure 5 : Sources et modes de l'infection humaine à toxoplasmes	111
Figure 6 : Evolution annuelle du nombre de cas de toxoplasmose cérébrale comme pathologie inaugurale des cas de SIDA chez l'homme et la femme	147
Figure 7 : Evolution de l'incidence de la toxoplasmose cérébrale par année chez les cas de SIDA	148
Figure 8 : Méthodes proposées pour la détection des oocystes de <i>Toxoplasma gondii</i> dans les échantillons environnementaux	196
Figure 9 : Régression linéaire des temps de congélation et des températures pour l'inactivation des kystes de <i>T. gondii</i>	201
Figure 10 : Régression linéaire (intervalle de confiance 95% -en pointillé-) entre le temps (en minutes) et la température requise pour l'inactivation des kystes de <i>T. gondii</i>	202
Figure 11 : Probabilité d'infection en fonction de la dose moyenne ingérée d'oocystes de la souche VEG chez le rat, (d'après les données de Dubey, 1996)	217
Figure 12 : Intervalles de crédibilité pour chacune des relations dose-infection vis à vis de la souche VEG (type III) sur différentes espèces d'hôtes)	220
Figure 13 : Comparaison de l'infectiosité des sporozoïtes et des bradyzoïtes de trois génotypes différents de <i>T. gondii</i> chez la souris	221
Figure 14 : Distributions <i>a posteriori</i> des paramètres r exprimés pour des inoculums croissants de sporozoïtes de la souche VEG (type III)	223
Figure 15 : Tornado chart décrivant la corrélation de l'incertitude des paramètres du modèle sur l'incertitude du résultat final	225
Figure 16 : Schéma intégrant les principales sources de contamination (viande, végétaux consommés crus) et toutes les étapes	234

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les principaux antigènes de <i>Toxoplasma gondii</i> et les gènes utilisés dans l'étude du polymorphisme génétique	44
Tableau 2 : Fréquence des signes oculaires à la naissance chez des nouveau-nés infectés par <i>Toxoplasma gondii</i> , en l'absence de traitement anté-natal (en %)	53
Tableau 3 : Fréquence des signes neurologiques à la naissance chez des nouveau-nés infectés par <i>Toxoplasma gondii</i> , en l'absence de traitement anté-natal (en %).....	53
Tableau 4 : Nouveau-nés présentant une toxoplasmose congénitale sans traitement anténatal. Présence d'atteintes systémiques à la naissance (en %)	54
Tableau 5 : Manifestations cliniques chez 1384 enfants nés vivants de mère ayant présenté une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse et suivis pendant au moins 6 mois.....	55
Tableau 6 : Evolution de l'état oculaire de 327 enfants atteints de toxoplasmose congénitale (suivi médian de 6 ans).....	55
Tableau 7 : Eléments du diagnostic de la toxoplasmose de l'immunodéprimé	67
Tableau 8 : Résumé des caractéristiques des principaux génotypes de <i>Toxoplasma gondii</i>	90
Tableau 9 : Répartition géographique des différents génotypes	91
Tableau 10 : Toxoplasmose congénitale : répartition globale des différents génotypes	93
Tableau 11 : Toxoplasmose congénitale : répartition des différents génotypes en fonction de l'atteinte clinique.....	93
Tableau 12 : Toxoplasmose oculaire : répartition des différents génotypes en fonction du terrain (formes sévères ou atypiques de l'adulte)	93
Tableau 13 : Toxoplasmose de l'immunodéprimé : répartition des différents génotypes.....	93
Tableau 14 : Données de prévalence de la toxoplasmose	113
Tableau 15 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la classe d'âge. Enquête nationale périnatale, France, 1995.....	119
Tableau 16 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la région du domicile. Enquête Périnatale, France, 1995	120
Tableau 17 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon le niveau d'études, la profession de la femme et du conjoint, et la nationalité de la femme. Enquête nationale périnatale, France, 1995	121
Tableau 18 : Séroprévalence de la toxoplasmose dans 14 régions, chez des femmes en âge de procréer, dans 2 études nationales réalisées en 1982 et 1995	122
Tableau 19 : Séroprévalence de la toxoplasmose en fonction de l'origine géographique dans différentes populations de femmes enceintes.....	122
Tableau 20 : Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose : caractéristiques et résultats de six études	129
Tableau 21 : Cas groupés de toxoplasmose en fonction de l'origine	132
Tableau 22 : Estimation de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse avant la mise en place d'un programme de dépistage en France	139
Tableau 23 : Estimation de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse chez la femme enceinte depuis la mise en place d'un programme de dépistage en France	140
Tableau 24 : Taux de prévalence et d'incidence de la toxoplasmose (infections certaines, probables et possibles) en fonction de l'âge. Enquête nationale périnatale, France, 1995	141
Tableau 25 : Effet de la parité sur le risque de séroconversion toxoplasmique chez les femmes séronégatives en début de grossesse. Enquête nationale périnatale, France, 1995	141
Tableau 26 : Utilisation du modèle de Papoz pour estimer l'incidence par classe d'âge dans la population générale : détail des calculs	142
Tableau 27 : Décès par toxoplasmose comme cause initiale ou cause associée de décès	145
Tableau 28 : Nombre d'hospitalisations avec une toxoplasmose codée en diagnostic principal PMSI	147

Tableau 29 : Présence d’ocystes dans les matières fécales du chat.....	155
Tableau 30 : Prévalence de la toxoplasmose chez le chat en fonction du mode de vie	156
Tableau 31 : Prévalence sérologique chez les félidés sauvages.....	157
Tableau 32 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez le mouton en France.....	160
Tableau 33 : Prévalence de la toxoplasmose chez le poulet.....	166
Tableau 34 : Fréquence d’isolement et séroprévalence de <i>Toxoplasma gondii</i> chez les oiseaux sauvages	175
Tableau 35 : Durée d’infectiosité des ocystes de <i>Toxoplasma gondii</i> dans des conditions environnementales.....	183
Tableau 36 : Influence de la température sur la sporulation des ocystes	200
Tableau 37 : Influence de solutions alcalines ou acides sur les différentes formes parasitaires.....	203
Tableau 38 : Efficacité (évaluée par bio-essai chez le chat) de différents exhausteurs de goût ou saumures sur l’infectiosité des kystes contenus dans de la viande de porc à 4°C	209
Tableau 39 : Résistance des ocystes à l’hypochlorite de sodium	211
Tableau 40 : Résultat des différentes approches d’estimation du paramètre « 8r » de la relation dose infection	218
Tableau 41 : Estimation du paramètre 8r et de la dose infectieuse médiane pour les ocystes, en fonction du génotype parasite et de l’espèce animale	219
Tableau 42 : Estimation du paramètre « r » et de la dose infectieuse médiane pour les bradyzoïtes, en fonction du génotype parasite et de l’espèce animale infectée (rat, souris)	221
Tableau 43 : Liste de recommandations disponibles sur Internet pour la prévention de la toxoplasmose	253
Tableau 44 : Synthèse actualisée des recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte	259
Tableau 45 : Caractéristiques et résultats de 4 études publiées sur le niveau de connaissance des femmes enceintes sur la toxoplasmose	261
Tableau 46 : Résultats des études publiées sur l’efficacité de programmes prénataux d’éducation sur la toxoplasmose.....	262
Tableau 47 : Recommandations de prévention de la toxoplasmose chez patients infectés par le VIH,	268
Tableau 48 : Synthèse des recommandations du groupe de travail, classée en fonction des sections du rapport et par type : Recherche (R), Recueil d’information (I), Organisation (O), Diffusion d’information (D), Surveillance (S).	279

Liste des Illustrations

Illustration 1 : Ultrastructure de <i>Toxoplasma gondii</i> (bradyzoïte)	45
Illustration 2 : Tachyzoïtes au May-Grunwald Giemsa. A. Culture cellulaire de <i>T. gondii</i> (tachyzoïtes, souche RH) sur fibroblastes MRC5 (x 400) B. Tachyzoïtes libres (MO, x 1000).....	45
Illustration 3 : Kyste dans de la viande. Coupe anatomo-pathologique (Hématoxyline éosine safran). B. Examen direct (MO x 400).....	46
Illustration 4 : Rupture de la paroi d’un kyste et libération de centaines de bradyzoïtes sous l’action des sucs digestifs.....	46
Illustration 5 : Ocystes. A. Non sporulé, non infectant, à l’émission dans les fèces de chat. B. Sporulé, infectant, après quelques jours dans le milieu extérieur. (MO, contraste de phase, x1000)	47
Illustration 6 : Toxoplasme cérébrale. Examen par imagerie par résonance magnétique (IRM)	56
Illustration 7 : Rétinochoroïdite consécutive à une toxoplasmose congénitale	57
Illustration 8 : Dilatation ventriculaire fœtale. Aspect en échographie de morphologie fœtale transabdominale.....	57

Illustration 9 : Dilatation ventriculaire fœtale. Aspect en imagerie par résonance magnétique <i>in utero</i>	58
Illustration 10 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la région d'habitation, France, 1995.....	123
Illustration 11 : Séroprévalence de la toxoplasmose selon le département d'habitation, France, 1995.....	123
Illustration 12 : Oocystes de <i>T. gondii</i> : autofluorescence en microscopie sous UV	194

Composition du groupe de travail

■ Président

M. Francis DEROUIN (Faculté de médecine, Paris 7)

■ Membres du groupe de travail

M. Philippe DORCHIES (Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse)
Mme Marie-Laure DARDE (Faculté de médecine de Limoges)
Mme Véronique GOULET (Institut de Veille sanitaire, Saint-Maurice)
M. François PEYRON (Faculté de médecine, Lyon 1)
M. Philippe THULLIEZ (Institut de puériculture, Paris)
Mme Isabelle VILLENA (CHU, Reims)

■ Représentants des ministères

Mme Sonia TENAILLEAU (Direction générale de la Santé, Paris)

■ Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Mme Coralie BULTEL
Mme Muriel ELIASZEWICZ
Mme Servane ROZE

■ Personnalités consultées par le groupe de travail et relecteurs extérieurs

M. Thierry ANCELLE
M. Dominique AUBERT
Mme Marie-Hélène BESSIERES
Mme Christine BINQUET
M. Alain BONNIN
M Ermanno CANDOLFI
Mme Marie-France CESBRON-DELAUW
M. Christophe CHARTIER
Mme Geneviève CHENE
Mme Fabienne COLLET
Mme Corinne DANAN
M. Aurélien DUMETRE
Mme Catherine LHERM
M. Bertrand LOSSON
M. Michel MIEGEVILLE
M. Pierre-Hugues PITEL
M. Hervé PELLOUX
M. Alain PEYRON (ADIV)
M. Régis POUILLOT
M. Gilles SALVAT
Mme Odile SIRUGUET
Mme Anne THEBAULT
Mme Véronique VAILLANT
M. Jean-Luc VOLATIER
Mme Martine WALLON

Préambule et remerciements

Un grand merci :

- *à l'ensemble des experts consultés pendant l'élaboration du rapport : M. PELLOUX, Mme BESSIERES, M. LOSSON, M. PITEL, M. CANDOLFI, M. ANCELLE, Mme BINQUET, M. CHARTIER, M. MIEGEVILLE, M. BONNIN, M. SALVAT, M. POUILLOT, Mme DANAN, Mme CESBRON, Mme CHENE, Mme COLLET, Mme LHERM, Mme SIRUGUET, M. PEYRON (ADIV), M. AUBERT,*
- *à Mmes THEBAULT, DUBUISSON et M. VOLATIER du PASER de l'AFSSA,*
- *aux relecteurs des CES « Santé animale » : MM. CHARTIER et SAVEY, et du CES « Microbiologie » : Mme SIMON-CORNU et M. BONNIN,*
- *aux personnels de la bibliothèque universitaire de l'Institut d'Hématologie (hôpital Saint-Louis) pour leur disponibilité à répondre aux très nombreuses demandes bibliographiques que le groupe leur a soumises.*

Glossaire

- ADHS (Agglutination Directe de Haute Sensibilité) : technique sérologique reposant sur l'agglutination de toxoplasmes trypsinés, puis formolés, indiquée dans la littérature anglo-américaine sous le nom de MAT (Modified Agglutination Test).
- Apicoplaste : formation plastidique dérivant d'un chloroplaste ancestral, présent chez les toxoplasmes comme chez les autres parasites du phylum des Apicomplexa.
- Bio-essai : méthode de recherche des parasites par inoculation à l'animal.
- Bradyzoïte : forme infestante au métabolisme très ralenti présente dans les kystes tissulaires.
- ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) : technique sérologique immunoenzymatique pour le dosage des anticorps.
- Gamétogonie : transformation en éléments mâles ou femelles (gamétocytes) dans les cellules épithéliales de l'intestin de l'hôte définitif.
- Génotypage : méthode de caractérisation d'un organisme reposant sur l'analyse de son génome.
- Granules denses : organelles du toxoplasme dont les produits de sécrétion (GRA) assurent notamment la maturation de la vacuole parasitophore et celle du kyste.
- Hôte définitif : hôte chez lequel se déroule le processus de fécondation sexuée ; dans le cas du toxoplasme, les hôtes définitifs sont des félidés (chats domestiques et félidés sauvages) et la fécondation aboutit à l'excrétion d'oocystes non sporulés.
- Hôte intermédiaire : hôte assurant la multiplication asexuée du toxoplasme ; dans le cas du toxoplasme, il peut s'agir de n'importe quel animal homéotherme (mammifères ou oiseaux).
- IMS (séparation immunomagnétique) : technique permettant la séparation des parasites au sein d'une matrice telle qu'un culot de centrifugation d'eau grâce à des billes magnétisées recouvertes d'anticorps.
- Inférence : estimation de paramètres à partir de données observées disponibles.
- ISAGA (Immunsorbent Agglutination Assay) : technique sérologique reposant sur l'immunocapture des immunoglobulines puis l'agglutination de parasites formolés. Utilisé pour la recherche des anticorps IgM, IgA et IgE.
- Immunoblot (syn. Western blot) : technique permettant une détection très sensible des anticorps de différents isotypes (IgG, IgM, IgA ou IgE) par révélation enzymatique après migration électrophorétique des antigènes.
- ELIFA (Enzyme Linked Immunofiltration Assay) : technique sérologique reposant sur la révélation immunoenzymatique des complexes antigène-anticorps après migration électrophorétique.
- Incidence : nombre de nouveaux cas observés pendant une période et pour une population déterminées.

- Kyste toxoplasmique : structure intracellulaire contenant des centaines ou milliers de bradyzoïtes ; ils sont présents dans les tissus de l'hôte intermédiaire et sont à l'origine de la contamination par carnivorisme.
- MAT : Modified agglutination test (voir ADHS).
- Micronèmes : organelles du toxoplasme dont les produits de sécrétion (MIC) permettent l'attachement du toxoplasme à la cellule hôte avant la pénétration.
- Microsatellites : séquences du génome caractérisées par des répétition de 2 à 6 nucléotides ; elles sont connues pour être très polymorphes et servent de plus en plus à la caractérisation des isolats de parasites.
- Oocystes non sporulés : oocystes non infectants, émis dans les fèces des chats et autres félinés.
- Oocystes sporulés : oocystes infectants, contenant des sporocystes, assurant la persistance du toxoplasme dans l'environnement.
- Parasitémie : présence du parasite (tachyzoïte) dans le sang.
- PCR (Polymerase Chain Reaction) : technique de détection de l'ADN par amplification génique enzymatique.
- PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism) : méthode d'analyse du polymorphisme génétique basée sur les différences de longueurs de fragments de gènes amplifiés préalablement par PCR et découpés par des enzymes de restriction.
- Prévalence : nombre de personnes infectées à un moment donné dans une population (elle se distingue de l'incidence qui comptabilise les nouveaux cas enregistrés pendant une période donnée).
- Rhoptries : organelles présentes à la partie antérieure du toxoplasme et dont les produits de sécrétion (ROP) permettent la pénétration des toxoplasmes dans les cellules.
- RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) : technique de détection d'ARN messager, utilisée pour estimer la viabilité d'un organisme (ce que ne permet pas la PCR faite sur l'ADN).
- Séroprévalence : prévalence déterminée par la positivité de la sérologie au sein de la population étudiée.
- Sporozoïte : forme infestante présente au sein des oocystes sporulés et résultant d'une fécondation chez l'hôte définitif, suivie d'une méiose (sporogonie).
- Sporogonie : processus de maturation au sein du zygote au terme duquel se différencient les sporozoïtes.
- Tachyzoïte : forme infestante de multiplication rapide intracellulaire présente lors de la reproduction asexuée au cours des premiers stades de l'infection ou lors des réactivations.

Synthèse du rapport

La toxoplasmose due à *Toxoplasma gondii* est une infection fréquente en France: environ 50 % de la population adulte est infectée et on estime que 200 000 à 300 000 nouvelles infections surviennent chaque année dont 2700 cas chez les femmes enceintes. Il est estimé que 600 enfants naissent avec une toxoplasmose congénitale chaque année, dont 175 auront des séquelles. La gravité de la toxoplasmose est également liée au risque différé de réactivation d'une infection antérieurement acquise, sous l'effet d'une immunodépression. Le nombre de cas de toxoplasmoses cérébrales survenant chez les patients infectés par le VIH est encore actuellement proche de 200 par an.

Dans ce contexte, un groupe de travail multidisciplinaire a été constitué au sein de l'AFSSA, avec comme objectifs de recueillir et d'analyser les données scientifiques permettant d'apprécier le risque de toxoplasmose lié à l'alimentation et d'apporter aux autorités sanitaires les éléments de décision pour la promotion d'actions de prévention adaptées, notamment en ce qui concerne la toxoplasmose congénitale.

Dans un premier temps, les experts ont effectué une revue exhaustive de la littérature sur tous les éléments pouvant intervenir dans la contamination de l'eau ou des aliments par *T. gondii* puis analysé des données disponibles concernant l'efficacité des procédés de traitement de l'eau et de conditionnement ou de cuisson des aliments sur le parasite.

Les données expérimentales et épidémiologiques recueillies ont ensuite permis l'initiation d'une démarche d'appréciation quantitative de risque, dans le but de pouvoir estimer l'implication ou l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Enfin, l'ensemble de ces données ont permis de faire le point sur la pertinence et les conditions d'application des mesures de prévention actuellement recommandées.

Ceci a conduit le groupe de travail à identifier plusieurs domaines d'investigation ou d'action prioritaires, détaillés suivant trois propositions :

- Mieux évaluer le niveau de contamination par *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau, notamment pour estimer la part respective des types d'aliments dans l'infection humaine. Cet axe de travail associe le développement de techniques sensibles de détection des parasites dans les matrices alimentaires et dans l'environnement et la mise en place de plans d'échantillonnage permettant une estimation fiable des taux de contamination.
- Mettre en place une démarche d'appréciation quantitative du risque centrée sur l'évaluation de l'impact de la consommation d'aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Compte tenu des difficultés de cette analyse, la priorité doit être donnée à l'acquisition de données fiables sur la relation dose-infection et dose maladie en fonction des génotypes parasitaires et sur la quantification de la charge parasitaire dans les aliments contaminés.
- Améliorer l'information sur la toxoplasmose et sa prévention, en associant d'une part une actualisation et une reformulation des recommandations de prévention de la toxoplasmose, et d'autre part une campagne d'information auprès des femmes enceintes avec diffusion de ces recommandations actualisées et une évaluation de son efficacité.

Ces différentes actions justifient la mise en place d'une initiative nationale concertée entre les différents professionnels et organismes de santé impliqués dans la prise en charge de la prévention des infections congénitales.

Abstract of the report

Toxoplasmosis caused by *Toxoplasma gondii* is a common infection in France: approximately 50% of the adult population is infected and it is estimated that between 200,000 and 300,000 new infections occur every year, including 2700 cases in pregnant women. A number of 600 cases of congenital toxoplasmosis is estimated to occur annually, 175 with sequellae. The severity of toxoplasmosis is also related to the delayed risk of reactivation of a previously acquired infection, in situations of immunodepression. The number of cases of cerebral toxoplasmosis in patients infected with HIV is still currently 200 per year.

Within this context, a multidisciplinary working group was set up within AFSSA, with the main objectives to gather together and analyse the scientific data to enable a risk assessment of food-borne toxoplasmosis and to provide the health authorities with the decision-making elements required for the promotion of an appropriate prevention.

As a first step, the experts conducted an exhaustive review of the literature on all the elements which can be involved in the contamination of water or food with *T. gondii* and then analysed the available data on the effectiveness of water treatment procedures and of packaging and cooking (in the case of foodstuffs) in controlling the parasite.

The experimental and epidemiological data gathered from the literature were then used to begin a process of quantitative risk assessment, with the aim of enabling an estimation of the implication or impact of the consumption of potentially contaminated foods on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and on congenital toxoplasmosis. Finally, the accumulated data were used to review the pertinence and the conditions of application of the preventive measures currently recommended.

This led the working group to suggest several priority areas for investigation or action for a better risk- assessment of foodborne toxoplasmosis and improvement of primary prevention.

- Improving the assessment of levels of *T. gondii* contamination in foodstuffs and water, notably to estimate the respective parts played by different types of food in human infection. This area of work combines the development of sensitive techniques for detecting the parasite in food matrices and in the environment and the putting in place of a sampling plan to enable a reliable estimate of levels of contamination.

- Putting in place a quantitative risk assessment process focussing on evaluating the impact of the consumption of potentially contaminated foods on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and on congenital toxoplasmosis. In view of the difficulties of such an analysis, priority should be given to the acquisition of reliable data on the dose-infection relationship and the dose disease relationship based on the parasite genotypes and on quantification of the parasite load in the contaminated foods.

- Improving information on toxoplasmosis and its prevention, by combining the updating and reformulation of the recommendations on toxoplasmosis prevention with an information campaign aimed at pregnant women with dissemination of these updated recommendations and an evaluation of the effectiveness of this information campaign.

Such priorities justify setting up a national initiative, agreed between the different health professionals and public health services involved in the prevention of congenital infections.

Résumé du rapport

La toxoplasmose due à *Toxoplasma gondii* est une infection fréquente en France: environ 50 % de la population adulte est infectée et on estime que 200 000 à 300 000 nouvelles infections surviennent chaque année dont 2700 cas chez les femmes enceintes.

La gravité de cette infection est liée au risque de transmission fœtale du parasite en cas de contamination en cours de grossesse, avec un nombre estimé de 600 cas de toxoplasmose congénitale par an, dont 175 avec des séquelles. Cette gravité est aussi liée au risque différé de réactivation d'une infection antérieurement acquise, sous l'effet d'une immunodépression. Le nombre de cas de toxoplasmoses cérébrales survenant chez les patients infectés par le VIH est encore actuellement proche de 200 par an.

La France a pris dès 1978 un certain nombre de dispositions réglementaires ayant pour objectif de dépister, par la sérologie, les femmes exposées au risque d'infection par *T. gondii* et d'effectuer un suivi sérologique des femmes séronégatives pendant toute la grossesse. Ces femmes reçoivent par ailleurs une information sur les mesures hygiéno-diététiques à respecter pour réduire le risque de contamination.

Chez les patients immunodéprimés, un dépistage sérologique de la toxoplasmose est recommandé et l'administration d'une chimioprophylaxie est préconisée chez les sujets séropositifs pour la toxoplasmose en cas de déficit immunitaire très prononcé.

Malgré ces mesures, les formes graves de toxoplasmose (infection congénitale, toxoplasmose cérébrale des immunodéprimés) restent fréquentes et justifient la bonne application des mesures de prévention de la contamination.

Dans ce cadre, un groupe de travail multidisciplinaire a été constitué au sein de l'AFSSA, associant plusieurs médecins parasitologues, une infectiologue (AFSSA), un vétérinaire parasitologue (ENV, AFSSA, représentant le CES « Santé Animale »), une épidémiologiste (InVS) et une représentante de la Direction Générale de la Santé.

Le groupe de travail a défini plusieurs objectifs, dont le principal est d'évaluer le risque de toxoplasmose lié à l'alimentation.

Dans un premier temps, les experts ont effectué une revue approfondie de la littérature sur tous les éléments pouvant intervenir dans la contamination de l'eau ou des aliments par *T. gondii* puis analysé des données disponibles concernant l'efficacité des procédés de traitement de l'eau et de conditionnement ou de cuisson des aliments sur le parasite.

Les données expérimentales et épidémiologiques recueillies dans la littérature ont ensuite permis l'initiation d'une démarche d'appréciation quantitative de risque, dans le but de pouvoir estimer l'implication ou l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Enfin, l'ensemble de ces données ont permis de faire le point sur la pertinence et les conditions d'application des mesures de prévention actuellement recommandées.

L'option d'une rédaction sous forme de questions structurantes a été retenue, de façon à faciliter l'accès aux informations spécifiques.

La première partie du document (sections A-F) présente une synthèse des données bibliographiques actualisées sur le parasite et son épidémiologie, chez l'homme et chez l'animal.

- **Les données parasitologiques sur *Toxoplasma gondii* sont regroupées dans la section A**

Il est rappelé que *Toxoplasma gondii* est un protozoaire intracellulaire, appartenant à l'ordre des Coccidies, Il existe sous 3 formes infestantes : tachyzoïtes, forme de multiplication rapide dans les phases aiguës de l'infection ; bradyzoïtes au sein de kystes latents dans les tissus ; sporozoïtes au sein des oocystes. Le cycle du parasite est présenté : les hôtes définitifs (chats et autres félinés) se contaminent principalement en mangeant la viande infectée des hôtes intermédiaires et excrètent des oocystes dans le milieu extérieur (sol, eau). Les hôtes intermédiaires (tous les homéothermes, mammifères comme oiseaux) hébergent des kystes tissulaires dans leurs muscles et leur cerveau, source de contamination par carnivorisme pour les hôtes définitifs mais aussi pour les autres hôtes intermédiaires. Trois principaux génotypes de *T. gondii* ont été identifiés en Europe et en Amérique du Nord chez l'homme et les animaux domestiques ; des génotypes recombinants ou atypiques ont été retrouvés dans des biotopes éloignés de l'influence humaine. En France, le génotype II est largement prédominant chez l'homme.

- **Les manifestations cliniques, les modalités de diagnostic et de traitement de la toxoplasmose chez l'homme et chez l'animal sont traités dans la section B**

Chez l'homme, la toxoplasmose est une infection le plus souvent bénigne chez les sujets immunocompétents. Les formes graves sont avant tout observées en cas de contamination congénitale et chez les patients immunodéprimés, mais peuvent également être observées chez des sujets immunocompétents avec des souches de génotypes particuliers.

En cas de contamination en cours de grossesse, il existe un risque de transmission materno-fœtale (29%) et de toxoplasmose congénitale. Ce risque augmente avec le terme de la grossesse au moment de la contamination maternelle, atteignant 80% à la fin du dernier trimestre. Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale sont très diverses (neurologiques, oculaires, principalement) et de gravité variable en fonction du moment de la contamination ; les lésions oculaires ont un potentiel évolutif imprévisible. Chez les malades immunodéprimés (SIDA, greffe de moelle, principalement), les localisations cérébrales sont les plus fréquentes et le plus souvent mortelles sans traitement.

Suivant le contexte clinique, le diagnostic biologique de la toxoplasmose est effectué par la sérologie et/ou sur la mise en évidence du parasite ou de l'ADN parasitaire. Le traitement fait appel à plusieurs types de médicaments, qui ne sont actifs que sur les tachyzoïtes et pas sur les kystes. Cette absence d'efficacité sur les kystes ne permet donc pas d'éradiquer le parasite des tissus. Un traitement n'est justifié que dans la toxoplasmose congénitale (traitement anténatal, puis de l'enfant), la toxoplasmose oculaire et dans les cas de toxoplasmose grave chez les malades immunodéprimés. Une chimioprophylaxie n'est justifiée que chez les patients immunodéprimés ayant un déficit profond de l'immunité et séropositifs pour la toxoplasmose.

Chez l'animal la toxoplasmose est une infection très répandue chez les mammifères et les oiseaux. Les manifestations cliniques sont très variées en fonction de l'espèce. Chez le chat adulte, la toxoplasmose faisant suite à une contamination orale par des kystes ou des oocystes est le plus souvent asymptomatique. La toxoplasmose de la chèvre et du mouton, peu symptomatique, est caractérisée par une forte prévalence de la transmission fœtale, fréquemment responsable d'avortements.

Chez les autres espèces d'animaux de boucherie (porc, bovin, cheval), la toxoplasmose est cliniquement inapparente ou peu symptomatique. Il existe un risque de transmission fœtale mais celui-ci semble beaucoup plus faible que chez le mouton ou la chèvre. Les oiseaux domestiques ou sauvages sont fréquemment infectés. La toxoplasmose peut être sévère dans certaines espèces. Le diagnostic biologique de la toxoplasmose chez l'animal est

rarement fait en pratique vétérinaire courante : il reste limité aux études de séroprévalence et à la recherche étiologique des avortements chez les brebis.

- **Les aspects physiopathologiques de la toxoplasmose, puis les facteurs intervenant dans la virulence de l'infection et son contrôle sont abordés dans la section C**

Les lésions observées au cours de la toxoplasmose sont directement liées à la prolifération des tachyzoïtes et à la lyse des cellules qu'ils infectent. Les kystes (contenant des bradyzoïtes) n'entraînent pas directement de lésions tissulaires mais sont susceptibles de réactiver. Faisant suite à une infection par voie orale, le parasite dissémine par voie hématogène (parasitémie brève) et lymphatique ; à cette phase, on observe des adénopathies dans 10 à 20% des cas, caractérisées par une forte hyperplasie folliculaire, mais sans nécrose. L'infection des tissus, consécutive à la parasitémie est le plus souvent asymptomatique chez les sujets immunocompétents. Les lésions d'encéphalite et de rétinocchoroïdite sont essentiellement observées en cas d'infection congénitale ou chez des patients immunodéprimés : elles sont constituées de zones de nécrose, associées à une forte réaction inflammatoire. Des atteintes multiviscérales sont également possibles (poumon, cœur, foie) chez ces patients. Chez la femme enceinte, la parasitémie peut conduire à la contamination du placenta puis du fœtus. Chez les fœtus infectés, la toxoplasmose est une infection disséminée, conduisant à des atteintes multiviscérales associant foyers de nécrose et inflammation. L'atteinte cérébrale peut associer vascularite, thromboses et calcifications. Ces lésions peuvent être secondairement responsables d'hydrocéphalie. L'atteinte oculaire, au niveau de la rétine, est fréquente.

Les facteurs de pathogénicité de *T. gondii* ont été bien caractérisés chez l'animal mais leur part respective est encore difficile à établir chez l'homme. Le génotype de la souche infectante est le principal facteur de pathogénicité chez la souris : génotype I très virulent, génotypes II et III avirulents ou de virulence intermédiaire. En France, le génotype II est le plus fréquemment retrouvé chez l'homme, aussi bien dans les toxoplasmoses congénitales que chez l'hôte immunodéprimé.

Le contrôle de l'infection toxoplasmique est à la fois dépendant de l'immunité et du terrain génétique de l'hôte. L'immunité cellulaire T joue un rôle prédominant. L'infection toxoplasmique induit une cascade d'activations cellulaires et de production de cytokines à prédominance Th1, l'interféron jouant un rôle essentiel dans l'activation des macrophages et l'induction des mécanismes effecteurs sur le parasite ou les cellules parasitées. Tout déficit profond de l'immunité cellulaire (iatrogène ou lié à une pathologie associée) peut favoriser la survenue d'une toxoplasmose grave par réactivation de kystes acquis lors d'une infection antérieurement acquise.

- **L'épidémiologie de la toxoplasmose humaine est traitée dans la section D**

La toxoplasmose est une parasitose cosmopolite, avec une séroprévalence variable d'un pays à l'autre (de 7 à 80 %) et parfois à l'intérieur d'un même pays. Les prévalences inférieures à 30 % s'observent principalement en Amérique du Nord, en Grande-Bretagne, en Scandinavie et en Asie du Sud-Est. Les prévalences supérieures à 60 % s'observent principalement en Afrique et en Amérique Latine. En France la séroprévalence a longtemps été élevée (82% en 1960, 66% en 1982), mais elle a diminué régulièrement depuis 40 ans pour atteindre 54% en 1995 et 44% en 2003, avec des variations régionales encore mal expliquées. Les conditions climatiques, mais aussi d'autres facteurs de risques, liés aux modes de vie et à l'alimentation ont été évoqués pour expliquer ces différences de prévalence entre les pays.

Plusieurs études épidémiologiques ont permis d'identifier les principaux facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose. Elles concordent sur l'existence d'un risque lié au manque d'hygiène des mains, la consommation de viande mal cuite et la consommation de crudités mal lavées. En revanche, bien que le risque lié à la manipulation de la litière soit bien

identifié, la possession d'un chat n'a pas été considérée comme un facteur de risque dans plusieurs études. L'origine alimentaire est également retrouvée dans la majorité des épisodes de cas groupés de toxoplasmose avec une origine de contamination commune ; la viande crue est l'aliment le plus souvent en cause. Malgré ces informations concordantes sur le risque lié à l'alimentation, la part respective des différents types d'aliments, ou de l'environnement, dans la contamination humaine ne peut pas actuellement être précisée.

Il est également à noter qu'une épidémie attribuée à l'eau de distribution est survenue au Canada en 1994/95, responsable d'un nombre de cas estimé entre 3000 et 7000.

L'incidence de la toxoplasmose dans la population générale est difficile à évaluer car l'infection est le plus souvent asymptomatique. En France, le nombre annuel de nouvelles infections, estimé par modélisation en se basant sur des données de prévalence de l'enquête Périnatalité 1995, est compris entre 200 000 et 300 000 cas avec environ 30 000 à 45 000 cas symptomatiques. Des données plus précises ont pu être obtenues chez les patients immunodéprimés (SIDA) qui présentent des formes cliniques sévères, faisant l'objet d'une notification. Le nombre de cas déclarés de toxoplasmose inaugurale chez les patients SIDA est environ de 200 par an, après avoir sensiblement diminué entre 1992 (800 cas) et 1997 (250 cas).

Les données d'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse proviennent toutes des données de surveillance sérologiques systématiques. L'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte séronégative a fortement baissé entre 1960 (environ 40 cas/1000 femmes séronégatives) et 1995 (entre 5,4 et 13,2 cas/1000 femmes séronégatives). La séroprévalence ayant diminué notablement pendant la même période, le nombre de femmes séronégatives a augmenté et le nombre d'infections rapporté à l'ensemble des grossesses reste situé entre 2,4 et 5,8 cas/1000 grossesses en 1995.

Par une approche complémentaire (relevé du nombre des amniocentèses réalisées pour une infection maternelle en cours de grossesse) le nombre de séroconversions chez les femmes enceintes a été estimé à 2700 pour l'année 2000. En tenant compte, d'une part des résultats des amniocentèses, et d'autre part du risque de transmission materno-fœtale (29%), le nombre d'enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale a été estimé à 600 cas environ. En se référant aux données d'études de cohortes d'enfants infectés, il a été estimé que sur ces 600 cas, 174 enfants auraient des séquelles dont 11 une hydrocéphalie et 145 une rétinoblastome.

- **L'épidémiologie de la toxoplasmose animale est traitée dans la section E**

Le chat et les félinés sauvages sont responsables de la dissémination de *Toxoplasma gondii* dans l'environnement. A la suite de leur infestation par consommation de proies infectées ou d'oocystes sporulés, ils vont éliminer pendant quelques jours, dans leurs matières fécales, de très grandes quantités d'oocystes. Ces derniers seront à l'origine de la contamination des animaux herbivores ou omnivores ingérant des aliments souillés par les excréments de félinés contenant des oocystes sporulés. Les carnivores seront infestés par prédation des herbivores ou omnivores porteurs du parasite.

La séroprévalence de la toxoplasmose est très variable chez le chat en relation avec son mode de vie et d'alimentation puisque certains chats citadins n'ont plus la possibilité de chasser et ne consomment que des aliments industriels stérilisés. On estime que 1% des chats sont excréteurs d'oocystes à un moment donné. L'excrétion des oocystes ne se produit que pendant une courte période mais elle est très productive. Des réactivations de l'élimination sont possibles mais imprévisibles. La co-infection par le virus de l'immunodéficience féline (FIV) ou de la leucémie du chat (FeLV) augmenterait le risque de toxoplasmose chez le chat.

La prévalence sérologique est forte dans toutes les populations de félinés sauvages examinées et plus de dix sept espèces sont capables d'éliminer des oocystes.

La prévalence de la toxoplasmose est variable chez le bétail. Chez le mouton, elle est la plus élevée et se traduit par une grande fréquence d'avortements. L'importance de l'infection a nécessité la mise au point d'un vaccin utilisable chez les agnelles. Les chèvres sont moins

fréquemment infectées mais leur lait cru pourrait être un véhicule pour les toxoplasmes. La contamination des porcs est extrêmement variable en relation avec leur mode de vie (plein air ou claustration) mais aussi avec leur alimentation, les animaux nourris avec des restes alimentaires étant plus exposés.

Les bovins ne présentent que des taux de séroprévalence relativement faibles mais qui manquent parfois de fiabilité selon la méthode sérologique utilisée chez cette espèce. Les différentes enquêtes révèlent que la viande bovine est rarement infectée. La présence du toxoplasme n'a jamais été rapportée dans le lait sauf lors d'une expérimentation.

La séroprévalence est faible chez le cheval mais les kystes musculaires persistent plus d'un an.

Chez les oiseaux, les taux d'infection sont variables. La volaille est un bon révélateur de la contamination de l'environnement du fait de son régime alimentaire. Les résultats des bio-essais montrent que les niveaux de risque sont élevés dans les élevages traditionnels et que ce sont surtout les génotypes II et III qui sont isolés dans les pays où ces recherches ont été pratiquées. La contamination des œufs n'a jamais été rapportée dans les conditions naturelles.

La contamination des petits rongeurs, des carnivores, des sangliers et des ruminants sauvages est variable selon les conditions épidémiologiques locales. Tous ces animaux présentent un danger potentiel pour l'homme et les animaux domestiques.

Les mammifères marins sont exposés à des infestations par des oocystes entraînés par les eaux résiduaires ou les eaux pluviales. Les prévalences sérologiques varient selon les régions et des cas mortels de toxoplasmose ont été rapportés.

La deuxième partie (sections F-I) est centrée sur l'évaluation du risque de toxoplasmose lié à l'alimentation.

- ***Les données de la littérature sur la contamination de l'environnement et des aliments par *T. gondii*, les techniques de mise en évidence des différentes formes parasitaires dans les matrices alimentaires et sur leur résistance aux agents physiques et chimiques sont successivement abordées***

Contamination environnementale (section F)

Les oocystes émis dans les fèces de félinés sont disséminés dans l'environnement et peuvent contaminer les eaux de surface, le sol et les fruits et légumes au contact de la terre. Dans tous ces supports, la présence des oocystes est suspectée sur des arguments indirects (cas groupés ou épidémies de toxoplasmose à partir de l'eau ou du sol, contamination d'animaux herbivores, de poulets ...) mais la mise en évidence directe des oocystes n'a été faite que dans le sol. Cependant, la présence d'ADN de *T. gondii* a récemment été démontrée dans les eaux de surface.

Expérimentalement, il a été montré que les oocystes étaient résistants aux températures usuelles en milieu naturel, que ce soit dans l'eau (y compris l'eau de mer), le sol ou les matières fécales. Ainsi, les oocystes non sporulés ne perdent pas leur infectiosité après conservation à +4°C pendant des durées prolongées, ils peuvent même sporuler dans l'eau de mer. Les durées de survie et d'infectiosité des oocystes sporulés peuvent excéder 1 an en milieu naturel, le froid n'altère pas leur infectiosité et la congélation peut ne pas être suffisante pour les tuer. Par contre, leur infectiosité diminue sensiblement pour des températures >35°C et sous l'effet de la sécheresse. Aucune étude n'a été faite sur les boues (en particulier résiduaires).

Contamination des aliments (section G)

Très peu de données sont disponibles concernant la présence de *T. gondii* dans les aliments et il n'existe pas à l'heure actuelle, de système de surveillance dans les denrées alimentaires. Les viandes de boucherie (porcs, moutons essentiellement, bovins moins fréquemment) et la volaille peuvent contenir des kystes de *T. gondii*. Les kystes demeurent

infectants dans des carcasses réfrigérées à 4°C probablement aussi longtemps que la viande demeure consommable pour l'homme. Les plats cuisinés à base de viande (charcuterie et viande fumée) peuvent plus rarement contenir des kystes de *T. gondii*, mis en évidence par bio essais ou plus récemment par PCR. La contamination des légumes et celle des mollusques (huîtres, moules) est possible expérimentalement par des oocystes de *T. gondii* mais n'a pas été démontrée dans des échantillons naturels ou commercialisés. La contamination par des oocystes via l'eau de boisson a été suspectée lors d'épidémies récentes, cependant la présence de *T. gondii* n'a jamais été retrouvée (absence de recherche ou recherche tardive). La contamination du lait demeure exceptionnelle : de rares cas ont été rapportés avec du lait de chèvre non pasteurisé.

Le peu de données dont nous disposons est à relier aux difficultés techniques de la mise en évidence de *T. gondii* dans l'eau et les aliments, en rappelant que ce parasite ne se cultive qu'en culture cellulaire, technique inapplicable sur des échantillons alimentaires ou environnementaux.

- Dans les denrées d'origine animale, la recherche de parasites (kystes) est habituellement faite par inoculation à la souris et doit être précédée par une digestion enzymatique. Aucun protocole standardisé n'est pour l'instant validé pour une surveillance sanitaire. La PCR a récemment été proposée, mais sa sensibilité comparativement aux bio-essais n'est pas évaluée.
- Dans l'eau, la recherche de *T. gondii* ne concerne que les oocystes et se heurte à plusieurs difficultés: le petit nombre d'oocystes probablement présent dans l'environnement du fait de leur dilution, la confusion possible avec les oocystes d'*Hammondia*, la résistance de la paroi des oocystes, et le manque de technique ou de réactifs adaptés pour *T. gondii*. Plusieurs techniques d'enrichissement sont actuellement proposées (filtration, flottation) en préalable à la détection par examen microscopique (autofluorescence des oocystes), par bio-essai sur la souris ou par PCR. Récemment, une méthode par séparation immunomagnétique a été mise au point. Sur les végétaux, il n'existe aucune méthode spécifique pour détecter les oocystes de *T. gondii*.

Plusieurs techniques sont proposées pour la recherche et l'estimation de la viabilité de *T. gondii* dans les aliments ou dans l'eau, mais aucune n'est actuellement normalisée. L'inoculation à la souris reste la technique de référence, mais le taux d'infectiosité peut varier entre 1 et 100 selon la voie d'inoculation et le stade inoculé. La voie intra-péritonéale est recommandée, car plus sensible quelque soit le stade parasitaire inoculé. L'inoculation au chat aurait une sensibilité supérieure mais reste d'exécution plus difficile. La culture cellulaire est très peu appliquée de même que les techniques de biologie moléculaire (RT-PCR) qui sont encore très peu utilisées et d'interprétation difficile.

Résistance aux agents physiques et chimiques (Section H)

Les données de résistance/sensibilité des différents stades parasitaires du toxoplasme sont souvent limitées et d'interprétation difficile en fonction des paramètres expérimentaux.

Les kystes sont tués par une température de 67°C et par une congélation à -12°C pendant au minimum 3 jours ; appliquée à une pièce de viande, cette durée de congélation peut être insuffisante si la pièce est épaisse. Ils restent infectants après plusieurs semaines à 4°C. Leur infectiosité est maintenue pendant 2 heures en milieu très acide. En raison de résultats expérimentaux contradictoires à propos de l'action de la concentration en NaCl, l'inactivation par des concentrations salines de 2% à 3% pendant 48 heures ne peut être considérée comme certaine.

Les oocystes sporulés sont tués par une température de 60°C appliquée pendant 1 minute ; une congélation, même à -20°C, est insuffisante pour inactiver complètement les oocystes, ce qui rend la congélation inapplicable pour garantir la non infectiosité des végétaux. Ils résistent longtemps en milieu très acide et en milieu alcalin. Comme les oocystes d'autres coccidies, ils sont très résistants à de nombreux agents utilisés pour la désinfection, dont l'eau de Javel.

Les tachyzoïtes sont des formes plus fragiles : ils sont détruits par l'eau pure, mais peuvent persister plusieurs jours dans des liquides physiologiques comme le lait à 4°C ; ils sont détruits par la pasteurisation.

Parmi les autres procédés pouvant être utilisés dans le traitement des aliments, seule l'ionisation à une dose minimale de 0,5kGy a été recommandée. Les autres modes de traitement (micro-onde, salaison, fumaison) n'ont pas une efficacité certaine.

Appréciation quantitative du risque lié à l'alimentation (AQR) (section I)

Les données parasitologiques et épidémiologiques recueillies dans les sections A-H ont été exploitées pour entreprendre une démarche d'appréciation quantitative du risque de toxoplasmose lié à l'alimentation.

Dans ce cadre, le principal objectif d'une AQR serait l'évaluation de l'impact de la consommation de tels ou tels aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés ou de telle ou telle mesure de prévention sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale.

Un premier constat confirme qu'en France les connaissances sont insuffisantes sur un certain nombre de points critiques : données de contamination et modes de consommation des femmes enceintes, efficacité de procédés d'abattement et données permettant d'établir une relation dose-infection fiable. L'acquisition de données sur la contamination des aliments serait une première étape indispensable, envisageable en France par la mise en place d'un plan d'échantillonnage ou de surveillance des aliments, associés à une ou plusieurs études épidémiologiques au niveau des élevages, en utilisant des tests de dépistage adaptés.

De plus, pour des raisons éthiques, l'élaboration d'une relation dose-infection n'est pas envisageable chez l'homme à partir d'études expérimentales chez des volontaires sains, et les données épidémiologiques issues de l'analyse de cas individuels ou groupés de toxoplasmose sont insuffisantes.

Dans un premier temps, nous avons donc tenté d'établir une relation dose-infection à partir des données expérimentales chez l'animal. Un modèle de type exponentiel, s'ajustant bien à la plupart des données publiées, a été élaboré afin de comparer les relations dose-infection obtenues pour les oocystes et les bradyzoïtes de différentes souches et génotypes de *T. gondii* et pour différentes espèces animales. L'extrapolation à l'homme de la relation dose-infection établie chez l'animal ne serait cependant envisageable que si des données complémentaires étaient acquises sur les souches de génotype II (prédominant chez l'homme) et sur leur infectiosité dans plusieurs espèces animales.

Pour la toxoplasmose congénitale, les relations infection-transmission-maladie sont bien documentées, à partir de données épidémiologiques humaines. Une étude de sensibilité indique qu'elles ne seraient donc pas un facteur limitant à la mise en place d'une démarche d'AQR pour de faibles doses de contamination. Les résultats obtenus sur les relations dose-infection, devraient aussi pouvoir être validés au regard des données d'incidence annuelle de la toxoplasmose chez l'homme.

Dans un deuxième temps, en complément de l'approche expérimentale animale que nous avons tentée sur la relation dose-infection, nous proposons un modèle d'AQR qui, sur le plan conceptuel, permet de comprendre de façon globale le processus de contamination et de mettre en évidence les besoins de connaissances.

Le modèle proposé a pour objectif de décrire l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Il permettrait d'évaluer l'impact de différentes mesures de gestion (vaccination des cheptels, information des femmes enceintes) sur l'incidence annuelle attendue de la toxoplasmose congénitale.

Une approche quantitative peut être tentée, même partiellement, à partir de ce modèle. Dans un premier temps cela permettrait de quantifier les besoins prioritaires de connaissances par une analyse de sensibilité. Au fur et à mesure de l'acquisition des connaissances, le modèle

pourrait être peu à peu complété et validé. Ceci permettra alors de répondre de façon pertinente sur l'efficacité de différentes mesures de gestion.

La troisième partie (sections J et K) traite des différentes mesures de prévention et de l'évaluation de leur efficacité

- **Cadre réglementaire (section J)**

Dans la **section J**, les aspects législatifs et réglementaires concernant le dépistage de la toxoplasmose humaine et animale sont résumés

En France, le législateur a rendu obligatoire le dépistage et la surveillance de la toxoplasmose (décret du 14 février 1992) chez les femmes enceintes avant la fin du premier trimestre de grossesse ce qui demeure une spécificité française. Au niveau européen les pratiques ne sont pas harmonisées, les états membres favorisant soit des mesures incitatives de dépistage soit de simples recommandations en direction de populations ciblées.

Sur le plan vétérinaire, il n'existe à l'heure actuelle aucun dispositif de dépistage de la toxoplasmose animale, y compris lors de l'examen de salubrité des viandes à l'abattage. Sur le plan international, la toxoplasmose ne fait pas partie des zoonoses à déclaration obligatoire dans les cheptels mais récemment, la directive européenne 2003/99/CE vient de renforcer le dispositif en classant la toxoplasmose parmi les zoonoses à surveiller en fonction de la situation épidémiologique.

- **Mesures de prévention ; évaluation (section K)**

La gravité potentielle de la toxoplasmose humaine rend primordiales les mesures de prévention contre cette maladie. Les différentes mesures envisageables (dont le vaccin) ou appliquées sont détaillées dans la **section K**, avec leur intérêt et leurs limites.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin humain. Toutefois, ce mode de prévention est envisageable du fait de la forte immunité cellulaire et humorale induite par *Toxoplasma gondii*. Un vaccin vivant atténué est commercialisé pour le mouton. Son efficacité porte essentiellement sur la prévention des avortements toxoplasmiques. Chez l'homme, l'expérimentation des vaccins ADN pourrait amener d'importants progrès dans la prévention vaccinale de la maladie.

Actuellement, les mesures de prévention primaire représentent l'unique mode de protection des femmes enceintes réceptives à la toxoplasmose (séronégatives). Une liste de recommandations a été publiée dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) de 1996. Ces mesures sont toujours valables mais doivent être actualisées.

A la lumière des données actualisée recueillies dans le rapport, le groupe de travail a estimé que les mesures préventives portant sur la cuisson de la viande, l'hygiène des mains, le lavage des crudités et les précautions concernant la manipulation de la litière des chats sont essentielles et doivent être maintenues. D'autres mesures peuvent être proposées, notamment la surgélation de la viande. La recommandation de limiter la consommation des crudités en dehors du domicile et de ne pas consommer des mollusques crus relève de la précaution.

A l'heure actuelle, aucune mesure concernant l'eau de boisson n'apparaît justifiée. En effet, bien que le rôle de l'eau en tant que véhicule des formes infectantes (oocystes) soit probable, la contamination des ressources d'eau et l'éventualité d'une contamination de l'eau de boisson restent à établir et doivent faire l'objet d'une évaluation complémentaire.

Evaluation de l'efficacité des recommandations

En France, les recommandations hygiéno-diététiques de prévention ont fait l'objet d'une diffusion auprès du grand public (carnet de maternité) et des personnels médicaux, mais on ignore comment elles ont été relayées et appliquées. De nombreuses recommandations non

officielles et pas toujours scientifiquement étayées sont disponibles, en particulier sur internet. Leur hétérogénéité provoque une confusion qui nuit à leur efficacité.

Un effort d'information doit être fait auprès des femmes : des recommandations de prévention primaire, officielles, régulièrement mises à jour et présentées de façon compréhensive et attractive, utilisant des supports d'information modernes devraient être disponibles auprès des professionnels de santé mais également auprès des femmes enceintes elles-mêmes.

Parallèlement, l'impact de ces recommandations doit être évalué. A ce jour, quatre études ont été réalisées en France entre 1990 et 1999 sur le niveau de connaissances des femmes enceintes sur la toxoplasmose. Les résultats montraient que la proportion des participantes connaissant au moins deux modes de prévention de la toxoplasmose variaient entre 35 et 96%. Malgré cela, la connaissance des mesures de prévention n'a pas toujours conduit à leur application. L'efficacité des programmes d'information a été évaluée au Canada, en France, en Hollande et en Belgique au cours de la période 1976-1989. Trois études observationnelles concluaient à un impact positif des programmes sur l'incidence des séroconversions. Une 4^{ème} étude, randomisée, montrait une application de certains comportements mais n'avait pas la puissance suffisante pour montrer un impact significatif sur les séroconversions. Une étude récente réalisée en France auprès de 3000 femmes enceintes ne semble pas confirmer l'efficacité d'un programme d'information. Si les modes de contamination et de prévention étaient bien connus de la plupart des participantes, leur application restait faible et la modification des comportements n'était pas liée au fait d'avoir reçu ou non une information spécifique en début de grossesse.

Ce constat montre bien l'effort qu'il reste à faire dans le domaine de l'information et de l'évaluation de l'observance et de l'impact des recommandations, justifiant la mise en place d'une initiative nationale, concertée entre les différents professionnels de santé en charge de la prévention des infections congénitales.

Chez les patients immunodéprimés, les mesures de prévention de la toxoplasmose sont mieux définies et diffusées. La prévention de la contamination repose sur les mêmes mesures que celles préconisées pour la prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte. Chez les patients très immunodéprimés et séropositifs pour la toxoplasmose la prévention des réactivations par chimioprophylaxie (cotrimoxazole) est largement appliquée et efficace.

Enfin, dans le cadre professionnel, la toxoplasmose ne représente un risque infectieux important que pour les personnels travaillant dans les laboratoires et directement exposé aux parasites, justifiant l'interdiction stricte de toute manipulation de *T. gondii* par des femmes enceintes séronégatives. Pour les personnels des professions de santé, le risque de contamination par *T. gondii* est moindre, mais doit être prévenu par l'application des mesures d'hygiène de base qui sont recommandées pour la prévention des autres risques infectieux (hygiène des mains, port de gants ...). Pour les autres professions (agro-alimentaire notamment), la toxoplasmose ne justifie pas d'autres mesures de prévention que les mesures d'hygiène habituellement appliquées dans ces professions (lavage des mains en particulier).

Conclusions et recommandations

L'objectif principal de ce rapport était de recueillir et d'analyser les données scientifiques permettant d'apprécier le risque de toxoplasmose lié à l'alimentation et d'apporter aux autorités sanitaires les éléments de décision pour la promotion d'actions de prévention adaptées, notamment celle de la toxoplasmose congénitale.

Il a permis de faire un état du niveau des connaissances en France et l'étranger, mais aussi d'identifier de nombreux déficits d'information, qui justifieraient des initiatives d'organisation, de communication ou de recherche (fondamentale et appliquée).

Ceci a conduit le groupe de travail à identifier plusieurs domaines d'investigation ou d'action prioritaires, détaillés suivant trois propositions :

- Mieux évaluer le niveau de contamination par *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau, notamment pour estimer la part respective des types d'aliments dans l'infection humaine. Cet axe de travail associe le développement de techniques sensibles de détection des parasites dans les matrices alimentaires et dans l'environnement et la mise en place de plans d'échantillonnage permettant une estimation fiable des taux de contamination.
- Mettre en place une démarche d'appréciation quantitative du risque centrée sur l'évaluation de l'impact de la consommation d'aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Compte tenu des difficultés de cette analyse, la priorité doit être donnée à l'acquisition de données fiables sur la relation dose-infection et dose maladie en fonction des génotypes parasites et sur la quantification de la charge parasitaire dans les aliments contaminés.
- Améliorer l'information sur la toxoplasmose et sa prévention, en associant d'une part une actualisation et une reformulation des recommandations de prévention de la toxoplasmose, et d'autre part une campagne d'information auprès des femmes enceintes avec diffusion de ces recommandations actualisées et une évaluation de l'efficacité de cette campagne d'information.

Annexes et bibliographie

Le rapport est accompagné de plusieurs annexes. Les Annexes I et II apportent des éléments d'information sur la méthode d'analyse des paramètres de la relation dose-réponse et les données de parasitologie expérimentale qui ont permis de l'établir. L'Annexe III présente les données de consommation en eaux, viandes, fruits et légumes susceptibles d'héberger le parasite *Toxoplasma gondii*. L'Annexe IV résumé les informations disponibles sur les modes de cuisson des viandes en France. L'Annexe V présente les mesures et définitions des niveaux de confinement minimum à mettre en oeuvre dans les laboratoires manipulant le parasite.

Les 1028 références bibliographiques cités dans le rapport sont réparties à la fin de chaque question.

Summary of the report

Toxoplasmosis caused by *Toxoplasma gondii* is a common infection in France: approximately 50% of the adult population is infected and it is estimated that between 200,000 and 300,000 new infections occur every year, including 2700 cases in pregnant women.

The severity of this infection lies in the risk of foetal transmission of the parasite when contamination occurs during pregnancy, with an estimated number of 600 cases of congenital toxoplasmosis annually, 175 with sequellae. This severity is also related to the delayed risk of reactivation of a previously acquired infection, in situations of immunodepression. The number of cases of cerebral toxoplasmosis in patients infected with HIV is still currently 200 per year.

Since 1978 France has put in place a number of regulatory provisions with the objective of achieving the serological screening of women exposed to a risk of infection with *T. gondii* and carrying out serological monitoring of seronegative women throughout their pregnancy. These women also receive information on the hygiene and dietary precautions to be taken to reduce the risk of contamination.

In immunodepressed patients, serological screening for toxoplasmosis is recommended and the administration of chemical prophylaxis is advised in subjects seropositive for toxoplasmosis in cases of very pronounced immunodeficiency.

Despite these measures, the severe forms of toxoplasmosis (congenital infection, cerebral toxoplasmosis in immunodepressed subjects) continue to occur frequently and justify the proper application of measures to prevent contamination.

Within this context, a multidisciplinary working group was set up within AFSSA, bringing together several specialists in medical parasitology, an infectious diseases specialist (AFSSA), a specialist in veterinary parasitology (ENV, AFSSA, representing the "Animal Health" Specialist Expert Committee), an epidemiologist (InVS) and a representative from the Direction Générale de la Santé [Directorate General for Health].

The working group defined a number of objectives, the principal one being to assess the risk of food-borne toxoplasmosis

As a first step, the experts conducted an extensive review of the literature on all the elements which can be involved in the contamination of water or food with *T. gondii* and then analysed the available data on the effectiveness of water treatment procedures and of packaging and cooking (in the case of foodstuffs) in controlling the parasite.

The experimental and epidemiological data gathered from the literature were then used to begin a process of quantitative risk assessment, with the aim of enabling an estimation of the implication or impact of the consumption of potentially contaminated foods on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and on congenital toxoplasmosis. Finally, the accumulated data were used to review the pertinence and the conditions of application of the preventive measures currently recommended.

The option of a format based on structuring questions was retained, as a way of facilitating access to specific information.

The first part of the document (Sections A-F) presents a summary of the latest bibliographic data on the parasite and its epidemiology, in humans and in animals.

- ***The parasitological data on *Toxoplasma gondii* are gathered together in Section A***
Toxoplasma gondii is an intracellular protozoa, belonging to the Coccidae family. There are 3 infectious stages of *Toxoplasma gondii*: tachyzoites, a form multiplying rapidly in the acute phase of the infection; bradyzoites in latent cysts in tissue and sporozoites in oocysts. These

stages are linked in a complex life-cycle. The definitive hosts (cats and other felines) are principally contaminated by eating the infected meat of the intermediate hosts and excrete oocysts into the external environment (soil, water). The intermediate hosts (all the homeotherms, mammals as well as birds) harbour host tissular cysts in their muscles and brain, and represent a source of contamination through carnivorousism for the definitive hosts but also for the other intermediate hosts. Three main genotypes of *T. gondii* have been identified in Europe and North America in humans and domestic animals; recombinant or atypical genotypes have been found in biotopes isolated from human influence. In France, genotype II is widely predominant in humans.

- ***Clinical signs, methods of diagnosis and treatment of toxoplasmosis in humans and animals are dealt with in Section B***

In humans, toxoplasmosis is a generally benign infection in immunocompetent subjects. The severe forms are mainly observed in cases of congenital infection and in immunocompromised patients, but may also be observed in immunocompetent subjects with particular genotype strains.

In cases of infection during pregnancy, there is a risk of maternal-foetal transmission (29%) and of congenital toxoplasmosis. This risk increases with the term of pregnancy at the time of the maternal infection, reaching 80% at the end of the third trimester. The clinical signs of congenital toxoplasmosis are very diverse (principally neurological and ocular) and of variable severity depending on when contamination occurred; ocular lesions have an unpredictable potential for development. In immunocompromised patients (AIDS, bone marrow transplant recipients, T-cell deficient patients), cerebral localisations are the most frequent, and most often fatal without treatment.

Depending on the clinical context, the biological diagnosis of toxoplasmosis is achieved by serology and/or by the demonstration of the parasite or the parasitic DNA. Treatment is based on several types of drugs, which act only on the tachyzoites and not on the cysts. This lack of effectiveness on the cysts means that the parasite cannot be eradicated from tissue. Treatment is only justified in cases of congenital toxoplasmosis (antenatal treatment, then for the child), ocular toxoplasmosis and in cases of severe toxoplasmosis in immunodepressed subjects. Chemical prophylaxis is only justified in immunocompromised patients who have a severe immune deficiency and who are seropositive for toxoplasmosis.

In animals toxoplasmosis is an infection extensively affecting mammals and birds. The clinical signs vary widely between the species. In adult cats, toxoplasmosis following oral infection by cysts or oocysts is generally asymptomatic. Toxoplasmosis in goats and sheep, with few symptoms, is characterised by a strong prevalence of foetal transmission, frequently responsible for abortions.

In other food-producing species (pigs, cattle, horses), toxoplasmosis is subclinical or with few symptoms. There is a risk of foetal transmission but this seems much lower than in sheep or goats. Domestic and wild birds are frequently infected. Toxoplasmosis can be severe in some species. The biological diagnosis of toxoplasmosis in animals is rarely done in current veterinary practice: it remains restricted to studies of seroprevalence and to aetiological research into sheep abortion.

- ***The physiopathological aspects of toxoplasmosis, and the factors involved in the virulence of the infection and its control are covered in Section C***

The lesions observed in toxoplasmosis are directly linked to the proliferation of the tachyzoites and the lysis of the cells they infect. The cysts (containing bradyzoites) do not directly cause tissular lesions but are likely to reactivate. Following oral infection, the parasite spreads haematogenically (short duration parasitaemia) and lymphatically; during this phase adenopathy is observed in 10 to 20% of cases, characterised by severe follicular hyperplasia, but without necrosis. The infection of tissue, consecutive to the parasitaemia, is generally asymptomatic in immunocompetent subjects. Encephalitis and retinochoroiditis lesions are mainly observed in cases of congenital infection or in immunocompromised

patients: these consist of areas of necrosis combined with a severe inflammatory reaction. Multi-organ damage is also possible (lungs, heart, liver) in these patients. In pregnant women, the parasitaemia may result in contamination of the placenta and then the foetus. In the infected foetus, toxoplasmosis is a disseminated infection, resulting in multi-organ damage combining foci of necrosis and inflammation. The effects on the brain may combine vasculitis, thromboses and calcifications. These lesions may be secondarily responsible for hydrocephaly. Ocular damage, involving the retina, is frequent.

The pathogenicity factors for *T. gondii* have been well characterised in animals but their respective roles are proving difficult to establish in humans. The genotype of the infectious strain is the principal pathogenicity factor in mice: genotype I very virulent, genotypes II and III avirulent or showing intermediate virulence. In France, genotype II is the most frequently found in humans, both in congenital toxoplasmosis and in immunodepressed hosts.

Control of toxoplasmosis infection is dependent on both host immunity and its genetic terrain. T cell immunity plays a predominant role. Toxoplasmic infection induces a cascade of cell activations and the production of predominantly Th1 cytokines, since interferon plays an essential role in macrophage activation and in the induction of effector mechanisms impacting on the parasite or the parasitised cells. Any severe deficiency in cell immunity (iatrogenic or resulting from an associated illness) may favour the occurrence of severe toxoplasmosis through the reactivation of cysts acquired during a previously acquired infection.

- ***The epidemiology of human toxoplasmosis is covered in Section D***

Toxoplasmosis is a worldwide parasitosis, with a seroprevalence varying from one country to another (7 to 80%) and sometimes within a single country. Prevalences below 30% are principally observed in North America, Great Britain, Scandinavia and Southeast Asia. Prevalences higher than 60% are principally observed in Africa and Latin America. In France, seroprevalence was high for a long time (82% in 1960, 66% in 1982), but it has fallen steadily over the last 40 years to 54% in 1995 and 44% in 2003, with regional variations yet to be fully explained. Climatic conditions, and other risk factors associated with lifestyle and diet, have been put forward to explain the differences in prevalence in these countries.

A number of epidemiological studies have enabled identification of the principal risk factors for the acquisition of toxoplasmosis. They agree on the existence of a risk from poor hand hygiene, the consumption of poorly cooked meat and the consumption of badly washed raw vegetables. However, although the risk from handling cat litter has been well identified, ownership of a cat is not considered as a risk factor in a number of studies. Dietary origin is also a factor in the majority of episodes of grouped cases of toxoplasmosis with a common source of contamination; raw meat is the food most often to blame. Despite this consistent information on the risk from food, the respective part played by different types of foods, or by the environment, in human contamination, has not yet been defined.

It should also be noted that an epidemic attributed to the mains water supply occurred in Canada in 1994/95, responsible for an estimated 3000-7000 cases.

The incidence of toxoplasmosis in the general population is difficult to evaluate since the infection is usually asymptomatic. In France, the annual number of new infections, estimated by modelling based on prevalence data from the French Perinatality 1995 study, is between 200,000 and 300,000 cases with some 30,000 to 45,000 symptomatic cases. More precise data have been obtained from immunocompromised patients (AIDS) with present severe clinical forms, subject to notification. The number of declared cases of toxoplasmosis as the inaugural infection in AIDS patients is approximately 200 per year, after a marked drop between 1992 (800 cases) and 1997 (250 cases).

All the data on the incidence of toxoplasmosis during pregnancy originate from systematic serological monitoring. The incidence of toxoplasmosis in seronegative pregnant women fell sharply between 1960 (approximately 40 cases/1000 seronegative women) and 1995

(between 5.4 and 13.2 cases/1000 seronegative women). Since seroprevalence fell markedly during the same period, the number of seronegative women increased, and the ratio of infections to total pregnancies remained between 2.4 and 5.8 cases/1000 pregnancies in 1995.

Using a complementary approach (based on the number of amniocentesis performed because of maternal infection during pregnancy) the number of seroconversions in pregnant women was estimated at 2700 in the year 2000. Based on firstly the amniocentesis results and secondly the risk of maternal-foetal transmission (29%), the number of infants born alive with congenital toxoplasmosis was estimated at 600 cases. By referring to the data from cohort studies of infected infants, it was estimated that, out of 600 cases, 174 infants would have sequelae, including 11 with hydrocephalus and 145 with retinochoroiditis.

- ***The epidemiology of animal toxoplasmosis is dealt with in Section E***

Cats and wild felines are responsible for the spread of *Toxoplasma gondii* in the environment. Following their infestation through the consumption of infected prey or sporulated oocysts, they eliminate very large quantities of oocysts in their faeces for a few days. These are the source of the contamination for herbivorous or omnivorous animals which ingest feed soiled by feline excrement containing sporulated oocysts. Carnivores are infested by preying on herbivores or omnivores carrying the parasite.

The seroprevalence of toxoplasmosis varies widely in cats, depending on their lifestyle and diet, since some city-dwelling cats are no longer able to hunt and only consume sterilised industrial feeds. It is estimated that 1% of cats are oocyst excretors at any given time. The excretion of oocysts occurs for a short period of time but it is very productive. Reactivations of the excretion are possible but unpredictable. Co-infection with feline immunodeficiency virus (FIV) or feline leukaemia virus (FeLV) might increase the risk of toxoplasmosis in cats.

Serological prevalence is high in all populations of wild felines examined and more than seventeen species are capable of eliminating oocysts.

Prevalence of toxoplasmosis varies in farm livestock. It is highest in sheep and causes a high level of abortion. The seriousness of the infection has prompted the development of a vaccine for use in ewe lambs. Goats are infected less frequently but their unpasteurised milk can be a vehicle for *Toxoplasma*. Contamination in pigs is very variable, depending on their lifestyle (outdoors or indoors) and on their diets, animals fed on food waste being the most exposed.

Cattle present relatively low levels of seroprevalence, but these are often unreliable, depending on the serological method used for each species. Different studies show that beef is rarely infected. The presence of the *Toxoplasma* has never been reported in cow's milk other than experimentally.

Seroprevalence is low in horses, but the muscular cysts persist for over a year.

In birds, infection rates vary. Poultry is a good indicator of environmental contamination due to their diet. Bio-assay results show that levels of risk are high on traditional farms; it is mainly genotypes II and III which are isolated in the countries where this research has been conducted. Contamination of eggs has never been reported in natural conditions.

The contamination of small rodents, carnivores, boars and ruminants in the wild varies according to local epidemiological conditions. All these animals pose a potential hazard to humans and domestic animals.

Marine mammals are exposed to infestations by oocysts carried in sewage residues or rainwater. Serological prevalence varies between regions and *Toxoplasma* related mortality has been reported.

The second part (Sections F-I) focuses on assessing the risk of food-borne toxoplasmosis.

- ***The data in the literature on contamination of the environment and of foodstuffs with *T. gondii*, the techniques for demonstrating the different parasitic forms in food matrices and data on their resistance to chemical and physical agents are covered successively***

Environmental contamination (Section F)

The oocysts emitted in feline faeces are disseminated in the environment and can contaminate surface water, soil and fruit and vegetables in contact with soil. In all these media, the presence of oocysts is suspected on the basis of indirect reasoning (grouped cases or epidemics of toxoplasmosis from the water or soil, contamination of herbivorous animals, chickens...) but the direct demonstration of oocysts has only been achieved in soil. However, the presence of *T. gondii* DNA was recently demonstrated in surface water.

It has been shown experimentally that oocysts are resistant to customary temperatures in the natural environment, whether in water (including sea water), soil or faecal matter. This means that oocysts do not lose their infectivity after storage at +4°C for prolonged periods and they can even sporulate in sea water. Survival and infectivity periods for sporulated oocysts can exceed 1 year in the natural environment, the cold does not alter their infectivity and freezing may not be enough to kill them. However, their infectivity is markedly reduced at temperatures >35°C and under the effects of drought. No study has been conducted on sludge or slurry (in particular sewage sludge).

Contamination of food (Section G)

Very few data are available on the presence of *T. gondii* in food and there is currently no surveillance system in place for foodstuffs. Butcher's meat (mainly pork, lamb, beef less frequently) and poultry meat can contain *T. gondii* cysts. The cysts remain infectious in refrigerated carcasses probably as long as the meat remains suitable for human consumption. Ready meals based on meat (charcuterie products and smoked meat) can more rarely contain *T. gondii* cysts, demonstrated in bio-assays or more recently by PCR. The contamination of vegetables and shellfish (oysters, mussels) with *T. gondii* oocysts is possible experimentally, but has not been demonstrated in natural or commercial samples. Oocyst contamination of drinking water has been suspected in recent epidemics, however the presence of *T. gondii* has never been shown (lack of research or research too late). Contamination of milk remains exceptional: some rare cases have been reported with unpasteurised goat's milk.

That few data are available is due to the technical difficulties of demonstrating *T. gondii* in water and food, remembering that this parasite can only be grown in a cell culture, a technique not applicable to food or environmental samples.

- In foodstuffs of animal origin, testing for parasites (cysts) is usually done by mouse inoculation and has to be preceded by enzymatic digestion. At the present time, no standardised protocol has been validated for health monitoring purposes. PCR has recently been proposed, but its sensitivity compared with bio-assays has not been evaluated.
- In water, testing for *T. gondii* concerns oocysts only and comes up against a number of difficulties: the low number of oocysts probably present in the environment due to their dilution, the possible confusion with the oocysts of *Hammondia*, the strength of the oocyst wall and the lack of technique or reagents suitable for *T. gondii*. Several enrichment techniques are currently being proposed (filtration, flotation) prior to detection by microscopic examination (autofluorescence of oocysts), by mouse bio-assay or PCR. A method based on immunomagnetic separation has recently been developed.

- There is currently no specific method for detecting the oocysts of *T. gondii* on vegetables.

Several techniques have been proposed for detecting and estimating the viability of *T. gondii* in food or water, but none has yet been standardised. Mouse inoculation remains the reference technique but the level of infectivity may vary between 1 and 100 depending on the route of inoculation and the stage inoculated. The intra-peritoneal route is recommended since it is more sensitive whatever parasite stage is inoculated. A bio-assay using cats fed with food samples would have greater sensitivity but remains more difficult to carry out. Cell culture is rarely applied and molecular biology techniques (RT-PCR) are still used very little and difficult to interpret.

Resistance to physical and chemical agents (Section H)

The data on the resistance/sensitivity of the different parasite stages of *T. gondii* are often limited and difficult to interpret based on experimental parameters.

The cysts are killed at a temperature of 67°C and by freezing at –12°C for a minimum of 3 days; applied to a piece of meat, this period of freezing may be insufficient if the piece is thick. They remain infectious after several weeks at 4°C. Their infectivity is maintained for 2 hours in a highly acid medium. Due to contradictory experimental results regarding the action of the concentration in NaCl, inactivation by saline concentrations of 2% to 3% for 48 hours cannot be considered certain.

The sporulated oocysts are killed by a temperature of 60°C applied during 1 minute; freezing, even at –20°C, is not sufficient to completely inactivate the oocysts, making freezing inapplicable for guaranteeing the non-infectivity of contaminated vegetables. They can withstand highly acid and highly alkaline environments for a long time. Like the oocysts of other Coccidae, they are highly resistant to many of the agents used for disinfection, including bleach.

Tachyzoites are more fragile forms: they are destroyed by pure water, but can persist for several days in physiological liquids such as milk at 4°C; they are destroyed by pasteurisation.

Among the other conditions which can be used for treating food, only ionisation at a minimum dose of 0.5kGy has been recommended. The other treatment methods (microwave, salting, smoking) are not certain to be effective.

Quantitative risk assessment for foods (QRA)(Section I)

The parasitological and epidemiological data collected in Sections A-H were exploited to undertake a quantitative assessment of the risk of toxoplasmosis from food.

In this context, the principal objective of a QRA is to evaluate the impact of the consumption of foods which are potentially contaminated, or a specific prevention measure, on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and on congenital toxoplasmosis.

An initial observation confirmed that in France there is insufficient knowledge on a certain number of critical points: contamination data and modes of consumption in pregnant women, effectiveness of the reduction procedures and data enabling the establishment of a reliable dose-infection relationship. The acquisition of data on the contamination of foods is an essential first stage, envisageable in France through the putting in place of a sampling plan or a food surveillance plan, combined with one or more epidemiological studies on farms, using appropriate screening tests.

In addition, for ethical reasons, the establishment of a dose-infection relationship is not envisageable in humans based on experimental studies using healthy volunteers and the epidemiological data from the analysis of individual or grouped cases of toxoplasmosis are insufficient.

As a first stage, we therefore attempted to establish a dose-infection relationship from experimental data in animals. An exponential type model, adjusting well to most of the published data, was developed to compare the dose-infection relationships obtained for the

oocysts and the bradyzoites of different strains and genotypes of *T. gondii* and for different animal species. The extrapolation to humans of the dose-infection relationship established in animals is only envisageable, however, if complementary data is acquired on strains of genotype II (predominant in humans) and on their infectivity in several animal species.

For congenital toxoplasmosis, the infection-transmission-disease relationship is well documented, based on human epidemiological data. A sensitivity study indicated that it would not therefore be a restricting factor on the putting in place of a QRA process for low doses of contamination. It should also be possible to validate the results obtained on the dose-infection relationship from the data on the annual incidence of toxoplasmosis in humans.

In a second stage, as an addition to our animal experimental approach to the dose-infection relationship, we are proposing a QRA model which, in conceptual terms, enables an overall understanding of the contamination process and highlights knowledge needs.

The objective of the proposed model is to describe the impact of the consumption of potentially contaminated foods on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and of congenital toxoplasmosis. It would enable an assessment of the impact of different management measures (herd vaccination, information for pregnant women) on the expected annual incidence of congenital toxoplasmosis.

A quantitative approach can be attempted, even partially, based on this model. Initially, this would enable quantification of the priority knowledge needs through a sensitivity analysis. As knowledge is acquired, the model could be completed and validated. This would enable a pertinent response on the effectiveness of different management measures.

The third part (Sections J and K) deals with different preventive measures and the evaluation of their effectiveness

- **Regulatory framework (Section J)**

Section J summarises the legislative and regulatory aspects concerning screening for human and animal toxoplasmosis.

In France, the serological screening of pregnant women before the end of the first trimester and the monitoring of those who are non immune are mandatory by law (Decree of 14 February 1992).

At European level, practices are not harmonised, the Member States favouring either incentivised screening measures or simple recommendations aimed at target populations.

In terms of veterinary medicine, there is currently no system for screening for animal toxoplasmosis, including during the health inspection of meat at slaughter. At international level, toxoplasmosis is not one of the zoonoses whose declaration is compulsory in herds, although recently European directive 2003/99/EC has strengthened this system by classifying toxoplasmosis as one of the zoonoses subject to epidemiological surveillance.

- **Prevention measures; evaluation (Section K)**

The potential gravity of human toxoplasmosis means that prevention measures to control this disease are essential. The various measures envisageable (including a vaccine) or already applied are detailed in **Section K**, with their value and limitations.

At the present time, no human vaccine exists. However, this method of prevention is envisageable due to the strong cell and humoral immunity induced by *Toxoplasma gondii*. An attenuated live vaccine for sheep is on the market. Its effectiveness mainly lies in the prevention of toxoplasmic abortions. In humans, experimentation with DNA vaccines may be the source of major progress in the vaccine prevention of the disease.

Current primary prevention measures represent the sole method for protecting pregnant women open to toxoplasmosis (seronegative). A list of recommendations was published in

the Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) [Weekly Epidemiological Bulletin] in 1996. These methods are still valid but need updating.

Based on the up-to-date data gathered in the report, the working group estimated that the preventive measures, such as the cooking of meat, hand hygiene, the washing of raw vegetables and the precautions concerning the handling of cat litter, are essential and should be maintained. Other measures could be proposed, notably freezing meat. The recommendation to restrict the consumption of raw vegetables outside the home and not to eat raw shellfish would be a precautionary measure.

At the present time, there appears to be no justification for a measure concerning drinking water. In fact, although water does play a likely role as a vehicle for oocysts, the contamination of water sources and the likelihood of contamination of drinking water are yet to be established and should be the subject of an additional assessment.

Assessment of the effectiveness of the recommendations

In France, the hygiene and dietary recommendations for prevention have been widely disseminated to the general public (maternity record book) and medical personnel, but there is no record of how well these have been taken up and applied. A large number of non-official recommendations, not always with a scientific basis, are also available, on the Internet in particular. Their heterogeneity causes confusion, damaging their effectiveness.

An information campaign aimed at women is required: recommendations on primary prevention, which are official, regularly updated and presented in a clear and attractive manner using modern information media, should be available to health professionals and also to the pregnant women themselves.

At the same time, the impact of these recommendations needs evaluating. To date, four studies have been conducted in France, between 1990 and 1999, on the level of knowledge of toxoplasmosis among pregnant women. The results showed that the proportion of respondents aware of at least two methods of preventing toxoplasmosis varied between 35 and 96%. Despite this, awareness of prevention methods has not always resulted in their application. The effectiveness of these information programmes was assessed in Canada, France, Holland and Belgium in the period 1976-1989. Three observational studies found the programmes had a positive impact on the incidence of seroconversions. A 4th study, randomised, found the application of certain behaviours but did not have sufficient power to show a significant impact on seroconversions. A recent study conducted in France on 3000 pregnant women does not appear to confirm the effectiveness of an information programme. While modes of contamination and prevention methods were well-known to most respondents, their application remained at a low level and changes in behaviour were not related to whether or not they had received specific information at the start of pregnancy.

These studies show that considerable work is still waiting to be done in the field of information and on the evaluation of the observance and impact of the recommendations, reason enough to set up a national initiative, agreed between the different health professionals and public health services (InVS, DGS)¹ involved in the prevention of congenital infections.

In immunocompromised patients, toxoplasmosis prevention measures are better defined and disseminated. The prevention of contamination is based on the same measures as those recommended for the prevention of toxoplasmosis in pregnant women. In severely immunocompromised patients, seropositive for toxoplasmosis, the prevention of reactivation using chemical prophylaxis (cotrimoxazole) is widely applied and effective.

Finally, in a professional context, toxoplasmosis only represents a major infectious risk for personnel working in laboratories and directly exposed to the parasite, justifying the strict prohibition of all handling of *T. gondii* by seronegative pregnant women. For health

¹ Invs, Institut de Veille Sanitaire (Health Monitoring Institute), DGS, Direction Générale de la Santé (Directorate General for Health).

professionals, the risk of contamination with *T. gondii* is lower, but must be prevented by the application of the basic hygiene measures which are recommended for the prevention of other infection risks (hand hygiene, wearing gloves ...). For the other professions (notably agriculture and the food industry), toxoplasmosis does not justify further preventive measures other than the hygiene measures habitually applied in these professions (hand washing in particular).

Conclusions and recommendations

The principal objective of this report was to gather together and analyse the scientific data to enable a risk assessment of food-borne toxoplasmosis and to provide the health authorities with the decision-making elements required for the promotion of appropriate prevention campaigns, notably for congenital toxoplasmosis.

It enabled a review of the state of knowledge in France and internationally, and also the identification of a number of gaps in the information available, which would justify organisation, communication and research (fundamental and applied) initiatives.

This has led the working group to identify several priority areas for investigation or action, described based on three proposals:

- Improving the assessment of levels of *T. gondii* contamination in foodstuffs and water, notably to estimate the respective parts played by different types of food in human infection. This area of work combines the development of sensitive techniques for detecting the parasite in food matrices and in the environment and the putting in place of a sampling plan to enable a reliable estimate of levels of contamination.
- Putting in place a quantitative risk assessment process focussing on evaluating the impact of the consumption of potentially contaminated foods on the incidence of toxoplasmosis in pregnant women and on congenital toxoplasmosis. In view of the difficulties of such an analysis, priority should be given to the acquisition of reliable data on the dose-infection relationship and the dose disease relationship based on the parasite genotypes and on quantification of the parasite load in the contaminated foods.
- Improving information on toxoplasmosis and its prevention, by combining the updating and reformulation of the recommendations on toxoplasmosis prevention with an information campaign aimed at pregnant women with dissemination of these updated recommendations and an evaluation of the effectiveness of this information campaign.

Annexes and bibliography

The report is accompanied by a number of annexes. Annexes I and II contain information on the methods for analysing the parameters of the dose-response relationship and the experimental parasitological data on which they are based. Annexe III contains data on the consumption of water, meat, fruit and vegetables which may host *Toxoplasma gondii* parasites. Annexe IV summarises the available information on methods for cooking meat in France. Annexe V contains the measures and definitions of the minimum confinement levels to be implemented in laboratories handling the parasite.

The 1028 bibliographical references quoted in the report are listed at the end of each question.

Introduction

Contexte et justification du projet

La toxoplasmose due à *Toxoplasma gondii* tient une place particulière en France, pour plusieurs raisons d'ordre épidémiologique, scientifique et sanitaire:

- C'est l'une des infections les plus fréquentes dans la population française : environ 50 % de la population adulte est infectée et on estime que 200 000 à 300 000 nouvelles infections surviennent chaque année (2700 cas chez les femmes enceintes), dont 15 à 20% sont symptomatiques. Par ailleurs, c'est une parasitose considérée comme prioritaire dans le programme d'action de l'InVS².
- La gravité de cette infection est liée au risque de transmission fœtale du parasite en cas de contamination en cours de grossesse, avec un nombre de cas estimés de 600 cas de toxoplasmose congénitale par an, dont 175 avec des séquelles³). Cette gravité est aussi liée au risque différé de réactivation d'une infection antérieurement acquise, sous l'effet d'une immunodépression. Sur ce dernier point, d'énormes progrès thérapeutiques ont été réalisés ces dernières années, mais le nombre de cas de toxoplasmoses cérébrales survenant chez les patients infectés par le VIH est encore proche de 200 par an.
- Dans les 2 cas, la contamination initiale s'effectue par voie orale en ingérant, soit des kystes contenus dans de la viande consommée insuffisamment cuite, soit des oocystes souillant le sol, les aliments ou l'eau. La part relative des différents modes de contamination reste mal connue, mais plusieurs études cas-témoin soulignent le risque de contamination alimentaire.
- Le risque épidémique pour la toxoplasmose semble faible mais il n'est pas nul comme l'illustre l'épidémie de 3000 à 8000 cas survenue au Canada en 1993 à la suite d'une contamination probable des ressources en eau potable par des oocystes émis par des félinés sauvages.
- Le risque endémique est par contre élevé si l'on se réfère à la séroprévalence de la toxoplasmose dans la population française. L'une des explications des différences de prévalence observées en France et dans plusieurs pays d'Europe de l'Ouest et du Sud comparativement à d'autres pays voisins et de niveaux d'hygiène comparables, comme l'Angleterre (prévalence 10-15%) serait, dans les pays à forte prévalence, l'habitude de consommer certaines viandes peu cuites. Cependant, on ne peut exclure d'autres facteurs épidémiologiques encore mal connus intervenant sur la circulation des parasites.

En conséquence des risques identifiés, et principalement celui de toxoplasmose congénitale, la France a pris dès 1978 un certain nombre de dispositions réglementaires ayant pour objectif de dépister, par la sérologie, les femmes exposées au risque de contamination par *T. gondii*. Ce dépistage prénuptial et prénatal est accompagné d'un suivi sérologique des femmes séronégatives pendant toute la grossesse. Ces femmes reçoivent par ailleurs une information sur les mesures hygiéno-diététiques à respecter pour réduire le risque de contamination.

Plus récemment, des mesures comparables ont été adoptées, dans le cadre des bonnes pratiques médicales, sur le dépistage sérologique de la toxoplasmose chez les patients

² Invs. Définition des priorités dans le domaine des zoonoses non alimentaires. 2000-2001.

³ La toxoplasmose est la première cause d'uvéite d'origine infectieuse en France aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant (A.Brézin, communication personnelle, 2005)

immunodéprimés et la recommandation de chimioprophylaxie en cas de déficit immunitaire très prononcé.

Parallèlement, les progrès technologiques de ces dernières années dans le domaine de la sérologie parasitaire et du diagnostic moléculaire de la toxoplasmose ont complété ce dispositif réglementaire, en permettant que les infections maternelles et fœtales soient diagnostiquées et prises en charge précocement, conduisant, *in fine* à une forte diminution des formes sévères de toxoplasmose congénitale détectées à la naissance.

Il n'en reste pas moins que la toxoplasmose congénitale n'a pas disparu de notre pays et que les formes cliniques plus modérées actuellement observées sont toujours entachées d'un risque ultérieur de réactivation au niveau oculaire (rétinochoroïdite).

Sur le plan thérapeutique, les progrès ont été modestes dans le domaine de la toxoplasmose congénitale. On ne peut que constater la maigreur de l'arsenal pharmacologique car les molécules utilisées dans le traitement des formes graves (pyriméthamine, sulfamide) ont près de 50 ans et se sont peu renouvelées ; quant aux antibiotiques tels que les macrolides, leur efficacité reste limitée voire contestée dans plusieurs études récentes. Malgré ces limites, l'efficacité du traitement des formes symptomatiques de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé est établie, mais celle de la prévention et du traitement de la toxoplasmose congénitale doit encore être confirmée par des études contrôlées, difficiles à mettre en place.

Il se dégage de ce constat que les mesures de prévention de la contamination gardent une place primordiale et qu'il était indispensable d'en optimiser toutes les composantes, au vu des nouvelles connaissances sur le parasite et son épidémiologie.

Dans ce cadre, le groupe de travail constitué au sein de l'AFSSA a défini plusieurs objectifs, dont le principal est d'évaluer le risque de toxoplasmose lié à l'alimentation:

- Par l'examen de tous les éléments pouvant intervenir dans la contamination de l'eau ou des aliments par *T. gondii*. Une importance toute particulière a été accordée à la contamination des hôtes intermédiaires destinés à la consommation, mais aussi des hôtes définitifs (chats et félinés) en tant que facteurs de dispersion du parasite.
- Par l'analyse des données disponibles concernant l'efficacité des procédés de traitement de l'eau et de conditionnement ou de cuisson des aliments sur le parasite.
- Par l'initiation d'une démarche d'appréciation quantitative de risque, dans le but de pouvoir estimer l'implication ou l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale.

La réalisation de ces objectifs a conduit à effectuer un recensement des connaissances sur le parasite (biodiversité, facteurs de virulence), faire le point sur la situation épidémiologique de la toxoplasmose en France et à examiner la pertinence et les conditions d'application des mesures de prévention actuellement recommandées.

Au final, ce travail avait pour but de mettre à disposition des gestionnaires de santé les éléments scientifiques d'aide à la décision pour l'évaluation et l'optimisation des moyens de prévention de la toxoplasmose, en particulier chez la femme enceinte.

Organisation du travail du groupe

Un groupe multidisciplinaire a été constitué, composé de médecins parasitologues, d'une infectiologue (AFSSA), d'un vétérinaire parasitologue (ENV, AFSSA, représentant le CES « Santé Animale »), d'une épidémiologiste (InVS) et d'une représentante de la Direction Générale de la Santé. Cette composition majoritairement médicale est justifiée par le fait que le thème principal du groupe de travail concernait la prévention de la toxoplasmose humaine, et en particulier de la toxoplasmose congénitale. Cette dominante n'a cependant exclu, en

aucune façon l'aspect vétérinaire de la toxoplasmose notamment dans sa composante épidémiologique.

Le travail d'expertise a été organisé autour de la démarche d'appréciation quantitative du risque, considérée comme l'objectif principal du groupe.

L'option de rédaction sous forme de questions structurantes a été retenue, de façon à pouvoir répondre aux interrogations ponctuelles sur la toxoplasmose, avec une présentation du parasite (section A) puis 37 questions regroupées sous 10 sections (B-K).

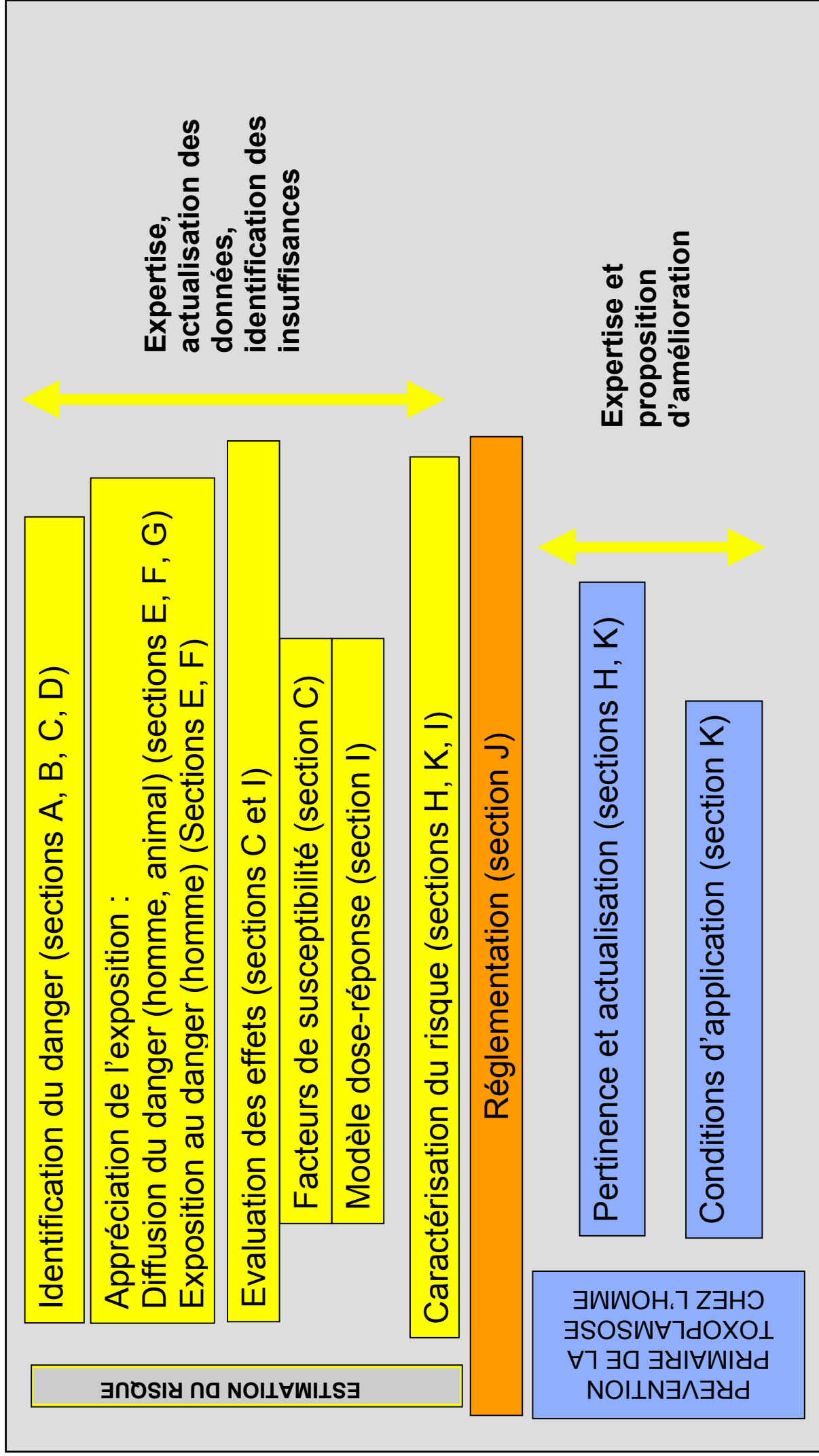
Sur le plan pratique, chaque question a fait l'objet d'une rédaction par plusieurs experts du groupe, aidés si besoin par des experts extérieurs, suivie d'une relecture collective et d'un examen par un spécialiste du domaine, extérieur au groupe de travail.

La progression du travail du groupe a fait l'objet de présentations régulières au sein du CES « Microbiologie » puis d'une présentation en fin de parcours aux CES « Microbiologie » et « Santé Animale » avec prise en compte des remarques faites par les deux experts représentant chacune de ces instances.

Enfin, l'ensemble du rapport a fait l'objet d'une analyse approfondie par 2 experts de chacun des 2 CES concernés, dont les remarques ont été prises en compte dans la version finale du rapport.

L'ensemble des personnes qui a contribué à l'élaboration et/ou à la validation de ce rapport ainsi que toutes les personnalités scientifiques qui ont été consultés figurent en début de ce document.

Figure 1 : Distribution des sections suivant le plan d'évaluation du risque



Section A : *Toxoplasma gondii*

Résumé de la section A

Toxoplasma gondii est un protozoaire intracellulaire, appartenant à l'ordre des Coccidies et existant sous 3 formes infestantes : tachyzoïtes, forme de multiplication rapide dans les phases aiguës de l'infection ; bradyzoïtes au sein de kystes latents dans les tissus ; sporozoïtes au sein des oocystes.

Il existe un vaste réservoir d'hôtes intermédiaires (tous les homéothermes, mammifères comme oiseaux) hébergeant des kystes tissulaires dans leurs muscles et leur cerveau, source de contamination par carnivorisme pour les hôtes définitifs mais aussi pour les autres hôtes intermédiaires.

Les hôtes définitifs (chats et autres félidés) se contaminent principalement en mangeant la viande infectée des hôtes intermédiaires et excrètent des oocystes dans le milieu extérieur (sol, eau).

Trois génotypes principaux ont été identifiés en Europe et en Amérique du Nord chez l'homme et les animaux domestiques. Dans l'ensemble, on observe une population de structure clonale, peut-être favorisée par le développement de l'élevage mais il existe une plus grande biodiversité dans des biotopes éloignés de l'influence humaine (génotypes recombinants ou atypiques).

Tous les génotypes semblent capables d'infecter l'homme, mais on observe une large prédominance du génotype II en France.

Caractéristiques biologiques de *Toxoplasma gondii*

Responsable de la rédaction : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Pelloux

Description du parasite

Toxoplasma gondii est un protozoaire appartenant à l'ordre des Coccidies, phylum Apicomplexa, responsable d'une infection très répandue dans le règne animal chez tous les animaux homéothermes, y compris l'homme. C'est un parasite intra-cellulaire obligatoire.

Le toxoplasme présente au cours de son cycle 3 stades infectieux : les tachyzoïtes, les bradyzoïtes et les sporozoïtes (Dubey, 1998).

- Le *tachyzoïte* a la forme d'un croissant de 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large. Son extrémité antérieure est effilée et son extrémité postérieure arrondie. C'est le stade sous lequel le toxoplasme se multiplie lors des phases actives de l'infection. La partie antérieure présente une structure caractéristique du phylum des Apicomplexa : le complexe apical qui comporte un élément participant à la mobilité du parasite et à sa pénétration dans les cellules, le conoïde, et des organelles à activité sécrétoire (rhoptries, micronèmes, granules denses). Une autre organelle typique des Apicomplexa, l'apicoplaste, plastide dérivant d'un chloroplaste ancestral, a un rôle encore mal défini mais constitue une cible thérapeutique intéressante (Mc Fadden, 1999).

Le tachyzoïte est capable de pénétrer dans n'importe quel type cellulaire (Carruthers, 1997). Il s'attache dans un premier temps à la membrane de la cellule hôte grâce à des interactions de type ligand-récepteur (molécules de type TRAP sécrétées par les micronèmes reconnaissant diverses molécules - laminine, glycosaminoglycanes, etc. - de la surface des cellules hôtes ou de la matrice extracellulaire). La pénétration est un

phénomène actif, très rapide (moins de 20 secondes) favorisé par les mouvements de torsions et de contractions du parasite et par les sécrétions des rhoptries. Après pénétration, le parasite est dans une vacuole parasitophore limitée par une membrane. La formation et l'accroissement progressif de la membrane de la vacuole parasitophore est le résultat de sécrétions des granules denses parasitaires. Les produits de sécrétion des granules denses interviennent également pour former un réseau tubulaire intravacuolaire qui assure les échanges entre les parasites et le cytoplasme de la cellule hôte. Les tachyzoïtes se multiplient toutes les 5 à 10 heures selon les souches. La sortie hors de la vacuole parasitophore et de la cellule est également un phénomène actif.

- Le stade bradyzoïte résulte de la transformation du stade précédent lors de l'évolution de l'infection dans l'organisme. Il s'en distingue par quelques détails ultrastructuraux (noyau plus postérieur, plus grande richesse en grains d'amylopectine et en micronèmes). Cette transformation s'accompagne de la modification de la vacuole parasitophore dont la membrane et la matrice entre les parasites s'épaississent par dépôt d'un matériel granulaire dense aux électrons. Ainsi se constitue le kyste toxoplasmique, structure sphérique intracellulaire qui peut mesurer de 5 à 100 µm et contenir jusqu'à un millier de bradyzoïtes au métabolisme adapté à une vie quiescente (Tomavo, 2001). Ces particularités structurales et métaboliques rendent le kyste toxoplasmique et les bradyzoïtes inaccessibles en pratique aux traitements antitoxoplasmiques actuels (Dubey, 1998). La transformation des tachyzoïtes en bradyzoïtes et de la vacuole parasitophore en kyste est un phénomène qui intervient très rapidement (dès 48 heures en culture cellulaire ; dès le 6^{ème} jour après l'infection dans la toxoplasmose expérimentale de la souris). L'élément déclenchant majeur de cette transformation est une inhibition de l'activité mitochondriale des parasites sous l'influence de protéines de stress du toxoplasme induites par différents stimuli tels que l'IFN-γ, NO, TNF ou l'élévation du pH, etc. (Tomavo, 2001). Les kystes peuvent se former dans n'importe quel type cellulaire mais persisteront préférentiellement dans les neurones, les astrocytes, les cellules musculaires et les cellules rétinienne. Il est admis que les kystes peuvent persister pendant toute la vie de l'hôte. Suivant cette hypothèse, à la mort de la cellule hôte, la paroi du kyste se rompt et les bradyzoïtes sont libérés dans le milieu extracellulaire avec des conséquences variables selon l'état immunitaire de l'hôte. Si le système immunitaire est efficace, certains toxoplasmes seraient détruits par le système immunitaire avant de pouvoir pénétrer dans de nouvelles cellules, d'autres pourraient se réfugier dans des cellules voisines et donner de nouveaux kystes. La persistance de ces kystes entretient une immunité cellulaire qui prévient en principe toute ré-infection.
- Le stade sporozoïte présent dans les oocystes sporulés est l'élément infectant résultant de la reproduction sexuée dans les cellules épithéliales du chat et d'autres félinés. Les oocystes non sporulés (10 à 12 µm de diamètre) émis dans les fèces de chat contiennent une masse unique, le sporoblaste. Après sporogonie, 2 sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes sont présents dans les oocystes sporulés. Les sporozoïtes sont peu différents en microscopie optique et électronique des autres stades infectants (Speer, 1998). Ils sont capables également de pénétrer activement dans les cellules des hôtes intermédiaires, par un processus légèrement différent de celui des tachyzoïtes (Tilley, 1997).

Cycle parasitaire

Le cycle parasitaire comporte une multiplication asexuée, qui s'effectue dans différents tissus chez les homéothermes (mammifères -dont le chat-, oiseaux), appelés hôtes intermédiaires et un cycle sexué, qui s'effectue dans l'épithélium digestif du chat et de quelques autres félinés (hôtes définitifs) (Frenkel, 1973 ; Dubey, 1998). Mais, la particularité du toxoplasme au sein des autres coccidies est la possibilité de transmission du parasite par carnivorisme entre hôtes intermédiaires par un processus de multiplication asexuée.

Les hôtes intermédiaires du toxoplasme abritent, probablement pendant toute la durée de leur vie, les kystes intratissulaires contenant des centaines de bradyzoïtes. Lorsque les

hôtes intermédiaires servent de proies à des félidés, chats ou félidés sauvages, se produit, dans leurs cellules épithéliales intestinales, après une phase de multiplication asexuée par schizogonie, une transformation des formes asexuées du toxoplasme en gamétocytes mâles et femelles (gamétogonie) suivie d'une fécondation. La fécondation conduit à la formation d'oocystes non sporulés (non infectieux) excrétés dans les fèces des félidés 3 à 5 jours après l'infection (en cas d'ingestion de kystes) et pendant 7 à 15 jours. Dans le milieu extérieur, ces oocystes deviennent infectieux en 1 à 5 jours après un processus appelé sporogonie qui permet la formation des sporozoïtes. Les oocystes sporulés peuvent, à leur tour, rester quiescents pendant plus d'une année dans le sol avant d'infecter un nouvel hôte intermédiaire ou un félidé. Chez l'hôte intermédiaire, après ingestion des oocystes, leur paroi se rompt dans l'intestin ; les sporozoïtes libérés pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales, se transforment en tachyzoïtes qui se disséminent rapidement dans tous les organes par l'intermédiaire des monocytes/macrophages sanguins et lymphatiques. Après une parasitémie brève, les parasites s'enkystent dans les tissus, en particulier les muscles striés et le cerveau, sources de contamination de l'hôte définitif.

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

La description de ce cycle fait apparaître les multiples possibilités de contamination :

- à partir des oocystes disséminés dans l'environnement : consommation de végétaux souillés par les oocystes, contamination possible d'origine hydrique ou tellurique,
- à partir des kystes tissulaires présents chez les hôtes intermédiaires : consommation de viande infectée d'animaux de rente ou de gibier (mammifères et oiseaux).

A ces circonstances habituelles, il faut ajouter :

- une possibilité de transmission congénitale par passage transplacentaire des tachyzoïtes lors d'une phase de parasitémie maternelle,
- la transmission plus exceptionnelle par greffon lors de transplantation ou par inoculation accidentelle.

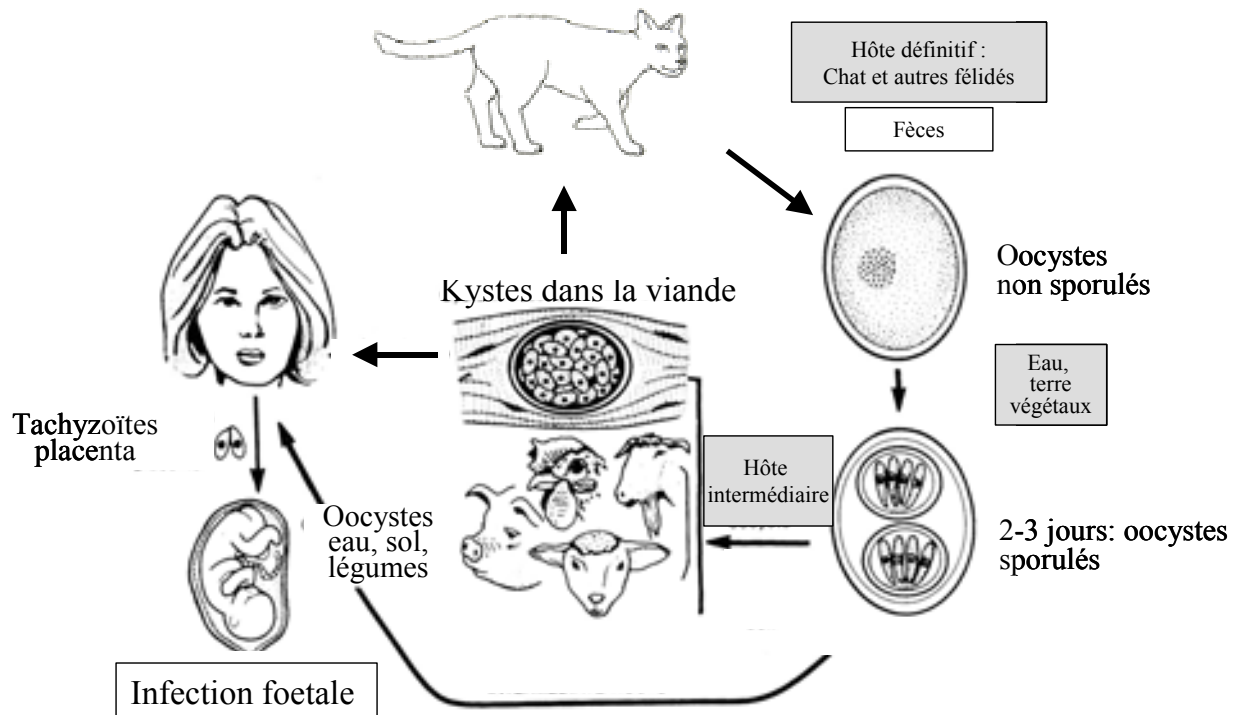


Figure 2 : Schéma du cycle de *Toxoplasma gondii*

d'après Dubey et Beatty, 1988

Historique

Ces données sur le toxoplasme et son épidémiologie ont été acquises très progressivement :

- Le parasite a été d'abord découvert uniquement sous sa forme tachyzoïte dans les tissus d'un rongeur (*Ctenodactylus gondii*), en Tunisie (Nicolle, 1908) et simultanément au Brésil chez un lapin (Splendore, 1909). Toute notion concernant son cycle et son importance en pathologie humaine et animale est alors inconnue.
- Il faut attendre les années 1920-1930 pour voir apparaître les premières descriptions de cas de toxoplasmose humaine (toxoplasmose congénitale avec manifestations oculaires en 1923, un cas d'encéphalite chez un enfant en 1939) et les transmissions possibles entre hôtes intermédiaires par inoculation de tachyzoïtes (Wolf, 1939). C'est la mise au point des premiers tests sérologiques dans les années 1940 qui a permis de révéler l'importance de la prévalence de la toxoplasmose humaine.
- Le rôle dans la transmission de la consommation de viande insuffisamment cuite (et notamment de viande de mouton) n'a été clairement identifié que dans les années 1960 (Desmonts, 1965).
- Ce n'est enfin qu'en 1969 que le rôle du chat comme hôte définitif et l'existence des oocystes ont été démontrés, permettant alors de comprendre les circonstances de contamination des herbivores et de décrire le cycle de ce parasite (Hutchison, 1965 ; Frenkel, 1969).

Aspects génétiques et phylogénétiques

Le génome du toxoplasme a une taille de 65 Mb, réparti en 12 chromosomes (<http://toxomap.wustl.edu/> ; <http://toxodb.org/ToxoDB.shtml>).

Depuis une quinzaine d'années, des études ont été entreprises pour analyser la diversité génétique de l'espèce *Toxoplasma gondii*. Les méthodes de typage ont d'abord fait appel à des techniques isoenzymatiques (Dardé, 1988 ; 1992), puis aux techniques de biologie moléculaire : PCR-RFLP (Sibley, 1992 ; Howe, 1995), analyse des microsatellites (Ajzenberg, 2002 ; Ajzenberg, 2004 ; Lehmann, 2004). Plus d'une cinquantaine de marqueurs sont actuellement décrits : les plus utilisés utilisent le polymorphisme de gènes codant pour des antigènes majeurs du toxoplasme (Tableau 1).

Tableau 1 : Les principaux antigènes de *Toxoplasma gondii* et les gènes utilisés dans l'étude du polymorphisme génétique

Localisation ou fonction des antigènes	Dénomination des antigènes	Gènes utilisés pour l'étude du polymorphisme génétique
Surface	SAG (1-5), SRS	<i>SAG1, SAG2, SAG3, SAG4, SRS1, SRS2, SRS3</i>
Granules denses	GRA (1-8) NTPase	<i>GRA1, GRA2, GRA3, GRA4, GRA5, GRA6, GRA7, NTP</i>
Rhoptries	ROP (1-10)	<i>ROP1</i>
Micronèmes	MIC (1-10)	
Bradyzoïtes (surface)	BAG (1, 5), BSR	<i>BSR4</i>
Matrice du kyste	MAG	<i>MAG1</i>
Actine		<i>ACT1</i>
Alpha--tubuline		<i>TUB1</i>
Beta-tubuline		<i>TUB2</i>

Le typage doit reposer sur l'analyse de plusieurs loci polymorphes. Les études concordent pour regrouper la majorité des isolats analysés en 3 génotypes multilocus principaux, (types I, II et III) équivalents à des lignées clonales, stables dans le temps et l'espace (Ajzenberg, 2002 ; Dardé, 1992 ; Howe, 1995). Cette structure clonale n'exclut pas la possibilité de transferts génétiques occasionnels entre les 3 principales lignées comme en témoigne l'existence d'isolats présentant une combinaison différente des allèles classiques (Ajzenberg, 2002, 2004 ; Grigg, 2001a). D'autres isolats atypiques se caractérisent par la présence d'allèles uniques, non retrouvés parmi les allèles des 3 génotypes majeurs (Ajzenberg, 2004 ; Carme, 2002 ; Grigg, 2001b). Ces divers isolats atypiques sont plus volontiers retrouvés dans des biotopes éloignés de l'influence humaine et de celle des chats domestiques. La possibilité d'un réservoir sauvage de la biodiversité du toxoplasme apparaît au fur et à mesure des isolements de souches en provenance de régions reculées ou d'animaux sauvages (Ajzenberg, 2004 ; Carme, 2002). Les génotypes « classiques » I, II et III seraient, au moins en Europe et aux Etats-Unis, des lignées particulièrement bien adaptées à l'homme et aux animaux domestiques, sources habituelles de la contamination humaine (chat, mouton, porcs, volaille, etc.). Leur expansion aurait été favorisée par le développement de l'élevage il y a environ 10 000 ans (Lehmann, 2003 ; Su, 2003). En tenant compte de la limite liée à un échantillonnage des isolats encore peu diversifié sur le plan zoologique et géographique, il ne semble pas y avoir de spécificité d'hôte des différents génotypes. Les 3 génotypes principaux, ainsi que des génotypes atypiques peuvent être retrouvés chez l'homme comme chez l'animal. Les relations génotype - pathogénicité seront exposées dans la section C, Question 6.

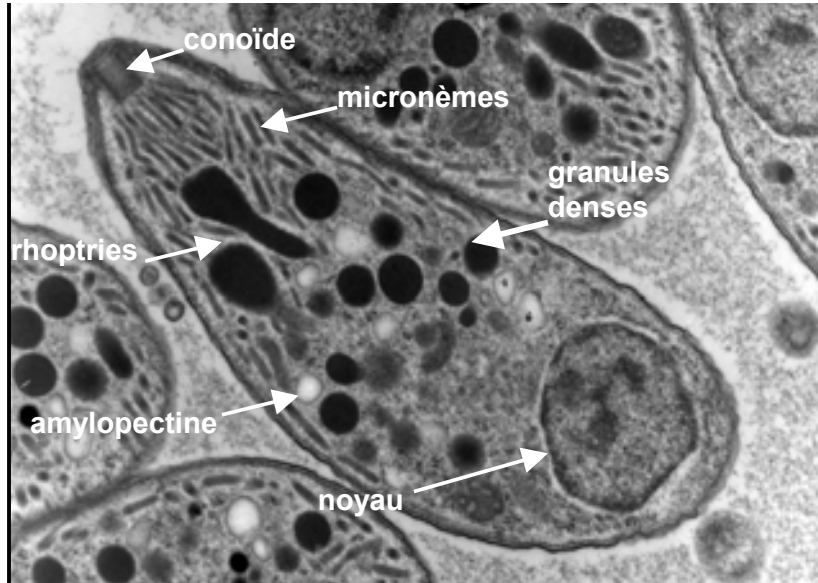


Illustration 1 : Ultrastructure de *Toxoplasma gondii* (bradyzoïte)

(source : M.L. Dardé)

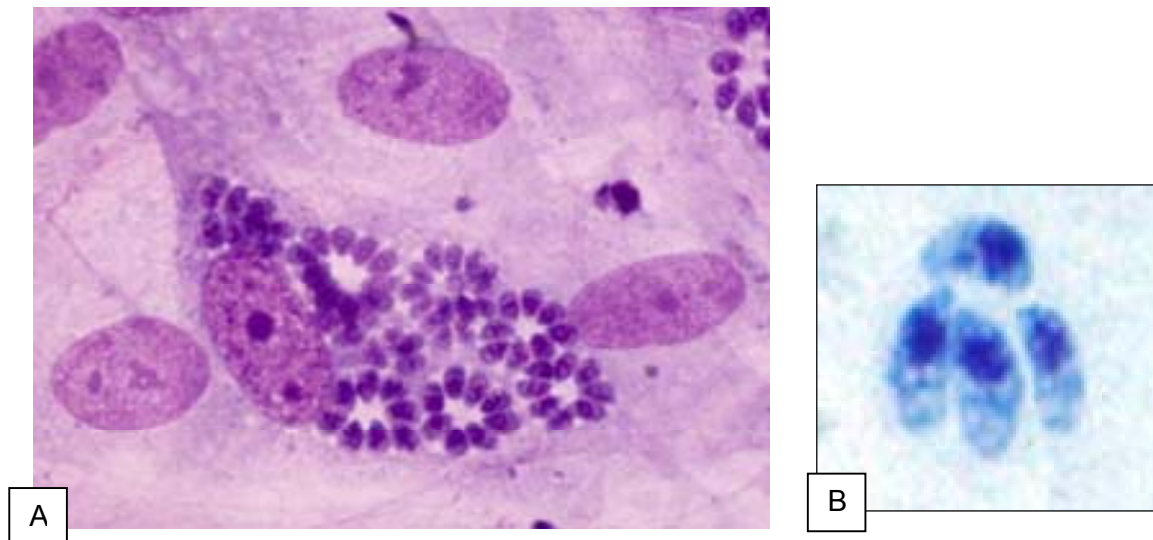
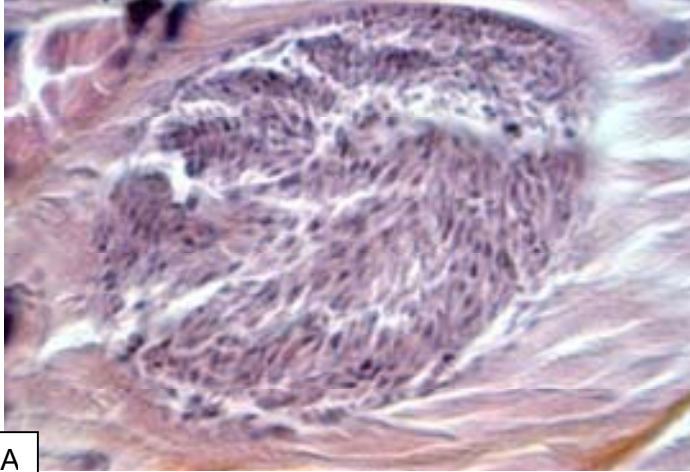


Illustration 2 : Tachyzoïtes au May-Grunwald Giemsa. A. Culture cellulaire de *T. gondii* (tachyzoïtes, souche RH) sur fibroblastes MRC5 (x 400) B. Tachyzoïtes libres (MO, x 1000)

A : source F. Derouin
B : source M.L. Dardé



A

B

Illustration 3 : Kyste dans de la viande. Coupe anatomo-pathologique (Hématoxyline éosine safran). B. Examen direct (MO x 400)

(source : M.L. Dardé)

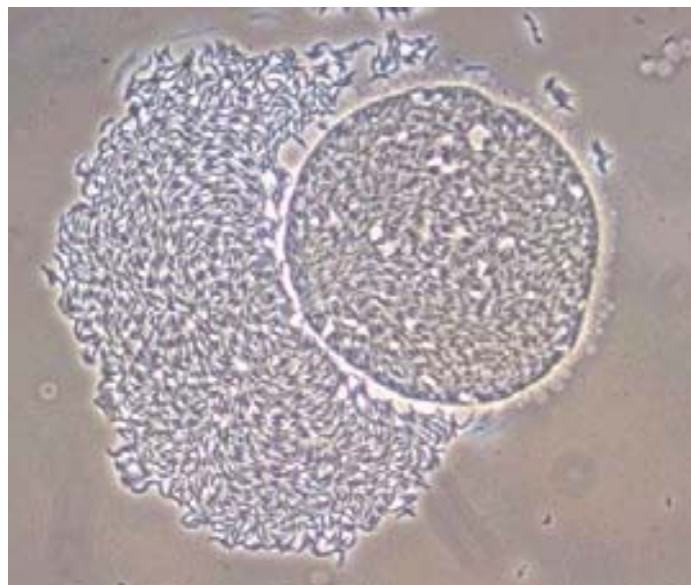


Illustration 4 : Rupture de la paroi d'un kyste et libération de centaines de bradyzoïtes sous l'action des sucs digestifs

(source : M.L. Dardé)

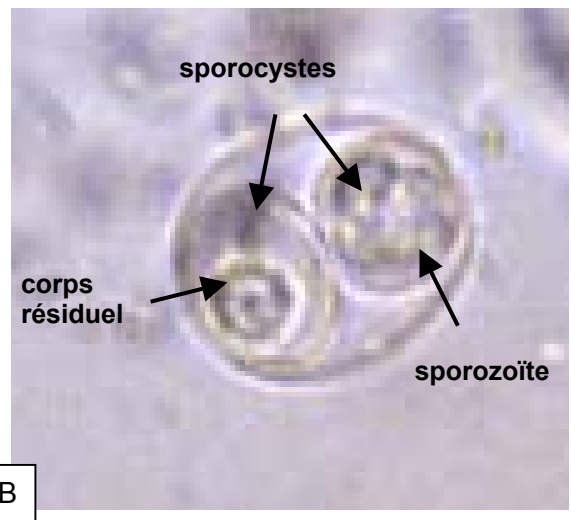


Illustration 5 : Oocystes. A. Non sporulé, non infectant, à l'émission dans les fèces de chat. B. Sporulé, infectant, après quelques jours dans le milieu extérieur. (MO, contraste de phase, x1000)

(source : M.L. Dardé).

Références bibliographiques

- Ajzenberg D, Banuls AL, Tibayrenc M, Dardé ML. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* population shows a high polymorphism structured into two main clonal groups. *Int J Parasitol.* 2002;32:27-38.
- Ajzenberg D, Banuls AL, Su C, Dumetre A, Demar M, Carne B, Darde ML. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 2004;34:1185-96.
- Carne B., Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R., Aznar C, Demar M, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P. , Dardé ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.* 2002;40: 4037-44.
- Carruthers VB, Sibley LD. Sequential protein secretion from three distinct organelles of *Toxoplasma gondii* accompanies invasion of human fibroblasts. *Eur J Cell Biol.* 1997;73:114-23.
- Dardé ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzymic characterization of 7 strains of *Toxoplasma gondii* by isoelectrofocalisation in polyacrylamide gels. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;39:551-58.
- Dardé ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol.* 1992;8:786-94.
- Desmonts G, Couvreur J, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J, Lelong M. Etude épidémiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine. *Rev Fr Etudes Clin Biol.* 1965;10: 952-58.
- Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 1998;28: 1019-24.
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11: 267-99.
- Frenkel JK. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology and immunology. In *The Coccidia Eimeria, Isospora, Toxoplasma and related genera*. Hammond DM, Long PL, eds. Baltimore. University Park Press. 1973 : 343-410.
- Frenkel JK, Dubey JP, Miller ML. *Toxoplasma gondii*: fecal forms separated from eggs of nematodes *Toxocara cati*. *Science.* 1969;164:432-33.
- Grigg ME, Bonnefoy S, Hehl AB, Suzuki Y, Boothroyd JC. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science.* 2001a;294:161-5.
- Grigg ME, Ganatra J, Boothroyd JC, Margolis TP. Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 2001b;184:633-9.
- Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.* 1995;172:1561-66.
- Hutchison WM. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature.* 1965;206: 961-62.
- Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect Genet Evol.* 2003;3:135-41.
- Lehmann, T., Graham, D.H., Dahl, E.R., Bahia-Oliveira, L.M.G., Gennari, S.M., Dubey, J.P. Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. *Infect Genet Evol.* 2004;4:107-114.
- Mc Fadden GI, Roos D. Apicomplexan plastids as drug targets. *Trends Microbiol.* 1999;7:328-32.
- Nicolle C., Manceaux L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences.* 1908;147:763-66.
- Sibley LD, Boothroyd J. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature.* 1992;359:82-85.
- Speer CA, Clark S, Dubey JP. Ultrastructure of the oocysts, sporocysts, and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 1998;84:505-12.
- Splendore A. Sur un nouveau protozoaire du lapin, 2^{ème} note préliminaire. *Bull Soc Path Exot.* 1909;2:462.
- Su C, Evans D, Cole RH, Kissinger JC, Ajjoka JW, Sibley LD. Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. *Science.* 2003;299:414-16.
- Tilley M, Fichera ME, Jerome ME, Roos DS, White MW. *Toxoplasma gondii* sporozoites form a transient parasitophorous vacuole that is impermeable and contains only a subset of dense-granule proteins. *Infect Immun.* 1997;65:4598-4605.
- Tomavo S. The differential expression of multiple isoenzyme forms during stage conversion of *Toxoplasma gondii*: an adaptive developmental strategy. *Int J Parasitol.* 2001;31:1023-31.
- Wolf A., Cowen D, Paige B. Human toxoplasmosis : occurrence in infants as encephalomyelitis. Verification by transmission to animals. *Science.* 1939;89 :226-7.
- <http://toxodb.org/ToxoDB.shtml>
- <http://toxomap.wustl.edu/>

Section B : toxoplasmose humaine et animale

Résumé de la section B

Chez l'homme, la toxoplasmose est une infection le plus souvent bénigne chez les sujets immunocompétents. Les formes graves sont avant tout observées en cas de contamination congénitale et chez les patients immunodéprimés.

- En cas de contamination en cours de grossesse, il existe un risque de transmission materno-fœtale (29%) et de toxoplasmose congénitale. Ce risque augmente avec l'âge de la grossesse au moment de la contamination maternelle, atteignant 80% à la fin du dernier trimestre. Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale sont très diverses (neurologiques, oculaires, principalement) et de gravité variable en fonction du moment de la contamination ; les lésions oculaires ont un potentiel évolutif imprévisible.
- Chez les malades immunodéprimés (SIDA, greffe de moelle, principalement) les localisations cérébrales et oculaires sont les plus fréquentes et le plus souvent mortelles sans traitement.

En dehors de toute immunodépression, des formes graves peuvent être exceptionnellement observées avec des souches de génotype et de virulence particuliers.

Suivant le contexte clinique, le **diagnostic biologique** de la toxoplasmose est effectué par la sérologie et/ou sur la mise en évidence du parasite ou de l'ADN parasitaire.

- Le diagnostic sérologique de la toxoplasmose associe la recherche de plusieurs isotopes d'anticorps (IgG et IgM principalement). En complément, la mesure de l'avidité des IgG peut être utilisée pour estimer la date de contamination.
- Chez les patients immunodéprimés, la sérologie a peu d'intérêt pour le diagnostic, mais permet d'identifier les patients immunisés à risque de réactivation (sérologie positive).
- La recherche du parasite par inoculation à la souris et la recherche d'ADN parasitaire par PCR sont recommandées pour le diagnostic des infections congénitales et celui des toxoplasmoses graves chez les malades immunodéprimés.

Les médicaments les plus utilisés dans le **traitement de la toxoplasmose** ne sont actifs que sur les tachyzoïtes et sont sans effet sur les kystes.

- En dehors de la grossesse, la toxoplasmose dans sa forme non compliquée ne justifie pas de traitement.
- En cas de toxoplasmose survenant en cours de grossesse, un traitement par la spiramycine est recommandé chez la mère, jusqu'à la réalisation d'un diagnostic anténatal. Si l'infection fœtale est prouvée, ce traitement est remplacé par l'association pyriméthamine + sulfamide ; il est maintenu 12 à 24 mois après la naissance.
- Chez les patients immunodéprimés, les formes graves sont traitées par l'association pyriméthamine + sulfadiazine ou clindamycine en cas d'intolérance aux sulfamides ou atovaquone en cas d'intolérance complète aux inhibiteurs des folates.
- Une prophylaxie par le cotrimoxazole est recommandée chez tout patient immunodéprimé ayant un fort déficit immunitaire et séropositif pour la toxoplasmose.

Chez l'animal

La toxoplasmose est une infection très répandue chez les mammifères et les oiseaux. Les manifestations cliniques sont très variées en fonction de l'espèce.

- Chez le chat adulte, la toxoplasmose faisant suite à une contamination orale par des kystes ou des oocystes est le plus souvent asymptomatique..
- La toxoplasmose de la chèvre et du mouton, peu symptomatique, est caractérisée par une forte prévalence de la transmission fœtale, fréquemment responsable d'avortements.
- Chez les autres espèces d'animaux de boucherie (porc, bovin, cheval), la toxoplasmose est cliniquement inapparente ou peu symptomatique. Il existe un risque de transmission fœtale mais celui-ci semble beaucoup plus faible que chez le mouton ou la chèvre.

- Chez les rongeurs et les mammifères sauvages, les manifestations cliniques de la toxoplasmose sont mal connues.
- Les oiseaux domestiques ou sauvages sont fréquemment infectés. La toxoplasmose peut être sévère dans certaines espèces.

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose chez l'animal est rarement fait en pratique vétérinaire courante : il reste limité aux études de séroprévalence et à la recherche étiologique des avortements chez les brebis. L'agglutination directe modifiée est actuellement la meilleure technique, en terme de sensibilité et de spécificité

La recherche de parasite peut être réalisée par bio-essais sur la souris ou le chat. Les techniques de biologie moléculaire (PCR) sont encore peu appliquées.

Question 1 : quelles sont les manifestations cliniques de la toxoplasmose chez l'homme ?

Responsable de la question : M. Derouin

Co-rédacteurs : Mme Eliazewicz, M. Peyron

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Bessières

Dans cette question, nous distinguerons la toxoplasmose faisant suite à une contamination post-natale chez le sujet immunocompétent et chez le sujet immunodéprimé, de la toxoplasmose congénitale transmise *in utero*.

1. Toxoplasmose chez le sujet immunocompétent

La survenue d'une toxoplasmose est cliniquement inapparente dans environ 80% des cas, y compris chez la femme enceinte non immunisée vis-à-vis de *T. gondii*. Lorsqu'elle est présente sous plusieurs formes, dont certaines peuvent être sévères.

1.1. La toxoplasmose ganglionnaire

C'est la forme clinique la plus fréquente (15 à 20% des cas), caractérisée par la présence d'adénopathies, le plus souvent localisées dans la région cervicale ou occipitale. Les ganglions peuvent être volumineux, mais restent indolores, élastiques, et n'évoluent jamais vers la suppuration. S'y associent une asthénie, souvent intense et prolongée, une fièvre modérée et parfois des myalgies. Ces symptômes peuvent persister plusieurs mois avant de régresser spontanément sans traitement (Mc Cabe, 1987).

1.2. Les atteintes oculaires

Les atteintes oculaires faisant suite à une infection toxoplasmique ont longtemps été considérées comme exceptionnelles chez les sujets immunocompétents. Elle peuvent être contemporaines ou retardées de plusieurs années par rapport à la date de contamination. Lorsqu'elles sont retardées, elles correspondent à une réactivation locale de kystes résiduels de la primo-infection. En France, Couvreur et Thulliez en rapportent 45 cas sur une période d'observation de 13 ans (Couvreur, 1996), associées dans 2 cas à des manifestations neurologiques.

L'investigation de plusieurs épidémies de toxoplasmose a permis de montrer une incidence nettement plus élevée de rétinobulbaires consécutives à une toxoplasmose récente, atteignant 14% des cas au cours de l'épidémie de Greater Victoria au Canada (Bowie, 1997). En dehors des situations épidémiques, cette fréquence reste probablement sous-estimée dans la population générale, en raison des difficultés du diagnostic de la toxoplasmose oculaire. Dans une série de 62 cas de toxoplasmoses oculaires, Brézin estime que 35% des cas sont d'origine acquise (Brézin, 2003a).

1.3. Formes sévères de toxoplasmose

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

pulmonaires ou neurologiques peuvent être observées (Chandenier, 2000 ; Mawhorter, 1992 ; Magid, 1983 ; Carme, 2002). Des atteintes multiviscérales ont été observées en Guyane française chez des patients ayant consommé de la viande de gibier, soulevant l'hypothèse d'une contamination par des souches de *T. gondii* d'une virulence particulière (Carme, 2002) (cf. Question 6).

1.4. Evolutions

Dans son évolution, la toxoplasmose est le plus souvent totalement latente, malgré la persistance des kystes dans les tissus. Certains auteurs lui associent cependant des modifications psychologiques et comportementales, une augmentation du risque d'accident de la route, une diminution des performances intellectuelles et des capacités d'apprentissage (Flegr, 2000, 2002, 2003 ; Havlicek, 2001). D'autres tentent de proposer des associations entre toxoplasmose et maladies neurologiques ou psychiatriques chroniques, telles que la schizophrénie (Torrey, 2003). La plupart de ces études reposent cependant sur des bases biologiques et épidémiologiques très contestables (Derouin, 2002).

2. **Toxoplasmose chez l'immunodéprimé**

Chez les patients immunodéprimés, l'infection faisant suite à une contamination par voie orale est le plus souvent asymptomatique. Chez des patients présentant un déficit très profond de l'immunité, l'hypothèse d'une dissémination hématogène faisant directement suite à l'infection a été évoquée dans quelques cas de toxoplasmose cérébrale ou de toxoplasmose pulmonaire (Pomeroy, 1992 ; Rabaud, 1996 ; Raffi, 1992). Chez les transplantés d'organe contaminés par un greffon contenant des kystes de *T. gondii*, on observe un rejet fébrile, se compliquant rapidement d'une dissémination ou d'une focalisation cérébrale (Luft, 1983 ; Israelski, 1993 ; Speirs, 1988 ; Wreghitt, 1989).

Dans la grande majorité des cas, les formes graves de toxoplasmose sont consécutives à la réactivation d'une infection acquise antérieurement. Les formes cliniques sont comparables, quelque soit le type d'immunodépression sous-jacente, et l'atteinte cérébrale est de loin la plus fréquente ; on peut cependant souligner la plus grande fréquence des formes pulmonaires et disséminées chez les patients ayant un déficit très profond de l'immunité, notamment chez les greffés de moelle allogénique (Mele, 2002).

2.1. Toxoplasmose cérébrale

L'encéphalite toxoplasmique focalisée est la manifestation clinique la plus fréquente chez les malades immunodéprimés (Leport, 1992 ; Luft, 1993). Elle associe de la fièvre et une symptomatologie neurologique très diverse : céphalées, déficits moteurs ou sensitifs, comitialité, troubles psychiatriques (Raffi, 1997 ; Luft, 1993). L'imagerie par scanner ou IRM montre habituellement un ou plusieurs abcès dont la périphérie prend fortement le produit de contraste (Illustration 6). On peut également observer des encéphalites diffuses, sans image radiologique (Gray, 1989).

2.2. Toxoplasmose extra-cérébrale

2.2.1. Localisation oculaire

Chez les patients immunodéprimés (SIDA principalement), la localisation oculaire est la deuxième, par sa fréquence, après la toxoplasmose cérébrale, à laquelle elle est associée dans 10 à 20% des cas (Holland 2003, 2004 ; Cochereau-Massin, 1992). On observe une grande variété de lésions cliniques, de type rétinohoréïdite, uni- ou multifocales ou diffuses, parfois bilatérales. Elles sont souvent plus étendues et hémorragiques que chez les patients immunocompétents mais avec une réaction inflammatoire moins intense. Une uvéite antérieure est fréquemment associée (Kuo, 1999).

2.2.2. Localisation pulmonaire

C'est une localisation peu fréquente, mais d'une extrême gravité. Elle est observée chez des patients profondément immunodéprimés et se caractérise par une pneumopathie hypoxémiant, avec un aspect radiologique de pneumopathie interstitielle (Pomeroy, 1992 ;

Rabaud, 1994 ; Rabaud, 1996). Dans la plupart des cas, l'évolution est fatale en quelques jours avec l'aggravation rapide des symptômes pulmonaires et la survenue fréquente d'un état de choc (Lucet, 1993).

2.2.3. Autres localisations et formes disséminées

De nombreuses autres localisations ont été décrites : médullaires, musculaires, cutanées, hépatiques, digestives, cardiaques, testiculaires (Ganji, 2003 ; Rabaud, 1994), traduisant, dans la plupart des cas une dissémination parasitaire par voie hématogène (Derouin, 1992). Les études anatomo-pathologiques ont montré que les localisations viscérales, en particulier cardiaques, étaient fréquentes, (Hoffman, 1993).

3. **Toxoplasmose congénitale**

La contamination du fœtus par *Toxoplasma gondii* implique le passage trans-placentaire du parasite. Ce phénomène survient au décours de la parasitémie qui fait suite à la contamination de la mère. Les conséquences de l'infection sont variables, allant de la perte fœtale à une atteinte cérébrale sévère ou, au contraire, à une forme infra-clinique.

Le risque de transmission du parasite augmente avec l'âge de la grossesse au moment de la contamination maternelle. A l'inverse, la gravité de l'infection fœtale évolue de façon opposée. Au cours du 1^{er} trimestre de grossesse, l'infection fœtale se produit dans moins de 6 % des cas mais conduit dans la majorité des cas à une forme sévère ou à une perte fœtale. A l'inverse, au 3^{ème} trimestre de grossesse, le passage trans-placentaire survient dans 80 % des cas et donne généralement une infection infra-clinique (Dunn, 1999 ; Desmots 1986).

Classiquement, le diagnostic clinique de la toxoplasmose congénitale repose sur la triade : rétinocoroïdite, hydrocéphalie, calcifications intracrâniennes. En réalité la maladie peut se présenter de façon extrêmement diverse avec des atteintes de pratiquement tous les organes. Les lésions multiviscérales observées lors d'autopsies de fœtus contaminés expliquent ce polymorphisme clinique (Gay-Andrieux, 2003). En plus de sa diversité, la deuxième caractéristique de l'affection est son potentiel évolutif imprévisible; des lésions oculaires pouvant survenir ou récidiver de façon inopinée (Peyron, 1996). Il s'agit essentiellement de rétinocoroïdites uni ou bi-latérales évoluant vers une cicatrisation pigmentée et/ou atrophique (Brézin, 2003a) (Illustration 7).

Cette diversité de signes et cette évolutivité expliquent l'hétérogénéité des cas rapportés dans la littérature (revue par Hayde, 2000). La fréquence et la gravité des lésions varient selon les études. Les résultats peuvent être biaisés par les modalités d'inclusion des patients. Ainsi le recrutement peut être basé soit sur l'observation de cas cliniques, soit sur un dépistage systématique des séroconversions au cours de la grossesse, ce qui permet d'investiguer et de suivre tous les enfants y compris ceux porteurs de formes infra-cliniques. De plus, les cas étudiés ont pu bénéficier d'un traitement anténatal (cf. Question 3). D'autres études ne portent que sur les toxoplasmoses diagnostiquées à la naissance présentant des atteintes patentes n'ayant pas bénéficié d'un traitement anténatal. Enfin la durée du suivi des patients est un facteur important pour l'évaluation des séquelles de la maladie.

3.1. Données historiques

Desmots (1974), a proposé la 1^{ère} classification des signes cliniques de la toxoplasmose congénitale. Pour lui, la présentation de la maladie peut être divisée en quatre tableaux :

1. L'atteinte neurologique avec hydrocéphalie, microcéphalie, microphthalmie avec ou sans rétinocoroïdite. Ces signes peuvent être observés à la naissance ou être diagnostiqués plus tard. Les auteurs rappellent qu'une hydrocéphalie peut être observée dans les premiers mois de vie en dépit d'un développement psychomoteur normal. Actuellement, l'imagerie médicale permet le diagnostic anténatal des atteintes cérébrales qui sont détectées soit en échographie de morphologie fœtale (Illustration 8) soit en imagerie par résonance magnétique (Illustration 9). L'échographie fœtale permet d'identifier principalement deux types de lésions : des

dilations ventriculaires, habituellement bilatérales et symétriques et des hyperdensités intracrâniennes correspondant aux calcifications observées après la naissance (Jacquemard, 2000).

2. L'atteinte généralisée sévère avec exanthème maculo-papulaire, purpura, pneumonie, ictère, hépato-splénomégalie. Ce tableau peut se présenter avec ou sans atteinte oculaire ou neurologique.
3. L'atteinte modérée avec hépato-splénomégalie et ictère, avec ou sans thrombocytopénie. La relation de ce signe avec l'infection toxoplasmique est souvent établie plus tard, parfois devant l'apparition d'un foyer de rétinocoroïdite.
4. L'atteinte infra-clinique : le patient peut rester asymptomatique tout au long de sa vie ou au contraire présenter des atteintes oculaires dont la gravité dépend de la localisation par rapport à la macula.

Cette classification rend bien compte du polymorphisme clinique de l'affection et du retard d'apparition de certaines manifestations.

Hayde (2000) a fait la synthèse des principales études portant sur les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale. Les résultats observés chez les enfants n'ayant pas bénéficié de traitement anténatal sont regroupés dans les tableaux suivants : Tableau 2, Tableau 3 et Tableau 4.

Ce travail montre la fréquence des lésions ophtalmologiques et neurologiques ainsi que la diversité des atteintes viscérales.

Tableau 2 : Fréquence des signes oculaires à la naissance chez des nouveau-nés infectés par *Toxoplasma gondii*, en l'absence de traitement anté-natal (en %)

Référence	Roizen (1995)	Mc Auley (1994)	Guerina (1994)	Eichenwald (1960)	Alford (1974)	Koppe (1986)
Nombre de nouveau-nés	36	29	5	44	10	5
Rétinocoroïdites-Cicatrices rétinienne	56	59	100	66	20	80
Uvéites	-	-	20	-	-	-
Atteintes du vitrée	-	-	20	-	-	-
Cécités	-	-	40	-	-	-
Microphthalmies	22	24	-	-	-	-

Tableau 3 : Fréquence des signes neurologiques à la naissance chez des nouveau-nés infectés par *Toxoplasma gondii*, en l'absence de traitement anté-natal (en %)

Référence	Roizen (1995)	Mc Auley (1994)	Guerina (1994)	Eichenwald (1960)	Alford (1974)	Koppe (1986)
Nombre de nouveau-nés	36	29	5	44	10	5
Hydrocéphalies	44	34	80	-	10	-
Microcéphalies	14	17	20	-	-	-
Atrophie cérébrale	-	-	80	-	-	-
Calcifications intra-cérébrales	72	66	100	4	-	-
Epilepsie	17	17	-	18	-	-
Troubles du tonus musculaire	58	66	-	-	-	-
Examen neurologique anormal	-	-	-	-	10	-
Anomalie du LCR	59	69	-	84	80	20
Anomalie de la substance blanche	56	59	-	-	-	-

Tableau 4 : Nouveau-nés présentant une toxoplasmose congénitale sans traitement anténatal. Présence d'atteintes systémiques à la naissance (en %)

Référence	Roizen (1995)	Mc Auley (1994)	Guerina (1994)	Eichenwald (1960)	Alford (1974)
Nombre de nouveau-nés	36	29	5	44	10
Hépatomégalie	50	62	20	77	10
Splénomégalie	56	69	-	90	10
Ictère	64	76	20	80	10
Eruption	14	17	-	25	-
Adénopathies	-	-	-	68	-
Anémie	17	21	-	77	10
Thrombocytopénie	39	48	-	-	10
Eosinophilie	-	-	-	18	-
Diathèse hémorragique	-	-	-	18	-
Hypoglycémie	19	24	-	-	-
Hypoxémie	11	14	-	-	-
Hypothermie	-	-	-	20	-
Fièvre	11	10	-	77	-
Pneumonie	8	10	-	41	-
Vomissements	-	-	-	48	-
Diarrhée	-	-	-	25	-
Neutropénie	3	3	-	-	-
Infection	-	48	-	-	-
Détresse respiratoire	17	21	-	-	-
Pétéchies	17	21	-	-	-

3.2. Données actuelles pour la France (cohorte lyonnaise)

Depuis 1992 la France a rendu obligatoire le suivi sérologique mensuel des femmes enceintes non immunisées contre la toxoplasmose (cf. Question 31). Cette disposition permet la détection des séroconversions maternelles. De plus les enfants contaminés bénéficient d'un traitement et d'un suivi permettant le dépistage des séquelles tardives de la maladie.

Une étude récente réalisée en France (Wallon, 2004) rapporte le diagnostic et le suivi sur une période médiane de six ans de 1506 femmes enceintes ayant présenté une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse. Toutes les séroconversions ont été prises en charge selon un même protocole et dans un même centre. A la naissance, les enfants ont été investigués et traités de façon homogène. Le suivi sur une période médiane de 6 ans après la naissance permet d'avoir une estimation relativement précise des séquelles de l'affection chez des enfants ayant bénéficié d'un traitement anté et post-natal. Cinquante trois grossesses se sont terminées soit par un avortement spontané (22 cas dont 6 infections toxoplasmiques prouvées), soit par une interruption médicale de grossesse (27 cas dont 16 infections prouvées) soit par un enfant mort-né (4 dont 3 infections prouvées).

Les 1453 grossesses qui ont évolué à terme avaient donné lieu à la naissance de 1466 enfants vivants dont 26 jumeaux. Parmi eux, 1384 (94 %) ont pu être suivis, permettant d'écarter ou de confirmer une toxoplasmose congénitale. Dans 74 % des cas (1026 enfants), l'infection a pu être exclue dans la mesure où les sérologies se sont négativées avant l'âge de un an en dehors de tout traitement anti-parasitaire.

Le Tableau 5 résume la présentation clinique à la dernière visite des enfants nés de mères infectées en cours de grossesse.

Parmi les 358 enfants contaminés 31 n'ont pas été suivis plus de 6 mois. Les % de complications ont été calculés en supposant soit que les enfants non suivis ont tous des lésions infracliniques (colonne (1)), soit qu'ils ont une probabilité égale d'avoir des complications que les enfants suivis plus de 6 mois (colonne (2)). Cette dernière hypothèse paraît la plus plausible.

Tableau 5 : Manifestations cliniques chez 1384 enfants nés vivants de mère ayant présenté une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse et suivis pendant au moins 6 mois

Contamination	Nombre	%	
Non contaminé	1026	74	
Contaminés	358	26	
Manifestations cliniques chez les enfants suivis plus de 6 mois			
Nombre d'enfant suivis	327	(1)	(2)
Infections infracliniques	232	16,7	18,3
Infections patentes	95	6,9	7,5
Atteinte du système nerveux central§ :	35*	2,5	2,8
Calcifications cérébrales	32	2,3	2,5
Hydrocéphalies	6	0,4	0,5
Microcéphalies	1	0,07	0,08
Lésions oculaires isolées	60	4,3	4,7

* 19 de ces enfants présentaient également une lésion oculaire

§ Association de plusieurs types de lésions chez certains enfants

(1) on suppose que les 31 enfants non suivis ont tous des lésions infracliniques

(2) on suppose que les 31 enfants non suivis ont la même probabilité d'avoir des lésions que les enfants suivis

Trois des enfants porteurs d'une hydrocéphalie avaient un retard psychomoteur modéré. Deux enfants ayant des calcifications intracrâniennes ont présenté un épisode comitial isolé sans récives après l'arrêt du traitement.

L'évolution de l'état oculaire est représentée dans le Tableau 6. La moitié des lésions a été diagnostiquée à l'âge de 2 ans, 76 % avant 5 ans. 29% des enfants ont eu un nouvel évènement oculaire (nouvelle lésion ou récive) durant les 12 premières années de vie. Parmi les enfants porteurs de lésions oculaires, le quart présentait une baisse de l'acuité visuelle unilatérale, attribuée à une lésion maculaire dans plus de la moitié des cas, à un strabisme dans 5 cas et à une microphthalmie dans 3 cas. Aucun ne présentait une réduction bilatérale de la vision.

Tableau 6 : Evolution de l'état oculaire de 327 enfants atteints de toxoplasmose congénitale (suivi médian de 6 ans)

	Nombre	%
Absence de lésion oculaire	248	76
Présence de lésion oculaire	79	24
• Absence de récive ou d'apparition de nouvelles lésions	56	17
• Apparition de nouvelles lésions	19	6
• Récives de lésions anciennes	1	0.3
• Récives et apparition de nouvelles lésions	3	0.9

3.3. Conclusions

Les résultats de cette étude sont représentatifs de la situation de la toxoplasmose congénitale en France. Toutes les séroconversions ont été prises en charge selon un même protocole et dans un même centre. A la naissance, les enfants ont été examinés et traités de façon homogène. Le suivi médian de 6 ans permet d'avoir une estimation relativement précise des séquelles de l'affection.

A partir de cette étude, plusieurs aspects sont à retenir:

- A la suite de 1506 infections en cours de grossesses, 22 avortements (dont 6 d'origine toxoplasmique prouvée) ont été observés. Il s'agissait dans la majorité des cas de contaminations de début de grossesse.
- Les indications d'interruption médicale de grossesse pour anomalie détectée en échographie n'ont été posées que dans 27 cas (1,8 %).
- Sur les 1384 enfants vivants et correctement suivis, 74 % n'étaient pas infectés. Ce chiffre confirme bien que les indications d'interruption de grossesse doivent être posées avec discernement, d'autant que les manifestations cliniques sont le plus souvent modérées. En effet, sur 327 enfants contaminés, seuls 24% présentaient des lésions oculaires. Tous avaient un développement et une scolarité normale. Dans cette étude, les séquelles visuelles et neurologiques étaient modérées ce qui contraste avec les tableaux rapportés dans la littérature.
- Enfin, le fait que la moitié des lésions soit diagnostiquée après l'âge de 2 ans et que 29 % des enfants aient présenté un nouvel évènement oculaire durant les 12 premières années de vie est en faveur de la nécessité d'un suivi ophtalmologique régulier.

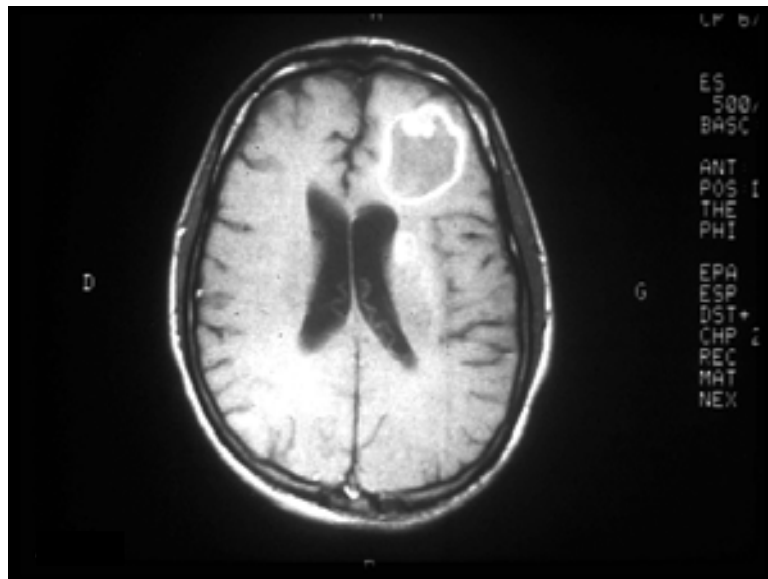


Illustration 6 : Toxoplasme cérébrale. Examen par imagerie par résonance magnétique (IRM)

Coupe axiale en pondération T1 après injection de produit de contraste. Volumineuse prise de contraste annulaire frontale gauche et petite lésion plus postérieure. Collection Pr. J. Frijja, Service de Radiologie, Hôpital Saint-Louis, Paris



Illustration 7 : Rétinochoroïdite consécutive à une toxoplasmose congénitale

Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Lyon

L'impact fonctionnel des lésions dépendra de leur taille et de leur localisation. Les lésions très périphériques n'auront aucune répercussion sur la vision et seront généralement découvertes de façon fortuite à l'occasion d'un fond d'œil systématique qui révélera le plus souvent une lésion pigmentée typique. Des foyers plus centraux, proche de la macula, pourront donner un scotome dont l'importance dépendra de la taille de la lésion. Une atteinte papillaire provoquera d'une cécité totale de l'œil contrairement à une atteinte foveolaire (zone avasculaire située au centre de la macula) qui entraînera une basse vision centrale avec respect du champ visuel. En phase aiguë, une inflammation du vitré pourra provoquer des troubles de la vision qui régresseront quand les lésions cicatrissent. L'association de foyers actifs et de lésions cicatricielles est observée dans plus des 2/3 des cas (Bosch-Driessen, 2002). Des complications peuvent survenir, comme une papillite, une cataracte, des occlusions vasculaires rétiniennes, un décollement de rétine, une atrophie optique voire une microphthalmie (Meenken, 1995).



Illustration 8 : Dilatation ventriculaire fœtale. Aspect en échographie de morphologie fœtale transabdominale

Dilatation ventriculaire et hydrocéphalie. Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Lyon



Illustration 9 : Dilatation ventriculaire fœtale. Aspect en imagerie par résonance magnétique *in utero*

Dilatation ventriculaire surtout marquée dans la région pariéto occipitale. Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Lyon

Références bibliographiques

- Alford CA, Stagno S, Reynolds DW. Congenital toxoplasmosis : clinical, laboratory and therapeutical considerations, with special reference to subclinical disease. *Bull NY Acad Med.* 1974;50:160-181.
- Bosch-Driessen LE, Berendschot TT, Ongkosuwito JV, Rothova A. Ocular toxoplasmosis: clinical features and prognosis of 154 patients. *Ophthalmology.* 2002;109:869-78.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. *Lancet.* 1997;350:173-7.
- Brézin AP, Delair-Briffod E. Toxoplasmose oculaire. *Encycl Méd Chir, Ophtalmologie.* 2003a, 21-230-B-15,14pp.
- Brézin AP, Thulliez P, Couvreur J, Nobre R, Mcleod R, Mets MB. Ophthalmic outcomes after prenatal and postnatal treatment of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol.* 2003b;135:779-84.
- Carne B, Bissuel F, Aizenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, Bichat S, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Darde ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.* 2002;40:4037-44.
- Chandenier J, Jarry G, Nassif D, Douadi Y, Paris L, Thulliez P, Bourges-Petit E, Raccurt C. Congestive heart failure and myocarditis after seroconversion for toxoplasmosis in two immunocompetent patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000;19:375-9.
- Cochereau-Massin I, LeHoang P, Lautier-Frau M, Zerdoun E, Zazoun L, Robinet M, Marcel P, Girard B, Katlama E, Lepout C, et coll. Ocular toxoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Am J Ophthalmol.* 1992;114:130-5.
- Couvreur J, Thulliez P. Toxoplasmose acquise à localisation oculaire ou neurologique. *Presse Med.* 1996;25:438-42.
- Derouin F, Garin YJ. Isolement de *Toxoplasma gondii* par culture cellulaire chez des patients infectés par le VIH. *Presse Med.* 1992;21:1853-8.
- Derouin F, Thulliez P, Romand S. Schizophrenia and serological methods for diagnosis of toxoplasmosis. *Clin Infect Dis.* 2002;34:127-9.
- Desmonts G, Couvreur J. Toxoplasmose. *In Conn RB (éditeur) "Current diagnosis" 7.* WB Saunders Company, Philadelphia, 1974, 274-297.
- Desmonts G, Couvreur J. Toxoplasmose congénitale. Etude prospective de l'issue de la grossesse chez 542 femmes atteintes de toxoplasmose acquise en cours de gestation. *Sem Hôp Paris* 1986 ;62:1418-1422.
- Dunn D, Wallon M., Peyron F., Pertersen E., Peckham C., Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 1999;353:1829-1833.
- Eichenwald HA. A study of congenital toxoplasmosis with particular emphasis on clinical manifestations, sequelae and therapy; 1960, *In* : SiimJC (éditeur), "Human toxoplasmosis". Munksgaard, Copenhagen, 41-49.
- Flegr J, Havlicek J, Kodym P, Maly M, Smahel Z. Increased risk of traffic accidents in subjects with latent toxoplasmosis: a retrospective case-control study. *BMC Infect Dis.* 2002;2:11.
- Flegr J, Kodym P, Tolarova V. Correlation of duration of latent *Toxoplasma gondii* infection with personality changes in women. *Biol Psychol.* 2000;53:57-68.
- Flegr J, Preiss M, Klose J, Havlicek J, Vitakova M, Kodym P. Decreased level of psychobiological factor novelty seeking and lower intelligence in men latently infected with the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. Dopamine, a missing link between schizophrenia and toxoplasmosis? *Biol Psychol.* 2003;63:253-68.
- Ganji M, Tan A, Maitar MI, Weldon-Linne CM, Weisenberg E, Rhone DP. Gastric toxoplasmosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. A case report and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:732-4.
- Gay-Andrieu F, Marty P, Pialat J, Sournies G, De Laforte T D, Peyron F. Fetal toxoplasmosis and negative amniocentesis: necessity of an ultrasound follow-up. *Prenat Diagn* 2003;23: 558-560.
- Gray F, Gherardi R, Wingate E, Wingate J, Fenelon G, Gaston A, Sobel A, Poirier J. Diffuse "encephalitic" cerebral toxoplasmosis in AIDS. Report of four cases. *J Neurol.* 1989;236:273-7.

- Guerina NG, Hsu HW, Meissner CH, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, Abrams I, Pasternack MS, Hoff R, Eaton RB, Grady GF. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med*. 1994;330:1858-1863.
- Havlicek J, Gasova ZG, Smith AP, Zvara K, Flegr J. Decrease of psychomotor performance in subjects with latent 'asymptomatic' toxoplasmosis. *Parasitology*. 2001;122:515-20.
- Hayde M, Pollack A F. Clinical picture. Neonatal signs and symptoms. In "Congenital toxoplasmosis" P. Ambroise-Thomas and E. Pedersen Ed.; Springer-Verlag, Paris, 2000, 153-164.
- Hofman P, Michiels JF, Saint-Paul MC, Galibert A, Marty P, Durant J, Fuzibet JG, Mouroux J, Le Fichoux Y, Loubiere R. Toxoplasmose au cours du SIDA. Etude anatomique de 78 cas. *Ann. Pathol*. 1993;13:233-40.
- Holland GN. Ocular toxoplasmosis : A global reassessment. Part I : epidemiology and course of the disease. *Am J Ophthalmology* 2003;136: 973-988.
- Holland GN. Ocular toxoplasmosis : A global reassessment. Part II : Disease manifestations and management. *Am J Ophthalmology* 2004;137:1-17.
- Israelski DM, Remington JS. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. *Curr Clin Top Infect Dis*. 1993;13:322-56.
- Jacquemard F. Clinical aspects of infection during pregnancy. In "Congenital toxoplasmosis" P. Ambroise-Thomas and E. Pedersen Ed.; Springer-Verlag, Paris, 2000.111-120.
- Koppe JG, Loewer-Sieger DH, de Roeber-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. *Lancet*. 1986;1:254-6.
- Kuo I, Rao NA. Ocular disease in AIDS. *Springer Sem Immunopathol*. 1999;21:161-177.
- Lepout C, Remington JS. Toxoplasmose au cours du SIDA. *Presse Med*. 1992;21:1165-1171.
- Lucet JC, Bailly MP, Bedos JP, Wolff M, Gachot B, Vachon F. Septic shock due to toxoplasmosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Chest*. 1993;104:1054-1058.
- Luft BJ, Hafner R, Korzun AH, Lepout C, Antoniskis D, Bosler EM, Bourland DD 3rd, Uttamchandani R, Fuhrer J, Jacobson J, et coll. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med*. 1993;329:995-1000.
- Luft BJ, Naot Y, Araujo FG, Stinson EB, Remington JS. Primary and reactivated *Toxoplasma* infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. *Ann Intern Med*. 1983;99:27-31.
- McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher C, Roizen N, Wolters C, Stein L, Stein M, Schey W, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis*. 1994;18:38-72.
- Magid SK, Kagen LJ. Serologic evidence for acute toxoplasmosis in polymyositis-dermatomyositis. Increased frequency of specific anti-*Toxoplasma* IgM antibodies. *Am J Med*. 1983;75:313-320.
- Mawhorter SD, Efron D, Blinkhorn R, Spagnuolo PJ. Cutaneous manifestations of toxoplasmosis. *Clin Infect Dis*. 1992;1:1084-8.
- Mc Cabe RE, Brooks RG, Dorfman, Remington JS. Clinical spectrum in 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. *Rev Infect Dis*. 1987;9:754-774.
- Mele A, Paterson PJ, Prentice HG, Leoni P, Kibbler CC. Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:691-8.
- Meenen C, Assies J, van Nieuwenhuizen O, Holwerda-van der Maat W, van Schooneveld MJ, Delleman WJ, Kinds G, Rothova A. Long term ocular and neurological involvement in severe congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol*. 1995;79:581-584.
- Peyron F, Wallon M, Bernardoux C. Long-term follow-up of patients with congenital ocular toxoplasmosis. *N Engl J Med*. 1996;334:993-994.
- Pomeroy C, Filice GA. Pulmonary toxoplasmosis. *Clin Infect Dis*. 1992;14:863-870.
- Rabaud C, May T, Amiel C, Katlama C, Lepout C, Ambroise-Thomas P, Canton P. Extracerebral toxoplasmosis in patients infected with HIV. A French National Survey. *Medicine (Baltimore)*. 1994; 73:306-14.
- Rabaud C, May T, Lucet JC, Lepout C, Ambroise-Thomas P, Canton P. Pulmonary toxoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus: a French National Survey. *Clin Infect Dis*. 1996;23:1249-54.
- Raffi F, Aboulker JP, Michelet C, Reliquet V, Pelloux H, Huart A, Poizot-Martin I, Morlat P, Dupas B, Mussini JM, Lepout C. A prospective study of criteria for the diagnosis of toxoplasmic encephalitis in 186 AIDS patients. The BIOTOXO Study Group. *AIDS*. 1997;11:177-84.
- Raffi F, Tiab M, Morin O, Derouin F. Toxoplasmose cérébrale au cours d'une prio-infection toxoplasmique. *Presse Med*. 1992;28:584-5.
- Roizen N, Swisher CN, Stein MA, Hopkins J, Boyer KM, Holfels E, Mets MB, Stein L, Patel D, Meier P et coll. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 1995;95:11-20.
- Speirs GE, Hakim M, Calne RY, Wreghitt TG. relative risk of donor-transmitted *Toxoplasma gondii* infection in heart, liver and kidney transplant recipients. *Clin Transplantation*. 1988;2:257-260.
- Torrey FE, Yolken RH. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:1375-1380.
- Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, Peyron F. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004;113:1567-72.
- Wreghitt TG, Hakim M, Balfour AH, Stovin PG, Stewart S, Scott J, English TAH, Wallwork J. Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. *J Clin Pathol*. 1989;42:194-199.

Question 2 : quelles sont les méthodes de diagnostic de la toxoplasmose humaine ?

Responsable de la question : Mme Villena
Co-rédacteurs : Mme Dardé, M. Derouin
Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Bessières

Suivant le contexte clinique, le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose sur l'isolement du parasite ou de l'ADN parasitaire et/ou sur la mise en évidence des anticorps spécifiques. Les techniques basées sur l'immunité cellulaire n'ont pas d'application diagnostique courante. Nous exposerons successivement les principales techniques utilisées puis leurs applications dans différentes situations de diagnostic chez l'homme.

1. Diagnostic parasitologique

1.1. Examen direct

La recherche de tachyzoïtes ou de kystes sur frottis ou apposition est possible après coloration au May Grunwald Giemsa (MGG), immunofluorescence ou immunocytochimie, mais la détection des parasites s'ils sont peu nombreux est difficile.

1.2. Inoculation à la souris

Cette technique demeure aujourd'hui encore une technique de référence pour isoler les toxoplasmes viables. Après inoculation des prélèvements pathologiques, les souris infectées développent rarement des signes cliniques. Leur infection, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, ne peut le plus souvent être détectée qu'après 3 à 4 semaines par la mise en évidence d'une synthèse d'anticorps et confirmée par la présence de kystes dans leur cerveau. L'inoculation à la souris fournit donc des résultats tardifs, mais elle conserve des avantages majeurs : une bonne sensibilité, une spécificité de 100%, une confirmation objective des résultats de la biologie moléculaire, voire une complémentarité des résultats de la PCR (notamment lorsque celle-ci détecte des inhibiteurs de la réaction) (Dupouy-Camet, 1992 ; Fricker-Hidalgo, 1998). En outre, elle permet l'isolement des souches pour une caractérisation ultérieure.

1.3. Culture cellulaire

La culture est habituellement effectuée sur des cellules fibroblastiques (type MRC5), mais d'autres types cellulaires peuvent être employés (HeLa, THP1, TG180, etc.). La recherche du toxoplasme en culture cellulaire est une technique relativement rapide (3 à 5 jours au minimum) mais sa sensibilité est inférieure à celle de l'inoculation à la souris et de la PCR (Derouin, 1987; Hitt, 1992). Cette technique est actuellement abandonnée au profit des techniques de biologie moléculaire.

1.4. Biologie moléculaire

Des progrès considérables en matière de diagnostic de la toxoplasmose ont été faits avec la PCR et son application dans divers prélèvements (sang, liquide amniotique, LCR, LBA, humeur aqueuse, etc.). A l'heure actuelle, il n'existe aucune trousse commercialisée et cette technique comporte un certain nombre de difficultés technique et de limites, encore mal définies. Chaque laboratoire applique sa propre technique : amplification du gène B1 (gène répété 35 fois dans le génome du toxoplasme permettant d'augmenter la sensibilité de la détection, Burg, 1989), amplification du gène *SAG1* (codant pour l'antigène majeur du toxoplasme), très spécifique mais dont la présence dans le génome sous forme d'une copie unique est à l'origine d'une moindre sensibilité; d'autres gènes à copies multiples sont utilisés comme l'ADN ribosomal 18S et la séquence AF146527. Actuellement, la PCR en

temps réel se développe dans les laboratoires et permet la quantification de l'ADN présent dans les échantillons par comparaison avec une gamme étalon (Homan, 2000 ; Lin, 2000 ; Costa, 2001).

Les applications de la PCR pour le diagnostic d'une infection toxoplasmique concernent principalement le diagnostic anténatal (Hohlfeld, 1994 ; Romand, 2001) et le diagnostic de toxoplasmose chez les patients immunodéprimés (Bretagne, 1993 ; Foudrinier, 1996 ; Costa, 2000 ; Menotti, 2003 ; Janitschke, 2003). En revanche, elle n'a pas d'indication dans le cadre de la toxoplasmose chez le patient immunocompétent, sauf dans de rares exceptions.

2. Diagnostic sérologique

Les techniques sérologiques, appliquées à la recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum, le LCR ou l'humeur aqueuse sont nombreuses et chacune présente ses avantages et ses inconvénients. Leurs conditions d'utilisation pour le diagnostic, le dépistage sérologique ou le suivi anténatal font l'objet de dispositions légales, portant sur la tarification des examens (nomenclature des actes de biologie médicale) et sur leurs associations, notamment pour la femme enceinte (cf. Question 31).

2.1. Techniques quantitatives de « première intention »

La plupart des laboratoires utilisent maintenant en routine des trousse commercialisées pour des réactions immunoenzymatiques (ELISA) ou d'immunochemiluminescence. Ces trousse sont standardisées et offrent des réactifs de qualité pour la quantification des anticorps IgG, IgM ou IgA. Mais d'autres techniques restent indispensables pour répondre à certaines difficultés de l'interprétation sérologique toxoplasmique : contrôle de sérologies à des taux faibles, datation de l'infection, problème des IgM naturelles et des IgM persistantes, diagnostic de la toxoplasmose congénitale chez l'enfant. L'association de plusieurs techniques est souvent nécessaire dans ces cas difficiles.

Pour la détection des IgG, l'immunofluorescence indirecte et le test de lyse ou dye-test présentent l'avantage d'une grande spécificité et d'une détection des IgG plus précoce qu'en ELISA après une séroconversion ; l'agglutination directe de haute sensibilité (ADHS) est particulièrement intéressante pour les sérums avec des taux faibles d'anticorps IgG.

Pour les IgM, certaines techniques, telle que l'immunofluorescence indirecte, ne les détectent généralement que pendant les 2 à 3 premiers mois après l'infection alors que les techniques d'immunocapture, particulièrement l'Immuno-Sorbent Agglutination Assay (ou ISAGA), peuvent retrouver des IgM en moyenne 1 an après l'infection. Aucune technique de détection des IgM n'échappe à la possibilité de faux positifs par mise en évidence d'anticorps de la classe des IgM dirigés contre des épitopes communs au toxoplasme et à d'autres substances encore non identifiées. La détection des IgA et des IgE repose aussi sur des méthodes d'immunocapture; leur cinétique est différente de celle des IgM avec généralement une apparition plus précoce (cas des IgE) et une durée de détection plus courte de l'ordre de quatre à six mois environ par immunocapture (Decoster, 1995 ; Villena, 1999). Cependant, il existe de nombreuses variations individuelles pour ces isotypes.

2.2. Techniques complémentaires

Plusieurs autres techniques sont proposées pour l'analyse qualitative des anticorps, permettant de dater une infection et de mieux caractériser une réponse immunitaire dans des milieux biologiques différents.

La mesure de l'avidité des IgG par méthode immunoenzymatique est utilisée pour distinguer une toxoplasmose récente d'une toxoplasmose chronique, dans le cas où les techniques de première intention ne permettent pas de trancher (en présence d'IgM ou quand les IgG sont présentes à un titre élevé > 150 UI/ml). Cette distinction est possible car l'avidité des IgG pour les antigènes augmente au cours d'une infection. Actuellement les méthodes les plus fréquemment employées sont basées sur une modification des techniques ELISA utilisées pour la détection des anticorps IgG.

Le western blot, ou immunoblot, n'est pas indiqué dans la sérologie courante chez le patient immunocompétent. Cette technique est intéressante pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale. La comparaison des profils d'anticorps IgG et IgM chez la mère et chez l'enfant permet de mettre en évidence des anticorps néo-synthétisés chez le nouveau-né lorsqu'il est infecté (Franck, 1992 ; Robert-Gangneux, 1999a). Elle est également utilisée pour le diagnostic de la toxoplasmose oculaire par l'analyse comparative de la réponse anticorps dans l'humeur aqueuse et le sérum. La technique ELIFA (Enzyme Linked Immuno-Filtration Assay) est également utilisée pour l'étude comparative de plusieurs échantillons appariés, par exemple: mère/enfant, mère/cordon, sérum de l'enfant à différentes dates : elle permet d'établir des profils immunologiques comparés (PIC-ELIFA) et d'identifier des néo-anticorps synthétisés chez le nouveau-né infecté (Pinon, 1996).

La détermination de la charge immunitaire consiste à quantifier la part relative des anticorps spécifiques par rapport à la quantité totale d'IgG. Elle est utilisée pour comparer la production d'anticorps entre différents liquides biologiques (sérum, humeur aqueuse, LCR).

3. Conduite du diagnostic de la toxoplasmose

3.1. Diagnostic de la toxoplasmose de l'adulte (en dehors de la grossesse ou d'un contexte d'immunodépression)

Le diagnostic est uniquement sérologique. Le titrage des IgG et des IgM spécifiques permet de définir le statut immunitaire du patient (séropositif ou séronégatif) et éventuellement d'estimer la date de la contamination. Les techniques complémentaires (immunoblot, avidité) et la recherche du parasite ne sont pas justifiées dans ce contexte.

3.2. Diagnostic de la toxoplasmose chez la femme enceinte (Figure 3)

La sérologie de toxoplasmose a deux applications principales chez la femme enceinte:

- définir son statut immunitaire et assurer une surveillance sérologique en cas de séronégativité. Ceci repose sur un titrage des anticorps IgG et IgM. L'absence d'immunité se traduit par l'absence d'anticorps spécifiques IgG. Une immunité ancienne se traduit par des taux faibles et stables d'IgG en l'absence d'IgM spécifiques.
- établir le diagnostic d'une toxoplasmose acquise en cours de grossesse. Dans ce cas, la datation de la contamination est essentielle pour apprécier le risque de toxoplasmose congénitale. Ceci est possible grâce à la sérologie en tenant compte de la présence ou non d'anticorps IgM, IgA (voire IgE), de la variation et de la valeur des titres des anticorps IgG entre deux prélèvements distants d'au moins quinze jours à 3 semaines. Le diagnostic de certitude d'une toxoplasmose récente est porté sur la constatation d'une séroconversion, ou de l'ascension significative des titres d'IgG sur deux prélèvements associés à la présence d'IgM et éventuellement d'autres marqueurs d'infection récente (IgA/IgE), à condition que le titrage soit effectué dans le même laboratoire, par la même technique et dans la même série de tests. Pour dater l'infection, certains laboratoires disposent d'une technique reposant sur la différence dans les titres d'agglutination de toxoplasmes ayant subi des traitements différents (trypsine : ADHS ou méthanol : agglutination AC) (Dannemann, 1990) ; cette technique n'est pas commercialisée. La détermination de l'avidité des anticorps IgG est très utile lorsque sont détectés des IgG et des IgM sur un premier sérum prélevé vers 2 à 3 mois de grossesse, en permettant dans un grand nombre de cas de conclure au caractère anté-conceptionnel ou non de l'infection. En effet, l'index d'avidité des anticorps IgG est bas dans les infections récentes (3 à 6 mois selon les techniques) et élevé dans les infections anciennes. Certains individus conservent cependant des index d'avidité bas lors des infections chroniques. Ainsi, l'observation d'un index bas ne permet pas d'exclure une infection récente, mais un index élevé signe une infection ancienne (Ashburn, 1998 ; Cozon, 1998).

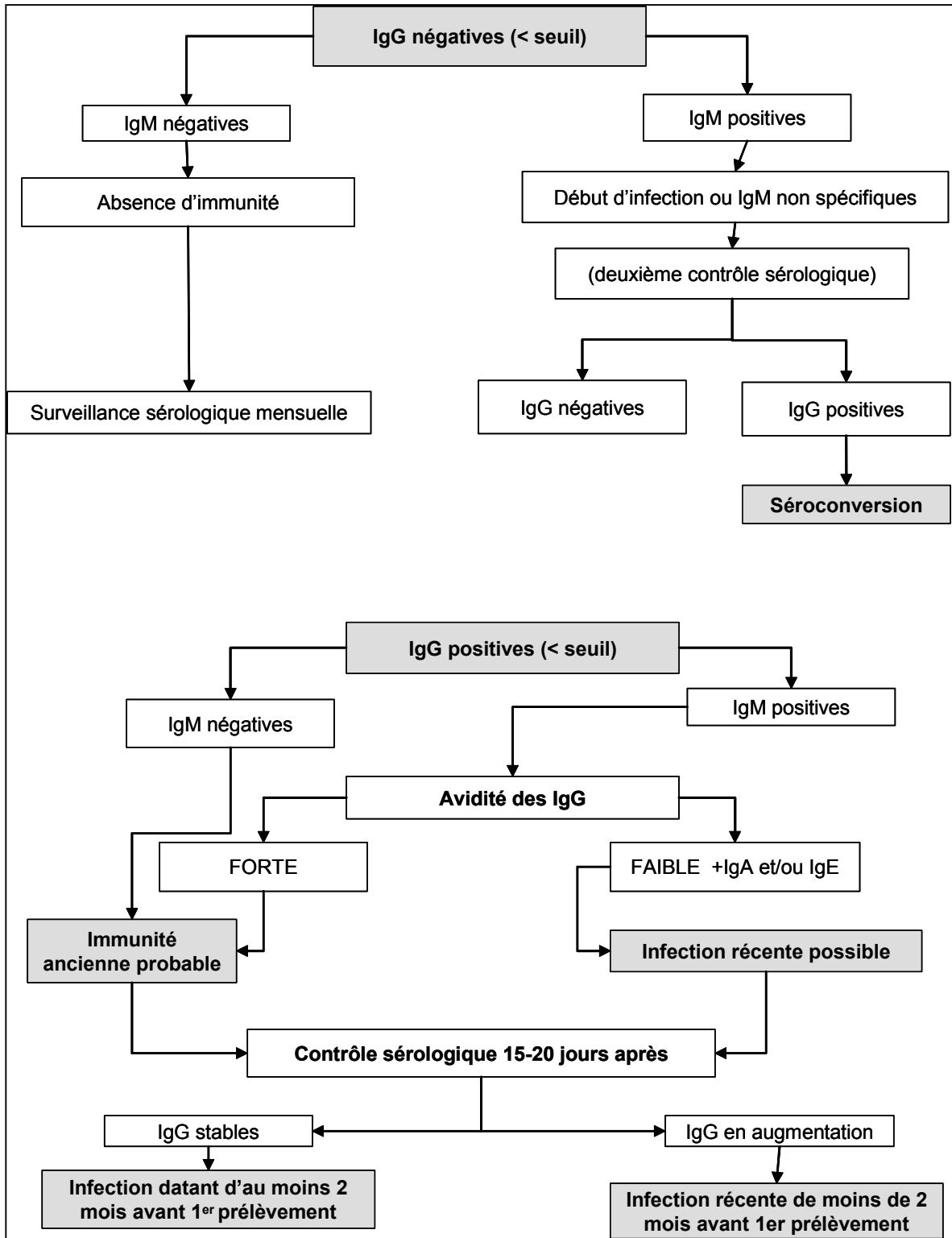


Figure 3 : Schéma de conduite à tenir devant une sérologie toxoplasmique chez la femme enceinte immunocompétente

(adapté de Bessières, 2003)

3.3. Diagnostic de la toxoplasmose congénitale

(cf. Figure 4). Il peut être fait en période anténatale, à la naissance et par un suivi de l'enfant.

3.3.1. Diagnostic anténatal⁴

Le diagnostic anténatal sera proposé en cas de séroconversion maternelle ou de suspicion d'infection survenue en cours de grossesse. Une surveillance échographique mensuelle est pratiquée à la recherche de signes évocateurs de toxoplasmose congénitale : dilatation des ventricules cérébraux, hépatomégalie foetale, ascite foetale, calcifications intracrâniennes. Les signes échographiques sont d'autant plus fréquents et importants que l'infection est survenue précocement. En cas de doute sur l'interprétation des images échographiques, l'IRM peut être une aide au diagnostic. L'absence d'anomalies échographiques ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de toxoplasmose congénitale et des anomalies peuvent apparaître même tardivement, justifiant ce rythme mensuel de surveillance (Gay-Andrieu, 2003, Villena, 2003).

L'amniocentèse a constitué un progrès considérable dans le diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale. Le prélèvement de liquide amniotique (de 10 à 20 ml) peut être réalisé à partir de la 18^{ème} semaine d'aménorrhée, avec un risque faible d'incident (environ 0,5%). Il est recommandé de le pratiquer au moins 4 semaines après la date estimée de l'infection maternelle pour éviter les faux négatifs dus à un retard dans la transmission du toxoplasme de la mère au fœtus. Sur ce prélèvement il est recommandé d'effectuer la recherche d'ADN toxoplasmique par PCR (avec un délai de réponse de 2 à 3 jours) (Dupouy-Camet, 1992 ; Gratzl, 1998 ; Robert-Gangneux, 1999b) et d'y associer systématiquement l'inoculation à la souris (délai 4-6 semaines), qui reste l'examen de référence confirmant le résultat de la PCR. L'association des 2 techniques permet d'obtenir une sensibilité de l'ordre de 80% et d'isoler la souche de toxoplasme (Romand, 2001). L'existence de faux négatifs (liés notamment à des transmissions tardives du toxoplasme de la mère à l'enfant) justifie la surveillance de tout enfant à risque (cf. Figure 4). Lorsque la contamination a lieu en fin de grossesse, certaines équipes préfèrent déclencher l'accouchement pour effectuer un diagnostic néonatal précoce.

3.3.2. Diagnostic néonatal

A la naissance, les prélèvements à effectuer systématiquement comprennent : d'une part, un fragment de placenta et du sang du cordon prélevé sur anticoagulant pour la mise en évidence du toxoplasme et d'autre part, du sang de l'enfant et du sang de la mère pour la détection d'une synthèse d'anticorps spécifiques. Le volume de placenta à prélever doit être suffisamment important pour assurer une bonne sensibilité de l'examen : un volume de 100 à 200 g est recommandé. Les diverses techniques de recherche du toxoplasme (PCR, inoculation à la souris) peuvent être appliquées à ce prélèvement. La sensibilité de la détection du toxoplasme dans le placenta pour le diagnostic de toxoplasmose congénitale est de l'ordre de 60 à 70% (Fricker-Hidalgo, 1998 ; Bessières, 2001). Elle diminue à 25% lorsque les enfants ont été traités *in utero* par l'association pyriméthamine + sulfamides (Bessières, 2001 ; Villena, 1998).

Le diagnostic immunologique repose sur la détection d'anticorps synthétisés par l'enfant, témoin de son contact avec l'antigène toxoplasmique au cours de la vie intra-utérine. Les anticorps de classe IgM ou IgA ne traversant pas la barrière placentaire, contrairement aux anticorps IgG ; ils sont les meilleurs témoins de l'infection congénitale. Leur recherche doit reposer sur des techniques très sensibles basées sur le principe de l'immunocapture. La sensibilité de détection de ces isotypes est dépendante de la date de contamination maternelle (Wallon, 1999). Généralement, la performance de détection des IgA paraît supérieure à celle des IgM (aux alentours de 70% et 65%, respectivement) (Robert Gangneux, 1999a ; Bessières, 2001 ; Pinon 2001).

⁴ Le diagnostic anténatal ne peut être fait que dans des centres ayant un agrément ministériel

La recherche des IgG spécifiques néo-synthétisés par l'enfant repose sur des techniques qualitatives d'immunoblot ou d'ELIFA avec comparaison des profils d'anticorps IgG de la mère et de l'enfant. Ces 2 techniques peuvent être aussi appliquées à la détection des IgM ou des IgA, voire des IgE. Elles ont une sensibilité supérieure aux techniques classiques. En combinant les techniques détectant les différents isotypes spécifiques, le diagnostic de toxoplasmose congénitale est porté dans 96 à 98% des cas au cours des trois premiers mois de vie (Pinon, 2001).

La comparaison de la charge immunitaire sérique du nouveau-né et de celle de sa mère permet également le diagnostic lorsque la charge immunitaire chez l'enfant est significativement supérieure (3 à 4 fois) à celle de la mère.

3.3.3. Diagnostic postnatal

Même en cas de négativité du diagnostic à la naissance, la surveillance sérologique de l'enfant est poursuivie. Les éléments en faveur d'une toxoplasmose congénitale seront alors : 1) l'apparition d'IgG spécifiques néo-synthétisés par l'enfant (de façon qualitative par immunoblot ou ELIFA, ou quantitative par comparaison des charges immunitaires) ; 2) l'ascension ou l'absence de diminution du taux des anticorps IgG au cours de la première année de vie. En l'absence de toxoplasmose congénitale, les anticorps maternels disparaissent en 5 à 10 mois, en fonction du taux initial.

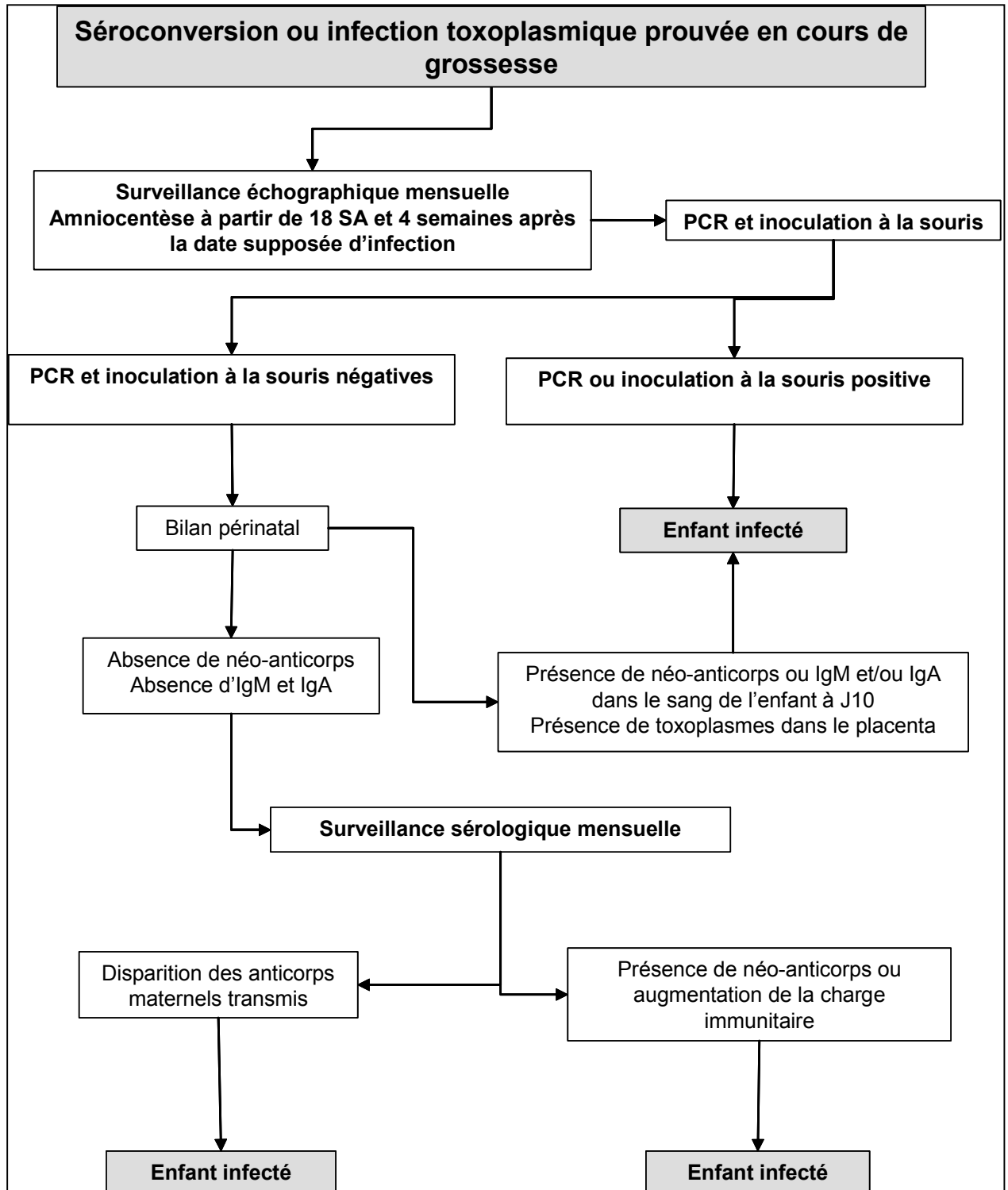


Figure 4 : Stratégie de diagnostic d'une toxoplasmose congénitale devant une séroconversion ou une infection toxoplasmique récente pendant la grossesse

3.4. Diagnostic de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé

Le diagnostic de la toxoplasmose chez le patient immunodéprimé repose sur des arguments biologiques, cliniques, radiologiques et thérapeutiques. L'imagerie (scanner, IRM) a une très grande valeur d'orientation pour le diagnostic de toxoplasmose cérébrale.

La sérologie permet d'orienter le diagnostic, mais n'apporte que rarement un argument décisif (ceci quelle que soit la méthode utilisée pour le titrage des anticorps).

L'observation d'une sérologie négative permet d'exclure le diagnostic d'une toxoplasmose cérébrale sauf en cas d'immunodépression très profonde. L'observation d'une sérologie positive indique une infection toxoplasmique mais ne permet généralement pas de juger de son évolutivité, car les "marqueurs" habituels d'une infection aiguë tels que titre élevé d'IgG, présence d'IgM ou d'IgA, indice d'avidité bas, sont le plus souvent absents chez les malades immunodéprimés. Seule la confrontation avec les données radiologiques et cliniques, voire thérapeutiques (traitement d'épreuve) permettra d'affirmer le diagnostic.

Il faut noter cependant que l'observation d'un titre élevé d'anticorps et/ou une réactivation sérologique (augmentation des IgG) chez les patients VIH+ ayant un taux de CD4 < 200/mm³ sont indicateurs d'un risque plus élevé de survenue ultérieure d'une toxoplasmose (Derouin, 1996 ; Bélanger, 1999). Il en est de même en cas de présence d'anticorps dirigés contre certains antigènes de *T. gondii* (Raffi, 1999)

Le titrage des anticorps dans le liquide céphalo-rachidien est peu contributif. Il doit obligatoirement être effectué parallèlement au titrage dans le sérum, avec détermination des charges immunitaires. Une charge immunitaire dans le LCR 3 à 4 fois supérieure à celle du sérum permet de conclure à une production locale d'anticorps spécifiques et donc de suspecter une atteinte cérébrale. L'immunoblot peut être pratiqué pour mettre en évidence une production locale d'anticorps dans le LCR (Raffi, 1999).

En l'absence d'argument sérologique fiable, la mise en évidence de parasites peut apporter la preuve formelle d'une toxoplasmose évolutive. En pratique, elle est réalisée sur des prélèvements de sang périphérique, LBA, moelle osseuse pour le diagnostic d'une localisation de toxoplasmose extra-cérébrale (Tableau 7). Dans les cas de toxoplasmose cérébrale, la parasitémie est le plus souvent négative ; seule la recherche sur biopsie cérébrale peut être contributive mais elle est de moins en moins pratiquée, en raison du risque lié au prélèvement. Sur tous ces prélèvements, on privilégiera les techniques permettant un diagnostic rapide : examen direct après coloration (MGG, RAL) et PCR (Bretagne, 1993 ; Foudrinier, 1996 ; Costa, 2000 ; Menotti, 2003). La PCR réalisée sur le LCR, lorsqu'elle est positive, permet de poser le diagnostic de toxoplasmose cérébrale. En revanche, sa négativité ne permet pas d'infirmer le diagnostic.

Tableau 7 : Eléments du diagnostic de la toxoplasmose de l'immunodéprimé

	Toxoplasmose	
	Cérébrale	Extra-cérébrale
Sérologie positive*	100 %	90 %
Présence d'IgM	10-20 %	≈10-20 %
Isolement de <i>T. gondii</i> (biopsie, LBA, moelle, sang)		
-par examen direct	≈10 %	≈50 %
-par culture	≈10 %	90-100 %
-par PCR	20-40 %	90-100 %
Imagerie (scanner, IRM)	+++	±
Epreuve thérapeutique	+++	++

(Données du Laboratoire de Parasitologie, Hôpital St-Louis, non publié)

*quel que soit le titre

3.5. Diagnostic de la toxoplasmose oculaire

Le diagnostic de rétinohoroïdite toxoplasmique est à évoquer en cas de toxoplasmose congénitale, chez les patients immunodéprimés séropositifs pour la toxoplasmose et dans de rares cas de toxoplasmose récemment acquise.

Chez le sujet connu comme infecté *in utero*, l'apparition d'une rétinohoroïdite, même tardive, ne justifie généralement pas une confirmation biologique du diagnostic, car c'est avant tout un diagnostic ophtalmologique. Dans les autres cas, la preuve de l'origine toxoplasmique peut être fournie par la mise en évidence d'une synthèse locale d'IgA ou d'IgG spécifiques en comparant la charge immunitaire de l'humeur aqueuse avec celle du sérum correspondant ou en réalisant une analyse comparée des spécificités des anticorps par immunoblot ou ELISA (Riss, 1995). La PCR pratiquée sur l'humeur aqueuse ou le vitré peut être positive même en l'absence de production locale d'anticorps (Simon, 2004).

Références bibliographiques

- Ashburn D, Joss AW, Pennington TH, Ho-Yen DO. Do IgA, IgE and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of *Toxoplasma* infection in pregnancy? *J Clin Pathol.* 1998;51:312-15.
- Bélanger F, Derouin F, Grangeot-Keros L, Meyer L, and the HEMOCO and SEROCO Study Groups. Incidence and risks factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1998-1995. *Clin Infect Dis.* 1999;28:575-581.
- Bessières MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, Roques C, Cassaing S, Courjault C, Seguela JP. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;94:37-45.
- Bessières MH. Toxoplasmose?. Diagnostic et moyens. La mère: évaluation des risques et datation; sérologie. *Arch Fse Pédiatrie.* 2003;10 (hors série N°1):30-32.
- Bretagne S, Costa JM, Vidaud M, Tran J, Nhieu V, Fleury-Feith J. Detection of *Toxoplasma gondii* by competitive DNA amplification of bronchoalveolar lavage samples. *J Infect Dis.* 1993;168:1585-1588.
- Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1989;27:1787-1792.
- Costa JM, Pautas C, Ernault P, Foulet F, Cordonnier C, Bretagne S. Real-time PCR for diagnosis and follow-up of *Toxoplasma* reactivation after allogeneic Stem-cell transplantation using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2929-2932.
- Costa JM, Ernault P, Gautier E, Bretagne S. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by duplex real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *Prenat Diagnosis.* 2001;21:85-88.
- Cozon GJ, Ferrandiz J, Nebhi H, Wallon M, Peyron F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17:32-36.
- Dannemann BR, Vaughan WC, Thulliez P, Remington JS. Differential agglutination test for diagnosis of recently acquired infection with *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 1990;28:1928-33.
- Decoster A, Gontier P, Dehecq E, Demory JL, Duhamel M. Detection of anti-*Toxoplasma* immunoglobulin A antibodies by Platelia-Toxo IgA directed against P30 and by IMx Toxo IgA for diagnosis of acquired and congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2206-8.
- Derouin F, Mazeron MC, Garin Y. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 1988;25:1597-1600.
- Derouin F, Lepout C, Pueyo S, Morlat P, Letrillart B, Chene G, Ecobichon JL, Luft B, Aubertin J, Hafner R, Vilde JL, Salamon R. Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titres on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. ANRS 005/ACTG 154 Trial Group. *AIDS.* 1996;10:1521-7.
- Dupouy-Camet J, Bognoux ME, Lavareda de Souza S, Thulliez P, Dommergues M, Mandelbrot L, Ancelle T, Tourte-Schaeffer C, Benarous R. Comparative value of polymerase chain reaction and conventional biological tests for the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Ann Biol Clin.* 1992;50:315-19.
- Foudrinier F, Aubert D, Puygauthier-Toubas D, Rouger C., Beguino I, Halbout P, Lemaire P, Marx-Chemla C, Pinon JM. Detection of *Toxoplasma gondii* in immunodeficient subjects by gene amplification : influence of therapeutics. *Scand J Infect Dis.* 1996;28:383-386.
- Franck J, Mary C, Laugier M, Dumon H., Quilici M. Apport du Western blot au diagnostic de la toxoplasmose congénitale. *Bull. Soc Fse Parasitol.* 1992;10:3-11.
- Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Grefenstette I, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A et Ambroise Thomas P. Detection of *Toxoplasma gondii* in 94 placentae from infected women by polymerase chain reaction, in vivo, and in vitro cultures. *Placenta.* 1998;9:546-9.
- Gay-Andrieu F, Marty P, Pialat J, Sournies G, De Laforte T D, Peyron F. Fetal toxoplasmosis and negative amniocentesis: necessity of an ultrasound follow-up. *Prenat Diagn.* 2003;23:558-560.
- Gratzl R, Hayde M, Kohlhauser C, Hermon M, Burda G, Strobl W, Pollak A. Follow-up of infants with congenital toxoplasmosis detected by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17:853-858.
- Hitt JA, Filice GA. Detection of parasitemia by gene amplification, cell culture and mouse inoculation. *J clin Microbiol.* 1992;30: 3181-84.
- Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med.* 1994;331:695-699.

- Homan WL, Vercammen M, De Braekeleer J, Verschueren H. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol.* 2000;30:69-75.
- Janitschke K, Held T, Krüger D, Schwerdtfeger R, Schlier G, Liesenfeld O. Diagnostic value of tests for *Toxoplasma gondii*-specific antibodies in patients undergoing bone marrow transplantation. *Clin Lab.* 2003;49:239-42.
- Lin, MH., Chen, TC, Kuo, TT, Tseng, CC, Tseng CP. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 2000;38:4121-4125.
- Menotti J, Vilela G, Romand S, Garin YJ, Ades L, Gluckman E, Derouin F, Ribaud P. Comparison of PCR-enzyme-linked immunosorbent assay and real-time PCR assay for diagnosis of an unusual case of cerebral toxoplasmosis in a stem cell transplant recipient. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5313-6.
- Pinon JM, Chemla C, Villena I, Foudrinier F, Aubert D, Puygauthier-Toubas D, Leroux B, Dupouy D, Quereux C, Talmud M, Trenque T, Potron G, Pluot M, Remy G, Bonhomme A. Early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis : value of comparative enzyme-linked immunofiltration assay immunological profiles and anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin M (IgM) or IgA immunocapture and implications for postnatal therapeutic strategies. *J Clin Microbiol.* 1996;34:579-83.
- Pinon, J.M., Dumon H., Chemla C., Franck J., Petersen E., Lebech M., Zufferey J., Bessières M.H., Marty P., Holliman R., Johnson J., Luyasu V., Lecolier B., Guy E., Joynson DH., Decoster A., Enders G., Pelloux H. et Candolfi E. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M and A antibodies. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2267-71.
- Raffi F, Franck J, Pelloux H, Derouin F, Reliquet V, Ambroise-Thomas P, Aboulker JP, Lepout C, Dumon H. Specific anti-toxoplasmic IgG antibody immunoblot profiles in patients with AIDS-associated *Toxoplasma gondii* encephalitis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999;34:51-56.
- Robert-Gangneux F, Commerce V, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet, J. Performance of a Western blot assay to compare mother and newborn anti-*Toxoplasma* antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999a;18:648-654.
- Robert-Gangneux F, Gavinet MF, Ancelle T, Raymond J, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J. Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: retrospective study of 110 cases. *J Clin Microbiol.* 1999b;37:2893-2898.
- Romand, S., Wallon, M., Franck, J., Thulliez, P., Peyron, F., et Dumon, H. Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction on amniotic fluid for congenital toxoplasmosis, *Obstet Gynecol.* 2001;97:296-300.
- Riss JM, Carboni ME, Franck JY, Mary CJ, Dumon H, Ridings B. Ocular toxoplasmosis: value of immunoblotting for the determination of an intra-ocular synthesis of antibodies. *Path Biol.* 1995;43:772-778.
- Simon A, Labalette P, Ordinaire I, Frealle E, Dei-Cas E, Camus D, Delhaes L. Use of fluorescence resonance energy transfer hybridization probes to evaluate quantitative real-time PCR for diagnosis of ocular toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3681-3685.
- Villena I, Quereux C, Pinon JM. Congenital toxoplasmosis: value of prenatal treatment with pyrimethamine-sulfadoxine combination. *Prenat Diagn.* 1998;18:754-756.
- Villena I, Aubert D, Brodard V, Quereux C, Leroux B, Dupouy D, Remy G, Foudrinier F, Chemla C, Gomez-Marin JE, Pinon JM. Detection of specific IgE during maternal, fetal and congenital toxoplasmosis, *J Clin Microbiol.* 1999;37:3487-90.
- Villena I, Bory JP, Chemla C, Hornoy P, Pinon JM. Congenital toxoplasmosis: necessity of clinical and ultrasound follow-up despite negative amniocentesis. *Prenat Diagn.* 2003;23:1098- 1099.
- Wallon M, Dunn D, Slimani D, Girault V, Gay-Andrieu F, Peyron F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis at birth: what is the value of testing for IgM and IgA? *Eur J Pediatr.* 1999;158:645-649.

Question 3 : quels sont les principaux schémas thérapeutiques de la toxoplasmose humaine ?

Responsable de la question : M. Derouin
Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Bessières

Les différents schémas de traitement de la toxoplasmose reposent sur un nombre très limité de médicaments. Les médicaments reconnus actifs se regroupent en deux grandes familles : les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique et les macrolides (Derouin, 2001). Ces médicaments ne sont actifs que sur les tachyzoïtes et sont sans effet sur les kystes.

1. Principaux médicaments

1.1. Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique

Ils comprennent les inhibiteurs de la déhydrofolate réductase (DHFR) et les sulfamides. Ces médicaments ont un effet antiparasitaire puissant mais ne sont pas dénués d'effets indésirables car ils agissent également sur la synthèse de l'acide folique de l'hôte. Parmi les inhibiteurs de la DHFR, l'un des plus actifs est la pyriméthamine, qui a un effet parasiticide sur les tachyzoïtes de *T. gondii* à de très faibles concentrations. Le triméthoprime (composant du cotrimoxazole) est également actif sur *T. gondii*, mais à des concentrations 100 fois plus élevées que la pyriméthamine.

Ces médicaments diffusent bien dans l'organisme, avec cependant un temps de latence pour la pyriméthamine (ce qui impose l'utilisation d'une dose de charge) et franchissent le placenta. Chez l'animal, un effet tératogène a été rapporté lors de l'administration de fortes doses en début de gestation, contre-indiquant leur utilisation chez la femme au cours du premier trimestre de la grossesse.

De nombreux sulfamides sont actifs sur *T. gondii* et leur choix est surtout orienté par leur pharmacocinétique. La sulfadiazine et le sulfaméthoxazole ont des demi-vies courtes (10-12 heures) et leur administration doit être quotidienne ; la sulfadoxine est un sulfamide retard, moins actif que la sulfadiazine mais dont l'administration peut être hebdomadaire. Les sulfamides diffusent bien dans l'organisme et franchissent la barrière placentaire.

L'association d'un inhibiteur de la DHFR et d'un sulfamide est remarquablement synergique sur *T. gondii* par un effet "en cascade" sur deux enzymes essentiels au métabolisme de l'acide folique du parasite. Parmi les associations les plus actives, figurent pyriméthamine + sulfadiazine, pyriméthamine + sulfadoxine (effet retard), et triméthoprime + sulfaméthoxazole. Ces associations sont utilisées en priorité pour le traitement et la prophylaxie secondaire des formes graves de toxoplasmose. Elles sont efficaces, mais fréquemment responsables d'effets indésirables hématologiques (neutropénie, thrombopénie, justifiant l'administration systématique d'acide folinique) et/ou de signes d'intolérance cutanées, parfois graves (épidermolyse, syndrome de Lyell).

1.2. Macrolides

Ces antibiotiques sont actifs sur *T. gondii* mais leur effet est uniquement parasitostatique et ne s'observe qu'à des concentrations élevées. Or, aussi bien chez l'adulte que chez le fœtus, ces concentrations ne sont atteintes que dans certains tissus, comme le foie, le poumon mais pas dans le cerveau ou l'œil, ce qui limite considérablement leur intérêt dans le traitement des formes graves de toxoplasmose. Par contre, les macrolides se concentrent bien dans le placenta et pourraient permettre de réduire la transmission materno-foetale du parasite.

La spiramycine est le principal macrolide utilisé dans le traitement de la toxoplasmose acquise et en cours de grossesse. Les autres macrolides comme la roxithromycine,

l'azithromycine ou la clarithromycine ont des caractéristiques pharmacocinétiques plus favorables (meilleures concentrations tissulaires) mais sont encore contre-indiqués chez la femme enceinte. Les kétolides, nouvelle famille de médicaments apparentés aux macrolides, sont efficaces dans la toxoplasmose expérimentale animale mais n'ont pas encore été utilisés chez l'homme. La clindamycine (famille des lincosamides) a des caractéristiques pharmacologiques voisines de celles des macrolides ; elle est habituellement utilisée en association avec la pyriméthamine dans le traitement des toxoplasmoses cérébrales (traitement de deuxième intention) ou oculaires.

Les macrolides et médicaments apparentés sont généralement bien tolérés ; des intolérances digestives, parfois graves, sont observées avec la clindamycine.

1.3. Autres médicaments

L'atovaquone est la seule molécule active sur les tachyzoïtes et les kystes de *T. gondii*. Malgré cette caractéristique remarquable qui pourrait permettre d'envisager une complète éradication du parasite, l'utilisation de ce médicament reste très limitée par sa mauvaise biodisponibilité.

- Plusieurs autres molécules, dont certains antibiotiques (quinolones, cyclines), sont actives *in vitro* ou *in vivo* sur *T. gondii*, mais ne sont pas utilisées dans le traitement de la toxoplasmose humaine.
- Récemment, la découverte de l'apicoplaste chez *T. gondii* et de ses voies métaboliques originales a ouvert de nouvelles voies de recherche pharmacologique mais aucune des nouvelles molécules actives sur ces voies métaboliques n'a encore franchi le cap des études expérimentales.

1.4. Résistances

Par mutagenèse, il est possible de produire des souches de *T. gondii* résistantes aux sulfamides, aux macrolides et aux inhibiteurs de la DHFR. De même, des mutations ponctuelles sur les gènes de la DHPS et sur le domaine Q du cytochrome B (cible de l'atovaquone) ont été identifiées et associées à une résistance *in vitro* (Aspinall, 2002 ; McFadden, 2000, 2001). Cependant, les résistances cliniques aux sulfamides ou aux inhibiteurs de la DHFR semblent peu fréquentes, et rarement documentées par une étude de la susceptibilité de la souche *in vitro*. Par contre, des échecs thérapeutiques sont fréquemment observés avec l'atovaquone utilisée en monothérapie, sans qu'il soit clairement établi si ils sont dus à des résistances vraies ou à une mauvaise biodisponibilité du médicament.

2. **Principaux schémas thérapeutiques**

2.1. Traitement de la toxoplasmose en dehors de la grossesse

En dehors de la grossesse, seules les formes symptomatiques peuvent justifier d'un traitement. Dans les formes bénignes, il est proposé l'administration de spiramycine voire de cotrimoxazole, mais sans que l'efficacité de ces traitements n'ait été réellement prouvée sur l'intensité ou la durée des symptômes cliniques. Dans les formes sévères, et notamment en cas d'atteinte oculaire ou viscérale, le traitement par l'association pyriméthamine + sulfadiazine est justifié et efficace.

La survenue d'une toxoplasmose en cours de grossesse, qu'elle soit symptomatique ou non, justifie d'un traitement dans le cadre de la prévention de la transmission materno-fœtale et le traitement anténatal de la toxoplasmose congénitale (voir ci-dessous).

2.2. Traitement la toxoplasmose congénitale

2.2.1. Traitement anténatal

Tant que l'infection fœtale n'est pas prouvée, le traitement de la mère par la spiramycine est proposé jusqu'à l'accouchement ou jusqu'au résultat du diagnostic anténatal (cf. Question 2). Ce choix thérapeutique, dont l'efficacité reste contestée sur la transmission materno-fœtale (Gilbert, 2001) est étayé par la concentration de la spiramycine dans le tissu placentaire et

son absence d'effet tératogène. En revanche, il semble bien établi que la spiramycine n'a aucune efficacité sur les lésions fœtales (Couvreur, 1998). En conséquence, dès que l'infection fœtale est démontrée, le traitement par la spiramycine est remplacé par l'association pyriméthamine + sulfadiazine ou pyriméthamine + sulfadoxine (+ folinate de calcium) dont l'efficacité sur les lésions fœtales est mieux établie (Foulon, 1999 ; Hohlfeld, 1989 ; Daffos, 1988 ; Villena, 1998), mais contestée par certains en l'absence d'étude prospective contrôlée (Gras, 2001 ; Gilbert, 2001, 2003).

Lorsque la contamination materno-fœtale est considérée comme très probable (contamination maternelle au cours des derniers mois de la grossesse), le traitement par l'association pyriméthamine + sulfadiazine ou sulfadoxine est entrepris d'emblée par certaines équipes, sans pratique d'un diagnostic anténatal.

2.2.2. Traitement de la toxoplasmose congénitale de l'enfant

Entrepris dès la naissance, il repose sur l'administration prolongée de pyriméthamine+sulfadiazine ou sulfadoxine car la spiramycine est inefficace. Ce traitement est généralement maintenu en continu pendant au moins 12 mois. L'administration concomitante d'acide folinique est indispensable. La mise en place d'un traitement précoce et sa poursuite sur une période prolongée permettent de réduire sensiblement la fréquence et la gravité des séquelles neurologiques et ophtalmologiques (Brézin, 2003 ; McAuley, 1994 ; Roizen, 1995 ; Couvreur, 1989). Le traitement des rechutes et en particulier des rétinocoroïdites toxoplasmiques aiguës associe préférentiellement pyriméthamine + sulfamide, éventuellement associés à une corticothérapie lorsque la composante inflammatoire est importante (Couvreur, 1998 ; Holland, 2002 ; Brézin, 2003). D'autres alternatives thérapeutiques ont été proposées dans la toxoplasmose oculaire, notamment la clindamycine ou l'atovaquone (Pearson, 1999). Cependant, l'efficacité des très nombreux schémas thérapeutiques actuellement proposés dans le traitement des rétinocoroïdites reste controversée, en l'absence d'études cliniques comparatives et prospectives (Stanford, 2003 ; Holland, 2002 ; Petersen, 2003).

2.3. Traitement de la toxoplasmose cérébrale chez l'immunodéprimé

2.3.1. Traitement curatif et d'entretien

- Quelle que soit la forme clinique (toxoplasmose cérébrale, extracérébrale, oculaire), le traitement curatif des formes graves chez l'immunodéprimé doit reposer, en première intention, sur l'association pyriméthamine + sulfadiazine ou pyriméthamine + clindamycine en administrant systématiquement de l'acide folinique pour prévenir la myélotoxicité de la pyriméthamine. Un traitement par dose de charge pendant 48 heures est suivi par un traitement à pleine dose pendant 4 à 6 semaines. Lorsqu'il est toléré, ce traitement est rapidement efficace (Couvreur, 1998 ; Luft, 1993) et justifie de ce fait la mise en œuvre d'un traitement d'épreuve devant un tableau atypique.
- Chez les patients dont le déficit immunitaire persiste, le traitement d'attaque doit être suivi par un traitement d'entretien (Couvreur, 1998 ; Cochereau-Massin, 1992). En effet, le traitement curatif n'élimine pas les formes kystiques et le risque de réactivation d'un kyste latent persiste tant que dure l'immunodépression. En général, les médicaments utilisés sont ceux du traitement curatif mais à demi-dose.
- En cas d'intolérance à la pyriméthamine et/ou aux sulfamides, les alternatives thérapeutiques sont peu nombreuses : cotrimoxazole par voie intraveineuse et à forte dose (Torre, 1998a ; Torre, 1998b), pyriméthamine + macrolide (Boch-Driessen, 2002), ou atovaquone (Torres, 1997 ; Katlama, 1996). Ces médicaments ou associations sont cependant moins efficaces ou moins bien tolérées que les traitements de référence, aussi bien en traitement d'attaque que d'entretien.

2.3.2. Traitement prophylactique

Il est recommandé chez tous les patients à risque de toxoplasmose :

- Chez les patients infectés par le VIH ayant une sérologie de toxoplasmose positive et un taux de CD4 < 100/mm³ (Delfraissy, 2004). Cette indication est encore renforcée lorsque

certains facteurs de risque supplémentaires sont identifiés (titre d'anticorps IgG >150 UI/ml ou autres marqueurs sérologiques de risque) (Bélanger, 1999 ; Leport, 2001). Le cotrimoxazole est habituellement utilisé, en administration quotidienne ou bi-hébdomadaire. Cette prophylaxie spécifique doit s'associer à la mise en place d'un traitement antirétroviral efficace.

- Chez les greffes de moelle allogénique ayant une sérologie positive avant greffe, le cotrimoxazole ou l'association sulfadoxine + pyriméthamine peuvent être utilisés, mais ne sont habituellement administrés qu'à partir de la fin du premier mois après la greffe pour éviter de retarder la reconstitution hématologique des patients. Cette prophylaxie est maintenue pendant 6 mois, voire plus longtemps en cas de réaction de greffon contre hôte (GVH) (Foot, 1994).
- Chez les transplantés d'organe (cœur principalement), une chimioprophylaxie n'est recommandée que lorsque le donneur est positif pour la toxoplasmose et que le receveur est séronégatif (risque de transmission). Les schémas prophylactiques ne sont pas bien standardisés (pyriméthamine seule, cotrimoxazole, sulfadoxine + pyriméthamine); une étude récente montre l'excellente efficacité du cotrimoxazole sur la toxoplasmose et d'autres infections opportunistes chez 417 transplantés cardiaques (Baden, 2003).

Chez les patients immunodéprimés, la chimioprophylaxie est maintenue tant que persiste le risque de réactivation d'une toxoplasmose latente. Cette période est de quelques mois pour les transplantés et greffés de moelle. Elle peut être de plusieurs années (voire à vie) chez les patients infectés par le VIH et dont le taux de CD4 reste <100/mm³.

Cependant, chez les patients infectés par le VIH, l'avènement des multithérapies antirétrovirales (HAART⁵) a considérablement modifié les pratiques de prophylaxie de la toxoplasmose. Il est maintenant admis que chez les patients dont la reconstitution immunitaire a pu être obtenue (taux de CD4>200/mm³ pendant au minimum 3 mois) il est possible d'interrompre sans risque la chimioprophylaxie primaire de la toxoplasmose (Mussini, 2000 ; Furher, 2000 ; Soriano, 2000 ; Delfraissy, 2004), sans augmentation du risque de survenue de toxoplasmose (Abgrall, 2001), notamment en raison de la reconstitution fonctionnelle de la réponse immunitaire spécifique vis à vis de *T. gondii* (Fournier, 2001).

Références bibliographiques

- Abgrall S, Rabaud C, Costagliola D. Clinical Epidemiology Group of the French Hospital Database on HIV. Incidence and risk factors for toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus-infected patients before and during the highly active antiretroviral therapy era. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1747-55.
- Aspinall TV, Joynson DH, Guy E, Hyde JE, Sims PF. The molecular basis of sulfonamide resistance in *Toxoplasma gondii* and implications for the clinical management of toxoplasmosis. *J Infect Dis*. 2002;185:1637-43.
- Baden LR, Katz JT, Franck L, Tsang S, Hall M, Rubin RH, Jarcho J. Successful toxoplasmosis prophylaxis after orthotopic cardiac transplantation with trimethoprim-sulfamethoxazole. *Transplantation*. 2003;75:339-43.
- Bélanger F, Derouin F, Grangeot-Keros L, Meyer L. Incidence and risk factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1988-1995. *Clin Infect Dis*. 1999;28:575-581.
- Bosch-Driessen LH, Verbraak FD, Suttrop-Schulten MS, van Ruyven RL, Klok AM, Hoyng CB, Rothova A. A prospective, randomized trial of pyrimethamine and azithromycin vs pyrimethamine and sulfadiazine for the treatment of ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:34-40.
- Brezin AP, Thulliez P, Couvreur J, Nobre R, McLeod R, Mets MB. Ophthalmic outcomes after prenatal and postnatal treatment of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 2003;135:779-84.
- Cochereau-Massin I, LeHoang P, Lautier-Frau M, Zerdoun E, Zazoun L, Robinet M, Marcel P, Girard B, Katlama C, Leport C, et al. Ocular toxoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Am J Ophthalmol*. 1992;114:130-5.
- Couvreur J, Leport C. *Toxoplasma gondii* in : Antimicrobial Therapy and vaccines, Yu V.L., Merignac T.C., Barriere S.L.(ed) Williams & Wilkins. 1998;600-612.
- Couvreur J, Thulliez Ph. Devenir des toxoplasmoses congénitales. *J Pédiatrie et de Puériculture*. 1989;2:80-88.
- Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, Cox WL. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med*. 1988;318:271-5.
- Delfraissy JF (coordinateur). Prise en charge des personnes infectées par le VIH. Rapport 2004 Ed. Médecine Flammarion, Paris., 164 pp.
- Derouin F. Anti-toxoplasmosis drugs. *Curr Opin Investig Drugs*. 2001;2:1368-74.

⁵ HAART : Highly active antiretroviral therapy

- Foot AB, Garin YJ, Ribaud P, Devergie A, Derouin F, Gluckman E. Prophylaxis of toxoplasmosis infection with pyrimethamine/sulfadoxine (Fansidar) in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 1994;14:241-5.
- Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, Decoster A, Lappalainen M, Pinon JM, Jenum PA, Hedman K, Naessens A. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:410-5.
- Fournier S, Rabian C, Alberti C, Carmagnat MV, Garin JF, Charron D, Derouin F, Molina JM. Immune recovery under highly active antiretroviral therapy is associated with restoration of lymphocyte proliferation and interferon-gamma production in the presence of *Toxoplasma gondii* antigens. *J Infect Dis*. 2001;183:1586-9.
- Furrer H, Opravil M, Bernasconi E, Telenti A, Egger M. Stopping primary prophylaxis in HIV-1-infected patients at high risk of *Toxoplasma* encephalitis. Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*. 2000;355:2217-8.
- Gilbert R, Gras L. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. *BJOG*. 2003;110:112-20.
- Gilbert RE, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. *Int J Epidemiol*. 2001;30:1303-8.
- Gras L, Gilbert RE, Ades AE, Dunn D. Effect of prenatal treatment on the risk of intracranial and ocular lesions in children with congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol*. 2001;30:1309-13.
- Hohlfeld P, Daffos F, Thulliez P, Aufrant C, Couvreur J, MacAleese J, Descombey D, Forestier F. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *J Pediatr*. 1989;5:765-9.
- Holland GN, Lewis KG. An update on current practices in the management of ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:102-14.
- Katlama C, Mouthon B, Gourdon D, Lapiere D, Rousseau F. Atovaquone as long-term suppressive therapy for toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS and multiple drug intolerance. Atovaquone Expanded Access Group. *AIDS*. 1996;10:1107-12.
- Lepout C, Franck J, Chene G, Derouin F, Ecobichon JL, Pueyo S, Miro JM, Luft BJ, Morlat P, Dumon H. Immunoblot profile as predictor of toxoplasmic encephalitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8:579-84.
- Luft BJ, Hafner R, Korzun AH, Lepout C, Antoniskis D, Bosler EM, Bourland DD 3rd, Uttamchandani R, Fuhrer J, Jacobson J, et coll. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med*. 1993;329:995-1000.
- McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher C, Roizen N, Wolters C, Stein L, Stein M, Schey W, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis*. 1994;18:38-72.
- McFadden DC. Characterization of cytochrome b from *Toxoplasma gondii* and Q₀ domain mutations as mechanism of atovaquone-resistance. *Mol Biochem Parasitol*. 2000;108:1-12.
- McFadden DC. Resistance as a tool in the study of old and new drug targets in *Toxoplasma*. *Drug Res Updates* 2001;4:79-84.
- Mussini C, Pezzotti P, Govoni A, Borghi V, Antinori A, d'Arminio Monforte A, De Luca A, Mongiardo N, Cerri MC, Chiodo F, Concia E, Bonazzi L, Moroni M, Ortona L, Esposito R, Cossarizza A, De Rienzo B. Discontinuation of primary prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia and toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus type I-infected patients: the changes in opportunistic prophylaxis study. *J Infect Dis*. 2000;181:1635-42.
- Pearson PA, Piracha AR, Sen HA, Jaffe GJ. Atovaquone for the treatment of *Toxoplasma* retinochoroiditis in immunocompetent patients. *Ophthalmology* 1999;106:148-53.
- Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options? *Expert rev Anti-Infect Ther*. 2003;1:175-182.
- Roizen N, Swisher CN, Stein MA, Hopkins J, Boyer KM, Hofels E, Mets MB, Stein L, Patel D, Meier P, et coll. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 1995;95:11-20.
- Soriano V, Dona C, Rodriguez-Rosado R, Barreiro P, Gonzalez-Lahoz J. Discontinuation of secondary prophylaxis for opportunistic infections in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:383-6
- Stanford MR, See SE, Jones LV, Gilbert RE. Antibiotics for toxoplasmic retinochoroiditis: an evidence-based systematic review. *Ophthalmology*. 2003;110:926-31.
- Torre D, Casari S, Speranza F, Donisi A, Gregis G, Poggio A, Ranieri S, Orani A, Angarano G, Chiodo F, Fiori G. Randomized trial of trimethoprim-sulfamethoxazole versus pyrimethamine-sulfadiazine for therapy of toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998a;42:1346-1349.
- Torre D, Speranza F, Martegani R, Zeroli C, Banfi M, Airoldi M. A retrospective study of treatment of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients with trimethoprim-sulphamethoxazole. *J Infect*. 1998b;37:15-18.
- Torres RA, Weinberg W, Stansell J, Leoung G, Kovacs J, Rogers M, Scott J, and the Atovaquone/Toxoplasmic encephalitis study group. Atovaquone for salvage treatment and suppression of toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis*. 1997;24:422-429.
- Villena I, Aubert D, Leroux B, Dupouy D, Talmud M, Chemla C, Trenque T, Schmit G, Quereux C, Guenounou M, Pluot M, Bonhomme A, Pinon JM. Pyrimethamine-sulfadoxine treatment of congenital toxoplasmosis: follow-up of 78 cases between 1980 and 1997. Reims Toxoplasmosis Group. *Scand J Infect Dis*. 1998;30:295-300.

Question 4 : quelles sont les manifestations cliniques de la toxoplasmose chez l'animal ?

Responsable de la question : M. Dorchies
Co-rédacteurs : M. Jacquet, M. Derouin
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Losson

Tous les animaux à sang chaud, mammifères et oiseaux, sont réceptifs à la toxoplasmose, mais leur sensibilité varie beaucoup en fonction de la dose infectante mais surtout de l'espèce. La toxoplasmose chez les mammifères domestiques ou sauvages présente globalement les mêmes caractéristiques que chez l'homme et, quelle que soit l'espèce, les manifestations pathologiques sont comparables. Le chat "hôte définitif" peut également présenter occasionnellement des troubles digestifs en relation avec la multiplication du parasite au stade asexué dans la muqueuse de l'intestin grêle.

En médecine vétérinaire, la toxoplasmose est surtout reconnue comme étant à l'origine d'avortements chez les petits ruminants (brebis et chèvres) et d'uvéïte chez le chat. Le cheval et le porc semblent être fréquemment infectés alors que les bovins ne le sont que rarement (cf. Question 18). Chez les animaux sauvages, les manifestations cliniques sont très mal connues.

1. Toxoplasmose du chat

Le chat peut se contaminer par ingestion de kystes contenus dans la chair de ses proies ou par ingestion d'oocystes. Deux phases successives sont à distinguer au cours de l'infection : la phase intestinale correspondant au cycle sexué du parasite et la phase extra-intestinale (multiplication asexuée du parasite) au cours de laquelle le chat se comporte comme un hôte intermédiaire.

1.1. Toxoplasmose intestinale

La phase intestinale passe souvent inaperçue même à la suite d'une infection importante : le chat peut en effet ingérer des millions d'oocystes quels que soient son âge et la souche de *Toxoplasma* sans présenter de troubles (Dubey, 1996). De la diarrhée et d'éventuels vomissements ont pu être observés chez des chats infectés expérimentalement ou naturellement par des bradyzoïtes contenus dans des kystes tissulaires. Ces manifestations sont en général bénignes et disparaissent spontanément chez les adultes. Les chatons peuvent cependant en mourir (Dubey, 1972 ; Lappin, 1989 ; Peterson, 1991). L'origine parasitaire des troubles est attestée par la mise en évidence des oocystes de toxoplasme 3 à 10 jours après l'infection et par la présence des kystes tissulaires plus de trois semaines après l'ingestion d'oocystes.

1.2. Toxoplasmose extra-intestinale

La phase extra-intestinale est polymorphe, et peu caractéristique dans la forme aiguë : hyperthermie, adénopathies, broncho-pneumonie, troubles digestifs, atteintes hépatiques, nerveuses et cardiaques. Le chaton meurt en une semaine environ (Dubey, 1995). Certaines formes seraient à prédominance nerveuse (polyradiculonévrite et atteinte centrale) ; des myosites sont aussi rapportées. Selon Dubey (1993), les localisations des lésions dans 100 cas de toxoplasmose confirmée étaient pulmonaire (98 % des cas), neurologique (96 %), hépatique (93 %), cardiaque (86 %), pancréatique (84 %) et oculaire (81%).

Une transmission congénitale est possible lors de cette phase extra-intestinale (Sato, 1993). L'atteinte oculaire est fréquente au cours de la toxoplasmose congénitale du chat. Les lésions siègent dans le segment postérieur, associant une atteinte de la choroïde et une

inflammation secondaire de la rétine (Davidson, 2000). Le fond d'œil révèle des lésions multifocales gris foncé, hyporéfectives, et des infiltrats blanc duveteux en dehors de cette zone. Aucune de ces lésions n'est pathognomonique. Une uvéite antérieure est fréquente, avec atteinte de l'iris et du corps ciliaire (Davidson, 2000). Cependant, l'origine toxoplasmique de ces lésions est controversée et leur physiopathologie pourrait impliquer des manifestations d'ordre immunopathologique.

1.3. Toxoplasmose chez le chat immunodéprimé (infection rétrovirale)

L'influence des rétrovirus félines sur l'évolution et la pathogénie de la toxoplasmose n'est pas bien tranchée, que ce soit pour le virus de la leucose féline (FeLV) ou celui de l'immunodéficience féline (FIV). Expérimentalement, il a été observé que la coinfection FIV-*Toxoplasma gondii* aggravait les manifestations de la toxoplasmose (Davidson, 1993). Cependant, l'infection par le FIV de chats préalablement infectés par *Toxoplasma* ne modifie pas l'évolution de la toxoplasmose et n'induit pas de rechute de l'infection acquise (Lappin, 1992).

2. **Toxoplasmose du mouton et de la chèvre**

La toxoplasmose est le plus souvent asymptomatique chez l'adulte. Lors d'infections expérimentales, on peut observer une fièvre transitoire et, rarement, des manifestations neurologiques (Buxton, 1986 ; Nicolas, 1993). La gravité de la toxoplasmose est liée à la fréquence de la transmission foetale : depuis que la brucellose est bien contrôlée chez les petits ruminants, on estime que la toxoplasmose congénitale serait l'une des principales causes d'avortements chez la brebis et la chèvre (Nicolas, 1993 ; Ducanson, 2001).

Dans un troupeau indemne, la primo-infection s'accompagne d'une "vague" d'avortements dont les modalités varient selon le stade de gestation. Les années ultérieures ne voient que des avortements sporadiques chez les agnelles car les brebis immunisées sont fertiles et mènent leurs gestations à terme. Une contamination survenant au cours des deux premiers mois de gestation (moins de 50 jours) conduit le plus souvent à une mort foetale. Celle-ci est suivie de résorption ou d'avortement. Si l'infection se produit entre le 70^{ème} et le 90^{ème} jour de gestation, un certain nombre de fœtus meurent et se momifient, d'autres peuvent survivre jusqu'à proximité du terme et être mort-nés. Enfin, les autres peuvent naître vivants mais très faibles et mourir dans les heures qui suivent la naissance. Si l'infection a lieu après 120 jours de gestation, les agneaux naissent apparemment sains mais sont immunisés. Les principales lésions placentaires observées siègent sur les cotylédons où existent des foyers inflammatoires pouvant évoluer vers la nécrose et formant des petits nodules blancs atteignant 2 mm de diamètre isolés ou confluents (Greig, 1990).

Chez la chèvre, les manifestations cliniques sont tout à fait comparables.

3. **Toxoplasmose des autres mammifères domestiques**

3.1. Chien

A la suite d'une infection acquise chez l'adulte les manifestations sont très variées comme chez le chat : anorexie, léthargie, lésions hépatiques, pulmonaires, musculaires et nerveuses. Cependant, contrairement à ce que l'on observe chez le chat, les lésions oculaires sont exceptionnelles. La toxoplasmose congénitale est souvent fulminante, disséminée et fatale (Dubey, 1985a) ; elle peut être confondue avec la néosporose : seule la sérologie permet de trancher.

3.2. Porc

L'infection des porcs adultes est en général infraclinique. Des manifestations cliniques discrètes (tachypnée, anorexie, fièvre) et transitoires peuvent être observées à la suite d'infection expérimentale par des oocystes (Dubey, 1984 ; Wingstrand, 1997). La transmission prénatale est à l'origine d'avortements (fœtus momifiés), de naissances prématurées et d'infections congénitales (Lind, 2000).

3.3. Bovins

Lors d'infestations naturelles, les bovins ne présentent pas de manifestations cliniques identifiables. L'infection expérimentale de l'adulte peut entraîner de la fièvre modérée et une anorexie (Stalheim, 1980); chez le veau, les signes peuvent être plus intenses avec fièvre et détresse respiratoire (Costa, 1977). Dans les conditions naturelles, le risque de transmission foetale semble très faible : une étude systématique des produits d'avortement n'a permis l'isolement de *T. gondii* qu'à 2 reprises, au Portugal et aux Etats Unis (Canada, 2002).

3.4. Cheval

Le cheval semble assez résistant à la toxoplasmose, bien que plusieurs études sérologiques témoignent de l'existence infections naturelles (cf. Question 18). Expérimentalement l'infection est possible par ingestion d'oocystes. Dans ce cas, les manifestations cliniques sont très discrètes ou absentes (Al-Khalidi, 1980 ; Dubey, 1985b). De rares cas d'infection transplacentaire et de lésions oculaires ont été décrits (Turner, 1991, 1992).

4. **Toxoplasmose dans la faune sauvage et chez les oiseaux**

4.1. Rongeurs

En milieu naturel, le taux d'infection des petits rongeurs (rats et souris) varie de 13,4 % à 66,7 % (Jackson, 1986 ; Webster, 1994). Chez les rongeurs, les manifestations cliniques sont connues à partir des données d'infections expérimentales. Les signes sont variables en fonction de la souche infectante et de la taille de l'inoculum : signes pulmonaires ou digestifs à la phase aiguë (pouvant être létale avec les souches de type I), puis forme chronique asymptomatique ou altération progressive de l'état général sur plusieurs mois, conduisant à un état cachectique associé à des signes neurologiques (Stahl, 1988). Le hamster et le lapin sont également sensibles à la toxoplasmose, alors que le rat est considéré comme partiellement résistant. Chez le rat, certains auteurs associent des modifications de comportement à l'infection chronique par *T. gondii* (Berday, 2000).

Chez les rongeurs, le taux d'infection congénitale est très peu connu dans les conditions naturelles. Une étude récente utilisant la PCR a montré un très fort taux de contamination congénitale chez la souris domestique (*Mus domesticus*) (Marshall, 2004). Chez le rat (*Rattus norvegicus*) la transmission congénitale semble également fréquente (Webster, 1994).

4.2. Autres mammifères

De nombreux mammifères sauvages terrestres ou marins sont infectés par *T. gondii* (Dubey, 2001) (cf. Question 19). Récemment, des mortalités de loutres de mer par encéphalite ont été reliées à des infections par *T. gondii* associé à *Sarcocystis neurona* (Lindsay, 2001).

Les manifestations cliniques sont mal connues car la plupart des cas rapportés se réfèrent à des découvertes d'autopsies.

La toxoplasmose est également connue pour être responsable d'une mortalité importante chez les lémuriens, les marsupiaux australiens et les primates du Nouveau Monde. A l'opposé des singes de l'Ancien Monde qui ne développent pas de manifestations cliniques sévères, ceux du Nouveau Monde présentent des manifestations pulmonaires, une splénomégalie, une atteinte hépatique et intestinale (Epiphonio, 2003). Plusieurs épidémies de toxoplasmose sévère, avec un taux de mortalité élevé, ont été décrites chez ces animaux en captivité dans des zoos (Dietz, 1997).

Chez ces mammifères sauvages, le taux d'infection congénitale n'est pas connu dans les conditions naturelles. Expérimentalement, une infection congénitale peut être obtenue chez le singe Rhesus avec un taux global de transmission materno-foetale de 61% après infection au cours des deuxième et troisième trimestres de gestation (Schoondermark, 1993).

4.3. Oiseaux

Les oiseaux domestiques ou sauvages sont fréquemment infectés. L'infection toxoplasmique est particulière chez le pigeon puisqu'elle semble être responsable de manifestations cliniques sévères et sévit parfois sous forme d'épidémies (Hubbard, 1986 ; Paasch, 1983 ; Siim, 1963 ; Dubey, 2002). Les pigeons contaminés présentent une altération de leur état général (anorexie, fièvre), des atteintes oculaires (conjonctivites), parfois même une encéphalite conduisant fréquemment au décès des oiseaux. Parmi les columbiformes (pigeons), certaines espèces semblent plus sensibles que d'autres (Dubey, 2002). Parmi les passériformes, le canari présente souvent une cécité toxoplasmique. Les cas cliniques sont rares chez les galliformes et sont surtout des découvertes d'autopsie.

Expérimentalement, l'infection de la poule ou du poulet est asymptomatique (Biancifiori, 1986 ; Kaneto, 1997). Les pigeons semblent plus sensibles à l'infection en cas de transmission orale par les oocystes de *T. gondii* : 50 oocystes suffisent à déclencher l'infection et des toxoplasmoses aiguës conduisant au décès sont observées pour des doses de 500 oocystes ingérés ou plus (Miller, 1972 ; Biancifiori, 1986).

Il n'y a jamais eu de cas décrit chez les ansériformes sauvages et un seul cas est connu chez le canard domestique. (Lindsay, 1993 ; Dubey, 2002). Des cas ponctuels sont rapportés chez les psittacidés mais l'infection expérimentale des perruches (*Melopsittacus undulatus*) ne provoque aucun trouble (Kajerova, 2003). La toxoplasmose peut être létale dans plusieurs espèces d'oiseaux, dont le pingouin (Mason, 1991 ; Dubey, 1988).

A noter que deux genres (parasites) très proches (*Atoxoplasma* et *Sarcocystis*) peuvent être retrouvés chez de nombreux oiseaux, pouvant conduire à des diagnostics erronés de toxoplasmose (aspect morphologique semblable sur des coupes histologiques).

Références bibliographiques

- Al-Khalidi NW, Weisbrode SE, Dubey JP. Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts to ponies. Am J Vet Res. 1980;41:1549-51.
- Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. Proc R Soc Lond B Biol Sci. 2000;267:1591-1594.
- Biancifiori F, Rondini C, Grelloni V, Frescura T. Avian toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 1986;9:337-46.
- Buxton D, Finlayson J. Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. J Comp Pathol. 1986;96:319-333.
- Canada N, Meireles CS, Rocha A, Correia da Costa JM, Erikson MW, Dubey JP. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. J Parasitol. 2002;88:1247-1248.
- Costa AJ, Araujo FG, Costa JO, Lima JD, Nascimento E. Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 1977;63:212-8.
- Davidson M.G. Toxoplasmosis Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2000;30:1051-1062.
- Davidson MG, Rottman JB, English RV, Lappin MR, Tompkins MB. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. Am J Pathol. 1993;143:1486-1497.
- Dietz HH, Henriksen P, Bille-Hansen V, Henriksen SA. Toxoplasmosis in a colony of New World monkeys. Vet Parasitol. 1997;68:299-304.
- Dubey JP, Frenkel JK. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. Protozol. 1972;19:155-177.
- Dubey JP, Murrell KD, Fayer R. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs fed oocysts. Am Vet Med Res. 1984;45:1941-1943.
- Dubey JP. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. J Parasitol. 1996;82:957-961.
- Dubey JP. Toxoplasmosis in dogs. Canine Practice. 1985a;81:887-893.
- Dubey JP. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of equids fed oocysts. Am J Vet Res. 1985b;46:1753-4.
- Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. 1988. CRC Press, Boca Raton, Florida, 220pp.
- Dubey JP, Carpenter JL. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952-1990). J Am Vet Med. 1993;203:1556-1566.
- Dubey JP, Laffin MR, Thulliez P. Diagnosis of induced toxoplasmosis in neonatal cats. J Am Vet Med Assoc. 1995;207:179-185.
- Dubey JP, Odening K. Toxoplasmosis and related infections. In: Parasitic Diseases of wild mammals. W.M. Samuel, M.J. Pybus, A.A. Kocan Eds. Manson Publishing. Second Edition, London, 2001, pp 478-519.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol. 2002;106:121-153.
- Duncanson P, Terry RS, Smith JE, Hide G. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. Int J Parasitol. 2001;31:1699-703.
- Epiphonio S, Sinhorini IL, Catao-Dias JL. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. J Comp Path. 2003;129:196-204.
- Greig A. Toxoplasmosis in sheep. Vet Annual. 1990;30:85-91.
- Hubbard G, Witt W, Healy M, Schmidt R. An outbreak of toxoplasmosis in zoo birds. Vet Pathol. 1986;23:639-41.

- Jackson MH, Hutchinson WM, Siim JC. Toxoplasmosis in wild rodent population of central Scotland and a possible explanation of the mode of transmission. *J Zool.* 1986;209:549-557.
- Kajerova V, Literak I, Bartova E, Sedlak K. Experimental infection of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) with a low virulent K21 strain of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.* 2003;116:297-304.
- Kaneto CN, Costa AJ, Paulillo AC, Moraes FR, Murakami TO, Meireles MV. Experimental toxoplasmosis in broiler chicks. *Vet Parasitol.* 1997;69:203-10.
- Lappin MR, Greene CE, Prestword AK, Dawe DL, Tarleton RL. Diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection in cats by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. *Am J Vet Res.* 1989;50:1580-1585.
- Lappin MR, Gasper PW, Rose BJ, Powell CC. Effect of primary phase immunodeficiency virus infection on cats with chronic toxoplasmosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1992;35: 121-131.
- Lind P, Buxton D. Veterinary aspects of *Toxoplasma* infection. In "Congenital toxoplasmosis", P. Ambrose-Thomas and E. Pedersen Ed., Springer-Verlag, Paris, 2000; 261-269.
- Lindsay DS, Smith PC, Hoerr FJ, Blagburn BL. Prevalence of encysted *Toxoplasma gondii* in raptors from Alabama. *J Parasitol.* 1993;79:870-873.
- Lindsay DS, Thomas NS, Rosypal AC, Dubey JP. Dual *Sarcocystis neurona* and *Toxoplasma gondii* infection in a Northern sea otter from Washington state USA. *Vet Parasitol.* 2001;97:319-327.
- Mason RW, Hartley WJ, Dubey JP. Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Eudyptula minor*) from Tasmania. *J Parasitol.* 1991;77:328.
- Marshall PA, Hughes JM, Williams RH, Smith JE, Murphy RG, Hide G. Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. *Parasitology.* 2004;128:39-42.
- Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J Parasitol.* 1972;58:928-37.
- Nicolas JA, Pestre-Alexandre M. Toxoplasmose : une zoonose transmissible à l'homme. *Med Mal Infect.* 1993;23:129-138
- Paasch LM. Toxoplasmosis en palomas. *Vet Mex.* 1983;14:39-41.
- Peterson JL, Willard MD, Lees GE, Lappin MR, Dieringer T, Floyd E. Toxoplasmosis in two cats with inflammatory intestinal disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1991;199:473-476.
- Sato K, Iwamoto I, Yoshiki K. Experimental Toxoplasmosis in pregnant cats. *J Vet Med Sc.* 1993;55:1005-1009.
- Schoondermark-Van de Ven E, Melchers W, Galama J, Camps W, Eskes T, Meuwissen J. Congenital toxoplasmosis: an experimental study in rhesus monkeys for transmission and prenatal diagnosis. *Exp Parasitol.* 1993;77:200-11.
- Siim JC, Biering-Sorensen U, Moller T. Toxoplasmosis in domestic animals. *Adv Vet Sci.* 1963;8:335-429.
- Stahl W, Turek G. Chronic murine toxoplasmosis: clinicopathologic characterization of a progressive wasting syndrome. *Ann Trop. Med. Parasitol.* 1988;82:35-48.
- Stalheim OH, Hubbert WT, Boothe AD, Zimmermann WJ, Hughes DE, Barnett D, Riley JL, Foley J. Experimental toxoplasmosis in calves and pregnant cows. *Am J Vet Res.* 1980;41:10-3.
- Turner CB, Savva D. Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. *Vet Rec.* 1991;129:128.
- Turner CB, Savva D. Transplacental infection of a foal with *Toxoplasma gondii*. *Vet Rec.* 1992;131:179-80
- Webster JP. Prevalence and Transmission of *Toxoplasma Gondii* in wild brown rats *Rattus norvegicus*. *Parasitology.* 1994;108:407-411.
- Wingstrand A, Lind P, Haugegaard J, Henriksen SA, Bille-Hansen V, Sorensen V. Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.* 1997;72:129-40

Question 5 : quelles sont les méthodes de diagnostic de la toxoplasmose chez l'animal ?

Responsable de la question : Mme Villena
Co-rédacteurs : Mme Dardé, M. Dorchies, M. Derouin
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Pitel

Le diagnostic biologique de la toxoplasmose est rarement fait en pratique vétérinaire courante. Les méthodes sont les mêmes que celles décrites chez l'homme (cf. Question 2) mais nombre d'entre elles ne peuvent être utilisées par manque de sensibilité et spécificité ou par absence d'antisérums (techniques ELISA ou IFA). En pratique, l'application de ces méthodes est limitée aux études de séroprévalence et à la recherche étiologique lors des avortements chez les brebis.

1. Différentes méthodes et leurs limites

1.1. Diagnostic parasitologique

1.1.1. Examen direct

L'étude histologique peut être réalisée sur les prélèvements de tissus animaux pour la mise en évidence de tachyzoïtes ou de kystes. Des colorations par immunohistochimie peuvent être alors utilisées. La difficulté réside dans le diagnostic différentiel entre *T. gondii* et d'autres protozoaires très proches, *Neospora caninum* et *Sarcocystis neurona*, responsables de pathologies similaires chez de nombreux animaux (Dubey, 1988, 1986). Toutefois, une amélioration de la qualité de anticorps permet de limiter voire d'exclure toute réaction croisée (au moins vis-à-vis de *N. caninum*).

1.1.2. Bio-essai

La souris et le chat peuvent être employés pour des bio-essais.

La technique utilisant la souris est la même que celle employée pour le diagnostic chez l'homme (cf. Question 2). Sa sensibilité est bonne, avec un seuil de détection de 1 kyste de *T. gondii* pour 100 grammes de tissus prélevés chez des porcs naturellement infectés (Dubey, 1995).

Le bio essai sur le chat est rarement utilisé en pratique courante. L'inoculation d'un chat indemne de toxoplasmose (vérification par la sérologie) est faite par ingestion. L'infection du chat, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, est attestée par la présence d'oocystes éliminés dans les fèces dès le 3^{ème} jour post-inoculation (Dubey, 1988). Il semblerait que le bio-essai sur le chat soit plus sensible que sur la souris (Dubey, 1993), car la quantité de matériel administrée au chat peut être plus importante et le chat élimine des oocystes même lorsque l'inoculum parasitaire est faible (Dubey, 1976).

1.1.3. Culture cellulaire

Cette technique n'est pas utilisée pour le diagnostic chez l'animal car la sensibilité du bio-essai chez la souris est supérieure à celle de la culture cellulaire (Abbas, 1967) ; une étude récente fait cependant état de cette technique pour l'isolement de *T. gondii* chez des loutres de mer (Miller, 2002a).

1.1.4. Biologie moléculaire.

Les techniques de biologie moléculaire (PCR) ont été récemment employées pour la détection d'ADN dans les tissus animaux et sur différents types de produits pathologiques (organes ou liquides biologiques). La PCR a été évaluée dans des infections expérimentales

chez le mouton (Wastling, 1993) et proposée dans le cadre du diagnostic étiologique des avortements chez les ovins (Hurtado, 2001 ; Masala, 2003) et chez les bovins, permettant notamment la distinction avec *Neospora caninum* (Ellis, 1998). Un intérêt futur pour les techniques de PCR multiplex voire de bio-puces est à considérer.

Les tissus les plus utiles pour la recherche de toxoplasmes par ces diverses méthodes sont le cœur et le cerveau dans un contexte de dépistage systématique ou le placenta et les produits d'avortements dans le contexte de la recherche étiologique d'un avortement.

1.2. Diagnostic sérologique

Le diagnostic immunologique de la toxoplasmose chez l'animal est basé sur la détection d'anticorps (IgG principalement). La recherche d'autres isotypes d'anticorps (IgM) ou d'antigène circulant a été proposée chez le chat mais elle est peu appliquée à d'autres espèces animales (Lappin, 1989, 1993).

Les techniques sérologiques utilisées chez l'animal sont identiques à celles décrites chez l'homme, mais plusieurs d'entre-elles présentent d'importantes limites.

- *Le dye-test* n'est pas applicable chez les bovins en raison de son manque de fiabilité. On observe des faux positifs, dus à des anticorps naturels de type IgM, et des faux négatifs, dus à la disparition rapide des anticorps lytiques (Dubey, 1985a). Ce test reste valable pour les autres espèces animales. Son utilisation est cependant peu fréquente en pratique courante.
- *L'hémagglutination indirecte et le test d'agglutination sur latex* sont abandonnés en raison de problèmes de sensibilité (titres généralement faibles) et de spécificité (réactions croisées avec d'autres coccidies).
- *L'agglutination directe modifiée (MAT)* a été initialement proposée pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose chez l'homme par Desmots (Desmots, 1980) puis utilisée chez l'animal. L'antigène est une suspension de tachyzoïtes trypsinés puis formolés ; la réaction est réalisée sur des dilutions de sérums. Ce test présente plusieurs intérêts : simplicité de réalisation, bonne sensibilité et spécificité, et possibilité d'être réalisé pour de nombreuses espèces animales (Dubey, 1985a ; Dubey, 1985b). Ce test est largement employé dans des études de dépistage et de prévalence sur de très nombreuses espèces de la faune domestique ou sauvage (Tenter, 2000 ; Dubey, 2003). A l'heure actuelle, cette technique paraît la meilleure en terme de sensibilité (Dubey, 1996), bien que des toxoplasmes aient été retrouvés par bio-essai chez le chat chez des animaux (notamment des oiseaux) dont la sérologie était négative en agglutination directe (Dubey, 2003).
- *L'immunofluorescence indirecte* est employée chez l'animal (Masala, 2003) mais des différences de sensibilité peuvent être observées selon les seuils utilisés et les espèces (Miller, 2002b). Cette technique est limitée par la nécessité d'utiliser un conjugué spécifique d'espèce (Miller, 2002b) ; elle est peu adaptée aux enquêtes de séroprévalence (Eckert, 1996).
- *Les techniques ELISA* ont été proposées pour la recherche d'anticorps anti-*T. gondii* chez les porcs (Suarez-Aranda, 2000), les bovins, les moutons et les chevaux (Wyss, 2000). Récemment, il a été rapporté l'intérêt de la détermination de l'avidité des IgG par test ELISA (utilisant la protéine SAG1 comme antigène) dans le diagnostic d'infection toxoplasmique chez le mouton (Sager 2003); cependant cette technique reste limitée en raison de son coût (par rapport au prix d'une brebis par exemple). Comme pour l'immunofluorescence, les techniques ELISA nécessitent l'emploi d'un conjugué spécifique pour chaque espèce animale et ne sont donc pas applicables à toutes les espèces. Toutefois, il existe des ELISA utilisant un conjugué anti-ruminant permettant ainsi son application pour le diagnostic chez les moutons

2. Applications

Le diagnostic de toxoplasmose aiguë chez l'animal est rarement fait en pratique vétérinaire excepté dans trois circonstances : la recherche étiologique d'avortements survenant dans des élevages, les études de séroprévalence et l'identification de l'infection dans de nouvelles espèces animales.

2.1. Etude étiologique des avortements

En cas d'avortements survenant dans un troupeau, la recherche de *T. gondii* est rarement effectuée. L'étude histologique est parfois réalisée et présente l'avantage de donner un résultat rapide. La détection de tachyzoïtes ou de kystes peut être difficile et le diagnostic différentiel avec *Neospora caninum* en cas d'avortement chez les bovins est impossible. Le bio-essai à partir des avortons ou du placenta, jamais réalisé en pratique courante, serait le seul moyen d'établir le diagnostic spécifique de toxoplasmose.

La PCR est encore récente dans cette application (Masala, 2003) ; elle présente l'avantage d'être sensible et spécifique (Ellis, 1998 ; Hurtado, 2001).

En fait, lors d'avortements survenant dans un troupeau de brebis, la toxoplasmose représente un diagnostic d'exclusion (après élimination de la brucellose, de la chlamydie et de la fièvre Q). La sérologie avec recherche des IgM peut s'avérer intéressante dans le cadre du dépistage de la toxoplasmose abortive des petits ruminants car elle permet d'identifier une éventuelle infection récente.

distinguer une infection récente d'animaux séropositifs par contacts antérieurs.

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

2.2. Etudes de séroprévalence et diagnostic individuel

- La prévalence de l'infection toxoplasmique dans une espèce animale peut être appréciée par des enquêtes sérologiques (cf. Question 17 à Question 20). Elles reposent le plus souvent sur la détermination du titre des IgG par la technique d'agglutination directe modifiée, la plus simple à réaliser et la plus fiable. Les techniques ELISA sont parfois utilisées chez le mouton ou le porc, avec révélation de la présence d'anticorps par un antisérum spécifique. Compte tenu des limites techniques chez l'animal, il faut interpréter avec prudence les résultats d'enquêtes anciennes utilisant d'autres techniques que l'agglutination directe modifiée et l'ELISA.
- Le diagnostic sérologique individuel de la toxoplasmose est parfois réalisé en cas de suspicion d'infection, notamment chez le chat présentant des uvéites ou des encéphalites. Des demandes sont aussi réalisées pour des chats appartenant à des femmes enceintes.
- Enfin, à titre de recherche, les méthodes de biologie moléculaire pour la détection d'ADN toxoplasmique se sont développées de façon récente, notamment pour évaluer la prévalence de la contamination des animaux de boucherie (Wyss, 2000) et chez les rongeurs sauvages (Marshall, 2004).

2.3. Identification de l'infection toxoplasmique chez de nouveaux hôtes.

La séropositivité est un élément de suspicion, mais la preuve de l'infection toxoplasmique ne peut être définitivement établie que par la mise en évidence du parasite dans les tissus par une étude histologique (cœur, foie, poumons, cerveau...) ou PCR, complétée par un bio-essai pour apporter la preuve de la présence de parasites viables. C'est ainsi que la présence de *T. gondii* chez les loutres de mer et chez d'autres mammifères marins a pu être récemment démontrée (Lindsay, 2001 ; Miller, 2002a, Dubey, 2003).

Références bibliographiques

- Abbas AM. A comparative study of methods used for the isolation of *Toxoplasma gondii*. Bull WHO. 1967;36:344-346.
- Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. J Clin Microbiol. 1980;11:562-568.
- Dubey JP. Reshedding of *Toxoplasma* oocysts by chronically infected cats. Nature. 1976;262:213-214.
- Dubey JP, Desmonts G, McDonald C, Walls KW. Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma gondii*: comparison of Sabin-Feldman dye test and other agglutination tests. Am J Vet Res. 1985a;46:1085-8.
- Dubey JP, Desmonts G, Antunes F, McDonald C. Serological diagnosis of toxoplasmosis in experimentally infected pregnant goats and transplacentally infected kids. Am J Vet Res. 1985b;46:1137-1140.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in cattle. Vet Parasitol. 1986;22:177-202.
- Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Vet Parasitol. 1996;64:65-70.
- Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton, FL : CRC Press, 1988, 220 p.
- Dubey JP, Thulliez P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res. 1993;54:270-273.
- Dubey JP, Thulliez P, Powell EC. *Toxoplasma gondii* in Iowa sows: comparison of antibody titers to isolation of *T. gondii* by bioassays in mice and cats. J Parasitol. 1995;77:517-521.
- Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, Sreekumar C, Vianna MC, Lehman T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Parana, Brazil. Vet Parasitol. 2003;117:229-234.
- Eckert J. Workshop summary: food safety: meat- and fish-borne zoonoses. Vet Parasitol. 1996;64:143-147.
- Ellis, J.T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*, Int J Parasitol. 1998;28:1053-1060.
- Hurtado A, Aduziz G, Moreno B, Barandika J, Garcia-Perez AL. Single tube nested PCR for the detection of in fetal tissues from naturally aborted ewes. Vet Parasitol. 2001;102:12-27.
- Lappin MR, Greene CE, Prestwood AK, Dawe DL, Marks A. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Georgia using enzyme-linked immunosorbent assays for IgM, IgG and antigens. Vet Parasitol. 1989;33:225-230.
- Lappin MR, Cayatte S, Powell CC, Gigliotti A, Cooper C, Roberts SM. Detection of *Toxoplasma gondii* antigen-containing immune complexes in the serum of cats. Am J Vet Res. 1993;54:415-419.
- Lindsay DS, Thomas NS, Rosypal AC, Dubey JP. Dual Sarcocystis neurona and *Toxoplasma gondii* infection in a Northern sea otter from Washington state USA. Vet Parasitol. 2001;97:319-327.
- Masala, G, Porcu R, Madau L, Tanda A, Ibba B, Satta G, Tola S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. Vet Parasitol. 2003;117:15-21.
- Marshall PA, Hughes JM, Williams RH, Smith JE, Murphy RG, Hide G. Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. Parasitology 2004;128:39-42.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). Int J Parasitol. 2002a;32:997-1006.
- Miller MA, Gardner IA, Packham A, Mazet JK, Hanni KD, Jessup D, Estes J, Jameson R, Dodd E, Barr BC, Lowenstine LJ, Gulland FM, Conrad PA. Evaluation of an indirect fluorescent antibody test (IFAT) for demonstration of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sea otter (*Enhydra lutris*). J Parasitol. 2002b;88:594-599.
- Sager H, Gloor M, Tenter A, Maley S, Hassing M, Gottstein B. Immunodiagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in sheep by the use of a P30 IgG avidity ELISA. Parasitol Res. 2003;91:171-174.
- Suarez-Aranda F, Galisteo AJ, Hiramoto RM, Cardoso RP, Meireles LR, Miguel O, Andrade HF. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. Vet Parasitol. 2000;91:23-32.
- Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* : from animals to humans, Int J Parasitol. 2000;30:1217-1258.
- Wastling JM, Nicoll S, Buxton D. Comparison of two gene amplification methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in experimentally infected sheep. J Med Microbiol. 1993;38:360-365.
- Wyss R, Sager H, Muller N, Inderbitzin F, Konig M, Audige L, Gottstein B. The occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* as regards meat hygiene. Schweiz Arch Tierheilkd. 2000;142:95-108.

Section C : physiopathologie de la toxoplasmose

Résumé de la section C

La **physiopathologie des lésions** observées au cours de la toxoplasmose est directement liée à la prolifération des tachyzoïtes et la lyse des cellules qu'ils infectent. Les kystes (contenant des bradyzoïtes) n'entraînent pas directement de lésions tissulaires mais sont susceptibles de réactiver.

Faisant suite à une infection par voie orale, le parasite dissémine par voie hématogène (parasitémie brève) et lymphatique ; à cette phase, on observe des adénopathies dans 10 à 20% des cas, caractérisées par une forte hyperplasie folliculaire, mais sans nécrose.

L'infection des tissus, consécutive à la parasitémie est le plus souvent asymptomatique chez les sujets immunocompétents. Les lésions d'encéphalite et de rétinohoroïdite sont essentiellement observées en cas d'infection congénitale ou chez des patients immunodéprimés : elles sont constituées de zones de nécrose, associées à une forte réaction inflammatoire. Des atteintes multiviscérales sont également possibles (poumon, cœur, foie) chez ces patients. Chez la femme enceinte, la parasitémie peut conduire à la contamination du placenta puis du fœtus. Chez les fœtus infectés, la toxoplasmose est une infection disséminée, conduisant à des atteintes multiviscérales associant foyers de nécrose et inflammation. L'atteinte cérébrale peut associer vascularite, thromboses et calcifications. Ces lésions peuvent être secondairement responsables d'hydrocéphalie. L'atteinte oculaire, au niveau de la rétine est fréquente.

Les **facteurs de pathogénicité** de *T. gondii* ont été bien caractérisés chez l'animal mais leur part respective est encore difficile à établir chez l'homme. Le génotype de la souche infectante est le principal facteur de pathogénicité chez la souris : génotype I très virulent, génotypes II et III avirulents ou de virulence intermédiaire. Chez l'homme, le génotype II est le plus fréquemment retrouvé, aussi bien dans les toxoplasmoses congénitales que chez l'hôte immunodéprimé. Les rôles respectifs du stade infectant, de la taille de l'inoculum et de la voie de contamination, sont bien évalués chez la souris mais très mal connus chez l'homme.

Le **contrôle de l'infection toxoplasmique** est à la fois dépendant de l'immunité et du terrain génétique de l'hôte. L'immunité cellulaire T joue un rôle prédominant. L'infection toxoplasmique induit une cascade d'activations cellulaires et de production de cytokines à prédominance Th1, l'interféron jouant un rôle essentiel dans l'activation des macrophages et l'induction des mécanismes effecteurs sur le parasite ou les cellules parasitées. Dans la toxoplasmose congénitale, une orientation Th2 de la réponse immunitaire induite par les modifications hormonales en cours de grossesse pourrait être un élément favorisant la contamination fœtale.

Tout déficit profond de l'immunité cellulaire (iatrogène ou lié à une pathologie associée) peut favoriser la survenue d'une toxoplasmose grave par réactivation de kystes acquis lors d'une infection antérieurement acquise.

Question 6 : quels sont les facteurs de pathogénicité de *Toxoplasma gondii* ?

Responsable de la question : Mme Dardé

Co-rédacteurs : M. Derouin

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Candolfi

Quatre facteurs parasitaires peuvent être évoqués pour expliquer des différences de pathogénicité : la souche infectante, le stade, le nombre de parasites transmis, la voie de contamination. Il est difficile parfois de faire la part de chacun de ces facteurs, d'autant que la virulence observée est également dépendante de l'hôte.

1. Critères de pathogénicité

Ils sont assez bien définis chez l'animal, notamment par les études expérimentales effectuées chez la souris (Dubey, 1997 ; Dubey, 1996a) :

- *la mortalité* : délai de mortalité, proportion d'animaux morts/animaux infectés, nombre de parasites provoquant la mort des souris inoculées (dose létale 50 ou 100),
- *les signes cliniques* : l'existence ou non de signes cliniques, leur nature (altération de l'état général, ascite, signes neurologiques), leur sévérité.
- *le nombre de kystes* dans le cerveau dans les infections chroniques.

Ces critères peuvent être complétés par des données anatomo-pathologiques, à la recherche de signes d'encéphalite et d'atteintes inflammatoires dans différents organes (intestin, ganglions, poumons) (Dubey, 1973 ; Dubey, 1996a, 1997, Ferguson, 1994), l'évaluation des charges parasitaires (Sumuyen, 1995 ; Flori 2002) ou l'analyse de la réponse inflammatoire (Modrue, 2001 ; Robben 2004).

Ces différents éléments permettent de classer la toxoplasmose chez l'animal en :

- toxoplasmose asymptomatique ou chronique : absence de manifestations cliniques et de mortalité après inoculation des toxoplasmes,
- toxoplasmose aiguë : mortalité importante et précoce (7 à 10 jours) après inoculation des toxoplasmes,
- toxoplasmose subaiguë : manifestations cliniques, essentiellement d'ordre neurologique, survenant dans les semaines ou les mois après inoculation, pouvant entraîner une mortalité prématurée.

Chez l'homme, les critères de pathogénicité restent mal définis. Ils comprennent :

- les signes cliniques : absence de signes, d'adénopathies ou de localisations viscérales (cérébrale, oculaire, multiviscérale),
- les signes radiologiques et/ou échographiques,
- les lésions anatomo-pathologiques.

Dans tous les cas, ces critères doivent tenir compte du terrain immunitaire du patient. Chez l'homme immunocompétent, ils permettent de façon assez grossière de classer les toxoplasmoses observées en « toxoplasmose asymptomatique », « toxoplasmose ganglionnaire », « toxoplasmose oculaire », voire, exceptionnellement « toxoplasmose disséminée ».

Appliqués à la toxoplasmose congénitale et à celle du patient immunodéprimé, ces critères traduisent les différentes manifestations cliniques décrites chez ces patients (cf. Question 1) :

- forme mortelle, forme neuro-ophtalmique sévère, forme disséminée, forme oculaire isolée, forme infra-clinique pour la toxoplasmose congénitale,
- toxoplasmose cérébrale, extracérébrale, disséminée chez l'immunodéprimé.

2. Rôle de la souche infectante

2.1. Données expérimentales chez la souris et *in vitro*

Le génotype de la souche infectante est l'élément majeur influençant la pathogénicité chez la souris. Le phénotype « virulence pour la souris » pourrait être associé en partie à des gènes situés sur le chromosome VII du toxoplasme (Su, 2002).

Les différences entre les principaux génotypes d'isolats concernent (Tableau 8) :

- la virulence pour la souris (souris Swiss) :
 - une souche est considérée comme virulente pour la souris lorsque la dose létale (DL) 100 est de 1 tachyzoïte inoculé par voie intrapéritonéale, entraînant constamment la mort de la souris en moins de 10 jours,
 - une souche est considérée comme non virulente pour la souris lorsque la DL100 est supérieure à 10^3 tachyzoïtes inoculés par voie intrapéritonéale,
 - une souche peut être qualifiée de virulence intermédiaire pour la souris lorsqu'elle est responsable d'une toxoplasmose subaiguë (critères de DL100 ou DL 50 non définis).
- la vitesse de multiplication en culture cellulaire et la possibilité de transformation *in vitro* des tachyzoïtes en bradyzoïtes aboutissant à la formation de kystes (Soete, 1993),
- les capacités de migration et de transmigration à travers les barrières biologiques (Barragan, 2002).

Ces différences sont bien établies pour les types I (virulent pour la souris) et II (non virulent pour la souris). Elles sont moins étudiées pour le type III dont la virulence chez la souris peut être qualifiée d'intermédiaire (toxoplasmose subaiguë) (Dardé, 1992). Les souches au génotype atypique ou issues de recombinaisons entre souches des 3 principaux types sont plus virulentes chez la souris que les souches de type II (Grigg, 2001a) ; elles n'ont cependant pas la même virulence que les souches de type I. Les caractéristiques de la souche infectante influencent également la réponse immune de la souris infectée : les souches de type I provoquent un excès de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires en partie à l'origine de la sévérité des manifestations cliniques (Mordue, 2001) alors que la sécrétion contrôlée d'IFN- γ au cours de l'infection par une souche de type II a un rôle protecteur (Gavrilescu, 2001). Les souches de type II provoquent une induction précoce de la sécrétion d'IL-12 par les macrophages (Robben, 2004).

Les différences de virulence observées chez la souris ne sont pas transposables à d'autres animaux, témoignant du rôle majeur de la réponse de l'hôte à l'infection : ainsi les rats inoculés avec des souches de type I non seulement ne développent aucune pathologie, mais sont parfois capables d'éliminer le parasite (Zenner, 1999).

2.2. Données cliniques chez l'homme

Ces études supposant l'isolement du parasite ou de son ADN dans un prélèvement humain, seules des souches responsables de toxoplasmoses symptomatiques (justifiant le prélèvement) ont pu être analysées. Ceci représente le principal biais de l'analyse des souches infectant l'homme. Une technique de « sérotypage » effectuée directement avec le sérum de patients infectés a été récemment publiée (Kong, 2003) ; elle permet, à partir de l'analyse de la réponse anticorps de l'hôte vis à vis de plusieurs peptides parasitaires, d'identifier le génotype de la souche infectante. Cette nouvelle approche devrait permettre de génotyper des souches responsables de toxoplasmoses asymptomatiques et pour lesquelles le parasite n'a pas pu être isolé.

Les origines géographiques assez limitées des isolats constituent un autre biais : la majorité des isolats analysés proviennent de cas de toxoplasmoses observées en Europe (essentiellement en France) et en Amérique du Nord. Or, les quelques isolats provenant de cas observés en Amérique du Sud suggèrent que la diversité génétique du toxoplasme chez l'homme pourrait être différente dans d'autres circonstances épidémiologiques (Carme, 2002 ; Ajzenberg, 2004). Seules quelques souches originaires d'Afrique ou des Caraïbes ont été analysées (Tableau 9).

En France, toutes manifestations cliniques confondues, les isolats de type II sont très majoritaires, représentant dans la plupart des études plus de 80% des isolats responsables de pathologie humaine. En Angleterre et en Espagne, une répartition similaire a été observée sur un plus petit nombre de souches (Aspinall, 2002 ; Fuentes, 2004) (Tableau 10). Malgré les biais de l'analyse génotypique chez l'homme, on peut penser que la prédominance du génotype II chez l'homme est une réalité, y compris dans les toxoplasmoses asymptomatiques car les études réalisées en Europe ou aux Etats-Unis sur les animaux domestiques (moutons, porcs), sources de la contamination humaine, retrouvent également une forte prédominance du type II (Lehmann, 2003 ; Owen, 1999). Chez les poulets, autre source éventuelle de contamination humaine, ont été isolées soit des souches de type I ou III comme au Brésil (Dubey, 2002), soit des souches de type III ou II en Egypte (Dubey, 2003), confirmant de possibles différences liées à l'origine géographique (typage reposant sur un seul locus, *Sag2*) (Tableau 9).

2.2.1. Toxoplasmose congénitale

Les typages réalisés sur des séries consécutives de toxoplasmoses congénitales humaines dans divers laboratoires français retrouvent pratiquement 100 % de souches de type II (Costa, 1997 ; Ajzenberg, 2002b). Des souches appartenant à d'autres génotypes peuvent cependant être à l'origine de toxoplasmoses congénitales (Fuentes, 2001). Dans les collections d'isolats présents dans les laboratoires de référence, on retrouve environ 80% de type II, 10 % de type I, 5 % de type III (Ajzenberg, 2002a ; Howe, 1997). Les souches de type II sont retrouvées aussi bien dans les formes infracliniques ou les retinohoroidites isolées que dans les toxoplasmoses à l'origine de mort fœtale ou d'atteintes disséminées ou neuro-oculaires graves. L'élément déterminant majeur de la gravité de l'atteinte reste l'âge gestationnel au moment de l'infection. Ainsi, ces souches, non virulentes pour la souris, peuvent être particulièrement pathogènes pour le fœtus, bien qu'elles soient aussi les seules retrouvées dans les toxoplasmoses congénitales latentes ou bénignes. Pour les quelques souches de type I, on observe deux situations très contrastées : soit des toxoplasmoses congénitales graves, soit des cas où l'isolement de la souche du placenta n'est pas accompagné d'une infection congénitale de l'enfant (Ajzenberg, 2002b). Enfin, les typages multilocus font apparaître un petit nombre d'isolats au génotype atypique, toujours à l'origine de toxoplasmoses congénitales graves (Ajzenberg, 2002b).

2.2.2. Toxoplasmose du patient immunodéprimé

Là encore, les souches de type II sont en majorité responsables de la pathologie observée (75 % des cas), qu'il s'agisse de toxoplasmoses cérébrales ou extra-cérébrales, que l'immunodépression ait pour cause une infection par le virus VIH ou une autre affection provoquant une baisse de l'immunité cellulaire (lymphome, transplantation, etc.) (Honoré, 2000 ; Howe, 1997).

2.2.3. Toxoplasmose du patient immunocompétent

Les circonstances d'isolement de toxoplasmes dans les toxoplasmoses du patient immunocompétent sont peu nombreuses. Les quelques souches isolées à partir de formes lymphadénopathiques classiques de toxoplasmoses appartiennent au type II (Dardé, 1992 ; Ajzenberg, 2002a). A l'opposé, dans des formes inhabituelles ou sévères de toxoplasmose acquise, ce sont des souches de type I ou des souches atypiques ou recombinantes qui sont identifiées. C'est notamment le cas dans les toxoplasmoses oculaires acquises de primo-infection (Grigg, 2001b).

Le rôle des souches atypiques ou de génotype recombinant est également manifeste dans les cas de toxoplasmoses sévères, parfois mortelles du patient immunocompétent. Ces formes ont été décrites depuis quelques années, notamment en Guyane française, après consommation de gibier sauvage de la forêt amazonienne. Elles peuvent se traduire par une pneumopathie, des atteintes cutanées, musculaires, cardiaques, oculaires ou neurologiques. Les souches isolées, plus virulentes pour la souris que les souches de type II, présentent

divers génotypes multilocus atypiques, non retrouvés pour l'instant en dehors de la Guyane (Carne, 2002).

En conclusion, on peut penser que les souches du type II sont prédominantes chez l'homme chez lequel elles sont capables de s'enkyster et de se réactiver. Cette prédominance dans la pathologie toxoplasmique est probablement le reflet de leur forte prévalence dans les toxoplasmoses asymptomatiques. Ceci demande à être confirmé par l'analyse d'isolats d'origine géographique élargie. Les souches dites atypiques, et peut-être les souches de type I, moins adaptées au système immunitaire de l'homme, parce que circulant habituellement dans des environnements d'où l'homme est absent, sont responsables de formes plus sévères de toxoplasmoses. Les aspects physiopathologiques liés aux principaux génotypes commencent à être analysés chez la souris, mais sont totalement ignorés chez l'homme et ne font l'objet que d'hypothèses.

3. Rôle du stade infectant

3.1. Données expérimentales

Un seul oocyste suffit à provoquer une infection chez les porcs ou les souris (Dubey, 1997) (cf. Question 29). Mais la pathogénicité dépend de la souche, de la dose et de la voie d'inoculation (Dubey, 1973). L'infection expérimentale des souris, des rats ou des porcs par ingestion d'oocystes (souche M-7741, type III) est responsable d'une mortalité plus précoce que l'infection par ingestion de kystes (Dubey, 1988). A l'opposé, les oocystes sont moins pathogènes que les kystes pour le chat (Dubey, 1996b).

Les tachyzoïtes ne sont pratiquement pas infectants par voie orale, en raison d'une plus grande sensibilité aux enzymes digestives. Des infections expérimentales de souris par ingestion de tachyzoïtes ont cependant été réalisées (Dubey, 1998).

3.2. Données cliniques chez l'homme

Chez l'homme, le stade parasitaire infectant n'est généralement pas connu. On dispose toutefois de quelques observations d'épidémies de toxoplasmoses liées à l'ingestion d'oocystes au cours desquelles un pourcentage important de formes symptomatiques (adénopathies, fièvre, atteintes oculaires) a été observé (Teutsch, 1979 ; Stagno, 1980 ; Benenson, 1982 ; Coutinho, 1982 ; Bowie, 1997). Les souches n'ayant pas été isolées, on ne peut exclure le rôle d'une souche particulière pour expliquer les manifestations cliniques observées.

Des contaminations de laboratoire par des oocystes ont été reportées : sur 8 cas, 7 ont été essentiellement asymptomatiques, 1 seule a donné lieu à des adénopathies cervicales (souche M7741, type III) (Herwaldt, 2001). Le nombre d'oocystes ingérés est inconnu.

Les infections par tachyzoïtes (souches RH, BK – type I, souche C56 – type III) peuvent se voir exceptionnellement chez l'homme après inoculation ou transmission à travers la conjonctive lors d'accidents de laboratoire (Herwaldt, 2001). En l'absence de traitement, ces infections sont généralement symptomatiques (fièvre, céphalées, adénopathies, rash, signes locaux, voire encéphalite ou myocardite). Dans la gravité de ces accidents, outre le stade, il faut bien sûr tenir compte de la voie d'inoculation et peut-être de la souche infectante.

4. Rôle de l'inoculum

4.1. Données expérimentales

Chez le rat, comme chez la souris, la pathogénicité est dose dépendante (cf. Question 29). L'inoculum ne joue toutefois pas de rôle pour les souches de type I par voie intrapéritonéale chez la souris : elles sont associées à une mortalité de 100 % à partir de 1 tachyzoïte inoculé.

4.2. Données cliniques chez l'homme

Le nombre de parasites transmis lors des infections humaines est bien sûr inconnu. On peut noter, qu'il existe une certaine relation entre la quantité de parasites présents dans le liquide amniotique, évaluée en PCR quantitative lors du diagnostic anténatal et la gravité de la toxoplasmose congénitale (Vial, 2000 ; Costa, 2001 ; Romand, 2004). Mais cela peut être aussi bien en relation avec une multiplication plus importante du parasite dans l'organisme qu'avec un inoculum initial plus important.

5. **Rôle de la voie de contamination**

5.1. Données expérimentales

Les souris infectées par voie orale avec des oocystes meurent plus rapidement que celles inoculées par le même stade parasitaire par voie intrapéritonéale. Cette mortalité plus précoce est associée à des lésions inflammatoires de l'intestin (Dubey, 1973). Le même type de lésions intestinales, responsables de diarrhée voire de mortalité, est observé dans des infections massives par voie orale par des oocystes chez le rat (10^6 oocystes de la souche VEG, type III) (Dubey, 1996a). Ces lésions d'entérite peuvent se voir également à la suite de l'ingestion de quantités importantes de kystes de certaines souches (Dubey, 1997).

5.2. Données cliniques chez l'homme

Chez l'homme, la contamination se fait essentiellement par voie orale. Dans la toxoplasmose congénitale, la contamination fœtale se fait par voie hématogène. Ce mode particulier de contamination conduit à une dissémination parasitaire et modifie les processus initiaux de l'immunité anti-toxoplasmique ; ceci pourrait expliquer en partie les réactivations oculaires tardives et répétées (Roberts, 1999). L'appréciation des conséquences des autres modes de contamination doit tenir compte de l'état immunitaire du patient (transfusion, transplantation) ou de la souche inoculée (accidents de laboratoire). La particularité des toxoplasmoses transmises par transplantation d'organe, vient du fait qu'il s'agit le plus souvent d'une réactivation de kystes contenus dans le greffon. Les conséquences sont à la fois locales (rejet) puis générales, par dissémination parasitaire (Luft, 1983 ; Giordano, 2002 ; Wreghitt, 1989).

Tableau 8 : Résumé des caractéristiques des principaux génotypes de *Toxoplasma gondii*

Type I

- rarement isolé (\cong 10% des souches)
- très virulent pour la souris (DL100 = 1 tachyzoïte, décès en moins de 10 jours, parasitémie élevée, pas de kystes), mais non virulent chez le rat
- multiplication rapide des tachyzoïtes in vitro (environ 3 fois plus rapide que celle des souches de type II ou III, peu de transformation en bradyzoïtes et de formation de kystes)
- capacités de migration et de transmigration à travers des barrières biologiques *ex vivo* supérieures à celles des types II et III.
- excès de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ) chez la souris
- *toxoplasmoses humaines* : atteintes congénitales plus souvent sévères, possibilité d'isolement à partir de toxoplasmoses de réactivation au cours des états d'immunodéficience

Type II

- le plus fréquent (homme, animaux domestiques) (\cong 80% des souches humaines en France)
- non-virulent pour la souris (DL100 $\geq 10^3$, formation de kystes)
- formation plus facile de bradyzoïtes et kystes in vitro
- capacités de migration et de transmigration à travers des barrières biologiques *ex vivo* inférieures à celles du type I.
- sécrétion contrôlée et protectrice d'IFN- γ) chez la souris.
- *toxoplasmoses humaines* : atteintes congénitales plus ou moins sévères, réactivations au cours des états d'immunodéficience, formes lymphadénopathiques classiques du patient immunocompétent, toxoplasmoses asymptomatiques (?)

Type III

- rare dans la population de toxoplasmes étudiée
- virulence intermédiaire pour la souris
- *toxoplasmoses humaines* : atteintes congénitales (faible nombre de cas)

Génotypes recombinants ou avec allèles atypiques

- plus souvent isolés dans des circonstances épidémiologiques particulières (animaux, biotopes sauvages)
- plus virulents chez la souris que le type II
- *toxoplasmoses humaines* : atteintes sévères disséminées ou oculaires chez des sujets immunocompétents

Tableau 9 : Répartition géographique des différents génotypes

Origine géographique des isolats	Nombre d'isolats	Hôte	Mode de typage	Type I	Type II	Type III	Atypiques	Infection mixte	Référence
Europe									
France	90	Homme	SAG2 PCR-RFLP	15%	77%	8%	ND*		Honoré, 2000
France	86	Homme	5 microsatellites	8%	85%	2%	5%		Ajzenberg, 2002b
France	37	Homme	1 microsatellite		100%		ND		Costa, 1997
France	68	Homme	SAG2 PCR-RFLP	10%	81%	9%	ND		Howe, 1997
Grande Bretagne	32	Homme	Sag2 PCR-RFLP+seq	31%	34%	3%	ND	31% (+II)	Aspinall, 2002
Grande Bretagne	13	Mouton	SAG2 PCR-RFLP		100%		ND		Owen, 1999
Espagne	25	Homme	SAG2 PCR-RFLP	40%	40%	20%	ND		Fuentes, 2001
Espagne	34	Mouton	SAG2 PCR-RFLP	9%	85%	6%	ND		Fuentes, 2004a
Espagne	55	Homme	SAG2 PCR-RFLP	25%	62%	7%	ND		Fuentes, 2004b
Espagne	26	Chat	SAG2 PCR-RFLP	15%	85%		ND		Montoya, 2004
USA									
USA	25	Porc	SAG2 PCR-RFLP + 6 microsatellites		20%	80%			Lehmann, 2003
USA	13	Loutre de mer	SAG2, SAG1 PCR-RFLP		46%		54%		Cole, 2000
USA	35	Loutre de mer	SAG1, SAG3, GRA6, B1 PCR-RFLP + sequencing		40%		60%		Miller, 2004
USA	36	Animaux sauvages	SAG2 PCR-RFLP	5,5%	86%	8%	ND		Dubey, 2004a

Amérique du Sud										
Argentine	9	Poulet	SAG2 PCR-RFLP	11%	11%	78%	ND	Dubey, 2003d		
Brésil (Parana)	13	Poulet	SAG2 PCR-RFLP	54%	46%	ND	Dubey, 2003c			
Brésil (Rio de Janeiro)	48	Poulet	SAG2 PCR-RFLP	70%	27%	3%	Dubey, 2003b			
Brésil (Sao Paulo)	25	Poulet	SAG2 PCR-RFLP	68%	32%	ND	Dubey, 2002			
Mexique	6	Poulet	SAG2 PCR-RFLP	16%	83%	ND	Dubey, 2004b			
Guyane Française	12	Homme	5 microsattellites			100%	Carme, 2002 ; Ajzenberg, données non publiées			
Afrique										
Cameroun, CentreAfrique, Sénégal	8	Homme	5 microsattellites		12.5%		87.5%	CRB ToxoBS groupe, données non publiées		
Egypte	21	Poulet, canard	SAG2 PCR-RFLP		14%	86%	Dubey, 2003a			
Autres										
Nlle Calédonie	2	Homme	5 microsattellites			2/2		CRB ToxoBS groupe, données non publiées		
La Réunion	1	Homme	5 microsattellites				1/1	CRB ToxoBS groupe, données non publiées		
Inde	7	Poulet	SAG2 PCR-RFLP		28%	72%	ND	Sreekumar, 2003		
Israël	19	Poulet	SAG2 PCR-RFLP		89%	11%	ND	Dubey, 2004b		
Caraiïbes	2	Homme	5 microsattellites				2/2	CRB ToxoBS groupe, données non publiées		

*ND = non déterminé

Tableau 10 : Toxoplasmose congénitale : répartition globale des différents génotypes

	Nombre d'isolats	Type I	Type II	Type III	Atypique	Infection mixte	Référence
France	86	8%	85%	8%	5%	0%	Ajzenberg, 2002
France	37	0%	100%	0%	ND*	0%	Costa, 1997
France	13	0%	100%	0%	ND	0%	Howe, 1997
Grande Bretagne	19	31 %	37 %	0 %	ND	31 %	Aspinall, 2003
Espagne	24	25%	67%	8%	ND	0%	Fuentes, 2004b
Espagne	8	75 %	12,50 %	12,50 %	ND	0 %	Fuentes, 2001

*ND : non déterminé

Tableau 11 : Toxoplasmose congénitale : répartition des différents génotypes en fonction de l'atteinte clinique

Données cliniques	Nombre d'isolats	Période de l'infection maternelle	Type I	Type II	Type III	Atypique	Référence
Mort fœtale	6	2-11 SA*		6			Ajzenberg, 2002
Mort néo-natale	3	?	1	2			
Forme sévère	21	7-17 SA	2	16		3	
Forme bénigne ou latente	45	15-38 SA		43	2		
Placenta infecté, enfant non infecté	4	14-20 SA	4				

*SA: semaines d'aménorrhée

Tableau 12 : Toxoplasmose oculaire : répartition des différents génotypes en fonction du terrain (formes sévères ou atypiques de l'adulte)

	Nombre d'isolats	Type I	Type II	Type III	Atypique	Référence
Immunocompétent	6	1			5	Grigg, 2001
Immunodéprimé	6	2	3	1		

Tableau 13 : Toxoplasmose de l'immunodéprimé : répartition des différents génotypes

	Nombre d'isolats	Type d'immuno-dépression	Type I	Type II	Type III	Atypique	Infection mixte	Référence
France	45	VIH+	13 %	76 %	11 %	ND*	0 %	Howe, 1997
France	55	VIH+	13 %	76 %	11 %	ND	0 %	Honoré, 2000
Grande Bretagne	8	VIH+	50 %	13 %	13 %	ND	25 %	Aspinall, 2003
France	10	non-VIH	10 %	80 %	10 %	ND	0 %	Howe, 1997
France	16	non-VIH	19 %	75 %	6 %	ND	0 %	Honoré, 2000
Espagne	31	VIH+	26%	58%	16%	ND	0%	Fuentes, 2004b
Espagne	17	non précisé	23,5 %	53 %	23,5 %	ND	0 %	Fuentes, 2001

*ND: non déterminé

Références bibliographiques

- Ajzenberg D, Banuls AL, Tibayrenc M, Dardé ML. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* population shows a high polymorphism structured into two main clonal groups. *Int J Parasitol.* 2002a;32:27-38.
- Ajzenberg D, Cogné N, Paris L, Bessières MH, Thulliez P, Filisetti D, Pelloux H, Marty P, Dardé ML. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis and correlation with clinical findings. *J Infect Dis.* 2002b;186:684-89.
- Ajzenberg D, Banuls AL, Su C, Dumetre A, Demar M, Carme B, Darde ML. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 2004;34:1185-96.
- Aspinall TV, Guy EC, Roberts KE, Joynson DHM, Hyde JE, Sims PFG. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales : public health implications. *Int J Parasitol.* 2003;33:97-103.
- Barragan A, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. *J Exp Med.* 2002;195:1154-65.
- Benenson MW, Takafuji, ET, Lemon, SM, Greenup, RL, Sulzer, AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med.* 1982;307:666-669.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet.* 1997;350:173-177.
- Carme B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R., Aznar C, Demar M, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Dardé ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.* 2002;40:4037-44.
- Cole RA, Lindsay DS, Howe DK, Roderick CL, Dubey JP, Thomas NJ, Baeten LA. Biological and molecular characterizations of *Toxoplasma gondii* strains obtained from southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *J Parasitol.* 2000;86:526-30.
- Costa JM, Dardé ML, Assouline B, Vidaud M, Bretagne S. Microsatellite in the beta-tubulin gene of *Toxoplasma gondii* as a new genetic marker for use in direct screening of amniotic fluid. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2542-5.
- Costa JM, Ernault P, Gautier E, Bretagne S. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by duplex real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *Prenat Diagn.* 2001;21:85-8.
- Coutinho SG, Lobo R, Dutra G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. *J Parasitol.* 1982;68:866-868.
- Dardé ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol.* 1992;78:786-94.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man.* CRC Press, Boca Raton, Florida. 1988. 220 p.
- Dubey JP, Frenkel JK. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. *J Parasitol.* 1973;59:505-12.
- Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AMA, Nishi SM, Shen SK, Kwok OCH, Hill DE, Thulliez P. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32:99-105.
- Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Hilali M, El-Ghaysh A, Sreekumar C, Kwok OCH, Shen SK, Lehman T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens and ducks from Egypt. *Vet Parasitol.* 2003a;114:89-95.
- Dubey JP, Graham DH, Selpel da Silva B, Lehmann T, Bahia-Oliveira LMG. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocyst shedding by cats. *J Parasitol.* 2003b;89:851-53.
- Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, Sreekumar C, Vianna MC, Lehman T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Parana, Brazil. *Vet Parasitol* 2003c;117:229-34.
- Dubey JP, Venturini MC, Piscopo M, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Vianna MC, Lehman T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from free ranging chickens from Argentina. *J Parasitol.* 2003d;89:1063-64.
- Dubey JP, Speer CA, Shen SK, Kwok OCH, Blixt JA. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* infection. *J Parasitol.* 1997;83:870-82.
- Dubey JP, Graham DH, De Young W, Dahl E, Eberhard ML, Nace EK, Won K, Bishop H, Punkosdy G, Sreekumar C, Vianna MCB, Shen SK, Kwok OCH, Sumners JA, Demarais S, Humphreys, Lehmann T. Molecular and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. *J Parasitol.* 2004a;90:67-71.
- Dubey JP, Morales ES, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. *J Parasitol.* 2004b;90:411-13.
- Dubey JP, Salant H, Sreekumar C, Dahl E, Vianna MCB, Ken SK, Kwok OCH, Spira D, Hamburger J, Lehmann T. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. *Vet Parasitol.* 2004c;121:317-22.
- Dubey JP. Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. *J Euk Microbiol.* 1997;44:5092-602.
- Dubey JP. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. *J Parasitol.* 1996a;82:951-56.
- Dubey JP. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J Parasitol.* 1996b;82:957-60.
- Dubey JP. Re-examination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites to pepsin and trypsin digestion. *Parasitology* 1998;116:43-50.
- Ferguson DJ, Huskinson-Mark J, Araujo FG, Remington JS. A morphological study of chronic cerebral toxoplasmosis in mice: comparison of four different strains of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res.* 1994;80:493-501.
- Flori P, Hafid J, Bourlet T, Raberin H, Genin C, Sung RT. Experimental model of congenital toxoplasmosis in guinea-pigs: use of quantitative and qualitative PCR for the study of maternofetal transmission. *J Med Microbiol.* 2002;51:871-8.
- Fuentes I, Rubio MR, Ramirez C, Alvar J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1566-70.
- Fuentes I, Montoya A, Garcia-Perez AL, Ramirez C, Rodriguez M, Barandika JF, Rubio JM. 2004a. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from ovine in Spain. Abstract 238. MEEGID VII, Valencia, Espagne 19-22 juillet 2004.

- Fuentes I, Rodriguez M, Ladron de Guevara C, Perez C, Del Castillo F, Gutierrez MJ, Rubio JM. 2004b. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain. Abstract 237. MEEGID VII, Valencia, Espagne 19-22 juillet 2004.
- Giordano LF, Lasmar EP, Tavora ER, Lasmar MF. Toxoplasmosis transmitted via kidney allograft: case report and review. *Transplant Proc.* 2002;34:498-9.
- Gravilescu LC, Denkers EY. IFN- γ overproduction and high level apoptosis are associated with high but not low virulence *Toxoplasma gondii* infection. *J Immunol.* 2001;167:902-9.
- Grigg ME, Bonnefoy S, Hehl AB, Suzuki Y, Boothroyd JC. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science* 2001a;294:161-5.
- Grigg ME, Ganatra J, Boothroyd JC, Margolis TP. Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 2001b;184:633-9.
- Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:659-688.
- Honore S, Couvelard A, Garin YJ, Bedel C, Henin D, Darde ML, Derouin F. Génotypage des souches de *Toxoplasma gondii* chez des patients immunodéprimés. *Pathol Biol.* 2000;48:541-7.
- Howe DK, Honoré S, Derouin F, Sibley LD. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1411-4.
- Kong JT, Grigg ME, Parmley S, Boothroyd JC. Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. *J Inf Dis.* 2003;187:1484-95.
- Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* in a pig farm. *Infect Genet Evol.* 2003;3:135-41.
- Luft BJ, Naot Y, Araujo FG, Stinson EB, Remington JS. Primary and reactivated *Toxoplasma* infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. *Ann Intern Med.* 1983;99:27-31.
- Miller MA, Grigg ME, Kreuder C, James ER, Melli AC, Crosbie PR, Jessup DA, Boothroyd JC, Brownstein D, Conrad PA. An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is associated with mortality. *Int J Parasitol.* 2004;34:275-84.
- Montoya A, Miro G, Jimenez S, Mateo M, Frisuelaos C, Ramirez C, Fuentes I. 2004. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from stray, farm and household cats in Spain. Abstract 239. MEEGID VII, Valencia, Espagne 19-22 juillet 2004.
- Mordue DG, Monroy F, La Regina M, Dinarello CA, Sibley LD. Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. *J Immunol.* 2001;167:4574-84.
- Owen MR, Trees AJ. Genotyping of *Toxoplasma gondii* associated with abortion in sheep. *J Parasitol.* 1999;35:382-84.
- Roberts F, McLeod R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Parasitol Today.* 1999;15:51-7.
- Robben PM, Mordue DG, Truscott SM, Takeda K, Akira S, Sibley LD. Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. *J Immunol.* 2004;172:3686-84.
- Romand S, Chosson M, Franck J, Wallon M, Kieffer F, Kaiser K, Dumon H, Peyron F, Thulliez P, Picot S. Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii*. *Am J Obst Gynecol.* 2004;190:797-802.
- Soete M, Fortier B, Camus D, Dubremetz JF. *Toxoplasma gondii*: kinetics of bradyzoite-tachyzoite interconversion in vitro. *Exp Parasitol.* 1993;76:259-64.
- Sreekumar C, Graham DH, Dahl E, Lehman T, Raman M, Bhalerao DP, Vianna MC, Dubey JP. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. *Vet Parasitol.* 2003;118:187-94.
- Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head, RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. *Pediatrics.* 1980;65:706-711.
- Su C, Howe DK, Dubey JP, Aijoka JW, Sibley LD. Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. *PNAS* 2002;99:10753-58.
- Sumyuen MH, Garin YJ, Derouin F. Early kinetics of *Toxoplasma gondii* infection in mice infected orally with cysts of an avirulent strain. *J Parasitol.* 1995;81:327-9.
- Teutsch SM, Juranek DD, Sulzer A, Dubey JP, Sikes RK. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *N Engl J Med.* 1979;300:695-699.
- Vial D, Kaiser K, Peyron F, Picot S. Parasitic load in amniotic fluid measured by quantitative PCR is related to severity of fetal toxoplasmosis. *Acta Parasitologica.* 2000;45:133.
- Wreghitt TG, Hakim M, Gray JJ, Balfour AH, Stovin PG, Stewart S, Scott J, English TA, Wallwork J. Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. *J Clin Pathol.* 1989;42:194-9.
- Zenner L, Foulet A, Caudrelier Y, Darcy F, Gosselin B, Capron A, Cesbron-Delauw MF. Infection with *Toxoplasma gondii* RH and Prugniaud strains in mice, rats and Nude rats: kinetics of infection in blood and tissues related to pathology in acute and chronic infection. *Pathol Res Pract.* 1999;195:475-85.

Question 7 : existe-t-il des facteurs de sensibilité de l'hôte, génétique ou immunitaire ?

Responsable de la question : M. Derouin
Co-rédacteurs : Mme Dardé
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Candolfi

Le parasitisme par *T. gondii* est caractérisé par une interaction permanente entre le parasite et son hôte ; il existe donc une très forte intrication entre les facteurs parasitaires (cf. Question 6) et les facteurs immunitaires ou génétiques dans la pathogénicité de la toxoplasmose. Ces deux derniers sont par ailleurs étroitement liés par le fait que la réponse immunitaire est largement sous contrôle génétique.

1. Facteurs de sensibilité génétiques

Leur rôle a été suspecté il y a près de 30 ans, par l'observation d'une mortalité différente chez des souris de différentes lignées infectées par un même inoculum (Araujo 1976), les souris CBA/Ca étant sensibles et les BALB/c résistantes.

Par la suite, plusieurs études réalisées sur des souris congéniques et recombinantes ont permis de montrer que le développement d'une encéphalite toxoplasmique chez la souris était régulé par un ou plusieurs gènes situés dans la région D du complexe majeur d'histocompatibilité de la souris (complexe H-2) (Suzuki, 1991, 1994). Les souris qui ont l'haplotype *d* dans la région D sont résistantes au développement d'une encéphalite toxoplasmique alors que celles qui ont les haplotypes *b* ou *k* sont sensibles. Cette résistance s'associe à une diminution du nombre de kystes cérébraux (Brown, 1994, 1995). Une étude récente montre cependant que le niveau de résistance lié à l'haplotype « *d* » est dépendant de la souche infectante (Johnson, 2002), et que l'implication de l'haplotype dans la résistance n'est pas constante (Fux, 2003).

L'implication des gènes du TNF-alpha a également été soulevée (Freund, 1992), mais une étude réalisée sur des souris transgéniques ou délétées montre que le gène *L^d*, mais pas le gène codant pour le TNF-alpha est impliqué dans la résistance (Suzuki, 1994 ; Brown, 1995).

Chez l'homme, les données sont évidemment moins précises mais l'implication de gènes du complexe HLA (équivalent du H2 de la souris) a été évoquée dans 3 études.

Une première étude réalisée chez l'enfant atteint de toxoplasmose congénitale a montré une association entre HLA DQ3 et le développement d'une hydrocéphalie (Mack, 1999).

Ces conclusions rejoignent celles d'une seconde étude réalisée chez des patients infectés par le VIH, montrant que HLA-DQ3 est significativement plus fréquent chez les patients nord-américains présentant une toxoplasmose cérébrale que dans la population générale ou chez des patients VIH+ sans toxoplasmose. A l'inverse, la fréquence de HLA-DQ1 est significativement plus basse chez les patients atteints de toxoplasmose cérébrale (Suzuki, 1996). L'hypothèse d'une implication des gènes HLA-DQ1 et DQ3 dans la résistance à l'encéphalite toxoplasmique chez l'homme est également renforcée par les résultats d'une étude réalisée chez des souris transgéniques. Chez les souris exprimant la transgénèse HLA-DQ1, on observe un nombre de kystes et une nécrose du tissu cérébral plus faibles que chez les souris exprimant la transgénèse HLA-DQ3 (Mack, 1999). Par contre, l'expression du transgène HLA-B27 et HLA-Cw3 n'a pas de conséquence sur la charge parasitaire (Brown, 1994).

Des typages HLA-A, -B, -C et -D ont également été effectués chez 47 mères de patients présentant une toxoplasmose oculaire, montrant une fréquence plus élevée de HLA-Bw62 en cas de toxoplasmose oculaire sévère (Meenken, 1995).

Le fait que les gènes probablement impliqués dans la résistance (L^d chez la souris et HLA chez l'homme) fassent partie du complexe majeur d'histocompatibilité, fortement impliqué dans la réponse immunitaire, explique naturellement le lien étroit pouvant exister entre régulation génétique et immunitaire de la pathogénie de la toxoplasmose.

Deux autres facteurs génétiques ont également été explorés pour la toxoplasmose:

- Groupe sanguins ABO: des liens entre toxoplasmose et groupe sanguin ABO ont été suspectés dans une étude (Midvet 1989) mais non confirmés par la suite (Lecolier, 1990).
- Gène codant pour le récepteur CCR5 des β -chimokines: une étude de cohorte de patients infectés par le VIH a montré une incidence plus faible de la toxoplasmose cérébrale chez les patients ayant une délétion partielle de ce gène (délétion $\Delta 32$) (Meyer, 1999).

2. Facteurs de sensibilité immunitaires

Les données sur le rôle et les composantes de la réponse immunitaire vis à vis de *Toxoplasma gondii* sont considérables et très évolutives.

2.1. Données générales (d'après Dardé, 2002)

L'immunité dans l'infection initiale par *T. gondii* dépend en partie de la réponse immune innée, elle-même dépendante de l'interaction entre cellules NK et macrophages. Après une infection par *T. gondii*, les macrophages et les cellules dendritiques libèrent du TNF- α et de l'IL-12 qui stimulent la production d'IFN- γ par les cellules NK. Ces cytokines favorisent la production de NO par les macrophages, ce qui contribue au contrôle de l'infection. Cette activation précoce des macrophages avec production d'IL-12 et des cellules NK avec production d'IFN- γ contribue à limiter la multiplication des tachyzoïtes avant la mise en place de l'immunité spécifique et induit chez la souris la différenciation des précurseurs Th vers des cellules effectrices Th1. Par ailleurs, les effets pro-inflammatoires délétères pour l'hôte des cytokines produites lors de la phase aiguë de l'infection (Mordue, 2001) pourraient être contrôlés chez la souris par l'IL-10 produite par les cellules Th2, les cellules B et les macrophages. Chez l'homme, ces mécanismes sont encore controversés et difficiles à étudier.

L'immunité à long terme est dépendante du développement de l'immunité cellulaire T. La population de cellules T la plus impliquée dans cette protection est celle des CD8+ par leur activité cytolytique et surtout par leur sécrétion d'IFN- γ . Mais les CD4+ Th1 jouent un rôle auxiliaire important dans le développement d'une immunité efficace contre le parasite, probablement par la production d'IL-2 nécessaire au développement des cellules CD8+. Les cellules CD4+ Th2 sont au contraire défavorables au développement de l'immunité anti-toxoplasmique car elles produisent de l'IL-4 et de l'IL-10 qui antagonisent le développement de l'immunité cellulaire Th1 et les effets du TNF- α , de l'IFN- γ et de l'IL-12 sur l'activation des macrophages et la production de NO.

Au niveau cérébral, plusieurs études récentes insistent sur le rôle majeur joué par les cellules de la microglie et par les astrocytes, qui peuvent inhiber fortement la réplication parasitaire à la suite d'une stimulation par l'IFN- γ , notamment en induisant une dégradation du tryptophane (IDO), et sur celui des cellules dendritiques comme les principales cellules productrices d'IL-12 au niveau cérébral (Suzuki, 1999 ; Suzuki, 2002).

L'infection par *T. gondii* génère une réponse humorale impliquant des anticorps des différents isotypes (IgG, IgM, IgA, IgE), dirigés contre les antigènes somatiques et/ou excrétés-sécrétés. Les IgG antitoxoplasmiques persistent toute la vie et sont témoins d'une immunité acquise. Toutefois, les anticorps semblent ne jouer qu'un rôle mineur dans la

résistance du fait de la localisation intracellulaire du parasite, bien que certaines études suggèrent qu'ils puissent contribuer à l'acquisition de cette résistance (Johnson, 1983 ; Velge-Roussel, 2001). Cependant, des études récentes ont montré que les lymphocytes B joueraient un rôle important dans un modèle murin déficient en lymphocytes B (Kang, 2000) et dans un modèle de vaccination employant le même modèle murin (Sayles, 2000). Toutefois cette importance varierait en fonction de la nature de la souche infectante (Johnson, 2004).

2.2. Particularités de la réponse immunitaire au cours de la grossesse et chez le fœtus (D'après Dardé, 2002 ; McLeod, 2000)

Chez la femme enceinte, les modifications hormonales liées à la grossesse favorisent les réponses immunologiques de type Th2 ce qui pourrait augmenter la sensibilité à l'infection toxoplasmique par diminution de la production d'IFN- γ , d'IL-2 et de TNF- α . A l'opposé, l'importance de la réponse Th1 avec production de cytokines pro-inflammatoires induite par l'infection toxoplasmique, contre-balançant les effets de la réponse Th2 liée à la gestation, pourrait être à l'origine des avortements observés lors d'infections survenues en début de grossesse. Expérimentalement, chez la souris gestante, la production d'IL-4 favorise également le passage transplacentaire du toxoplasme alors que les cellules NK induisent une protection partielle (Abou-Bacar, 2004). Cet effet protecteur semble également exister chez l'Homme : sur 17 femmes enceintes ayant acquis une toxoplasmose en cours de grossesse, les 7 qui ont transmis le toxoplasme à leur fœtus avaient des taux significativement plus bas de cellules NK que les mères n'ayant pas transmis le toxoplasme et que les femmes enceintes non infectées (Nigro, 1999).

Chez le fœtus, l'immaturation du système immunitaire favorise l'infection toxoplasmique. Les cellules NK sont détectées dès la 6^{ème} semaine de grossesse, mais à terme, l'activité cytolytique des cellules NK est de 50 % inférieure à celle des adultes. Les macrophages sont présents dès la 4^{ème} semaine de gestation. A la naissance, la production d'IL-12 par les monocytes du sang du cordon est plus faible que chez les adultes avec comme conséquence une diminution de production d'IFN- γ et de l'induction de la réponse Th1. Les fonctions des cellules T chez le fœtus et le nouveau-né sont diminuées par rapport à celles des adultes du fait d'une production réduite de cytokines et d'un déficit en cellules T mémoires. Les réponses cellulaires T chez le fœtus et le nouveau-né sont orientées vers un profil Th2 (McLeod, 2000).

Les fœtus infectés ont une diminution du nombre absolu de CD4 et une baisse du rapport CD4/CD8 (Hohfeld, 1990). La réponse proliférative des cellules mononucléées vis-à-vis des antigènes toxoplasmiques est diminuée chez les nouveau-nés infectés. A l'arrêt des traitements anti-toxoplasmiques, à l'âge de 1 an, cette inhibition de la réponse blastogénique disparaît généralement, mais chez certains enfants, particulièrement chez ceux ayant des lésions sévères, un certain degré d'anergie vis-à-vis de l'antigène toxoplasmique peut persister (Hara, 1996 ; McLeod, 2000 ; McLeod, 1985a.). Au cours du premier trimestre de vie intra-utérine, les cellules T ont une capacité limitée de reconnaissance des antigènes ce qui induit un état de tolérance vis-à-vis de l'antigène toxoplasmique. Les cellules T, incapables de reconnaître le toxoplasme comme antigène étranger ne présentent pas de réponse lymphoblastique vis à vis de cet antigène lors de la phase aiguë de l'infection, avec une diminution de leur capacité à produire de l'IL-2 et de l'IFN- γ . Cette tolérance immunitaire expliquerait les réactivations périodiques à l'origine des épisodes de rétinopathie au cours de la vie (Hara, 1996 ; Yamamoto, 2000).

Des « rebonds sérologiques » (augmentation des anticorps IgG) surviennent chez 87 % des enfants infectés, généralement sans être accompagnés de signes cliniques. Ils sont plus fréquents dans les 4 à 6 mois après la fin du traitement. Leur physiopathologie est encore inconnue. Mais on peut noter chez certains de ces enfants un biais vers une réponse Th2 avec la présence dans le sang de cellules B sécrétant des anticorps spécifiques du toxoplasme, une sécrétion d'IgE spécifiques et une production accrue d'IL-4 et moindre d'IFN- γ . Ceci suggère un rôle des cytokines Th2 dans la déstabilisation de la toxoplasmose congénitale et, peut être, dans la réactivation locale du parasite (Kahi, 1999).

Dans la toxoplasmose oculaire, d'autres processus immunologiques ont été décrits : une hypersensibilité à l'antigène toxoplasmique serait responsable des lésions secondaires d'uvéïte ou de vascularite. Des auto-anticorps dirigés contre des antigènes rétinien peuvent être présents mais sans preuve de leur responsabilité dans la pathogénie de la toxoplasmose oculaire (Roberts, 1999).

2.3. Particularités de la réponse immunitaire chez l'immunodéprimé

Compte tenu des caractéristiques de la réponse immunitaire dans la toxoplasmose, un déficit portant sur une ou plusieurs composantes de l'immunité cellulaire représente le principal facteur de sensibilité dans la toxoplasmose.

Expérimentalement, chez l'animal, il a été possible d'évaluer les conséquences d'un déficit individualisé, par des expérimentations de déplétion (utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre des cellules ou des médiateurs de l'immunité) et/ou de reconstitutions immunitaires ciblées.

Chez l'homme, une telle information n'est pas disponible car les situations de déficit immunitaire restreints à une seule fonction -un type cellulaire ou à la production d'un médiateur- sont exceptionnelles et le plus souvent d'origine congénitale, sans toxoplasmose associée.

Dans la situation la plus fréquente, les déficits immunitaires sont complexes, multiples et intriqués. Nous avons donc opté pour une analyse en fonction du type d'immunodépression, en individualisant, lorsque c'est possible, le (ou les) facteur(s) de sensibilité particuliers dans chacun des types.

2.3.1. Immunodépression primitive (déficits congénitaux)

Aucune information n'est disponible sur la pathogénicité de la toxoplasmose chez ces patients.

2.3.2. Immunodépression secondaire à une hémopathie ou un cancer

Les cas de toxoplasmose sont surtout observés au cours d'hémopathies malignes induisant un déficit cellulaire T. Dans une étude portant sur 212 cas de toxoplasmose grave survenus en dehors du SIDA (Israelski, 1993), 128 cas (60 %) ont été observés au cours d'hémopathie ou de cancer :

- 71 au cours de lymphomes (maladie de Hodgkin 59 cas ; lymphome non hodgkinien 12 cas),
- 38 cas au cours de leucémies (leucémie aiguë lymphoblastique 11, leucémie lymphoïde chronique 6, leucémie aiguë myéloblastique 7, leucémie myéloïde chronique 9, autres 3),
- 5 cas au cours de myélomes.

Les quelques autres cas se répartissent chez des patients présentant des tumeurs solides de localisations diverses.

Le dysfonctionnement des fonctions T, associé à une absence de réponse proliférative à l'antigène de *T. gondii* chez les patients atteints de maladies de Hodgkin est le seul facteur de sensibilité identifié (Gaines, 1973 ; McLeod, 1985b).

2.3.3. Immunodépression secondaire aux traitements immunosuppresseurs

- *Corticoïdes*

L'administration de corticoïdes augmente la susceptibilité de l'hôte à l'infection par *T. gondii* (Frenkel, 1975). Chez l'homme, des formes graves de toxoplasmose ont été observées lors de traitements prolongés par de fortes doses de corticoïdes au cours du lupus érythémateux disséminé ou de collagénoses (Israelski, 1993). L'incidence des cas de toxoplasmose chez les patients traités par corticoïdes est cependant très faible.

- *Greffe de moelle*

L'immunodépression induite au cours des greffes de moelle est un important facteur de sensibilité à la toxoplasmose. Une étude rétrospective réalisée en 2002 a relevé 110 cas

survenus chez des greffés de moelle allogénique (Mele, 2002) alors que les cas de toxoplasmose au cours ou à la suite d'une autogreffe sont exceptionnels. Les receveurs de greffe de moelle allogénique reçoivent un traitement pré-greffe associant souvent chimiothérapie, irradiation et déplétion lymphocytaire spécifique. Ce conditionnement entraîne une aplasie portant sur toutes les lignées (lymphocytes, macrophages, polynucléaires) et une absence prolongée de réponse proliférative vis-à-vis de la plupart des antigènes microbiens, dont *T. gondii*. Ce déficit peut encore être accru par l'administration thérapeutique d'immunosuppresseurs et de corticoïdes en cas de réaction de greffon contre l'hôte (GVH). Les cas de toxoplasmose surviennent principalement dans les 6 premiers mois après la greffe, période d'immunodépression maximale, sans reconstitution effective par le greffon. Il s'agit dans la très grande majorité des cas d'une réactivation d'une infection ancienne, se traduisant par une toxoplasmose cérébrale ou disséminée. Au moment de la toxoplasmose, la réponse anticorps n'est généralement pas modifiée (Derouin, 1992) et la réponse proliférative à l'antigène toxoplasmique est nulle (Cremer, 1991). Les cas semblent plus fréquents lorsque le receveur est séropositif pour la toxoplasmose (réactivation) et le donneur séronégatif, ce qui pourrait correspondre à une absence de réponse immunitaire des cellules greffées non immunes vis-à-vis des kystes présents chez le receveur.

Par ailleurs, chez les greffés de moelle allogénique séropositifs avant la greffe, il est habituel d'observer une disparition complète des anticorps dans les 3 à 6 mois après la greffe et un rebond sérologique 12 mois après la greffe en moyenne, sans signe clinique associé (Derouin, 1986). Cette remontée des anticorps est actuellement interprétée comme un témoin de la reconstitution immunitaire de l'hôte.

- *Transplantation d'organe*

Les cas de toxoplasmose survenant à la suite de transplantations d'organe peuvent relever d'une altération de l'immunité et/ou d'une transmission directe par un greffon contenant des kystes. Dans tous les types de transplantation d'organe, un traitement anti-rejet ciblant principalement l'immunité cellulaire T est administré dès le premier jour de la transplantation, souvent en association avec des corticoïdes, voire des sérums ou anticorps anti-lymphocytaires. Ce traitement neutralisant en partie la réponse T serait la principale cause des réactivations de toxoplasmose chez des sujets porteurs d'une infection chronique avant transplantation. Ces réactivations sont observées dans les transplantations hépatiques, cardiaques et rénales principalement. Elles peuvent être asymptomatiques, se traduisant par une remontée du titre des anticorps (Derouin, 1987 ; Luft, 1983) et/ou se traduire par des formes cliniques graves (toxoplasmose cérébrale ou disséminée).

La transplantation en elle-même peut également représenter un risque particulier de primo-infection grave. Lorsque le receveur est séronégatif pour la toxoplasmose et reçoit un organe provenant d'un donneur séropositif, une transmission de kystes avec l'organe greffé est possible (Luft, 1983 ; Giordano, 2002 ; Speirs, 1987 ; Wreghitt, 1989) (cf. Question 9). En raison des traitements immunosuppresseurs administrés de façon concomitante, il s'en suit un risque de dissémination à partir des kystes du greffon. Ce risque est particulièrement important dans les transplantations cardiaques et cardio-pulmonaires.

2.3.4. Immunodépression secondaire à une infection virale

- *Infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)*

Plusieurs infections virales peuvent affecter la réponse immunitaire mais seule l'infection par le VIH a une incidence directe et importante sur la pathogénicité de la toxoplasmose, via son inférence sur le système immunitaire de l'hôte.

L'effet délétère de l'infection par le VIH concerne avant tout les lymphocytes CD4 dont nous avons vu qu'ils avaient une fonction essentielle dans l'immunité anti-toxoplasmique. Dans la grande majorité des cas, les formes graves de toxoplasmose observées au cours du SIDA sont des réactivations d'infections antérieurement acquises, traduisant donc une perte des capacités de contrôle immunitaire de l'infection chronique.

De nombreuses études mettent clairement en évidence une relation entre le taux de CD4 et le risque de survenue de toxoplasmose cérébrale. Le seuil de 100 CD4/mm³ est considéré

comme un seuil de risque significatif justifiant une prophylaxie. Des études de cohorte ont également montré une progression de l'incidence de la toxoplasmose, en relation directe avec la décroissance du taux de CD4 (Bélanger, 1999 ; Leport, 1996 ; Luft, 1993 ; Luft 1992). Sur le plan fonctionnel, la réponse proliférative des lymphocytes des patients infectés par le VIH vis-à-vis d'un antigène de *T. gondii* peut être altérée à un stade précoce de l'infection (Derouin, 1989). Chez les patients ayant moins de 100 CD4, la réponse proliférative lymphocytaire et la production d'IFN- γ en réponse à l'antigène toxoplasmique sont faibles ou nulles ; cependant ces deux fonctions peuvent retrouver des valeurs normales en cas de reconstitution immunitaire sous thérapie antirétrovirale efficace (Fournier, 2001 ; Alfonzo, 2002). Cette reconstitution immunitaire sous traitement antirétroviral a conduit à une forte diminution de l'incidence de la toxoplasmose cérébrale en France depuis 1996 (Agbrall, 2001).

On ignore si le déficit immunitaire induit par l'infection VIH représente vraiment un facteur de susceptibilité accru à la primo-infection. A la suite d'une infection par *T. gondii*, très peu de cas de formes graves de toxoplasmose ont été décrits chez des patients infectés par le VIH ayant un déficit profond de l'immunité. Plusieurs études sérologiques montrent que ni l'incidence des primo-infections ni la prévalence de la toxoplasmose ne sont augmentées chez les patients infectés par le VIH, comparativement à la population non VIH (Derouin, 1991 ; Reiter-Owona, 1998 ; Candolfi, 1992 ; Falusi, 2002). Quant au risque de transmission foeto-maternelle à la suite d'une réactivation d'une toxoplasmose chez une mère HIV+, il est faible, mais pas nul (Marty, 1994 ; Anonyme, 1996).

Le rôle protecteur des anticorps anti-toxoplasmiques apparaît négligeable au cours du SIDA car nombre de cas d'encéphalite toxoplasmique sont observés alors que le titre d'anticorps est très élevé; on observe également des "rebonds" sérologiques chez les patients infectés par le VIH sans aucune manifestation clinique associée, avec une incidence annuelle estimée à 12% (Derouin, 1991). Malgré tout, la détermination du titre et de la spécificité des anticorps peut être utilisée comme indicateur d'un niveau de risque de survenue de toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA (Derouin, 1996 ; Bélanger, 1999 ; Leport, 2001).

- *Infection par le cytomégalo virus*

Une interaction entre infection par le cytomégalo virus et toxoplasmose a également été montrée expérimentalement chez la souris, la première favorisant la réactivation d'une pneumonie toxoplasmique avec afflux de lymphocytes suppresseurs (Pomeroy, 1992). Cette interaction a également été suspectée, mais non prouvée chez l'homme du fait de la fréquence des co-infections CMV/ *T. gondii* chez les malades immunodéprimés.

Références bibliographiques

- Abou-Bacar A, Pfaff AW, Georges S, Letscher-Bru V, Filisetti, D, Villard O, Antoni E, Klein JP, Candolfi E. Role of NK cells and gamma interferon in transplacental passage of *Toxoplasma gondii* in a mouse model of primary infection. *Infect Immun*. 2004;72:1397-401.
- Agbrall S, Rabaud C, Costagliola D. Clinical Epidemiology Group of the French Hospital Database on HIV. Incidence and risk factors for toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus-infected patients before and during the highly active antiretroviral therapy era. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1747-55.
- Alfonzo M, Blanc D, Troadec C, Huerre M, Eliazewicz M, Gonzalez G, Koyanagi Y, Scott-Algara D. Temporary restoration of immune response against *Toxoplasma gondii* in HIV-infected individuals after HAART, as studied in the hu-PBMC-SCID mouse model. *Clin Exp Immunol*. 2002;129:411-9.
- Anonyme. Low incidence of congenital toxoplasmosis in children born to women infected with human immunodeficiency virus. European Collaborative Study and Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996;68:93-6.
- Araujo FG, Williams DM, Grumet FC, Remington JS. strain-difference in murine susceptibility to *Toxoplasma*. *Infect Immun*. 1976;13:1528-1530.
- Bélanger F, Derouin F, Grangeot-Keros L, Meyer L. Incidence and risk factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1988-1995. *Clin Infect Dis*. 1999;28:575-581.
- Brown CR, David CS, Khare SJ, McLeod R. Effects of human class I transgenes on *Toxoplasma gondii* cyst formation. *J Immunol*. 1994;152:4537-41.
- Brown CR, Hunter CA, Estes RG, Beckmann E, Forman J, David C, Remington JS, McLeod R. Definitive identification of a gene that confers resistance against *Toxoplasma* cyst burden and encephalitis. *Immunology*. 1995;85:419-28.

- Candolfi E, Partisani ML, De Mautort E, Bethencourt S, Frantz M, Kien T, Lang JM. Séroprévalence de la toxoplasmose chez 346 sujets infectés par le VIH dans l'Est de la France. Suivi sérologique des sujets non contaminés par le VIH. *Presse Med.* 1992;21:394-5.
- Cremer G. Toxoplasmose chez les greffés de moelle : Etude suivie de l'immunité cellulaire et humorale. Thèse Médecine, Paris, 1991,79p.
- Dardé ML, Peyron F. Toxoplasmose. *In F. Denis. "Bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant"* Ed. John Libbey Eurotext. 2002, 317-347.
- Derouin F, Debure A, Godeaut E, Larivière M, Kreis H. *Toxoplasma* antibody titers in renal transplant recipients. Pretransplant evaluation and posttransplant follow-up of 73 patients. *Transplantation.* 1987;44:515-8.
- Derouin F, Devergie A, Auber P, Gluckman E, Beauvais B, Garin YJ, Larivière M. Toxoplasmosis in bone marrow-transplant recipients: report of seven cases and review. *Clin Infect Dis.* 1992;15:267-70.
- Derouin F, Gluckman E, Beauvais B, Devergie A, Melo R, Monny M, Larivière M. *Toxoplasma* infection after human allogeneic bone marrow transplantation: clinical and serological study of 80 patients. *Bone Marrow Transplant.* 1986;1:67-73.
- Derouin F, Lepout C, Pueyo S, Morlat P, Letrillard B, Chêne G, Ecobichon JL, Luft B, Aubertin J, Hafner R, Vildé JL, Salamon R. Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titres on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. ANRS 005/ACTG 154 Trial Group. *AIDS.* 1996;10:1521-7.
- Derouin F, Rabian-Herzog C, Ballet JJ. Impaired in vitro lymphocyte response to *Toxoplasma* antigen in HIV1 infected patients. *J Clin Lab Immunol.* 1989;28:179-82.
- Derouin F, Thulliez P, Garin YJ. Interêt et limites de la sérologie de toxoplasmose chez les sujets VIH+. *Pathol Biol (Paris).* 1991;39:255-9.
- Falusi O, French AL, Seaberg EC, Tien PC, Watts DH, Minkoff, H, Piessens E, Kovacs A, Anastos K, Cohen MH. Prevalence and predictors of *Toxoplasma* seropositivity in women with and at risk for human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2002;35:1414-7.
- Fournier S, Rabian C, Alberti C, Carmagnat MV, Garin JF, Charron D, Derouin F, Molina JM. Immune recovery under highly active antiretroviral therapy is associated with restoration of lymphocyte proliferation and interferon-gamma production in the presence of *Toxoplasma gondii* antigens. *J Infect Dis.* 2001;183:1586-91.
- Frenkel JK, Nelson BM, Arias-Stella J. Immunosuppression and toxoplasmic encephalitis: clinical and experimental aspects. *Hum Pathol.* 1975;6:97-111.
- Freund YR, Sgarlato G, Jacob CO, Suzuki Y, Remington JS. Polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene correlate with murine resistance to development of toxoplasmic encephalitis and with levels of TNF-alpha mRNA in infected brain tissue. *J Exp Med.* 1992;175:683-8.
- Fux B, Rodrigues CV, Portela RW, Silva NM, Su C, Sibley D. Role of cytokines and major histocompatibility complex restriction in mouse resistance to infection with a natural recombinant strain (type I-III) of *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun.* 2003;71:6392-401.
- Gaines JD, Gilmer MA, Remington JS. Deficiency of lymphocyte antigen recognition in Hodgkin's disease. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1973;36:117-21.
- Giordano LF, Lasmar EP, Tavora ER, Lasmar MF. Toxoplasmosis transmitted via kidney allograft: case report and review. *Transplant Proc.* 2002;34:498-9.
- Hara T, Ohashi S, Yamashita Y, Abe T, Hisaeda H, Himeno K, Good RA, Takeshita K. Human V delta 2+ gamma delta T-cell tolerance to foreign antigens of *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:5136-40.
- Hohfeld P, Marion S, Thulliez P, Marcon P, Daffos F. *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy : T lymphocyte subpopulations in mothers and fetuses. *Pediatr Infect Dis J.* 1990;9:878-81.
- Israelski DM, Remington JS. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. *Curr Clin Top Infect Dis.* 1993;13:322-56.
- Johnson AM, McDonald PJ, Neoh SH. Monoclonal antibodies to *Toxoplasma* cell membrane surface antigens protect mice from toxoplasmosis. *J Protozool.* 1983;30:351-6.
- Johnson JJ, Roberts CW, Pope C, Roberts F, Kirisits MJ, Estes R, Mui E, Krieger T, Brown CR, Forman J, McLeod R. In vitro correlates of Ld-restricted resistance to toxoplasmic encephalitis and their critical dependence on parasite strain. *J Immunol.* 2002;169:966-73.
- Johnson LL, Lanthier P, Hoffman J, Chen W. Vaccination protects B cell-deficient mice against an oral challenge with mildly virulent *Toxoplasma gondii*. *Vaccine.* 2004;22:4054-4061.
- Kahi S, Cozon GJ, Pinon JM, Greenland T, Wallon M, Al Kurdi M, Ferrandiz J, Peyron F. A switch towards Th2 during serological rebound in children with congenital toxoplasmosis. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:524-8.
- Kang H, Remington JS, Suzuki Y. Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN-gamma, TNF-alpha, and inducible nitric oxide synthase. *J Immunol.* 2000;164:2629-34.
- Lecolier B, Grynberg H, Freund M. Absence of relationship between *Toxoplasma gondii* antibodies and blood group in pregnant women in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1990;9:152-3.
- Lepout C, Chêne G, Morlat P, Luft BJ, Rousseau F, Pueyo S, Hafner R, Miro J, Aubertin J, Salamon R, Vilde JL. Pyrimethamine for primary prophylaxis of toxoplasmic encephalitis in patients with human immunodeficiency virus infection: a double-blind, randomized trial. ANRS 005-ACTG 154 Group Members. Agence Nationale de Recherche sur le SIDA. AIDS Clinical Trial Group. *J Infect Dis.* 1996;173:91-7.
- Lepout C, Franck J, Chêne G, Derouin F, Ecobichon JL, Pueyo S, Miro JM, Luft BJ, Morlat P, Dumon H. Immunoblot profile as predictor of toxoplasmic encephalitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8:579-84.
- Luft BJ, Hafner R, Korzun AH, Lepout C, Antoniskis D, Bosler EM, Bourland DD 3rd, Uttamchandani R, Fuhrer J, Jacobson J, Morlat P, Vilde JL, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med.* 1993;329:995-1000.
- Luft BJ, Naot Y, Araujo FG, Stinson EB, Remington JS. Primary and reactivated *Toxoplasma* infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. *Ann Intern Med.* 1983;99:27-31.
- Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin Infect Dis.* 1992;15:211-22.
- Mack DG, Johnson JJ, Roberts F, Roberts CW, Estes RG, David C, Grumet FC, McLeod R. HLA-class II genes modify outcome of *Toxoplasma gondii* infection. *Int J Parasitol.* 1999;29:1351-8.
- Marty P, Bongain A, Rahal A, Thulliez P, Wasfi D, Lambert JC, Le Fichoux Y, Gillet JY. Prenatal diagnosis of severe fetal toxoplasmosis as a result of toxoplasmic reactivation in an HIV-1 seropositive woman. *Prenat Diagn.* 1994;14:414-5.

- McLeod R, Dowel M. Basic immunology: the fetus and the newborn. In "Congenital toxoplasmosis", P. Ambrose-Thomas and E. Pedersen Ed., Springer-Verlag, Paris, 2000: 37-68.
- McLeod R, Beem MO, Estes RG. Lymphocyte anergy specific to *Toxoplasma gondii* antigens in a baby with congenital toxoplasmosis. J Clin Lab Immunol. 1985a;17:149-53.
- McLeod R, Estes RG. Role of lymphocyte blastogenesis to *Toxoplasma gondii* antigens in containment of chronic, latent *T. gondii* infection in humans. Clin Exp Immunol. 1985b;62:24-30.
- Meenken C, Rothova A, de Waal LP, van der Horst AR, Mesman BJ, Kijlstra A. HLA typing in congenital toxoplasmosis. Br J Ophthalmol. 1995;79:494-7.
- Mele A, Paterson PJ, Prentice HG, Leoni P, Kibbler CC. Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. Bone Marrow Transplant. 2002;29:691-8.
- Meyer L, Magierowska M, Hubert JB, Mayaux MJ, Misrahi M, Le Chenadec J, Debre P, Rouzioux C, Delfraissy JF, Theodorou I. CCR5 delta32 deletion and reduced risk of toxoplasmosis in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. The SEROCO-HEMOCO-SEROGEST Study Groups. J Infect Dis. 1999;180:920-924.
- Midtvedt T, Vaage L. Relationship between *Toxoplasma gondii* antibodies and blood group. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1989;8:575-6.
- Mordue DG, Monroy F, La Regina M, Dinarello CA, Sibley LD. Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. J Immunol. 2001;167:4574-84.
- Nigro G, Piazze J, Paesano R, Mango T, Provedi S, Capuano O, Pollastrini L. Low levels of natural killer cells in pregnant women transmitting *Toxoplasma gondii*. Prenat Diagn 1999;19:401-4.
- Pomeroy C, Filice GA, Hitt JA, Jordan MC. Cytomegalovirus-induced reactivation of *Toxoplasma gondii* pneumonia in mice: lung lymphocyte phenotypes and suppressor function. J Infect Dis. 1992;166:677-81.
- Reiter-Owona I, Bialek R, Rockstroh JK, Seitz HM. The probability of acquiring primary *Toxoplasma* infection in HIV-infected patients: results of an 8-year retrospective study. Infection. 1998;26:20-5.
- Roberts F, McLeod R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. Parasitol Today. 1999;15:51-7.
- Sayles PC, Gibson GW, Johnson LL. B cells are essential for vaccination-induced resistance to virulent *Toxoplasma gondii*. Infect Immun. 2000;68:1026-1033.
- Speirs GE, Hakim M, Calne RY, Wreghitt TG. Relative risk of donor acquired *Toxoplasma gondii* in heart, liver and kidney transplant recipients. Clin transpl. 1988;2:257-260.
- Suzuki Y, Joh K, Orellana MA, Conley FK, Remington JS. A gene(s) within the H-2D region determines the development of toxoplasmic encephalitis in mice. Immunology. 1991;74:732-9.
- Suzuki Y, Joh K, Kwon OC, Conley FK, Remington JS. MHC class I gene(s) in the D/L region but not the TNF-alpha gene determines development of toxoplasmic encephalitis in mice. J Immunol. 1994;153:46-49.
- Suzuki Y, Wong SY, Grumet FC, Fessel J, Montoya JG, Zolopa AR, Portmore A, Schumacher-Perdreau F, Schrappe M, Koppen S, Ruf B, Brown BW, Remington JS. Evidence for genetic regulation of susceptibility to toxoplasmic encephalitis in AIDS patients. J Infect Dis. 1996;173:265-8.
- Suzuki Y. Genes, cells and cytokines in resistance against development of toxoplasmic encephalitis. Immunobiology. 1999;201:255-71.
- Suzuki Y. Host resistance in the brain against *Toxoplasma gondii*. J Infect Dis. 2002;185:58-65.
- Velge-Roussel F, Dimier-Poisson I, Buzoni-Gatel D, Bout D. Anti-SAG1 peptide antibodies inhibit the penetration of *Toxoplasma gondii* tachyzoites into enterocyte cell lines. Parasitology. 2001;123:225-33.
- Wreghitt TG, Hakim M, Gray JJ, Balfour AH, Stovin PG, Stewart S, Scott J, English TA, Wallwork J. Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. J Clin Pathol. 1989;42:194-9.
- Yamamoto JH, Vallochi AL, Silveira C, Filho JK, Nussenblatt RB, Cunha-Neto E, Gazzinelli RT, Belfort R, Rizzo LV. Discrimination between patients with acquired and congenital toxoplasmosis on the basis of immune response to parasite antigens. J Infect Dis. 2000;181:2018-22.

Question 8 : que sait-on de la physiopathologie de la toxoplasmose chez l'homme (immunocompétent, immunodéprimé) et chez l'animal ?

Responsable de la question : M. Derouin

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Candolfi

Après une contamination par voie orale, la paroi des kystes ou des oocystes est lysée dans l'intestin. Les parasites libérés pénètrent dans les cellules de la muqueuse intestinale où ils se multiplient. Les tachyzoïtes issus de cette multiplication diffusent rapidement dans la circulation sanguine et sont capables d'infecter tout type de cellule nucléée. Par leur capacité d'invasion, de réplication et de lyse cellulaire (Black, 2000), les tachyzoïtes sont responsables de l'essentiel de la pathologie de la toxoplasmose.

Faisant suite à cette dissémination hématogène et lymphatique, les parasites s'enkystent dans les tissus et en particulier les muscles striés et le cerveau (Remington, 1965). Les premiers kystes se forment dès 5 à 6 jours après l'infection (Dubey, 1998). Les formes parasitaires intrakystiques se multiplient plus lentement (bradyzoïtes), sans entraîner la lyse de la cellule hôte. Ces kystes persistent indéfiniment chez l'hôte sans provoquer de dommages tissulaires. Leur réactivation est cependant possible, conduisant à la libération des bradyzoïtes puis à la reprise évolutive d'une multiplication parasitaire sous forme de tachyzoïtes. Les mécanismes conduisant à la transformation tachyzoïte/bradyzoïte et à la réactivation des kystes sont très mal connus (Dubey, 1998 ; Frenkel, 1987). Deux hypothèses sont proposées : l'une considère que la rupture des kystes survient spontanément dans les tissus au cours de l'infection et que l'immunité acquise (humorale et cellulaire) permet de limiter toute extension de l'infection ; l'autre privilégie le rôle d'un ou plusieurs facteurs déclenchant la réactivation des bradyzoïtes liés à l'immunodépression, mais sans qu'aucun n'ait été précisément identifié.

L'infection toxoplasmique génère une réponse humorale et cellulaire intense (cf. Question 7), permettant le contrôle de la phase initiale de dissémination parasitaire ou des réactivations kystiques et le maintien d'une immunité protégeant de la réinfection. Cette immunité protectrice ne semble pas totale car des cas d'infections mixtes par des souches de génotypes différents semblent possibles (Aspinall, 2003) et des réinfections expérimentales ont été décrites avec des souches différentes de la souche infectante initiale (Dao, 2002). Plusieurs études expérimentales montrent que la réponse immunitaire peut, à côté de ses aspects bénéfiques, être directement responsable de manifestations pathologiques (Mordue, 2001). Cette composante immunopathologique est particulièrement importante dans les manifestations digestives de la toxoplasmose chez l'animal et dans la toxoplasmose oculaire (Lissensfeld, 1996 ; Suzuki, 2000 ; Lu, 2003 ; Kasper, 2004).

Nous résumerons successivement les connaissances actuelles sur les aspects pathologiques et immunopathologiques de la toxoplasmose aux différents stades de l'infection ou dans ses diverses localisations.

1. Contamination par voie orale et atteinte digestive

Cette phase est asymptomatique chez l'homme alors qu'elle peut s'associer à une symptomatologie digestive chez l'animal (cf. Question 4). Chez le chat, cela peut être relié à la multiplication parasitaire asexuée et sexuée au niveau de l'épithélium du grêle. Chez la souris infectée expérimentalement par voie orale, on peut observer une nécrose de l'intestin grêle, à partir du 5^{ème} jour de l'infection. La gravité de l'atteinte digestive est dépendante de la susceptibilité génétique de la souris (Balb/c résistantes, C57Bl/6 sensibles), du stade

parasitaire et de la souche infectante (Kobayashi, 1999) ; elle a pu être directement reliée à la production d'IFN- γ et d'IL-12 (Liesensfeld, 1996 ; Kobayashi, 1999 ; Vossenkamper, 2004) et à la protéine SAG1 du toxoplasme (Rachinel, 2004). L'IL10, en modulant la production d'IFN- γ , permet de limiter la nécrose digestive (Suzuki, 2000).

2. Diffusion lymphatique et sanguine. Adénopathies

Après la contamination digestive, le parasite diffuse rapidement par voie sanguine et lymphatique ; la durée de la parasitémie est mal connue chez l'homme. Par PCR ou par subinoculation du sang à la souris, il est possible d'identifier le parasite ou l'ADN parasitaire plusieurs semaines après la contamination (Guy, 1995). La parasitémie peut être plus prolongée dans les formes sévères de toxoplasmoses dues à des souches atypiques (Carme, 2002). La diffusion par voie lymphatique conduit à une hyperplasie des plaques de Peyer puis secondairement à des hyperplasies lymphatiques diffuses (Derouin, 1991 ; Sumyuen, 1995). Chez l'homme, la lymphadénite toxoplasmique se présente comme une hyperplasie folliculaire avec de larges centres germinatifs contenant de nombreux immunoblastes et des macrophages mais les parasites n'y sont qu'exceptionnellement retrouvés (Huerre, 1996 ; Diebold, 1988).

Chez les patients immunodéprimés présentant une réactivation d'une infection acquise, la parasitémie est très fréquente en cas de localisation multiviscérale et plus rare en cas de toxoplasmose cérébrale (Derouin, 1992 ; Lamoril, 1996 ; Menotti, 2003).

3. Diffusion tissulaire

La diffusion hématogène et lymphatique conduit à une dissémination des tachyzoïtes dans les tissus. Expérimentalement, à la suite d'une infection par voie orale chez la souris Swiss, on observe une augmentation de la charge parasitaire dans les poumons, le foie, la rate et le cerveau (Sumyuen, 1995 ; Derouin, 1991 ; Mordue, 2000). Avec des souches de type I ou un fort inoculum d'une souche de type II, ceci conduit à la mort des souris avec d'importantes lésions pulmonaires ou hépatiques (Mordue, 2000). Avec un inoculum plus faible de souche de type II, on observe une régulation des charges en tachyzoïtes puis la formation de kystes dans le cerveau (Derouin, 1991).

Chez l'homme, la cinétique de l'infection tissulaire à la suite d'une infection est mal connue. Cependant, quelques cas de toxoplasmoses primitives sévères (Carme, 2002) ainsi que l'observation d'une transmission accidentelle de toxoplasmose par des greffes d'organe montrent qu'il existe bien une phase de dissémination tissulaire précoce avec une contamination parasitaire des poumons, du foie, des reins. Les kystes persistent préférentiellement dans certains organes : cerveau, muscles squelettiques, myocarde (Remington, 1965). Des kystes pourraient se former dans n'importe quel organe, mais ne persisteraient que dans les organes possédant des cellules à longue durée de vie, ou moins exposées à la réponse immune (cerveau, œil).

4. Encéphalite toxoplasmique

Elle résulte rarement d'une dissémination hématogène faisant directement suite à une primo-infection mais plutôt d'une réactivation d'une infection acquise antérieurement (y compris pendant la vie fœtale). Deux hypothèses physiopathologiques peuvent être envisagées : *i*) la réactivation d'un kyste est uniquement cérébrale, conduisant à des formes cliniques localisées ; *ii*) la réactivation d'un ou plusieurs kystes extra cérébraux, suivie d'une parasitémie puis de localisations cérébrales (Falangola, 1993 ; Derouin, 1993). Cette dernière hypothèse permet de mieux expliquer les localisations cérébrales multiples (voire multiviscérales) observées simultanément chez les malades immunodéprimés. Histologiquement, les lésions d'encéphalite sont constituées de larges zones de nécrose bordées par une réaction gliale importante. Les trophozoïtes et les kystes sont présents en grand nombre, en bordure des zones de nécrose (Huerre, 1996).

5. Œil

La rétinochoroïdite toxoplasmique est le plus souvent le résultat d'une réactivation kystique locale, au niveau de la rétine, que ces kystes proviennent d'une toxoplasmose congénitale (cas le plus fréquent) ou d'une toxoplasmose acquise. Plus rarement, elle résulte d'une localisation secondaire à une dissémination hématogène d'une réactivation extra-oculaire (cérébrale notamment) (Kuo, 1999). Histologiquement, les lésions sont constituées de zones de nécrose, entourées par une réaction inflammatoire intense. En dehors des lésions directement liées au parasite, une hypersensibilité à l'antigène toxoplasmique serait responsable des lésions secondaires d'uvéite ou de vascularite. Des auto-anticorps dirigés contre des antigènes rétinien peuvent être présents mais sans preuve de leur responsabilité dans la pathogénie de la toxoplasmose oculaire (Roberts, 1999). Le rôle de certaines cytokines (IFN- γ , IL-10, TGF- β) dans la composante inflammatoire de la toxoplasmose oculaire est également fortement suspecté (Lu, 2003).

6. Placenta et fœtus

L'infection placentaire et fœtale est la conséquence directe de la parasitémie observée lors de l'infection toxoplasmique de la mère, ou exceptionnellement lors d'une réactivation d'une toxoplasmose ancienne chez un sujet immunodéprimé (Marty, 1994 ; Anonyme, 1996). Expérimentalement, l'infection placentaire se caractérise par une invasion du trophoblaste et une induction d'apoptose touchant essentiellement les cellules non infectées, les cellules infectées étant plutôt protégées de l'apoptose ; cependant, le mécanisme et la cinétique de la transmission materno-fœtale reste encore mal connus (Abbasi, 2003 ; Ferro, 2002).

Le placenta pourrait retarder la transmission parasitaire de la mère au fœtus (Ferro, 2002) ce qui semble confirmer l'expérience du diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale chez l'homme, car un délai de plusieurs semaines après la séroconversion maternelle est nécessaire pour mettre en évidence le parasite dans le sang fœtal ou le liquide amniotique.

Aussi bien chez l'homme que chez l'animal, l'infection fœtale est disséminée, associant une parasitémie et une atteinte multiviscérale (Frenkel, 2000 ; Remington, 1995 ; Fiori 2003) touchant principalement foie, cerveau, œil, poumon, rate, cœur ; le parasite est également retrouvé dans le liquide amniotique, ce qui est à la base du diagnostic anténatal (cf. Question 2). Histologiquement, les lésions dues à la prolifération des tachyzoïtes conduisent à la constitution de foyers nécrotiques et inflammatoires amplifiés par des lésions thrombotiques. Les kystes intacts sont observés dans le cerveau, la rétine, les muscles striés, mais sans lésion inflammatoire. Des foyers inflammatoires et nécrotiques sont par contre abondants autour des kystes rompus. L'atteinte cérébrale peut comporter une nécrose périventriculaire ou entourant l'aqueduc de Sylvius, associant vascularite, thromboses et calcifications. Ces lésions sont secondairement responsables d'hydrocéphalie par obstruction de l'aqueduc de Sylvius (Frenkel, 2000 ; Remington, 1995).

Références bibliographiques

- Abbasi M, Kowalewska-Grochowska K, Bahar MA, Kilani RT, Winkler-Lowen B, Guilbert LJ. Infection of placental trophoblasts by *Toxoplasma gondii*. J Infect Dis. 2003;188:608-16.
- Aspinall TV, Guy EC, Roberts KE, Joynton DH, Hyde JE, Sims PF. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. Int J Parasitol. 2003;33:97-103.
- Anonyme. Low incidence of congenital toxoplasmosis in children born to women infected with human immunodeficiency virus. European Collaborative Study and Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1996;68:93-6.
- Black MW, Boothroyd JC. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiol Mol Biol Rev. 2000;64:607-23.
- Carne B, Bissuel F, Aizenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, Bichat S, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Darde ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J Clin Microbiol. 2002;40:4037-44.
- Dao A, Fortier B, Soete M, Plenat F, Dubremetz JF. Successful reinfection of chronically infected mice by a different *Toxoplasma gondii* genotype. Int J Parasitol. 2001;31:63-5.
- Derouin F, Garin YJ. *Toxoplasma gondii*: blood and tissue kinetics during acute and chronic infections in mice. Exp Parasitol. 1991;73:460-8.

- Derouin F, Garin YJF. Isolement de *Toxoplasma gondii* par culture cellulaire chez les patients infectés par le VIH. Presse Méd. 1992;21:1853-1858.
- Diebold J, Audouin J, Letourneau A, Caulet S. La lymphadénite toxoplasmique. Différents aspects histopathologiques. Revue Française des Laboratoires. 1988;178: 83-89.
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev. 1998;11:267-299.
- Falangola MF, Petito CK. Choroid plexus infection in cerebral toxoplasmosis in AIDS patients. Neurology. 1993;43:2035-40.
- Ferro EA, Silva DA, Bevilacqua E, Mineo JR. Effect of *Toxoplasma gondii* infection kinetics on trophoblast cell population in *Calomys callosus*, a model of congenital toxoplasmosis. Infect Immun. 2002;70:7089-94.
- Flori P, Hafid J, Thonier V, Belleste B, Raberin H, Tran Manh Sung R. Parasite load in guinea pig fetus with real time PCR after maternofetal transmission of *Toxoplasma gondii*. Parasite. 2003;10:133-40.
- Frenkel JK. Biology of *Toxoplasma gondii*. In "Congenital toxoplasmosis", P. Ambroise-Thomas and E. Pedersen Ed., Springer-Verlag, Paris, 2000:9-25.
- Frenkel JK, Escajadillo A. Cyst rupture as a pathogenic mechanism of toxoplasmic encephalitis. Am J trop Med Hyg. 1987;36:517-522.
- Guy EC, Joynson DH. Potential of the polymerase chain reaction in the diagnosis of active *Toxoplasma* infection by detection of parasite in blood. J Infect Dis. 1995;172:319-22.
- Holland GN. Reconsidering the pathogenesis of ocular toxoplasmosis. Am J Ophthalmol. 1999;128:502-505.
- Huerre MR, Piens MA. Histopathologie des protozoaires. Arch Anat Cytol Path. 1996;44: 209-224.
- Kasper L, Courret N, Darche S, Luangsay S, Mennechet F, Minns L, Rachinel N, Ronet C, Buzoni-Gatel D. *Toxoplasma gondii* and mucosal immunity. Int J Parasitol. 2004;34:401-9.
- Kobayashi M, Aosai F, Hata H, Mun HS, Tagawa Y, Iwakura Y, Yano A. *Toxoplasma gondii*: difference of invasion into tissue of digestive organs between susceptible and resistant strain and influence of IFN-gamma in mice inoculated with the cysts perorally. J Parasitol. 1999;85:973-5.
- Kuo I, Rao NA. Ocular disease in AIDS. Springer Semin Immunopathol. 1999;21:161-77.
- Lamoril J, Molina JM, de Gouvello A, Garin YJ, Deybach JC, Modai J, Derouin F. Detection by PCR of *Toxoplasma gondii* in blood in the diagnosis of cerebral toxoplasmosis in patients with AIDS. J Clin Pathol. 1996;49:89-92.
- Liesenfeld O, Kosek J, Remington JS, Suzuki Y. Association of CD4+ T cell-dependent, interferon-gamma-mediated necrosis of the small intestine with genetic susceptibility of mice to peroral infection with *Toxoplasma gondii*. J Exp Med. 1996;184:597-607.
- Lu F, Juang S, Kasper LH. Interleukin 10 and pathogenesis of ocular toxoplasmosis. Infect Immun. 2003;71:7159-7163.
- Marty P, Bongain A, Rahal A, Thulliez P, Wasfi D, Lambert JC, Le Fichoux Y, Gillet JY. Prenatal diagnosis of severe fetal toxoplasmosis as a result of toxoplasmic reactivation in an HIV-1 seropositive woman. Prenat Diagn. 1994;14:414-5.
- Menotti J, Vilela G, Romand S, Garin YJ, Ades L, Gluckman E, Derouin F, Ribaud P. Comparison of PCR-enzyme-linked immunosorbent assay and real-time PCR assay for diagnosis of an unusual case of cerebral toxoplasmosis in a stem cell transplant recipient. J Clin Microbiol. 2003;41:5313-6.
- Mordue DG, Monroy F, La Regina M, Dinarello CA, Sibley LD. Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. J Immunol. 2001 15;167:4574-84.
- Rachinel N, Buzoni-Gatel D, Dutta C, Mennechet FJD, Luangsay S, Minns LA, Grigg ME, Tomavo S, Boothroyd JC, Kasper LH. The induction of acute ileitis by a single microbial antigen of *Toxoplasma gondii*. J Immunol. 2004;173:2725-2735.
- Remington JS, Cavanaugh EN. Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. N Engl J Med. 1965;273:1308-10.
- Remington JS, Desmonts G. Toxoplasmosis In : Remington J.S., Klein J.P. "Infectious diseases of the fetus and newborn infant". Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 4th ed, 1995, pp 140-267.
- Roberts F, McLeod R. Pathogenesis of toxoplasmosis retinochoroiditis. Parasitol Today. 1999;15:51-57.
- Sumyuen MH, Garin YJ, Derouin F. Early kinetics of *Toxoplasma gondii* infection in mice infected orally with cysts of an avirulent strain. J Parasitol. 1995;81:327-9
- Suzuki Y, Sher A, Yap G, Park D, Neyer LE, Liesenfeld O, Fort M, Kang H, Gufwoli. IL-10 is required for prevention of necrosis in the small intestine and mortality in both genetically resistant BALB/c and susceptible C57BL/6 mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. J Immunol. 2000 15;164:5375-82.
- Vossenkamper A, Struck D, Alvarado-Esquivel C, Went T, Takeda K, Akira S, Pfeffer K, Alber G, Lochner M, Forster I, Liesenfeld O. Both IL-12 and IL-18 contribute to small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii*, but IL-12 is dominant over IL-18 in parasite control. Eur J Immunol. 2004;34:3197-207.

Section D : épidémiologie humaine

Résumé de la section D

La toxoplasmose est une parasitose cosmopolite, avec une séroprévalence variable d'un pays à l'autre (de 7 à 80 %) et parfois à l'intérieur d'un même pays. Les prévalences inférieures à 30 % s'observent principalement en Amérique du Nord, en Grande-Bretagne, en Scandinavie et en Asie du Sud-Est. Les prévalences supérieures à 60 % s'observent principalement en Afrique et en Amérique Latine. En France la séroprévalence a longtemps été élevée (82% en 1960, 66% en 1982), mais elle a diminué régulièrement depuis 40 ans pour atteindre 54% en 1995 et 44% en 2003, avec des variations régionales encore mal expliquées. Les conditions climatiques, mais aussi d'autres facteurs de risques, liés aux modes de vie et à l'alimentation ont été évoqués pour expliquer ces différences de prévalence entre les pays.

Plusieurs études épidémiologiques ont permis d'identifier les principaux facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose. Elles concordent sur l'existence d'un risque lié au manque d'hygiène des mains, la consommation de viande mal cuite et la consommation de crudités mal lavées. En revanche, bien que le risque lié à la manipulation de la litière soit bien identifié, la possession d'un chat n'a pas été considérée comme un facteur de risque dans plusieurs études. L'origine alimentaire est également retrouvée dans la majorité des épisodes de cas groupés de toxoplasmose avec une origine de contamination commune ; la viande crue est l'aliment le plus souvent en cause. Malgré ces informations concordantes sur le risque lié à l'alimentation, la part respective des différents types d'aliments, ou de l'environnement, dans la contamination humaine ne peut pas actuellement être précisée.

Il est également à noter qu'une épidémie attribuée à l'eau de distribution est survenue au Canada en 1994/95, responsable d'un nombre de cas estimé à 5000.

L'incidence de la toxoplasmose dans la population générale est difficile à évaluer car l'infection est le plus souvent asymptomatique. En France, le nombre annuel de nouvelles infections, estimé par modélisation en se basant sur des données de prévalence de l'enquête Périnatalité 1995, est compris entre 200 000 et 300 000 cas avec environ 30 000 à 45 000 cas symptomatiques. Des données plus précises ont pu être obtenues chez les patients immunodéprimés (SIDA) qui présentent des formes cliniques sévères, faisant l'objet d'une notification. Le nombre de cas déclarés de toxoplasmose inaugurale chez les patients SIDA est environ de 200 par an, après avoir sensiblement diminué entre 1992 (800 cas) et 1997 (250 cas).

Les données d'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse proviennent toutes des données de surveillances sérologiques systématiques. L'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte séronégative a fortement baissé entre 1960 (environ 40 cas/1000 femmes séronégatives) et 1995 (entre 5,4 et 13,2 cas/1000 femmes séronégatives). La séroprévalence ayant diminué notablement pendant la même période, le nombre de femmes séronégatives a augmenté et le nombre d'infections rapporté à l'ensemble des grossesses reste situé entre 2,4 et 5,8 cas/1000 grossesses en 1995.

Par une approche complémentaire (relevé du nombre des amniocentèses réalisées pour une infection maternelle en cours de grossesse) le nombre de séroconversions chez les femmes enceintes a été estimé à 2700 pour l'année 2000. En tenant compte, d'une part des résultats des amniocentèses, et d'autre part du risque de transmission materno-fœtale (29%), le nombre d'enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale a été estimé à 600 cas environ. En se référant aux données d'études de cohortes d'enfants infectés, il a été estimé que sur ces 600 cas, 174 enfants auraient des séquelles dont 11 une hydrocéphalie et 145 une rétinocoroïdite.

Question 9 : quelles sont les différentes sources et modalités d'infection de l'homme ?

Responsable de la question : M. Thulliez
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

L'ingestion du parasite est le mode essentiel de l'infection humaine ; chez une femme enceinte non immunisée elle peut aboutir à une infection du fœtus (Figure 5). Les autres modes d'infection, greffe d'organes, transfusion sanguine et accidents de laboratoire, sont rares et n'ont pas d'incidence épidémiologique notable.

1. Infection par ingestion

Bien que les 3 stades parasitaires puissent être concernés, le rôle des tachyzoïtes semble anecdotique : ils n'ont été retenus comme source d'infection que dans une observation, à partir de lait de chèvre non pasteurisé (Skinner, 1990). Les 2 autres stades du toxoplasme représentent donc l'origine de la quasi-totalité des infections humaines post-natales :

- kystes tissulaires éventuellement présents dans des produits carnés de mammifères et d'oiseaux infectés,
- oocystes provenant du milieu tellurique contaminé, et ingérés, après un contact avec la terre, ou avec des denrées alimentaires d'origine végétale ou de l'eau.

Depuis la première démonstration de la transmission de l'infection par de la viande de mouton peu cuite (Desmonts, 1965) divers travaux ont tenté de préciser les sources et les modalités de l'infection humaine par voie orale. Il s'agit principalement de la mise en évidence de facteurs de risque (cf. Question 13) et de l'analyse d'épidémies et de cas groupés (cf. Question 14).

De façon plus indirecte, les études portant sur la présence du toxoplasme chez les animaux, dans les denrées alimentaires et l'environnement ont contribué à l'identification de sources potentielles d'infection. Selon leur sujet, elles peuvent être ainsi regroupées :

1) Mise en évidence du parasite :

- chez les animaux destinés à la consommation habituelle ou occasionnelle (cf. Question 18 et Question 19),
- dans les denrées alimentaires carnées (cf. Question 22),
- dans le sol, les eaux et les denrées alimentaires d'origine végétale (cf. Question 21 et Question 22).

2) Séroprévalence de l'infection chez les animaux destinés à la consommation (cf. Question 18 et Question 19),

2) Infections animales expérimentales (cf. Question 18) et études de survie des oocystes dans les denrées alimentaires et l'environnement (cf. Question 21 et Question 26 à Question 28).

La méthodologie utilisée diffère beaucoup d'une étude à l'autre et leur niveau de preuve est par conséquent très variable. En outre, l'origine géographique de certains travaux, en particulier ceux portant sur les facteurs de risque, ne permet pas d'utiliser leurs résultats pour des régions au contexte épidémiologique différent. Si un faisceau d'arguments permet souvent de désigner l'alimentation carnée comme étant l'origine la plus probable de la plupart des infections humaines en France, le nombre insuffisant d'études récentes, le manque de sensibilité de la détection du parasite dans les denrées alimentaires et l'environnement, voire la méconnaissance possible d'une autre source d'infection, empêche

actuellement de préciser la part respective des différentes modalités d'infection par ingestion du toxoplasme.

2. Transmission *in utero*

L'infection congénitale résulte de la transmission transplacentaire d'une parasitémie maternelle (tachyzoïtes) liée presque exclusivement à une infection de la mère survenue en cours de grossesse (Remington, 2001).

Le risque de transmission vertical croît régulièrement avec l'âge gestationnel auquel survient l'infection maternelle ; il est de 6 % à 13 semaines, 40 % à 26 semaines et 72 % à 36 semaines (Dunn, 1999).

De rares cas d'infections congénitales consécutives à des infections maternelles antérieures à la grossesse ont été décrits. Certains sont liés, chez des patientes immunodéprimées, à une réactivation de la parasitose à partir de kystes intra-tissulaires (Remington, 2001) mais d'autres ont été rapportés en dehors de toute pathologie associée : il s'agissait d'infections acquises quelques mois avant la conception (Chemla, 2002).

Enfin, il est probable qu'une réinfection maternelle par ingestion d'oocystes en cours de grossesse puisse exceptionnellement être à l'origine d'une transmission verticale de l'infection (Gavinet, 1997).

3. Greffe d'organe et transfusion

Des toxoplasmes enkystés dans un greffon provenant d'un donneur immun peuvent être à l'origine d'une primo-infection chez un receveur non immunisé. Les organes transplantés à risque d'infection sont par ordre de fréquence décroissante, le cœur ou le cœur-poumon, le foie et le rein (Chiquet, 2000 ; Giordano, 2002 ; Wreghitt, 1989 ; Speirs, 1988).

Les infections transmises par transfusion de produits sanguins qui contiendraient des tachyzoïtes ont été rapportées mais sont exceptionnelles du fait de la brièveté de la parasitémie chez tout sujet récemment infecté (Beauvais, 1976 ; Nelson, 1989). C'est probablement pour la même raison qu'aucun cas de transmission par greffe de moelle n'a été décrit.

4. Contamination de laboratoire

Une cinquantaine de cas d'infection liés à des accidents de laboratoire est recensée, soit par ingestion d'oocystes, soit par inoculation de tachyzoïtes ou leur transmission à travers la conjonctive (Herwaldt, 2001).

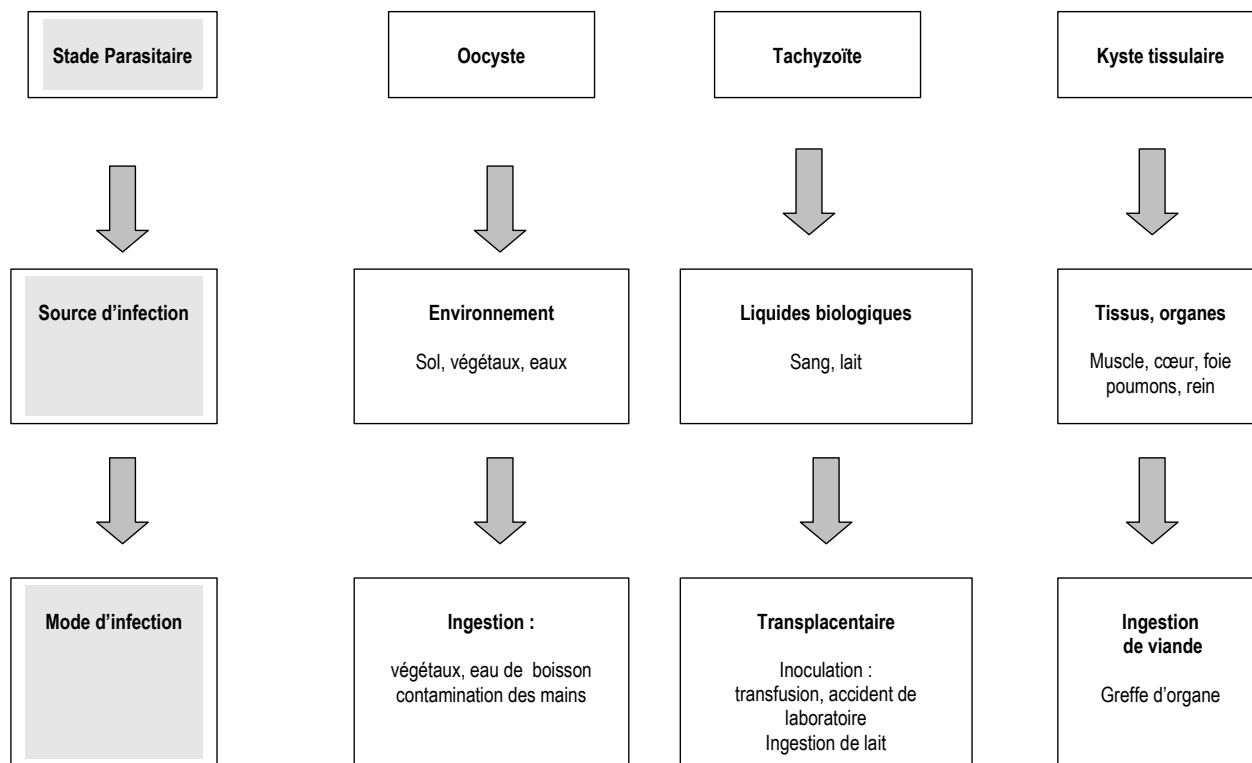


Figure 5 : Sources et modes de l'infection humaine à toxoplasmes

(d'après Evans, 1992)

Références bibliographiques

- Beauvais B, Garin JF, Lariviere M, Languillat G, Galal H. Toxoplasmose et transfusion. *Ann Parasitol Hum Comp.* 1976;51:625-35
- Chemla C, Villena I, Aubert D, Hornoy P, Dupouy D, Leroux B, Bory JP, Pinon JM. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9: 489-90.
- Chiquet C, Fleury J, Blanc-Jouvan M, Wallon M, Boibieux A. Toxoplasmose oculaire acquise (panuvéïte) après transplantation hépatique. *J Fr Ophthalmol.* 2000;23:375-9.
- Desmonts G, Couvreur J, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J, Lelong M. Etude épidémiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine. *Rev Fr Etudes Clin Biol.* 1965;10: 952-58.
- Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet.* 1999;353:1829-33.
- Evans R. Life cycle and animal infection. In: Human toxoplasmosis. Ho-Yen DO, Joss AWL, eds. Oxford. Oxford University. 1992: 26-55.
- Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin R, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1276-7.
- Giordano LF, Lasmar EP, Tavora ER, Lasmar MF. Toxoplasmosi s transmitted via kidney allograft: case report and review. *Transplant Proc.* 2002;34:498-9.
- Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:659-88.
- Nelson JC, Kauffmann DJ, Ciavarella D, Senis WJ. Acquired toxoplasmic retinochoroiditis after platelet transfusions. *Ann Ophthalmol.* 1989;21:253-4
- Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* Philadelphia, WB Saunders, 2001:205-346.
- Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JM, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scand J Infect Dis.* 1990;22:359-61.
- Speirs GE, Hakim M, Calne RY, Wreghitt TG. Relative risk of donor-transmitted *Toxoplasma gondii* infection in heart, liver and kidney transplant recipients. *Clin Transplantation.* 1988;2:257-60.
- Wreghitt TG, Hakim M, Gray JJ, Balfour AH, Stovin PG, Stewart S, Scott J, English TA, Wallwork J. Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. *J Clin Pathol.* 1989;42:194-9.

Question 10 : quelle est la séroprévalence de la toxoplasmose dans le monde (hors France) ?

Responsable de la question : M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

La persistance pendant toute la vie de l'hôte d'une production d'IgG spécifiques après l'infection permet, en mesurant la séroprévalence, d'évaluer le degré d'exposition à la toxoplasmose dans une population donnée.

Les résultats des principales études publiées au cours des 10 dernières années sont résumés dans le Tableau 14. Le classement est présenté par pays, mais dans la plupart des cas la prévalence concerne une population et une région limitées ; elle n'est donc pas représentative d'une situation nationale.

La comparaison des études entre elles peut être difficile pour plusieurs raisons :

- les taux de séroprévalence ne sont que rarement ajustés sur l'âge des sujets testés,
- une grande variété de tests sérologiques est utilisée, même dans le groupe des méthodes immunoenzymatiques (ELISA) qui sont les plus courantes,
- le titre d'anticorps considéré comme seuil de spécificité varie selon les techniques et les réactifs.

D'une façon générale on peut considérer que les séroprévalences observées sont inférieures à la prévalence réelle de la toxoplasmose ; de nombreux réactifs en effet manquent de sensibilité pour détecter des taux faibles d'anticorps qui témoignent pourtant d'une infection préalable.

Une seule étude a réellement permis de comparer les prévalences dans des pays différents en excluant les biais d'interprétation liés à la sérologie (Remington, 1995). Deux cents femmes en âge d'être enceintes ont été prélevées en 1985 dans 4 villes européennes; les 800 sérums ont été étudiés avec une même technique sérologique (le dye test) réalisée dans un même laboratoire. Les séroprévalences étaient les suivantes : 21 % à Londres, 36 % à Stuttgart, 56 % à Padoue et 72 % à Paris.

Bien qu'étant non exhaustives les données du Tableau 14 illustrent l'extension de la parasitose et sa fréquence souvent élevée ; leur comparaison, malgré les limites méthodologiques déjà énoncées, montre des différences importantes entre pays, et parfois à l'intérieur d'un même pays (Allemagne, Etats-Unis, Inde).

En Europe la prévalence est de 30 et 50 % dans la majorité des pays du centre et de l'ouest ; elle devient inférieure à 30 % dans le nord (pays scandinaves) et en Grande-Bretagne. Des prévalences faibles sont également notées en Amérique du Nord, en Asie du Sud-Est et dans quelques pays africains (Niger, Afrique du Sud).

Les prévalences les plus fortes (> 60 %) s'observent principalement parmi les pays bordant le golfe de Guinée et en Amérique latine.

Tableau 14 : Données de prévalence de la toxoplasmose

Pays	Population étudiée	Années d'étude	Taille de la population	Méthode sérologique	Séroprévalence (%)	Référence
Europe						
Royaume Uni - Eastern	femmes enceintes	92	13 328	ELISA	8,1	Allain, 1998
Royaume Uni - Sheffield	femmes enceintes	89-92	1 621	LAT	9,9	Zadik, 1995
Norvège	femmes enceintes	92-93	35 940	ELISA	10,9	Jenum, 1998
Suède	nouveau-nés	97-98	40 978	ELISA	18	Petersson, 2000
Finlande	femmes enceintes	88-89	16 733	ELISA	20,3	Lappalainen, 1992
Danemark	femmes enceintes	92-96	89 873	ELISA	27,8	Lebech, 1999
Espagne - sud	femmes enceintes	91-93	6 454	ELISA	30	Gutierrez, 1996
Espagne - Barcelone	femmes enceintes	95-98	3 547	nd	39,5	Munoz, 2000
Pays Bas	femmes enceintes	99	500	ELISA	31	Vlaspolder, 2001
Slovénie	femmes enceintes	96-99	21 270	IFA	34	Logar, 2002
République Tchèque	femmes 16-54 ans	84-86	3 392	DT	35	Hejlícek, 1999
Grèce	femmes enceintes	< 96	914	nd	37	Lolis, 1996
Italie - Naples	femmes enceintes	91-94	3 518	ELISA	40	Buffolano, 1996
Italie - Parme	adulte	87-91	19 432	ELISA	48,5	Valcavi, 1995
Roumanie	femmes enceintes	88-95	11 170	IFA,DAT	41,5	Petersen, 2001
Allemagne - Würzburg	femmes enceintes	89-90	2 104	DAT	41,6	Roos, 1993
Allemagne - Mecklenburg	générale	94-96	4 854	ELISA	59	Fiedler, 1999
Autriche	femmes enceintes	97	4 601	plusieurs	42	Moese, 1998
Pologne	nouveau-nés	98-00	2 656	DAT	43,7	Paul, 2001
Suisse	femmes enceintes	90-91	9 059	ELISA	46,1	Jacquier, 1995
Belgique	femmes enceintes	90	784	ELISA	50	Luyasu, 1997
France	femmes enceintes	95	13 459	plusieurs	54,3	Ancelle, 1996
Hongrie	femmes enceintes	94	2 227	CFT	69	Szenasi, 1997
Yougoslavie	femmes 15-45 ans	88-91	1 157	DT	77,4	Bobic, 1998

Pays	Population étudiée	Années d'étude	Taille de la population	Méthode sérologique	Séroprévalence (%)	Référence
Amériques						
USA	générale, >= 12 ans	88-94	17 658	ELISA	22,5	Jones, 2001
- ouest			4 034		17,5	
- sud			7 831		22,8	
- midwest			3 527		20,5	
- nord est			2 266		29,2	
Chili	générale	82-94	76 317	IHA	36,9	Contreras, 1996
Jamaïque	femmes enceintes	86	1 604	ELISA	57	Prabhakar, 1991
Argentine	femmes enceintes	92-94	3 049	IFA	58,9	Fuente, 1997
Brésil	femmes enceintes	2000	1 261	ELISA	59,8	Varella, 2003
Venezuela	générale	< 03	94	IHA	63	Diaz-Suarez, 2003
Colombie	femmes enceintes	91-92	937	IFA	67	Gomez-Marin, 1997
Mexique	générale	< 98	100	ELISA	69	Gongora-Biachi, 1998
Cuba	femmes enceintes	90-91	5 537	ELISA	70,9	Gonzalez-Morales, 1995
Costa Rica	générale	< 96	1 234	IFA	76	Arias, 1996

Pays	Population étudiée	Années d'étude	Taille de la population	Méthode sérologique	Séroprévalence (%)	Référence
Afrique						
Niger	générale	92	371	IFA	18	Julvez, 1996
Afrique du Sud	générale	< 97	10 228	nd	21	Joubert, 1997
Tanzanie	femmes enceintes	89-91	849	DT	35	Doehring, 1995
Sénégal	femmes enceintes	93	353	ELISA	40,2	Faye, 1998
Egypte	femmes enceintes	< 96	150	IHA	43	El-Nawawy, 1996
Libye	femmes enceintes	< 91	369	IHA	47,4	Kassem, 1991
Rép. Centrafricaine	générale	96-98	1 953	ELISA	50,6	Morvan, 1999
Bénin	femmes enceintes	93	211	ELISA	54	Rodier, 1995
Tunisie	générale	< 01	1 421	IFA, ELISA	58,4	Bouratbine, 2001
Gabon	femmes enceintes	95-97	767	LAT	71,2	Nabias, 1998
Ethiopie	générale	< 93	1 016	ELISA	74,4	Guebre-Xabier, 1993
Togo	femmes 13-55 ans	< 91	618	ELISA	75	Deniau, 1991
Nigéria	femmes enceintes	< 96	352	DT	75,4	Onadeko, 1996
Cameroun	femmes enceintes	89-90	192	ELISA	77,1	Ndumbe, 1992
Madagascar	femmes enceintes	92	599	ELISA	83,5	Lelong, 1995

Pays	Population étudiée	Années d'étude	Taille de la population	Méthode sérologique	Séroprévalence (%)	Référence
Asie - Océanie						
Corée	générale	2000	1 109	ELISA	6,9	Lee, 2000
Chine - Lanzou	femmes enceintes	< 97	1 250	IHA	7,3	Zhang, 1997
Chine - Chengdu	femmes enceintes	< 95	1 211	ELISA	39,1	Sun, 1995
Inde - Delhi	femmes enceintes	86-91	2 075	IFA	7,7	Mittal, 1995
Inde - nord	femmes enceintes	96-97	503	ELISA	41,5	Akoijam, 2002
Thaïlande	femmes enceintes	96	1 200	DT	13,2	Chintana, 1998
Pakistan	femmes enceintes	< 96	240	IFA	17	Pal, 1996
Emirats Arabes Unis	femmes enceintes	97	1 503	ELISA	22,9	Dar, 1997
Nouvelle Zélande	femmes enceintes	< 04	500	ELISA	33	Morris, 2004
Australie	femmes enceintes	86-89	10 207	DAT	35	Walpole, 1991
Bangladesh	femmes enceintes	< 98	286	ELISA	38,5	Ashrafunnessa, 1998
Turquie - Malatya	femmes 17-45 ans	92-95	996	ELISA	39,9	Durmaz, 1995
Turquie - région égéenne	femmes enceintes	91-95	2 287	IFA, ELISA	55	Altintas, 1997
Malaisie	femmes enceintes	2002	200	ELISA	45	Nissapatom, 2003
Iran	générale	< 97	13 018	IFA	51,8	Assmar, 1997
Népal	femmes 16-36 ans	95-96	345	ELISA	55,4	Rai, 1998

IFA, immunofluorescence indirecte ; ELISA, immunoenzymologie ;DT, dye test ; IHA, hémagglutination indirecte ; DAT, agglutination directe ; LAT, agglutination au latex ; CFT, fixation du complément ; nd, non précisé.

Références bibliographiques

- Akojjam BS, Shashikant, Singh S, Kapoor SK. Seroprevalence of *Toxoplasma* infection among primigravid women attending antenatal clinic at a secondary level hospital in North India. *J Indian Med Assoc.* 2002;100:591-2, 594-6, 602.
- Allain JP, Palmer CR, Pearson G. Epidemiological study of latent and recent infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women from a regional population in the U.K. *J Infect.* 1998;36:189-96.
- Altintas N, Kuman HA, Akisu C, Aksoy U, Atambay M. Toxoplasmosis in last four years in Aegean region, Turkey. *J Egypt Soc Parasitol.* 1997;27:439-43.
- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La Toxoplasmose Chez La Femme Enceinte En France En 1995. Résultats d'une enquête nationale périnatale. *BEH.* 1996;51:227-9.
- Arias ML, Chinchilla M, Reyes L, Linder E. Seroepidemiology of toxoplasmosis in humans: possible transmission routes in Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 1996;44:377-81.
- Ashrafunnessa, Khatun S, Islam MN, Huq T. Seroprevalence of *Toxoplasma* antibodies among the antenatal population in Bangladesh. *J Obstet Gynaecol Res.* 1998;24:115-9.
- Bobic B, Jevremovic I, Marinkovic J, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. *Eur J Epidemiol.* 1998;14:605-10.
- Bouratbine A, Siala E, Chahed MK, Aoun K, Ben Ismail R. Profil séro-épidémiologique de la toxoplasmose au nord de la Tunisie. *Parasite.* 2001;8:61-6.
- Buffalano W, Gilbert RE, Holland FJ, Fratta D, Palumbo F, Ades AE. Risk factors for recent *Toxoplasma* infection in pregnant women in Naples. *Epidemiol Infect.* 1996;116:347-51.
- Chintana T, Sukthana Y, Bunyakai B, Lekkla A. *Toxoplasma gondii* antibody in pregnant women with and without HIV infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1998;29:383-6.
- Contreras M, Schenone H, Salinas P, Sandoval L, Rojas A, Villarreal F, Solis F. Seroepidemiology of human toxoplasmosis in Chile. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1996;38:431-5.
- Dar FK, Alkarmi T, Uduman S, Abdulrazzaq Y, Grundsell H, Hughes P. Gestational and neonatal toxoplasmosis: regional seroprevalence in the United Arab Emirates. *Eur J Epidemiol.* 1997;13:567-71.
- Deniau M, Tourte-Schaefer C, Agbo K, Dupouy-Camet J, Heyer C, Lapiere J. Evaluation des risques de toxoplasmose congénitale au Togo. *Bull Soc Pathol Exot.* 1991;84:664-72.
- Diaz-Suarez O, Estevez J, Garcia M, Cheng-Ng R, Araujo J, Garcia M. Seroepidemiology of toxoplasmosis in a Yucpa Amerindian community of Sierra de Perija, Zulia State, Venezuela. *Rev Med Chil.* 2003;131:1003-10.
- Durmaz R, Durmaz B, Tas I, Rafiq M. Seropositivity of toxoplasmosis among reproductive-age women in Malatya, Turkey. *J Egypt Soc Parasitol.* 1995;25:693-8.
- El-Nawawy A, Soliman AT, el Azzouni O, Amer el-S, Karim MA, Demian S, el Sayed M. Maternal and neonatal prevalence of *Toxoplasma* and cytomegalovirus (CMV) antibodies and hepatitis-B antigens in an Egyptian rural area. *J Trop Pediatr.* 1996;42:154-7.
- Faye O, Leye A, Dieng Y, Richard-Lenoble D, Diallo S. La toxoplasmose à Dakar. Sondage séroépidémiologique chez 353 femmes en âge de procréer. *Bull Soc Pathol Exot.* 1998;91:249-50.
- Fiedler K, Hulsse C, Straube W, Briese V. Toxoplasmosis-antibody seroprevalence in Mecklenburg-Western Pomerania. *Zentralbl Gynakol.* 1999;121:239-43.
- Fuente MC, Bovone NS, Cabral GE. Prophylaxis of prenatal toxoplasmosis. *Medicina (B Aires).* 1997;57:155-60.
- Gomez-Marin JE, Montoya-de-Londono MT, Castano-Osorio JC. A maternal screening program for congenital toxoplasmosis in Quindio, Colombia and application of mathematical models to estimate incidences using age-stratified data. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57:180-6.
- Gongora-Biachi RA, Gonzalez-Martinez P, Castro-Sansores C, Alvarez-Moguel R, Pavia-Ruz N, Lara-Perera D, Alonzo-Salomon G, Palacios-Perez E. Antibodies against *Toxoplasma gondii* in patients with HIV in Yucatan. *Rev Invest Clin.* 1998;50:419-22.
- Gonzalez-Morales T, Bacallo-Gallestey J, Garcia-Santana CA, Molina-Garcia JR. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in a population of pregnant women in Cuba. *Gac Med Mex.* 1995 ;131:499-503.
- Guebre-Xabier M, Nurilign A, Gebre-Hiwot A, Hailu A, Sissay Y, Getachew E, Frommel D. Sero-epidemiological survey of *Toxoplasma gondii* infection in Ethiopia. *Ethiop Med J.* 1993;31:201-8.
- Gutierrez J, Roldan C, Maroto MC. Seroprevalence of human toxoplasmosis. *Microbios.* 1996;85:73-5.
- Hejlicek K, Literak I, Vostalova E, Kresnicka J. *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women in the Ceske Budejovice District. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 1999;48:102-5.
- Jacquier P, Hohlfeld P, Vorkauf H, Zuber P. Epidémiologie de la toxoplasmose en Suisse: étude nationale de séroprévalence menée chez les femmes enceintes en 1990-1991. *Schweiz Med Wochenschr Suppl.* 1995;65:29S-38S.
- Jenum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. *Epidemiol Infect.* 1998;120:87-92.
- Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol.* 2001;154:357-65.
- Joubert JJ, Evans AC. Current status of food-borne parasitic zoonoses in South Africa and Namibia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1997;28:7-10.
- Kassem HH, Morsy TA. The prevalence of anti-*Toxoplasma* antibodies among pregnant women in Benghazi, (S.P.L.A.J.) Libya. *J Egypt Soc Parasitol.* 1991;21:69-74.
- Lappalainen M, Koskela P, Hedman K, Teramo K, Ammala P, Hiilesmaa V, Koskiniemi M. Incidence of primary *Toxoplasma* infections during pregnancy in southern Finland: a prospective cohort study. *Scand J Infect Dis.* 1992;24:97-104.
- Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, Rehnitz C, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B, Petersen E. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet.* 1999;353:1834-7.

- Lee YH, Noh HJ, Hwang OS, Lee SK, Shin DW. Seroepidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection in the rural area Okcheon-gun, Korea. Korean J Parasitol. 2000;38:251-6.
- Lelong B, Rahelimino B, Candolfi E, Ravelojaona BJ, Villard O, Rasamindrakotroka AJ, Kien T. Prévalence de la toxoplasmose dans une population de femmes enceintes à Tananarive (Madagascar). Bull Soc Pathol Exot. 1995;88:46-9.
- Logar J, Petrovec M, Novak-Antolic Z, Premru-Srsen T, Cizman M, Arnez M, Kraut A. Prevention of congenital toxoplasmosis in Slovenia by serological screening of pregnant women. Scand J Infect Dis. 2002;34:201-4.
- Lolis D, Koutsogiannis D, Papadopoulou C, Antoniadis G. The risk of primary toxoplasmosis during pregnancy in Greece. Mediterr J Infect Parasit Dis. 1996;11:89-92.
- Luyasu V, Robert A, Lissenko D, Bertrand M, Bohy E, Wacquez M, De Bruyere M. A seroepidemiological study on toxoplasmosis. (Erratum in: Acta Clin Belg 1997;52:68). Acta Clin Belg. 1997;52:3-8.
- Mittal V, Bhatia R, Singh VK, Sehgal S. Prevalence of toxoplasmosis in Indian women of child bearing age. Indian J Pathol Microbiol. 1995;38:143-5.
- Moese JR, Vander-Moese A. Mother-child pass in Austria and primary toxoplasmosis infections in pregnant women. Cent Eur J Public Health. 1998;6:261-4.
- Morris A, Croxson M. Serological evidence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Auckland. N Z Med J. 2004;117:U770.
- Morvan J, Mambely R, Selekon B, Coumanzi-Malo MF. La toxoplasmose à l'Institut Pasteur de Bangui, République Centrafricaine (1996-1998): données sérologiques. Bull Soc Pathol Exot. 1999;92:157-60.
- Munoz C, Izquierdo C, Parra J, Ginovart G, Margall N. Recommendation for prenatal screening for congenital toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000;19:324-5.
- Nabias R, Nguouamizokou A, Migot-Nabias F, Mbou-Moutsimbi RA, Lansoud-Soukate J. Enquête sérologique sur la toxoplasmose chez des consultantés du centre de P.M.I. de Franceville (Gabon). Bull Soc Pathol Exot. 1998;91:318-20.
- Ndumbe PM, Andela A, Nkemnkeng-Asong J, Watonsi E, Nyambi P. Prevalence of infections affecting the child among pregnant women in Yaounde, Cameroon. Med Microbiol Immunol (Berl). 1992;181:127-30.
- Nissapatom V, Noor Azmi MA, Cho SM, Fong MY, Init I, Rohela M, Khairul Anuar A, Quek KF, Latt HM. Toxoplasmosis: prevalence and risk factors. J Obstet Gynaecol. 2003;23:618-24.
- Onadeko MO, Joynton DH, Payne RA, Francis J. The prevalence of *Toxoplasma* antibodies in pregnant Nigerian women and the occurrence of stillbirth and congenital malformation. Afr J Med Med Sci. 1996;25:331-4.
- Pal RA, Qayyum M, Yaseen M. Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*, with particular reference to obstetric history of patients in Rawalpindi-Islamabad, Pakistan. J Pak Med Assoc. 1996;46:56-8.
- Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. J Clin Microbiol. 2001;39:1912-6.
- Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol. 2001;31:115-44.
- Petersson K, Stray-Pedersen B, Malm G, Forsgren M, Evengard B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Sweden. Acta Obstet Gynecol Scand. 2000;79:824-9.
- Prabhakar P, Bailey A, Smikle MF, McCaw-Binns A, Ashley D. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella virus, cytomegalovirus herpes simplex virus (TORCH) and syphilis in Jamaican pregnant women. West Indian Med J. 1991;40:166-9.
- Rai SK, Shibata H, Sumi K, Rai G, Rai N, Manandhar R, Gurung G, Ono K, Uga S, Matsuoka A, Shrestha HG, Matsumura T. *Toxoplasma* antibody prevalence in Nepalese pregnant women and women with bad obstetric history. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1998;29:739-43.
- Remington JS, McLeod R, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Klein J.O., Remington J.S., eds. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 1995. pp. 140-268. Philadelphia: WB Saunders.
- Roos T, Martius J, Gross U, Schrod L. Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. Obstet Gynecol. 1993;81:243-50.
- Sun RG, Liu ZL, Wang DC. The prevalence of *Toxoplasma* infection among pregnant women and their newborn infants in Chengdu. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 1995;16:98-100.
- Szenasi Z, Ozsvar Z, Nagy E, Jeszenszky M, Szabo J, Gellen J, Vegh M, Verhofstede C. Prevention of congenital toxoplasmosis in Szeged, Hungary. Int J Epidemiol. 1997;26:428-35.
- Valcavi PP, Natali A, Soliani L, Montali S, Dettori G, Cheezi C. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in the population of the area of Parma (Italy). Eur J Epidemiol. 1995;11:333-7.
- Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Muller RW. Seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women. J Pediatr (Rio J). 2003;79:69-74.
- Vlaspolder F, Singer P, Smit A, Diepersloot RJ. Comparison of immulite with vidas for detection of infection in a low-prevalence population of pregnant women in The Netherlands. Clin Diagn Lab Immunol. 2001;8:552-5.
- Walpole IR, Hodgen N, Bower C. Congenital toxoplasmosis: a large survey in western Australia. Med J Aust. 1991;154:720-4.
- Zadik PM, Kudesia G, Siddons AD. Low incidence of primary infection with *Toxoplasma* among women in Sheffield: a seroconversion study. Br J Obstet Gynaecol. 1995;102:608-10.
- Zhang W, Zhao R, Qiu H. Toxoplasmosis infection in pregnant women in Lanzhou. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1997;32:208-10.

Question 11 : quelle est la séroprévalence de la toxoplasmose en France ?

Responsable de la question : Mme Goulet

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

Depuis la mise en place du dépistage systématique de la toxoplasmose en France dans le cadre du certificat prénuptial en 1978, puis des examens prénataux en 1985, de nombreuses études de séroprévalence ont été publiées en France. Ces études ont été pour la plupart entreprises par des parasitologues hospitaliers en liaison avec les maternités dont ils assuraient le plateau technique. Ces études sont difficilement comparables entre elles pour des raisons techniques (utilisation de méthode de sensibilité différente, seuil de positivité pouvant différer d'une étude à l'autre) et par l'attractivité différente qu'une maternité peut exercer sur des populations ayant des taux de prévalence plus faibles (origine étrangère, âge jeune). Deux études nationales ont été réalisées avec une centralisation des tests dans un laboratoire unique (échantillon de recrues de l'armée française, échantillon de femmes âgées entre 15 et 45 ans prélevées dans des laboratoires privés en 1982-1983). Ces études bien que pas réellement représentatives du niveau national, ont eu l'intérêt de confirmer l'existence de disparités régionales identifiées par les études locales (Panet, 1980 ; Papoz, 1984).

La seule étude nationale ne comportant pas de biais de sélection dans l'échantillonnage est celle réalisée au cours de l'Enquête Nationale Périnatale 1995 sur 13459 femmes ayant accouché pendant la semaine du 30/1/95 au 5/2/95 (Ancelle, 1996a). Les limites de cette étude réalisée sur dossiers sont dues à l'impossibilité de tenir compte de la variabilité des paramètres techniques (technique et seuil de positivité utilisée), les sérologies étant réalisées par des laboratoires différents. Dans cette étude, la séroprévalence globale de 54,3 % est apparue liée à :

- l'âge (Tableau 15) : elle passe de 43% chez les jeunes de 14-19 ans à 66% chez les femmes enceintes âgées de plus de 39 ans.
- les régions (Tableau 16, Illustration 10, Illustration 11) : la prévalence varie de 43% à 68% selon les régions avec une valeur médiane régionale à 53%.
- la nationalité (Tableau 17) : chez les femmes françaises la séroprévalence est supérieure à celle des femmes d'autres nationalités.
- la catégorie socioprofessionnelle (CSP, Tableau 17) : la séroprévalence augmente chez les femmes ayant un niveau d'études supérieures, une CSP élevée, ou dont le conjoint a une CSP élevée.

Cette étude a été renouvelée lors de l'Enquête Nationale Périnatale 2003 avec la même méthodologie. La séroprévalence globale en 2003 est de 44% (Berger, 2005).

La séroprévalence a diminué en France depuis 1960. Dans les premières études réalisées par Desmots en région parisienne dans les années 1960, la séroprévalence était de 84%. Dans la première étude nationale réalisée en 1982, la séroprévalence est de 66% et dans l'étude d'Ancelle de 1995 de 54%. Différents facteurs peuvent intervenir dans cette baisse de la séroprévalence. Des facteurs techniques peuvent intervenir comme le changement de méthode utilisée (le dye test utilisé par Desmont en 1960 est un test très sensible) ou une modification dans l'interprétation des résultats, l'appréciation du seuil de positivité ayant pu évoluer depuis 20 ans. L'influence de ces facteurs techniques est toutefois limitée et ne peut expliquer à elle seule cette baisse importante et continue de la séroprévalence qui correspond à un réel changement de l'épidémiologie de la toxoplasmose humaine en France. Les modifications épidémiologiques évoquées pour expliquer cette baisse de la séroprévalence sont le changement de l'alimentation des chats (conserves ou croquettes), qui peut avoir réduit le niveau d'infestation des chats surtout en milieu urbain, et les

modifications des habitudes alimentaires chez l'homme, avec notamment la consommation plus répandue de la viande congelée ou la baisse de la consommation de viande saignante.

Cette diminution a été observée au niveau national et régional (Tableau 18). Si l'on compare les 2 études nationales réalisées en 1982 et 1995 on s'aperçoit d'une part, que la séroprévalence a diminué dans toutes les régions, et d'autre part, que les différences régionales observées en 1983 se retrouvent en 1995. Si l'on compare les résultats des 14 régions étudiées en 1982-83 (Papoz, 1984) avec les mêmes 14 régions extraites de l'Enquête Nationale Périnatale 1995 (Ancelle, 1996b), on s'aperçoit que les 7 régions avec la plus basse incidence sont les mêmes dans les 2 groupes. Les régions avec une prévalence élevée dans les 2 études sont en particulier l'Ile de France, la Haute-Normandie et l'Aquitaine. En 2003, les disparités régionales sont importantes (29% à 56%) et les zones à prévalence faible (est de la France) et élevée (Aquitaine, Haute-Normandie et Ile de France) sont les mêmes qu'en 1995 (Berger, 2005).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces variations régionales. Une étude réalisée aux Antilles montre une corrélation entre la séroprévalence et le niveau de pluviométrie qui pourrait être expliquée, selon l'auteur, par la survie des oocystes plus longue lorsque le milieu est humide (Barbier, 1983). Ancelle avait trouvé une liaison significative entre la séroprévalence régionale et l'indice régional de consommation de mouton (Ancelle, 1996b).

L'observation d'une séroprévalence plus élevée chez les femmes de nationalité française que chez les femmes d'autres nationalités a été rapportée dans d'autres études (Tableau 19). Ainsi, dans l'étude réalisée en 1981-1983 dans des maternités d'Ile de France (Jeannel, 1988), le taux brut de séroprévalence était de 61 % avec un écart important entre les femmes d'origine française (71 %) et les femmes originaires d'Afrique du Nord (56 %) qui composaient 20 % de l'échantillon. La prévalence ajustée sur l'origine géographique était de 67 %. Ces différences de séroprévalence semblent s'atténuer puisque dans l'Enquête Nationale Périnatale de 1995 elle est d'environ 5% : 55,6 % pour les femmes de nationalité française contre 51,2% pour les femmes d'origine d'Afrique du Nord. La diminution de la séroprévalence de 1981 à 1995 est plus importante chez les femmes de nationalité française que chez les autres.

Les études réalisées chez les sujets séropositifs vis-à-vis du VIH n'ont pas montré de différence de séroprévalence de la toxoplasmose avec la population générale du même âge (Derouin, 1991; Candolfi, 1992).

**Tableau 15 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la classe d'âge.
Enquête nationale périnatale, France, 1995**

Classe d'âge	Effectif		Séroprévalence				
			Pos. n	Nég. n	d.m.(1) n	Prév.(2) %	<i>E.t.</i> (3) %
	N	%					
14-19	247	1,8	98	131	18	42,8	3,3
20-24	2209	16,4	959	1140	110	45,7	1,1
25-29	4952	36,8	2473	2312	167	51,7	0,7
30-34	3955	29,4	2268	1557	130	59,3	0,8
35-39	1557	11,6	909	591	57	60,6	1,3
40 et +	398	3	250	129	19	66	2,4
d.m. (1)	141	1	60	51	30	54,1	4,7
Total	13459	100	7017	5911	531	54,3	0,4

(Ancelle, 1996a)

1: données manquantes

2: prévalence=nombre de positifs/ (positifs + négatifs)

3 : écart-type

**Tableau 16 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la région du domicile.
Enquête Périnatale, France, 1995**

Région de domicile	Effectif N	Séroprévalence					
		Positifs n	Négatifs n	d.m. (1) n	Prévalence % brut (2)	Prévalence % ajusté sur l'âge (3)	E.t. (4) %
Ile de France	2847	1718	1013	116	62,9	61,8	0,95
Champagne-Ardennes	284	132	146	6	47,5	48,1	3,07
Picardie	427	255	160	12	61,4	61,1	2,41
Haute Normandie	393	231	148	14	60,9	60,9	2,42
Centre	521	273	238	10	53,4	52,9	2,18
Basse Normandie	287	164	123	0	57,1	57,4	2,87
Bourgogne	328	135	176	17	43,4	43,0	2,78
Nord-Pas de Calais	977	532	412	33	56,4	57,0	1,61
Lorraine	482	172	285	25	37,6	38,2	2,22
Alsace	402	163	233	6	41,2	41,9	2,45
Franche Comté	243	90	144	9	38,5	38,5	3,32
Pays de Loire	721	333	372	16	47,2	47,5	1,91
Bretagne	654	308	307	39	50,1	49,6	1,98
Poitou-Charentes	263	136	121	6	52,9	52,0	3,01
Aquitaine	532	361	160	11	69,3	68,3	2
Midi-Pyrénées	474	276	183	15	60,1	59,0	2,25
Limousin	111	43	68	0	38,7	37,9	4,28
Rhône Alpes	1283	547	691	45	44,2	44,0	1,39
Auvergne	229	100	122	7	45,0	44,8	3,23
Languedoc-Roussillon	456	247	192	17	56,3	55,7	2,31
PACA	998	514	413	71	55,4	55,5	1,62
Corse	61	36	23	2	61,0	62,5	6,01
Antilles-Guyane	314	181	114	19	61,4	59,8	2,89
Etranger	17	6	9	2	40,0	34,0	11,2
Dm (1)	155	64	58	33	52,5	59,4	6,91
Total	13459	7017	5911	531	54,3	54,3	0,44

(Ancelle, 1996a)

(1) données manquantes

(2) prévalence : nombre de positifs / (positifs+négatifs)

(3) prévalence ajustée sur l'âge de l'échantillon

(4) écart-type de la prévalence ajustée sur l'âge

Tableau 17 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon le niveau d'études, la profession de la femme et du conjoint, et la nationalité de la femme. Enquête nationale périnatale, France, 1995

Facteur étudié	Effectif N	Séroprévalence					
		Positifs n	Négatifs n	d.m. (1) n	Prévalence % brut (2)	Prév. (3) %	E.t. (4) %
Niveau d'études							
Non scolarisée ou primaire	784	388	350	46	52,6	52,4	2
Secondaire 1er cycle	5208	2629	2373	206	52,6	53,8	0,7
Secondaire 2ème cycle	2596	1310	1207	79	52,0	52,2	1
Supérieur	4087	2322	1672	93	58,1	56,2	1,1
Inconnu	784	368	309	107	54,4	54,2	2
Profession de la femme							
Sans profession	2337	1147	1061	129	51,9	54,0	1,2
Agriculteur	96	50	44	2	53,2	51,1	5,1
Commerçant-artisan	304	169	120	15	58,5	58,0	2,9
Cadre supérieur	967	648	298	21	68,5	63,9	2,6
Profession intermédiaire	2046	1113	883	50	55,8	52,9	1,2
Employé	4587	2389	2060	138	53,7	54,2	0,8
Ouvrier, service	2662	1306	1252	104	51,1	51,7	1
Inconnue	460	195	193	72	50,3	50,4	2,9
Profession du conjoint							
Sans profession	233	106	110	17	49,1	49,0	3,8
Agriculteur	322	163	150	9	52,1	53,0	2,8
Commerçant-artisan	915	473	402	40	54,1	52,1	1,6
Cadre supérieur	1760	1100	620	40	64,0	59,5	1,5
Profession intermédiaire	1948	1087	815	46	57,2	55,3	1,2
Employé	1897	991	851	55	53,8	53,6	1,2
Ouvrier, service	5049	2461	2404	184	50,6	51,3	0,7
Inconnue	1335	636	559	140	53,2	55,0	1,7
Nationalité							
France	11631	6235	5024	372	55,4	55,6	0,5
Autre pays européen	447	194	227	26	46,1	46,0	2,4
Afrique du Nord	650	312	294	44	51,5	51,2	2,1
Afrique sub-saharienne	209	83	116	10	41,7	40,5	3,6
Autre	290	105	170	15	38,2	36,8	2,9
Inconnue	232	88	80	64	52,4	49,4	5,4
Total	13459	7017	5911	531	54,3	54,3	0,4

(Ancele, 1996b)

(1) données manquantes

(2) prévalence : nombre de positifs / (positifs+négatifs)

(3) prévalence ajustée sur l'âge de l'échantillon

(4) écart-type de la prévalence ajustée sur l'âge

Tableau 18 : Séroprévalence de la toxoplasmose dans 14 régions, chez des femmes en âge de procréer, dans 2 études nationales réalisées en 1982 et 1995

Région	1982-1983 (Papoz, 1984)	1995 (Ancelle, 1996a)
Aquitaine	70,4	69,3
Ile de France	80,1	62,9
Haute Normandie	72,7	62,9
Midi-Pyrénées	64,8	60,1
Nord Pas-de-Calais	71,1	56,4
Languedoc-Roussillon	66,4	56,3
PACA	68,7	55,4
Centre	63,1	53,4
Poitou-Charentes	56,8	52,9
Champagne-Ardenne	55,8	47,5
Pays de Loire	59,9	47,2
Auvergne	45,5	45,0
Rhône-Alpes	49,1	44,2
Bourgogne	44,8	43,4
Taux médian régional	63,9	53,4
Taux national	66,0*	54,3

**estimé en ajustant sur la structure d'âge de la population générale*

Tableau 19 : Séroprévalence de la toxoplasmose en fonction de l'origine géographique dans différentes populations de femmes enceintes

Année	1972	1981-83	1989	1995
Référence bibliographique	Roux, 1975	Jeannel, 1988	Espeillac, 1989	Ancelle, 1996b
Lieu de l'étude	Paris	Paris	Toulouse	France
Origine géographique des fermes testées				
France	83%	71%	73%	55%
Afrique du Nord	66%	56%	58%	51%
Afrique sub-saharienne		51%	52%	40%
Asie		13%	22%	

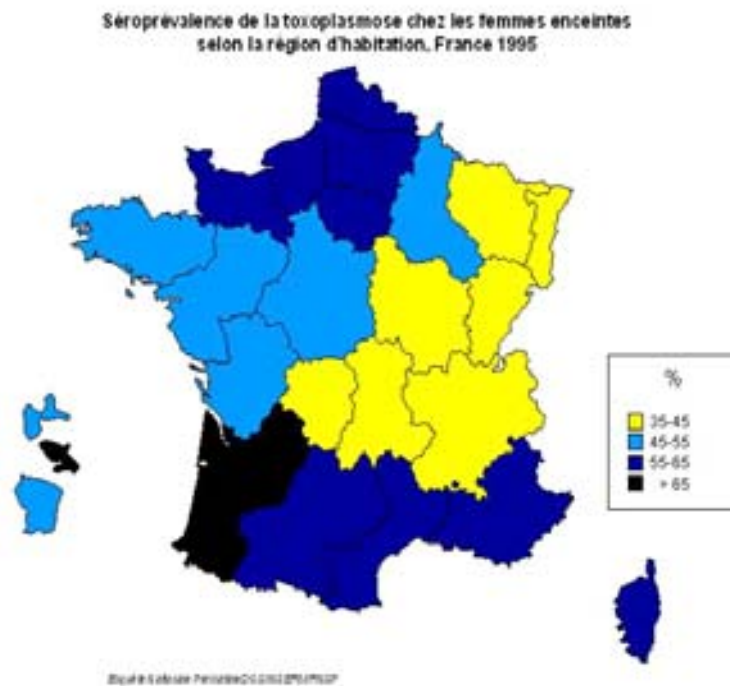


Illustration 10 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes selon la région d'habitation, France, 1995



Illustration 11 : Séroprévalence de la toxoplasmose selon le département d'habitation, France, 1995

Références bibliographiques

- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une Enquête Nationale Périnatale. BEH. 1996a;51:227-9.
- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une Enquête Nationale Périnatale. France, Saint-Maurice. Octobre 1996b : p27 Rapport du Réseau National de Santé Publique.
- Barbier D, Ancelle T, Martin-Bouyer G. Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in La Guadeloupe, French West Indies. Am J Trop Med Hyg. 1983;32:935-42.

- Berger F. La toxoplasmose en France chez la femme enceinte: séroprévalence et estimation de l'incidence à partir d'enquêtes nationales. Mémoire de Master M2 "Epidémiologie et recherche clinique". Université Paris XI. 2005.
- Candolfi E, Partisani ML, De Mautort E, Bethencourt S, Frantz M, Kien T, Lang JM. Séroprévalence de la toxoplasmose chez 346 sujets infectés par le VIH dans l'est de la France. Suivi sérologique des sujets non contaminés par *Toxoplasma gondii*. Presse Med. 1992;21:394-5.
- Derouin F, Thulliez P, Garin YJ. Interêt et limites de la sérologie de toxoplasmose chez les sujets VIH+. Pathol Biol. 1991;39:255-9.
- Espeillac D, Malavaud S, Bessieres MH, Grandjean H. Etude séro-épidémiologique vis-à-vis de la toxoplasmose chez la femme enceinte dans la région toulousaine. Méd Mal Infect. 1989;19:80-2.
- Jeannel D, Niel G, Costagliola D, Danis, M, Traore BM, Gentilini M. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area. Int J Epidemiol. 1988;17:595-602.
- Lapierre J, Tourte-Schaefer C, Heyer F, Nessmann C, Timbart MF, Beaujouan L. Toxoplasmose congénitale : Réflexions à propos de la surveillance sérologique de quinze mille femmes enceintes. Sem. Hop. 1983;59:2741-5.
- Panet JJ. Prévalence régionale de la toxoplasmose (Etude pratiquée sur 2012 jeunes recrues de l'armée française). 43-48. 1980. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en médecine. Université Claude Bernard, Lyon I.
- Papoz L, Sarmini H, Funes A, Comiti V. Etude de la prévalence de l'empreinte immunologique de la rubéole, de la toxoplasmose, du cytomégalovirus, de l'herpès et de l'hépatite B chez 8594 femmes de 15 à 45 ans en France en 1982-1983. BEH. 1984;20.
- Roux Ch, Desmonts G, Gaulier M, Mulliez N, Hery D. Prophylaxie de la toxoplasmose congénitale (Bilan de la maternité de l'Hopital Saint Antoine, 1972). J Gyn Obst Biol Repr. 1975;4:557-69.
- Rousseeuw PJ. Least median of squares regression. J Am Stat Assoc. 1984;79:871-81.

Question 12 : que sait-on des fluctuations saisonnières et/ou climatiques sur l'incidence et la prévalence de la toxoplasmose ?

Responsable de la question : M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

Les conditions climatiques n'interviennent que sur la phase libre du parasite, les oocystes. Ceux-ci sont présents dans l'environnement et à l'origine de l'infection humaine, qu'elle se contracte directement à partir des milieux tellurique et hydrique ou indirectement par ingestion de produits carnés contenant des kystes. Les oocystes sont très résistants dans le milieu extérieur, mais leur sporulation est favorisée par la chaleur et l'humidité. En conséquence, on peut s'attendre à ce que la toxoplasmose soit plus fréquente dans les régions à climat tempéré ou chaud et humide que dans les régions à climat froid et sec. C'est en effet ce que suggère la comparaison des séroprévalences observées dans le monde (cf. Question 10). Néanmoins, les différences climatiques ne suffisent probablement pas à expliquer les variations géographiques de la prévalence. D'autres variables telles que l'importance de la population des chats, l'âge des sujets, leur mode de vie ou leurs habitudes alimentaires sont autant de facteurs possibles de confusion ; ils ne sont pas toujours pris en compte par les quelques études qui tentent d'établir un lien entre les variations du climat et celles de la prévalence.

Une étude transversale menée en 1992 chez 35940 femmes enceintes norvégiennes a montré une séroprévalence significativement plus faible (6,7 %) dans le nord du pays au climat sec et froid que dans le sud (13,4 %) au climat côtier plus tempéré (Jenum 1998). Cependant, les auteurs n'excluent pas totalement que des variations minimales des habitudes alimentaires ou des conditions d'élevage aient pu contribuer à la différence des prévalences observées.

En Suède, une étude menée chez 3656 femmes enceintes de quatre régions de latitude différente montre un gradient nord-sud de séroprévalence significativement croissant de 11 à 26 % (Ljungstrom, 1995) ; les auteurs rapprochent cette variation de celle de la température annuelle moyenne qui varie, dans le même sens, de -3° à $+5^{\circ}\text{C}$, et de celle du nombre de mois avec une température négative qui varie de 6 à 3 mois, également dans le sens nord-sud.

Aux Etats-Unis, la séroprévalence la plus basse est observée dans la région ouest (17,5 %) ; elle pourrait s'expliquer, d'après les auteurs, par un climat plus sec et des altitudes plus élevées que dans l'est du pays où la prévalence atteint 29,2 % (Jones, 2001).

En France, l'enquête nationale périnatale de 1995 a montré une grande hétérogénéité géographique de la séroprévalence (Ancelle, 1996). Les plus faibles prévalences (environ 35 %) concernent des régions de montagne ou à climat hivernal rude (Est, Vosges, Jura, massifs central et alpin) alors que dans les régions à climatologie plutôt opposée les prévalences dépassent 55 ou 65 % (Méditerranée, sud-ouest et nord ouest).

A la Guadeloupe il a été montré que la séroprévalence était significativement corrélée avec la pluviométrie annuelle du lieu de résidence (de 48 % pour des précipitations de 100-125 cm/an à 65 % pour 200-225 cm/an) mais non avec l'altitude ou le type d'habitat (Barbier, 1983). La prévalence est corrélée aussi avec la présence d'un chat au domicile. Les oocystes dont la survie est facilitée par l'humidité du sol seraient donc la source essentielle de l'infection en Guadeloupe alors que le rôle de l'alimentation carnée serait négligeable (Barbier, 1983).

En République Centrafricaine, Dumas (1990) rapporte chez les adultes une séroprévalence significativement plus basse en zone présaharienne (18,5 %) qu'en zone de forêt (36,2 %) ou de savane arborée (39,3 %). Cette plus faible prévalence en climat sec concorde avec les observations faites par les mêmes auteurs en Côte d'Ivoire et au Niger.

Il a été suggéré qu'une éventuelle réduction du nombre des oocystes infectants dans l'environnement pendant les saisons les plus sèches et les plus chaudes pourrait entraîner une diminution de l'incidence de l'infection humaine ; mais il n'existe pas de publication démontrant une variation de l'incidence en fonction des saisons. Une étude récente en particulier, qui analyse les cas déclarés de toxoplasmose ganglionnaire survenus entre 1989 et 1992 en Angleterre et au Pays de Galles, ne met pas en évidence de variation saisonnière (Ryan, 1995).

Références bibliographiques-

- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une enquête nationale périnatale. Rapport du Réseau National de Santé Publique. France, Saint-Maurice. Octobre 1996 : p16.
- Barbier D, Ancelle T, Martin-Bouyer G. Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in La Guadeloupe, French West Indies. Am J Trop Med Hyg. 1983;32:935-42.
- Dumas N, Cazaux M, Meunier DMY, Seguela JP, Charlet JP. La toxoplasmose en République Centrafricaine (RCA). Etude complémentaire en zone rurale. Bull Soc Path Ex. 1990;83:342-8.
- Jenum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. Epidemiol Infect. 1998;120:87-92.
- Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am J Epidemiol. 2001;154:357-65.
- Ljungstrom I, Gille E, Nokes J, Linder E, Forsgren M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in different parts of Sweden. Eur J Epidemiol. 1995;11:149-56.
- Ryan M, Hall SM, Barrett NJ, Balfour AH, Holliman RE, Joynson DH. Toxoplasmosis in England and Wales 1981 to 1992. Commun Dis Rep CDR Rev. 1995;5:R13-21.

Question 13 : quels sont les facteurs de risques alimentaires ou comportementaux pour la toxoplasmose ?

Responsable de la question : M. Peyron
Co-rédacteurs : Mme Goulet, M. Thulliez
Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Binquet

Les facteurs pouvant entraîner une contamination par *Toxoplasma gondii* sont nombreux et ont été abordés en Question 9. Ils varient en fonction de nombreux paramètres tels que le climat et le mode de vie (Bobic, 1998 ; Buffolano, 1996 ; Cook, 2000) Par ailleurs, il est possible que certains modes de contamination soient encore inconnus (Cook, 2000). La survenue d'épidémies de toxoplasmoses liées à la consommation d'eau indique un réservoir parasitaire très large.

Trois études cas témoins (Cook, 2000 ; Baril, 1999 ; Kapperud, 1996) et trois études transversales (Buffolano, 1996 ; Bobic, 1996 ; Sturchler, 1987) ont été publiées sur le sujet (Tableau 20). Leur objectif était de comparer les réponses, en terme d'exposition à certains facteurs de risque, de femmes enceintes ayant contracté une infection en cours de grossesse (pour les études cas témoins) ou ayant une sérologie positive (pour les études transversales) avec des femmes témoins séronégatives.

Cinq de ces études portaient sur des femmes enceintes. Dans la sixième, les sujets inclus étaient des femmes en âge de procréer (Bobic, 1998).

Les facteurs recherchés étaient globalement les mêmes dans toutes les études. A noter toutefois que les questionnaires utilisés par Bobic (Bobic, 1998) et Cook (Cook, 2000) ne comportaient pas de question sur la consommation de légumes et de fruits mangés crus sans avoir été suffisamment lavés. Dans tous les cas, les conclusions reposaient sur une analyse multivariée. Les études ont été effectuées dans 7 pays européens dont la France. Il existait des divergences selon les études en ce qui concerne les critères d'inclusion des participantes (limités aux séroconversions strictes dans une étude seulement), leur nombre, le ratio cas/témoins et le mode d'administration des questionnaires. Il est probable que ces différences méthodologiques et la qualité variable des études expliquent partiellement les différences de conclusions. Il convient d'attacher plus d'importance aux facteurs de risques identifiés par les 3 études cas/témoins qui portent sur la période précédant la contamination alors que les études transversales sont moins précises, la période de contamination n'étant pas connue.

A l'exclusion de la consommation de viande mal cuite, identifiée par tous les auteurs comme un facteur de risque significatif, les conclusions sur les autres modes de contamination diffèrent selon les auteurs. Ainsi :

- la possession d'un chat n'était retenue que par 2 études (Baril, 1999 ; Sturchler, 1987).
- le nettoyage de la litière, la mauvaise hygiène des instruments de cuisine et la consommation de crudités et de légumes crus insuffisamment cuits ne sont retenus que par l'étude norvégienne (Kapperud, 1996). (NB : dans l'étude française, le risque lié aux crudités était limité à la consommation en dehors du domicile).
- le fait de voyager en dehors d'Europe et d'Amérique du Nord et le contact avec la terre ne sont identifiés que par l'étude multicentrique conduite par Cook (Cook, 2000). (NB : dans l'étude yougoslave, le contact avec la terre n'était un facteur significatif que chez les moins de 20 ans (Bobic, 1998).
- seule l'étude française retenait la mauvaise hygiène des mains comme facteur de risque (Baril, 1999).
- l'étude suisse est la seule à retenir comme facteur de risque avéré une profession dans le domaine agroalimentaire et le fait d'habiter en zone rurale (Sturchler, 1987).

Ces différences traduisent des variations épidémiologiques ou saisonnières ainsi que des modes de vie et des habitudes alimentaires différentes.

Les données de l'étude effectuée par Baril (1999) ne sont pas généralisables à la population française. En effet, les participantes résidaient essentiellement dans la région parisienne et dans le Nord. De plus, l'enquête ayant été effectuée de janvier à mai, il est possible qu'elle n'ait pas identifié l'ensemble des facteurs de risque auxquelles les femmes enceintes peuvent être exposées au cours de l'année.

Il est aussi possible que la prépondérance de la consommation de viande comme mode de contamination et le manque de puissance des études aient masqué des modes de contamination moins importants mais jouant cependant un rôle dans la transmission de l'infection. De plus il est possible que dans les pays où des recommandations sont diffusées, certains facteurs de risque existent mais soient contrôlés et n'apparaissent pas comme significatifs dans les études.

En conclusion :

Malgré les résultats hétérogènes des études portant sur le risque d'acquisition de la toxoplasmose on peut identifier les facteurs de contamination les plus importants :

- Le risque lié à la consommation de viande mal cuite ressort nettement de toutes les études. Il est essentiel qu'il soit clairement mis en avant dans toute information destinée à des femmes à risque.
- La consommation de crudités (légumes et fruits) insuffisamment nettoyées et la mauvaise hygiène des mains sont également des modes de contamination à intégrer dans un programme de prévention en insistant en particulier sur le risque des repas pris en dehors du domicile qui expose à la consommation de crudités insuffisamment lavées.
- La possession d'un chat ainsi que le nettoyage de sa litière : même si théoriquement sur le plan parasitologique le risque est faible (cf. section E), ces modes de contamination sont à prendre en compte dans un programme de prévention.

Les autres facteurs de risque varient selon les études et semblent plus aléatoires. Les modes de contamination de la toxoplasmose sont certainement nombreux et le degré d'exposition à la maladie varie en fonction des zones géographiques, le groupe ethnique (Nissapatorn, 2003) et d'autres facteurs intervenant dans le mode de vie comme l'activité professionnelle (cf. Question 37). Il semble donc que les facteurs de risques alimentaires ou comportementaux pour la toxoplasmose ne soient pas universels.

Le comportement des femmes vis-à-vis de la maladie (cf. Question 35) joue également un rôle important.

Tableau 20 : Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose : caractéristiques et résultats de six études

Premier auteur Année de publication	Sturzler, 1987	Bobic, 1998	Buffolano, 1996	Kapperud, 1996	Baril, 1999	Cook, 2000
Pays	Suisse (Bâle)	Yougoslavie (Belgrade)	Italie (Naples)	Norvège	France (Nord)	Naples, Milan, Brusselle, Oslo Lausanne, Copenhagen
Année étude	1987	01/88 – 12/91	11/91 – 06/94	06/92 – 06 /94	01 /95-06 /95	01/94 – 06/95
Type d'étude	transversale	transversale	transversale ¹	cas témoin ²	cas témoin	cas témoin
Cas nombre sélection	280 IgG élevées cordon	896 sérologie positive femme 15-45 ans	42 infection récente grossesse	63 infection récente ³ (41) séroconversion (22) grossesse	80 séro-conversion grossesse	252 séroconversion ou infection récente ⁴
Témoins nombre sélection	279 tirage au sort parmi sérologies négatives cordon	261 sérologie négative femme 15-45 ans	2096 sérologie négative en IgG	128 (1,2,3 /cas) femme séronégative jour diagnostic ± 14 jours	80 (1/cas) femmes séronégatives le jour de l'inclusion des cas	858 (4/cas) 4 patientes séronégatives suivantes (même série + laboratoire)
Appariement	non	non	non	âge, terme, lieu habitation	terme et lieu habitation	Non
Mode administration questionnaire	courrier	entretien avant prélèvement	questionnair e administré pendant séjour post- partum	téléphone après envoi par courrier même enquêteur pour chaque couple cas-témoin	téléphone, un seul enquêteur	téléphone (sauf Lausanne : interview face à face des cas et de certains témoins) juste après le diagnostic (sauf Copenhagen : post partum)
Connaissance par interviewer du statut des participants	-	non	non renseigné	oui	oui	oui
Connaissance de leur statut par participants	non	non	non renseigné	oui	oui	oui
Facteurs de risques significatifs	viande mouton, bœuf, profession (agroalimentaire) habitat zone rurale, possession d'un chat, surtout si dort à l'intérieur ⁵	viande mal cuite (surtout si éducation élevée et habitat suburbain	viande de porc séchée et salée viande crue (tous types) ⁶	viande mal cuite (mouton, porc), fruits, légumes crus non lavés, nettoyage litière, mauvaise hygiène cuisine ⁷	viande de bœuf et d'agneau mal cuite, mauvaise hygiène des mains ⁸ , possession d'un chat crudités hors du domicile	viande mouton, bœuf, gibier mal cuite contact terre voyage hors Europe et Amérique du nord ⁹

¹ infection récente définie par la présence d'IgM et d'IgG spécifiques et non pas par l'existence d'une séroconversion.

² considérée comme cas témoin bien que seulement 22 séroconversion sur 63 cas.

³ définie par Dye test > 300 et présence d'IgM.

⁴ définie par présence IgM et d'IgG spécifiques associée à augmentation IgG, par indice avidité bas ou présence d'IgA spécifiques.

⁵ mauvaise hygiène des mains, consommation de crudités mal lavées : non significatif.

⁶ jardinage, possession d'un chat, habitat en zone rurale : non significatifs

⁷ voyage en dehors de Norvège : non significatif.

⁸ jardinage, t, manipulation de la litière d'un chat, habitat en zone rurale, repas pris à l'extérieur : non significatifs.

⁹ le contact avec les chats : non significatif.

Références bibliographiques

- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez Ph, Tirard Fleury V, Carne B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in Pregnancy : A case control study in France. Scand J Infect Dis. 1999;31:305-9.
- Bobic B, Jevremovic I, Marinkovic J, Sibalic D, Djurkovic Djakovic O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. Eur J Epidemiol. 1998;14:605-10.
- Buffolano W, Gilbert RE, Folland FJ, Fratta D, Palumbo F, Ades E. Risk factors for recent *Toxoplasma* infection in pregnant women in Naples. Epidemiol Infect. 1996;116:347-51.
- Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum P, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women : European multicenter case-control study. Br Med J. 2000;321:142-147.
- Holliman R. Congenital toxoplasmosis – further thought for food. Comment to Cook AJC et al. Br Med J 2000;321:142-147. Br Med J . 2000;321:148.
- Kapperud G, Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* Infection in pregnancy. Results of a prospective case control study in Norway. Am J Epidemiol. 1996;144:405-412.
- Nissapatorn V, Noor Azmi MA, Cho SM, Fong MY, Init I, Rohela M, Khairul Anuar A, Quek KF, Latt HM. Toxoplasmosis: prevalence and risk factors. J Obstet Gynaecol. 2003;23: 618-624.
- Sturchler D, Berger R, Just M. Die konnatale Toxoplasmose in der Schweiz. Schwei Med Wochenschr. 1987;117:161-167.

Question 14 : existe-t-il des cas groupés ou des épidémies de toxoplasmoses ?

Responsable de la question : Mme Goulet
Co-rédacteurs : Mme Vaillant
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

Dix-neuf épisodes de cas groupés de toxoplasmose survenus entre 1965 et 2001 dans différents pays du monde, et pour lesquels une origine commune de contamination a été mise en évidence ou suspectée, ont été publiés (Tableau 21).

Parmi ces 19 épisodes :

- Treize épisodes (68%) ont été attribués à une origine alimentaire. Dans une seule étude, l'isolement de *T. gondii* dans l'aliment a confirmé la suspicion :
- la consommation de viande insuffisamment cuite a été retrouvée dans 11 épisodes (85%) :
 - viande de mouton, 5 épisodes (Masur, 1978 ; Fertig, 1977 ; De Silva, 1984 ; Bonametti, 1996 ; Haeghebaert, 2002)
 - viande de bœuf, 3 épisodes (Kean, 1969 ; Lord, 1975 ; Humphrey, 1986) ;
 - viande de porc, 1 épisode (Choi, 1997)
 - gibier, 2 épisodes : viande de cervidé : (Sacks, 1983), abats de sanglier (Choi, 1997)
- la consommation de lait de chèvre cru a été retrouvée dans 2 épisodes (Sacks, 1982 ; Skinner, 1990).
- Deux épisodes étaient d'origine hydrique, eau du réseau de distribution (Bowie, 1997) et eau d'un ruisseau dans la jungle (Benenson, 1982). L'épidémie liée à l'eau du réseau de distribution survenue dans une ville de Colombie britannique au Canada en 1994-1995 (Bowie, 1997) a été à l'origine de 100 cas identifiés et à un nombre important de cas estimés (2894 à 7718).
- Trois épisodes ont été attribués à des contacts avec des chats infectés ou avec des oocystes de l'environnement (Stagno, 1980 ; Teutsch, 1979 ; Shenep, 1984)
- L'origine d'une épidémie de 36 cas survenue en 1965 parmi un groupe de 81 séminaristes dans l'état de Sao-Paulo au Brésil n'a pas pu être déterminée (Magaldi, 1967).

Le nombre de personnes infectées lors de ces épisodes est le plus souvent faible, situé entre 2 et 37 pour 18 des 19 épisodes rapportés.

En France, un seul épisode de cas-groupés d'origine alimentaire a été rapporté (Haeghebaert, 2002). Cinq personnes d'une même famille mais habitant des régions différentes ont présenté des signes cliniques d'infection toxoplasmique aiguë (fièvre, ganglions, asthénie). Le diagnostic a été confirmé par la sérologie (présence d'IgG, indice IgM très élevé et avidité des IgG faibles). Ces 5 personnes avaient partagé un repas dans le même restaurant quelques semaines auparavant avec consommation de gigot d'agneau peu cuit.

Tableau 21 : Cas groupés de toxoplasmose en fonction de l'origine

Années	Pays	Nombre de cas	Population Expression clinique	Origine suspectée	Critères *	Références
Origine alimentaire						
1968	USA, New York	5	5 adultes jeunes étudiants d'une même université 5 formes symptomatiques aiguës (5 syndromes mononucléosiques)	Hamburger avec de la viande de bœuf (porc ou mouton également possible, mais nié par le producteur)	ED	Kean, 1969
1974	USA, Pennsylvanie	8	19 personnes ayant partagé un repas de mariage 4 formes symptomatiques aiguës (4 formes lymphadénopathiques, 1 syndrome pseudo-grippal) 4 formes asymptomatiques (sérologies positives)	Viande de bœuf consommée crue	ED	Lord, 1975
1975		5	Famille (7 personnes) 5 formes symptomatiques aiguës dont 1 rétinohoroïdite)	Viande de mouton consommée peu cuite	ED	Masur, 1978
Probablement 1976 non précisé dans l'article	Angleterre Londres	3	7 personnes ayant partagé le repas incriminé 3 malades partageant aussi un appartement 3 formes symptomatiques aiguës (2 formes lymphadénopathiques, 1 paucisymptomatique : céphalée)	Viande de mouton consommée peu cuite	ED	Fertig, 1977
1978	USA, Californie	10	Famille (24 personnes) 1 rétinohoroïdite 9 formes asymptomatiques (sérologies positives)	Lait de chèvre cru de l'élevage familial	EA	Sacks, 1982
1980	USA	2	2 hommes adultes jeunes zoobiologistes et chasseurs. 2 formes symptomatiques aiguës (lymphadénopathies)	Viande de cervidés consommée peu cuite ou contacts directs avec des viscères et des liquides biologiques de cervidés	ED	Sacks, 1983
1979	Australie	5	Famille (6 personnes)	Viande de mouton	ED	De Silva, 1984

					consommée crue			
Non précisé dans l'article Publié en 1986	Irlande	3		4 enfants symptomatiques (hépatites avec évidence sérologique de toxoplasmose pour les 4 enfants et d'hépatite pour 3 enfants) 1 (mère) asymptomatique (sérologie positive)	Viande de bœuf consommée peu cuite	ED	Humphrey, 1986	
1988	Grande Bretagne Ecosse	2		Famille (4 personnes, 2 parents, 2 enfants) 2 formes symptomatiques aiguës (2 lymphadénopathies) 1 asymptomatique (sérologie positive)	Lait de chèvre cru de l'élevage familial	ED + P, (isolement de <i>T gondii</i> dans le lait des chèvres et dans les tissus d'un chevreau	Skinner, 1990	
1993	Portugal	17		Participants à une fête (nombre non précisé) 17 formes symptomatiques aiguës (16 syndromes pseudo-grippaux, 1 rétinocoroïdite)	Viande de mouton consommée crue	ED	Bonametti, 1996	
2 épisodes 1) 1994 2) 1995	Corée du Sud	1) 3 2) 5		1) Groupe de 6 amis , 3 formes symptomatiques aiguës (3 rétinocoroïdites) 2) bataillon de soldats, 5 formes symptomatiques aiguës (5 lymphadénopathies)	1) rate et foie de sanglier consommés crus 2) foie et viande de porc consommés crus.	1)ED 2)ED	Choi, 1997	
2001	France	5		Famille de 5 personnes ayant partagé un repas au restaurant 5 formes symptomatiques aiguës	Viande d'agneau consommée peu cuite	ED	Haeghebaert, 2002	
Origine hydrique								
1979	Panama	35		Compagnie de 98 soldats 32 formes symptomatiques aiguës 3 asymptomatiques (sérologies positives)	Consommation d'eau d'un ruisseau dans la jungle	ED	Benenson, 1982	

1994-1995	Canada Colombie britannique	100 identifiés estimés entre 2894-7718	Population de la province « Greater Victoria », surtout de la ville de Victoria (321 585 habitants) 63 formes symptomatiques aiguës dont 19 rétinohoroidites 37 femmes enceintes asymptomatiques	Eau de distribution	EA	Bowie, 1997
Contact avec des chats infectés, exposition à des oocystes						
1976	Alabama, USA	11	Famille (30 personnes) 7 formes symptomatiques aiguës dont 1 enfant avec une atteinte neurologique sévère (association toxoplasmose, toxocarose) 3 formes asymptomatiques avec sérologie en faveur d'une infection récente.	Géophagie	ED	Stagno, 1980
1977	USA, Georgie	37	86 clients d'un centre équestre 35 formes symptomatiques aiguës 2 asymptomatiques (sérologies positives)	Séjour dans une écurie fréquentée par des chats	EA P (oocystes isolés chez des chatons et des souris)	Teutsch, 1979
1979	USA, Illinois	9	Famille (13 personnes, 2 parents, 11 enfants) 6 formes symptomatiques aiguës 3 asymptomatiques (sérologies positives)	Contact avec des chats infectés	ED	Shenep, 1984
Non déterminée						
1965	Brésil, Etat de Sao Paulo	36	81 séminaristes d'un même séminaire 26 formes symptomatiques aiguës 10 asymptomatiques (sérologies positives)	Non déterminé		Magaldi, 1967

* Critères permettant de suspecter ou confirmer l'origine de la contamination

ED : épidémiologie descriptive, suspicion sur la base d'une description des origines possibles de contamination

EA : épidémiologie analytique, association statistiquement significative entre l'origine suspectée et l'infection

P : parasitologique.

Références bibliographiques

- Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med.* 1982;307:666-9.
- Bonametti AM, Passos JN, da Silva EM, Bortolero AL. Outbreak of acute toxoplasmosis transmitted through the ingestion of ovine raw meat. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1996;30:21-5.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. *Lancet.* 1997;350:173-7.
- Choi WY, Nam HW, Kwak NH, Huh W, Kim YR, Kang MW, Cho SY, Dubey JP. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1997;175:1280-2.
- De Silva LM, Mulcahy DL, Kamath KR. A family outbreak of toxoplasmosis: a serendipitous finding. *J Infect.* 1984;8:163-7.
- Fertig A, Selwyn S, Tibble MJ. Tetracycline treatment in a food-borne outbreak of toxoplasmosis. *Br Med J.* 1977;1:1064.
- Humphreys H, Hillary IB, Kiernan T. Toxoplasmosis: a family outbreak. *Ir Med J.* 1986;79:191.
- Haeghebeart S, Le Querrec, Bouvet P, Gallay A, Espiè E, Vaillant V. Les toxi-infections alimentaires collectives en 2001. *BEH* 2002;50:249-53.
- Kean BH, Kimball AC, Christensen WN. An epidemic of acute toxoplasmosis. *JAMA.* 1969;208:1002-4.
- Lord WG, Boni F, Bodek A, Hilberg RW, Rosini R, Clark FB. Toxoplasmosis-Pennsylvania. *Morbid Mortal.* 1975;24:285-6.
- Magaldi C, Elkis H, Pattoli D, de Queiroz JC, Coscina AL, Ferreira JM. [Outbreak of toxoplasmosis in a Paulist seminary in Braganza (Sao Paulo state). Clinical, serological and epidemiological aspects]. *Rev Saude Publica.* 1967;1:141-71.
- Masur H, Jones TC, Lempert JA, Cherubini TD. Outbreak of toxoplasmosis in a family and documentation of acquired retinochoroiditis. *Am J Med.* 1978;64:396-402.
- Sacks JJ, Roberto RR, Brooks NF. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *JAMA.* 1982;248:1728-32.
- Sacks JJ, Delgado DG, Lobel HO, Parker RL. Toxoplasmosis infection associated with undercooked venison. *Am J epidemiol.* 1983;118:832-8.
- Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JM, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scand J Infect Dis.* 1990;22:359-61.
- Shenep JL, Barenkamp SJ, Brammeier SA, Gardner TD. An outbreak of toxoplasmosis on an Illinois farm. *Pediatr Infect Dis.* 1984;3:518-22.
- Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. *Pediatrics.* 1980;65:706-12.
- Teutsch SM, Juranek DD, Sulzer A, Dubey JP, Sikes RK. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *N Engl J Med.* 1979;300:695-9.

Question 15 : que sait-on de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse et en dehors du contexte de la grossesse ?

Responsable de la question : Mme Goulet
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Ancelle

La toxoplasmose étant une infection le plus souvent asymptomatique, son incidence ne peut se limiter à un recensement de cas cliniques mais elle peut être obtenue par des études de cohorte de populations séronégatives bénéficiant d'un suivi sérologique. Elle peut aussi être estimée à partir de données de séroprévalence par âge à l'aide des modèles mathématiques.

1. Incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse

L'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse a été estimée en France par des études réalisées auprès de femmes enceintes bénéficiant d'un dépistage sérologique, et avec l'aide de modèles utilisant les données de séroprévalence par âge chez des femmes en âge de procréer.

1.1. Etudes basées sur le dépistage sérologique

Ces études ont été réalisées avec des méthodologies différentes qui rendent difficiles les comparaisons :

- Différences portant sur la définition d'une séroconversion. En plus des séroconversions "certaines" documentées par un passage d'une sérologie négative à une sérologie positive au cours de la grossesse, la plupart des auteurs considèrent comme séroconversions, l'augmentation significative de taux d'anticorps et/ou la présence d'IgM (séroconversion que l'on peut qualifier de "probable") et certains prennent en compte également une sérologie unique basée sur un taux élevé d'anticorps (séroconversion que l'on peut qualifier de "possible").
- Différences de durée de suivi : certains auteurs prennent en compte la durée de suivi des femmes séronégatives, et font des extrapolations sur une période de 9 mois. Ces extrapolations ne sont pas toujours rigoureuses et peuvent augmenter l'incidence artificiellement.
- Différences d'origine des populations étudiées, la séroprévalence étant différente entre les régions. Au sein d'une même région, la présence d'une proportion importante de femmes d'origine étrangère peut modifier également la prévalence et le taux de séroconversion.

Pour comparer ces études, les résultats ont été détaillés, en fonction des critères utilisés par les auteurs. La prise en compte des séroconversions certaines et probables nous paraît la plus pertinente pour estimer l'incidence des séroconversions.

Dans 2 études réalisées par Desmonts en 1965 avec une méthodologie différente, sur des populations de femmes suivies dans des maternités parisiennes, l'incidence observée des séroconversions certaines et probables chez les femmes enceintes séronégatives variait entre 30 et 44/1000. Cela correspond à une incidence de 5 à 7/1000 pour l'ensemble des grossesses (sachant que 84% de femmes étaient séropositives) (Tableau 22) (Desmonts, 1965). Ces résultats ont servi de base au calcul coût-bénéfice sur lequel s'est appuyée l'étude médico-économique concluant à la rentabilité d'un dépistage et à la mise en place d'un programme de dépistage à partir de 1978 (Chevallier, 1974). L'incidence de séroconversion chez les femmes séronégatives utilisée dans cette étude est de 45/1000.

Trois autres études ont été réalisées depuis 1978 dans des maternités qui assuraient un suivi sérologique des femmes séronégatives auxquelles étaient délivrées des recommandations de prévention (Lapierre, 1983 ; Excler, 1985 ; Jeannel, 1988) (Tableau 22). Ces 3 études s'inscrivent donc dans un contexte de prise en charge des femmes enceintes qui a évolué et dans une situation épidémiologique qui s'est modifiée, les taux de séropositivité ayant fortement diminué (environ – 25 %) de 1960 à 1980.

Une étude d'une méthodologie entièrement différente (enquête transversale réalisée sur toutes les femmes ayant accouché en France) a été réalisée en 1995 par Ancelle (1996a). Cette enquête a été réalisée au cours de l'Enquête Nationale Périnatale 1995 sur les 13459 femmes ayant accouché en France, pendant la semaine du 30/1/95 au 5/2/95 (Blondel, 1997). Dans le questionnaire de cette enquête ont été inclus des questions sur la prise d'un traitement contre la toxoplasmose et ses justificatifs que l'enquêteur devait compléter à partir des dossiers médicaux. Le statut sérologique a été recueilli pour 12 928 femmes.

Dans cette étude, 89 séroconversions ont été rapportées (Ancelle, 1996a) :

- 32 séroconversions certaines (avec mention des dates du résultat sérologique négatif et du premier résultat sérologique positif) ;
- 46 séroconversions probables : séroconversions avec dates de prélèvement non documentées (20 cas), ascension des taux d'IgG ou présence d'IgM (26 cas) ;
- 11 séroconversions possibles : femmes ayant été traitées pour une séroconversion toxoplasmique sans aucune précision sur les critères diagnostics.

On obtient une incidence variant de 2,4 (séroconversions certaines) à 5,8 (séroconversions certaines ou probables) pour 1000 grossesses.

Cette étude a deux biais qui vont dans le sens opposé :

- i) une sous estimation due à la non prise en compte des cas de femmes ayant eu un avortement spontané ou une ITG consécutive à une infection toxoplasmique du fœtus,
- ii) une surestimation due à l'inclusion d'infections antérieures à la grossesse parmi les cas définis comme probables.

Au final, les estimations d'incidence de la toxoplasmose réalisées à partir de ces 4 études françaises sont proches. L'incidence des séroconversions (certaines et probables) varie de 2,4 à 6,0 cas pour 1000 grossesses. La reproductibilité des résultats par des méthodes très différentes est en faveur de la validité de ces estimations. On retiendra donc comme la plus appropriée l'estimation obtenue par l'étude d'Ancelle (Ancelle, 1996a), qui est la plus récente et la seule à donner des estimations nationales à partir d'un échantillon représentatif de femmes enceintes, soit une incidence de 2,4 à 5,8 pour 1000 grossesses et une proportion de séroconversion de 5,4 à 13,2/1000 femmes séronégatives.

Ancelle a montré également que l'incidence observée chez les jeunes femmes de moins de 20 ans était particulièrement élevée (20,2 pour 1000 grossesses) (Tableau 24). Indépendamment de l'âge, l'incidence était deux fois plus élevée chez les primipares que chez les multipares (Tableau 25). Aucune différence significative de l'incidence n'a été mise en évidence pour les autres variables étudiées : niveau d'étude, profession de la femme, profession du conjoint et nationalité.

1.2. Etude basée sur la modélisation

Une estimation du taux d'incidence moyen de la toxoplasmose pour les femmes entre 16 et 45 ans a été réalisée à l'aide d'un modèle mis au point par Papoz à partir de données de séroprévalence par âge, obtenu en 1983 sur un échantillon de femmes françaises âgés de 16 à 45 ans (Papoz, 1986). Par cette méthode l'incidence théorique annuelle de séroconversion a été estimée en 1983 à 10,6 pour 1000 femmes. C'est une estimation de l'incidence de la toxoplasmose dans une population d'âge identique à celui de la population des femmes enceintes, et en dehors de toute prévention primaire (c'est-à-dire n'ayant pas eu de recommandations pour éviter de contracter la toxoplasmose).

En utilisant le même modèle avec les données de l'enquête Nationale Périnatale 1995, Ancelle a estimé l'incidence théorique de séroconversions à 9,4 pour 1000 femmes d'âge identique à l'âge de la population des femmes enceintes (Ancelle, 1996b). Cette méthode présente des limites. Elle suppose que l'incidence de la toxoplasmose est identique pour toutes les classes d'âge et donc stable dans le temps ce qui n'est pas la réalité puisque la prévalence a baissé de 1970 à 1995 (cf. Question 11). D'autre part, ces séroprévalences correspondant à des contaminations bien antérieures à l'année étudiée, les résultats reflètent donc l'incidence des décennies antérieures et non pas l'incidence de l'année où les femmes ont été prélevées. L'incidence ayant baissé depuis 1970, il n'est donc pas surprenant que l'incidence estimée par le modèle de Papoz en 1983 soit plus importante que celle estimée par Ancelle en 1995 par la même méthode.

En incluant les données de l'Enquête Nationale Périnatale 2003, il a été possible d'estimer l'incidence à partir d'un modèle mathématique, appelé modèle catalytique (Muench, 1959) plus approprié que celui de Papoz. A partir du modèle catalytique qui exprime l'incidence en fonction du temps et de l'âge, on estime que l'incidence annuelle chez les femmes de 15 à 45 ans en 1995 est comprise entre 4,1 et 8,5 cas pour 1000 femmes (Berger, 2005). En appliquant les incidences par âge, estimées par le modèle catalytique, à la population de femmes enceintes de 1995 comme l'avait fait Ancelle, on obtient une moyenne annuelle de séroconversions au cours de la grossesse de 3,0 pour mille qui est trois fois inférieure à l'estimation d'Ancelle : (9,4 pour mille).

2. En dehors du contexte de grossesse

2.1. Population générale

L'incidence par âge dans la population générale a pu être estimée dans l'Etude "Morbidité Mortalité d'origine alimentaire en France" réalisée par l'Institut de Veille Sanitaire (Vaillant, 2003), à partir des données de séroprévalence de l'enquête Nationale Périnatale 1995. Le modèle utilisé est celui de Papoz (1986) appliqué à la population générale, sous l'hypothèse que la probabilité d'avoir un contact avec *Toxoplasma gondii* est identique chez les hommes et chez les femmes, et quel que soit l'âge.

Pour chaque âge, un taux de séroconversion (ou incidence) parmi les femmes séronégatives est estimé ainsi que sa variance associée. Une incidence moyenne annuelle, pondérée par l'inverse des variances, a été estimée à 2,66 %. La pondération par les inverses des variances a pour but de donner un poids moindre à une estimation dont la variance est importante. Les détails de calcul sont présentés dans le Tableau 26.

2.2. Chez les patients immunodéprimés (VIH+)

Chez les malades immunodéprimés, les toxoplasmoses graves correspondent généralement à des réactivations d'infections acquises antérieurement et très rarement à des primo-infections. Deux études françaises (Derouin, 1991 ; Candolfi, 1992) ont été réalisées sur des populations de sujets VIH+ séronégatifs pour la toxoplasmose ayant eu un suivi sérologique pendant plusieurs mois. Dans ces 2 études, le nombre de sujets suivis est très faible (52 et 68), et l'incidence annuelle estimée est peu précise : 1,1 % [0- 3,4 %] et 2,4 % [0-5,5 %].

Tableau 22 : Estimation de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse avant la mise en place d'un programme de dépistage en France

	Etude 1	Etude 2
Lieu de l'étude	Paris	Paris
Méthodologie d'étude	rétrospective	prospective
Population	femmes venant d'accoucher	suivi de femmes enceintes séronégatives
Période de l'étude	1959-1963 ^a	
Nombre de femmes enceintes	2228	4988 ^b
Nombre de séronégatives	363 ^b	813
Nombre observé de séroconversions certaines	8	
Nombre observé de séroconversions probables	3 ^c	36 ^d
Nombre observé de séroconversions possibles		21 ^e
<u>Incidence chez 1000 femmes séronégatives</u>		
Incidence de séroconversions certaines pour 1000 femmes enceintes séronégatives	22,1	
Incidence de séroconversions certaines ou probables pour 1000 femmes enceintes séronégatives	30,4	44,3
Incidence de séroconversions certaines, probables ou possibles pour 1000 femmes enceintes séronégatives		70,1
<u>Incidence pour 1000 grossesses</u>		
Incidence de séroconversions certaines pour 1000 grossesses	3,6	
Incidence de séroconversions certaines ou probables pour 1000 grossesses	4,9	7,2
Incidence de séroconversions certaines, probables ou possibles pour 1000 grossesses		11,4

(Desmonts 1965)

^anon indiquée dans la méthodologie, déduites d'après les observations décrites dans l'article

^bestimée à partir du taux de séronégatives obtenu sur 14828 femmes enceintes (16,3%)

^caugmentation importante du taux d'anticorps (1/100 à 1/1000)

^dséroconversions certaines ou probables

^evirage de réaction "incertain"

Tableau 23 : Estimation de l'incidence de la toxoplasmose au cours de la grossesse chez la femme enceinte depuis la mise en place d'un programme de dépistage en France

Premier auteur	Lapierre, 1983	Excler, 1985	Jeannel, 1988	Ancelle, 1996a
Lieu de l'étude	Paris	Lyon	Région parisienne	France
Femmes de nationalité française	?	?	40%	86%
Population	Femmes enceintes ayant eu une sérologie toxoplasmique	Femmes enceintes ayant eu une sérologie toxoplasmique	Echantillon de femmes enceintes ayant eu une sérologie toxoplasmique	Ensemble des femmes ayant accouché en France sur une période d'une semaine
Années de l'étude	1977-82	1980-82	1981-83	1995
Nombre de femmes enceintes	15 132	30 851	5490 ^a	12928
Nombre de séronégatives	6 799	17 215	2216	5911
Séroprévalence	55%	44,2%	60%	54%
Nombre observé de séroconversions certaines	39	-	26	32
Nombre observé de séroconversions probables	39	147 ^b	7	46
Nombre observé de séroconversions possibles	3	28	-	11
Incidence chez 1000 femmes séronégatives				
Incidence de séroconversions certaines	5,7	-	11,7	5,4
Incidence de séroconversions certaines ou probables	11,5	8,5	14,9 ^c	13,2
Incidence de séroconversions certaines, probables ou possibles	11,9	10,2	-	15,1
Incidence pour 1000 grossesses				
Incidence de séroconversions certaines	2,6	-	4,7	2,4
Incidence de séroconversions certaines ou probables	5,4	4,8	6,0	5,8
Incidence de séroconversions certaines, probables, ou possibles	5,4	5,7	-	6,6

^a population d'étude estimée à partir de la proportion de femmes d'origine étrangère et des taux de prévalence selon l'origine

^b séroconversions certaines ou probables, le nombre de séroconversions certaines n'ayant pas été rapporté

^c si l'on tient compte des femmes perdues de vue au cours de leur grossesse, l'incidence est de 16/1000

Tableau 24 : Taux de prévalence et d'incidence de la toxoplasmose (infections certaines, probables et possibles) en fonction de l'âge. Enquête nationale périnatale, France, 1995

Classe d'âge	Effectif	Prévalence	Nb Cas	Incidence 1000 grossesses
14-19	247	42,8	5	2,02
20-24	2209	45,7	18	0,81
25-29	4952	51,7	29	0,59
30-34	3955	59,3	27	0,68
> 35 ans	2456	61,7	8	0,45
d.m. (1)	141	54,1	2	1,42
Total	13459	54,3	89	0,66

(Ancelle, 1996a)

(1) d.m. : données manquantes

Tableau 25 : Effet de la parité sur le risque de séroconversion toxoplasmique chez les femmes séronégatives en début de grossesse. Enquête nationale périnatale, France, 1995

Classe d'âge	Parité	Effectif (1) N	Séroconversions n	Incidence %	RR	I.C. 95%
moins de 25 ans	primipare	783	16	2	1,48	0,6 - 3,6
	multipare	508	7	1,4		
25 - 29	primipare	925	19	2,1	2,89	1,4 - 6,2
	multipare	1405	10	0,7		
30 - 34	primipare	320	9	2,8	1,97	0,9 - 4,3
	multipare	1258	18	1,4		
plus de 34 ans	primipare	89	1	1,1	1,01	0,1 - 8,2
	multipare	632	7	1,1		
Total	primipare	2117	45	2,1	2,03	1,3 - 3,2
	multipare	3803	44	1,2	(2)	

(Ancelle, 1996b)

1: nombres de femmes séronégatives en début de grossesse (incluant les cas de séroconversion certaine et probable, et excluant 80 données manquantes sur l'âge et la parité)

2: risque relatif ajusté sur l'âge (RR brut = 1,92 ; test d'interaction $p=0,6$)

Tableau 26 : Utilisation du modèle de Papoz pour estimer l'incidence par classe d'âge dans la population générale : détail des calculs

Age (x_i)	Nombre de femmes (n_i)	Proportion de femmes enceintes (g_i)	Nombre de femmes séro négatives (n_{i0})	Pourcentage de femmes séro négatives ($q_i = n_{i0}/n_i$)	Estimation de r_i (A)	Variance de r_i (s_i^2) (B)	Inverse de la variance de r_i ($1/s_i^2$)	(r_i/s_i^2)	Incidence théorique (C)
16	9	0,0007	3	0,333	0,0664	0,0007567	1321,58	87,699	1,7759
17	33	0,0026	15	0,455	0,0453	0,0001147	8719,98	395,196	1,7287
18	72	0,0056	48	0,667	0,0223	0,0000205	48806,00	1087,106	1,6826
19	112	0,0087	64	0,571	0,0290	0,0000175	57180,36	1659,599	1,6379
20	194	0,0152	108	0,557	0,0289	0,0000097	103329,62	2982,264	1,5943
21	296	0,0231	150	0,507	0,0318	0,0000070	143081,35	4557,082	1,5518
22	389	0,0304	228	0,586	0,0240	0,0000036	279895,67	6714,944	1,5105
23	512	0,0400	274	0,535	0,0268	0,0000030	329237,75	8828,951	1,4703
24	708	0,0553	380	0,537	0,0256	0,0000020	497606,79	12736,141	1,4312
25	797	0,0623	436	0,547	0,0238	0,0000016	631357,54	15051,395	1,3931
26	871	0,0680	437	0,502	0,0262	0,0000016	625169,59	16366,004	1,3560
27	1028	0,0803	503	0,489	0,0261	0,0000013	757048,63	19778,650	1,3199
28	1048	0,0819	470	0,448	0,0282	0,0000014	707494,92	19974,904	1,2848
29	1041	0,0813	466	0,448	0,0273	0,0000013	749960,23	20500,174	1,2506
30	954	0,0745	410	0,430	0,0278	0,0000015	684584,10	19002,474	1,2173
31	864	0,0675	343	0,397	0,0294	0,0000017	580201,25	17035,685	1,1849
32	752	0,0587	324	0,431	0,0260	0,0000016	614431,67	15956,252	1,1533
33	699	0,0546	261	0,373	0,0294	0,0000021	481505,16	14161,669	1,1226
34	556	0,0434	219	0,394	0,0270	0,0000023	441213,35	11926,345	1,0928
35	486	0,0380	196	0,403	0,0256	0,0000024	423805,36	10854,439	1,0637
36	385	0,0301	159	0,413	0,0243	0,0000027	368715,41	8947,142	1,0354
37	269	0,0210	106	0,394	0,0249	0,0000040	251846,52	6259,748	1,0078
38	189	0,0148	71	0,376	0,0254	0,0000058	172895,81	4397,750	0,9810
39	171	0,0134	59	0,345	0,0269	0,0000069	144696,83	3894,718	0,9549
40	133	0,0104	44	0,331	0,0273	0,0000090	111187,06	3032,640	0,9294
41	92	0,0072	24	0,261	0,0322	0,0000172	58280,74	1879,132	0,9047
42	71	0,0055	33	0,465	0,0181	0,0000089	112806,01	2039,174	0,8806
43	34	0,0027	9	0,265	0,0304	0,0000415	24075,01	732,779	0,8572
44	22	0,0017	7	0,318	0,0257	0,0000478	20938,25	537,903	0,8344
45	14	0,0011	7	0,500	0,0153	0,0000342	29236,96	446,894	0,8122
	12801	1	5854		0,8474	0,0011313	9460629,5 0	251824,854	

$$(A) \hat{r}_i = 1 - \exp\left(\frac{\ln(q_i)}{x_i}\right)$$

$$(B) s_i^2 = \frac{(1 - q_i)(\hat{r}_i - 1)^2}{n_i x_i^2 q_i}$$

On calcule alors $\hat{r} = \frac{1}{\sum_{x_i=16}^{45} \frac{1}{s_i^2}} \sum_{x_i=16}^{45} \frac{\hat{r}_i}{s_i^2} = 2,66\%$

$$(C) 100 \cdot \hat{r} \cdot (1 - \hat{r})^{x_i - 1}$$

Références Bibliographiques

- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carne B. La Toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une Enquête Nationale Périnatale. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. 1996a;51:227-229.
- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carne B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une enquête nationale périnatale. France, Saint-Maurice, 1996b. Rapport du Réseau National de Santé Publique (34p).
- Blondel B, Breart G, Du Mazaubrun C, Badeyan G, Wcislo M, Lordier A, Matet N. La situation périnatale en France en 1995. Evolution entre 1981 et 1995. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod (Paris). 1997;26:770-780.
- Candolfi E, Partisani ML, De Mautort E, Bethencourt S, Frantz M, Kien T, Lang JM. Seroprevalence de la toxoplasmose chez 346 sujets infectés apr le VIH dans l'Est de la France. Suivi sérologique des sujets non contaminés par *Toxoplasma gondii*. Presse Med. 1992;21:394-395.
- Chevallier M. Etude Coût-Avantage D'Un Système De Prévention De La Toxoplasmose Congénitale. Bulletin de statistiques "Santé-Sécurité sociale". 1974;3:71-75.
- Derouin F, Thulliez P, Garin YJ. Interêt et limites de la sérologie de toxoplasmose chez les sujets VIH+ Pathol Biol (Paris). 1991;39:255-259.
- Desmonts G, Couvreur J, Ben Rachid MS. Le toxoplasme, la mère et l'enfant. Arch. Fr. Pediatr. 1965;22:1183-1200.
- Excler JL, Piens MA, Maisonneuve H, Pujol E; Garin JP. Dépistage de la toxoplasmose acquise chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né. Enquête menée dans les maternités des Hospices Civils de Lyon pour les années 1980-1981-1982. Lyon Médical. 1985;253:33-38
- Jeannel D, Niel G, Costagliola D, Danis M, Traore BM, Gentilini M. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris Area. Int. J. Epidemiol. 1988;17:595-602.
- Lapierre J, Tourte-Schaefer C, Heyer F, Nessmann C, Timbart MF, Beaujouan L. Toxoplasmose congénitale. Réflexions à propos de la surveillance sérologique de quinze mille femmes enceintes. Sem. Hop. 1983;59:2741-2745.
- Muench H Catalytic models in epidemiology. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1959.
- Papoz L, Simondon F, Saurin W, Sarmini HA. Simple Model Relevant to Toxoplasmosis Applied to Epidemiologic Results in France. Am. J. Epidemiol. 1986;123:154-161
- Vaillant V, Baron E, De Valk H. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. France, Saint-Maurice. Rapport de l'Institut de veille sanitaire, 2003, pp 169-174. (190p).

Question 16 : quel est l'impact en termes de santé publique de la toxoplasmose en France (morbidité/mortalité) ?

Responsable de la question : Mme Goulet
Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Binquet

1. Introduction

Il n'y a pas de données disponibles sur le nombre de cas annuel de toxoplasmose diagnostiqués en France, la toxoplasmose étant le plus souvent asymptomatique. Malgré l'importance du programme de dépistage de la toxoplasmose de la femme enceinte, il n'existe aucune source d'information (Déclaration Obligatoire, registre) permettant de connaître le nombre de séroconversions per-gestationnelles en France.

Les seules sources d'information disponibles sur la morbidité liée à la toxoplasmose concernent :

- les hospitalisations pour toxoplasmose (données du PMSI).
- la toxoplasmose chez les sujets infectés par le VIH est notifiée comme pathologie inaugurale du SIDA (Déclaration Obligatoire) et enregistrée dans la base de données du système d'information des centres d'information et de soins sur l'immunodéficience humaine (CISIH).
- les données d'activité des laboratoires de diagnostic anténatal : l'activité de diagnostic prénatal de la toxoplasmose figure dans le rapport annuel transmis réglementairement à la DDASS. Ces rapports d'activité centralisés au Ministère de la Santé ne sont pas informatisés et n'ont pas donné lieu à des publications régulières.

Une estimation de la morbidité dans la population générale a été réalisée par modélisation à partir des données de séroprévalence de l'enquête Nationale Périnatale de 1995 (Vaillant, 2004).

2. Mortalité

2.1. Mortalité par les certificats de décès

Le Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès de l'INSERM (CépiDc-Inserm) est chargé de l'élaboration et de la diffusion de la Statistique nationale des causes de décès. La statistique des causes de décès est établie à partir de la certification des causes de décès par les médecins. Le médecin certificateur peut déclarer plusieurs causes médicales pour un même décès dans la partie inférieure du certificat de décès qui comporte les informations médicales divisées en deux sections⁶.

La recherche a porté sur les statistiques 1995-1998 et sur les décès codés en cause initiale ou en causes associées selon un code de la Classification Internationale des Maladies CIM9 correspondant aux pathologies attribuables aux agents infectieux retenus dans l'étude. Le nombre annuel de cas décédés avec une toxoplasmose a fortement diminué entre 1995 et 1998. Les décès par toxoplasmose survenant principalement chez des sujets atteints de SIDA sont quasiment toujours déclarés en cause associée (96% des déclarations) et non

⁶ La première section du certificat de décès porte sur la cause du décès avec deux mentions: "cause initiale" et "cause immédiate de la mort". La cause initiale de décès est définie comme "la maladie ou le traumatisme qui a déclenché l'état morbide conduisant directement au décès". La cause immédiate est l'affection terminale entraînée par la cause initiale. La seconde, intitulée "renseignements complémentaires", permet de déclarer d'éventuels états morbides ou physiologiques associés (causes associées).

pas en cause initiale de décès. La diminution observée en 1997 s'explique par les progrès thérapeutiques du SIDA au cours de ces dernières années (chimio prophylaxie de la toxoplasmose, traitements par les anti-protéases).

Tableau 27 : Décès par toxoplasmose comme cause initiale ou cause associée de décès (CépiDc-Inserm, 1995 – 1998)

Code CIM 9*	Maladie	1995	1996	1997	1998
130	Toxoplasmose				
	Cause initiale	9	4	4	2
	Cause associée 1	265	190	48	57
	Cause associée 2	46	42	14	14
	Total	320	236	66	73

* 9^{ème} Classification Internationale des Maladies

2.2. Estimation du nombre annuel de mortalité fœtale

Les estimations sont obtenues en appliquant les résultats obtenus dans la cohorte lyonnaise dans 2 publications : avortements spontanés et IVG (Wallon, 2002), morts-nés (Wallon, 2004).

2.2.1. Avortement spontanés (AS)

Dans les 8 premières semaines de grossesse, le taux d'infections fœtales varie de 0 à 1,8% au cours des 10 premières semaines (Hohfeld, 1994). Pendant le premier trimestre de grossesse, ces infections sont graves et donnent lieu le plus souvent à des avortements spontanés. Dans la cohorte lyonnaise, 15 avortements spontanés ont été observés sur 1418 toxoplasmoses per-gestationnelles recensées entre 1988 et 2000. L'origine toxoplasmique a été établie pour 3/6 des produits d'AS étudiés, soit 50% des cas, ce qui fait une proportion de 0,5% d'AS d'origine toxoplasmique ($(15 \cdot 0,5) / 1418$). Si l'on applique cette proportion au nombre de séroconversions estimées en France : 2676 cas en 2000 (cf. paragraphe 3.2.2.) on estime à 14 le nombre de AS annuel ($2676 \cdot 0,005$).

2.2.2. Interruptions volontaires de grossesse (IVG)

Dans la cohorte lyonnaise, la proportion d'IVG est de 0,4% (6 IVG / 1418 toxoplasmoses per-gestationnelles) ce qui, rapporté aux 2676 cas annuels de séroconversions per-gestationnelles estimées en France ($2676 \cdot 0,004$), donne une estimation annuelle de 11 IVG. Cette estimation basée sur les données d'un pôle de référence sur la toxoplasmose est sans doute sous-estimée. En effet, il semblerait que le recours de l'IVG pour une séroconversion toxoplasmique détectée au cours des 2 premiers mois soit plus fréquent dans des populations suivies par des équipes médicales moins familiarisées avec la prise en charge des toxoplasmoses per-gestationnelles (étude postale auprès de médecins généralistes et de gynécologues libéraux, Binquet : communication personnelle).

2.2.3. Mort-nés

Quatre enfants mort-nés ont été recensés dans la cohorte lyonnaise, dont 3 avec une infection toxoplasmique établie. La proportion de mort-nés d'origine toxoplasmique est donc de 0,2% (3 sur 1506 toxoplasmoses per-gestationnelles), ce qui, rapporté aux 2676 cas annuels de séroconversions per-gestationnelles estimées en France, correspond à 5 enfants mort-nés.

2.2.4. Interruptions médicales de grossesse (IMG)

Le nombre d'IMG consécutives à un diagnostic anténatal, rapporté par les laboratoires de diagnostic anténatal en 2000, est de 17⁷.

Au total on estime donc à 47 (14 AS+11 IVG+17 IMG+5 mort-nés) le nombre de grossesses non menées à terme annuelles consécutives à une contamination toxoplasmique.

3. **Morbidité**

3.1. Sources de données disponibles

3.1.1. Morbidité par le Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information (PMSI)

Le PMSI est une base nationale de données hospitalières provenant de tous les hôpitaux de court séjour, publics et privés français. Les informations administratives et médicales relatives à un patient sont recueillies et inscrites dans un résumé d'unité médicale (RUM). Les informations médicales sont codées selon la 10^{ème} édition de la Classification Internationale des Maladies (CIM 10) avec une hiérarchie de diagnostics : diagnostic principal, diagnostic relié au diagnostic principal, diagnostics associés. Le diagnostic principal au niveau du RUM est le diagnostic ayant mobilisé le coût le plus élevé. La validité des données extraites pour déterminer le nombre de cas hospitalisés pour une des infections étudiées est limitée par les biais d'information liés à un diagnostic erroné, à l'inexactitude ou à l'imprécision du codage ou de la saisie (diagnostic principal non confirmé, omission des diagnostics secondaires, codes de la CIM 10 mal interprétés, codage par une personne peu expérimentée ou connaissant mal la maladie responsable de l'hospitalisation). Les séjours mentionnant en diagnostic principal une toxoplasmose ont été extraits de la base nationale publique et privée pour les années 1998 à 2002, sur le site internet de la mission PMSI. Les résultats de l'année 1997 ne sont pas présentés car ils sont incomplets et que les erreurs de codage ont été fréquentes lors de la mise en place du système.

L'intérêt des données issues du PMSI n'est pas tant le nombre d'hospitalisations que l'on ne peut utiliser pour estimer la morbidité (certaines pathologies comme les encéphalites pouvant entraîner des hospitalisations à répétition et d'autres comme les manifestations ophtalmologiques, étant suivies en ambulatoire) que leur évolution dans le temps qui peut refléter les tendances évolutives de ces pathologies.

- Le nombre de méningo-encéphalites, après avoir baissé en 1999, a peu varié depuis et fluctue autour de 100 cas annuels. La diminution du nombre de méningo-encéphalites observée depuis 1998 est sans doute la conséquence de l'introduction des thérapies actives sur le VIH (et la généralisation de la prophylaxie en cas d'immunodépression profonde).
- Les affections ophtalmologiques (oculopathies et rétinopathies) qui ne nécessitent pas le plus souvent d'hospitalisation échappent pour la plupart à ce système. Le nombre d'hospitalisations pour manifestations oculaires (oculopathies et rétinites) varie entre 80 et 150 cas annuels.
- Le codage en toxoplasmose congénitale en diagnostic principal peut être réalisé devant une suspicion à la naissance ce qui implique que des cas non confirmés ultérieurement peuvent être comptabilisés. On observe une tendance à la baisse du nombre d'hospitalisations pour toxoplasmose congénitale de 1998 (299 cas) à 2002 (159 cas).

⁷ Dans la cohorte lyonnaise, il y a eu 16 interruptions de grossesse avec une infection toxoplasmique chez le fœtus, soit 1,06% des grossesses. Rapporté au 2676 séroconversions annuelles cela ferait 29 interruptions de grossesse (IVG+IMG) de fœtus ayant une infection congénitale ce qui cadre avec les estimations précédentes (11 IVG et 17 IMG).

Tableau 28 : Nombre d'hospitalisations avec une toxoplasmose codée en diagnostic principal PMSI

Code CIM 10*	Maladie	1998	1999	2000	2001	2002
B58.0	Oculopathie à <i>Toxoplasma</i>	23	35	26	19	33
B58.1	Hépatite à <i>Toxoplasma</i>	1	2	3	3	3
B58.2	Méningo-encéphalite à <i>Toxoplasma</i>	140	85	104	69	86
B58.3	Toxoplasmose pulmonaire	2	3	1	8	2
B58.8	Toxoplasmose avec atteinte d'autres organes	60	51	59	79	77
B58.9	Toxoplasmose, sans précision	217	244	243	184	171
H32.01	Rétinite à <i>Toxoplasma</i>	56	81	128	118	97
P37.1	Toxoplasmose congénitale	299	335	247	176	159
	Total	798	836	811	656	628

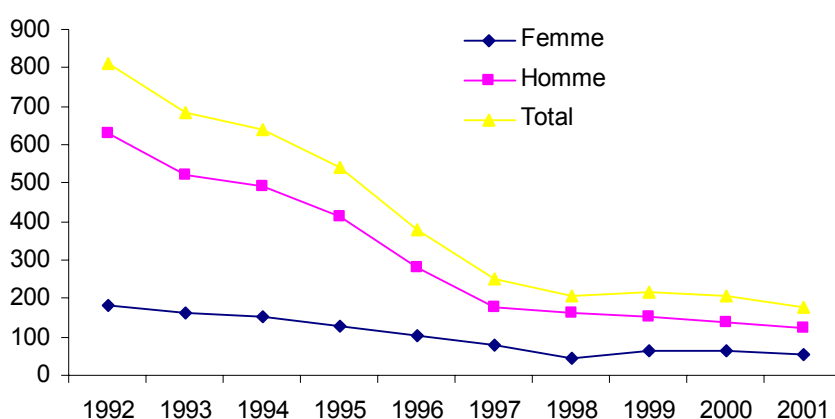
10^{ème} Classification Internationale des Maladies

3.1.2. Toxoplasmose chez les sujets infectés par le VIH

- *Fiche de déclaration obligatoire (DO) des cas de SIDA*

La liste des maladies à DO est fixée par décret (24 maladies sont actuellement à DO dont le SIDA). Les cas doivent être notifiés par tout docteur en médecine et chef de laboratoire au Médecin Inspecteur de Santé Publique de la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) du département de survenue de la maladie. Après validation, les fiches de déclaration de SIDA sont adressées par la DDASS à l'InVS qui réalise une analyse tous les 6 mois. Pour le SIDA, l'exhaustivité de la DO a été évaluée à 80-90%. La toxoplasmose cérébrale figure parmi les 23 pathologies inaugurales du SIDA mentionnées sur la fiche de déclaration. Le nombre des cas de SIDA avec toxoplasmose inaugurale a fortement diminué entre 1992 et 1997 (Figure 6), mais est stable depuis 1997 suite à la diffusion de la prophylaxie primaire, puis à l'introduction des multithérapies (Bourdillon, 1996).

Figure 6 : Evolution annuelle du nombre de cas de toxoplasmose cérébrale comme pathologie inaugurale des cas de SIDA chez l'homme et la femme



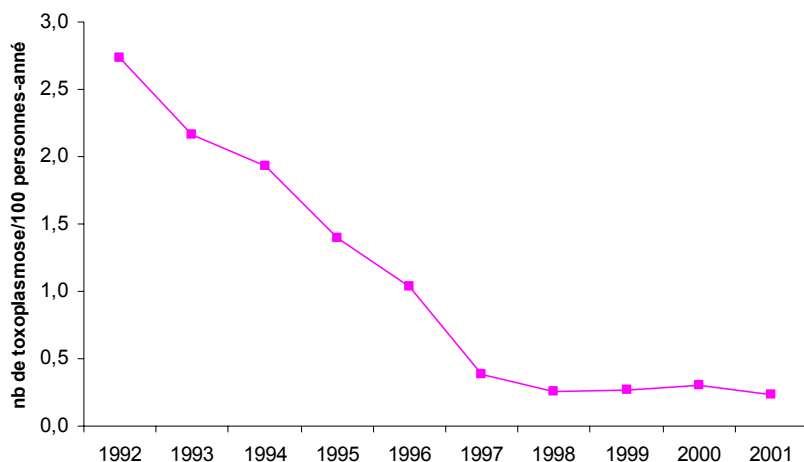
(Source InVS)

- *Système d'information du DMI2 :*

Des données cliniques sont recueillies dans le DMI2 (système d'information des centres d'information et de soins sur l'immunodéficience humaine (CISIH)) pour tout sujet VIH+ suivi dans les 62 services hospitaliers répartis dans 30 CISIH. Les données recueillies à chaque hospitalisation sont saisies dans la base du DMI2. Il est ainsi possible de calculer l'incidence

de la toxoplasmose cérébrale dans cette population qu'elle soit inaugurale du SIDA ou non (Figure 7). L'incidence annuelle de la toxoplasmose cérébrale a été divisé par 11 de 1992 (2,7 %) à 2001 (0,24 %).

Figure 7 : Evolution de l'incidence de la toxoplasmose cérébrale par année chez les cas de SIDA



(source DMI2)

3.1.3. Toxoplasmoses acquises au cours de la grossesse: infections fœtales

Une analyse des rapports d'activité des laboratoires agréés en diagnostic prénatal a été faite sur l'activité 2000. Dans ce rapport figure pour chaque maladie infectieuse, le nombre de fœtus étudiés, le nombre de fœtus atteints et le nombre d'IMG en rapport avec ce diagnostic prénatal. En 2000, 22 laboratoires ont eu une activité de diagnostic prénatal pour la toxoplasmose et 16 d'entre eux avaient transmis à la Direction Générale de la Santé leur relevé d'activité. Les 6 autres laboratoires ont été contactés pour compléter ces données et avoir un recensement complet pour l'année 2000. Au total, 1873 fœtus ont été étudiés du fait d'une séroconversion chez la mère, prouvée ou fortement suspectée. 138 fœtus étaient infectés par *Toxoplasma gondii* et 17 interruptions médicales de grossesse (IMG) ont été pratiquées suite à ce diagnostic. Les critères qui ont conduit à l'IMG ne sont pas précisés dans le cadre de ce relevé.

3.2. Estimations de la morbidité

3.2.1. Estimation de la morbidité dans la population générale à partir de la séroprévalence de l'enquête Nationale Périnatalité 1995

Sous l'hypothèse que la probabilité d'avoir un contact avec *Toxoplasma gondii* est la même pour les deux sexes et pour tous les âges, l'incidence par âge a été estimée à partir des données de séroprévalence de l'enquête périnatale de 1995 (Ancelle, 1996) à l'aide d'un modèle décrit précédemment (Papoz, 1985). Pour chaque âge, un taux de séroconversion (ou incidence) parmi les femmes séronégatives est estimé ainsi que sa variance associée. Lors du calcul, ce risque est pondéré par l'inverse des variances pour donner un poids moindre à une estimation dont la variance est importante. Ce taux a été appliqué pour chaque âge aux hommes et aux femmes de 16 à 45 ans de la population française en 1995. On estime ainsi à 315 000 le nombre de cas annuel chez les 16-45 ans. Pour estimer l'incidence aux autres âges, une fonction a été ajustée sur les incidences obtenues pour les âges entre 15 et 45 ans ($y = - 0,95 \ln(x) + 4,4$) où y est l'incidence annuelle pour l'âge concerné et x est l'âge en années) et extrapolée aux groupes d'âge entre 0-15 ans et >45. Pour ces groupes d'âge, où l'on ne dispose pas de données, l'estimation de l'incidence doit être considérée avec beaucoup de prudence. Le nombre annuel total de séroconversions dans la population française a ainsi été estimé à 688 731 cas. Sous l'hypothèse que 15%

des infections sont symptomatiques (Mead, 1999), le nombre annuel d'infections symptomatiques à *Toxoplasma* dans la population générale est estimé à $15\% \times 688\,731 = 103\,309$.

Toutefois, le nombre de cas symptomatiques doit être surestimé du fait qu'il a été estimé à partir de données de séroprévalence qui reflètent la situation des décennies antérieures au cours desquelles l'incidence de la toxoplasmose était supérieure à l'incidence actuelle.

En incluant les données de l'enquête nationale Périnatalité 2003, il a été possible d'éviter ce biais en estimant l'incidence à partir d'un modèle mathématique qui suppose que l'incidence dépend de l'âge et évolue au cours du temps (Berger, 2005). A partir de ce modèle catalytique, on estime le nombre de cas incidents entre 15 et 45 ans à 106 757 au lieu des 315 366 estimés selon le modèle de Papoz. On voit donc que le modèle de Papoz surestime fortement l'incidence et que le nombre de cas incidents estimés alors par cette méthode à près de 700 000 cas serait plutôt compris entre 200 000 et 300 000 cas avec 30 000 à 45000 cas symptomatiques .

3.2.2. Estimation du nombre annuel de séroconversions chez la femme enceinte

- *à partir du nombre de séroconversions de l'enquête Nationale Périnatalité 1995 (Ancelle, 1996)*

Si l'on applique le pourcentage de séroconversions observé dans cette enquête aux 729 609 accouchements de l'année 1995, le nombre estimé de séroconversions certaines au cours de la grossesse est de 1806 et de 4402 et si l'on inclut les séroconversions probables (cf. Question 15).

- *à partir de l'activité des laboratoires de diagnostic anténatal en 2000*

La majorité des centres de diagnostic anténatal recommande une ponction amniotique lorsque la séroconversion a lieu avant la 29^{ème} semaine de grossesse ce qui correspond à 70% de la durée de la grossesse (Binguet, 2004). A partir du nombre annuel d'examens du liquide amniotique pour toxoplasmose (sous l'hypothèse que la probabilité de séroconversion est stable pendant toute la grossesse) on peut estimer en extrapolant sur la durée totale de la grossesse, à 2676 ($1873 / 70 \times 100$) le nombre de séroconversions en 2000. Ce nombre peut être sous évalué puisqu'un certain nombre de séroconversions avant la 29^{ème} semaine de grossesse ne font pas l'objet d'un diagnostic prénatal pour diverses raisons (défaut de suivi de la grossesse, refus des parents compte tenu du risque d'AS après amniocentèse, séroconversions très précoces, AS avant la possibilité de réalisation d'une amniocentèse). D'autre part, on peut également avoir une surestimation du nombre de séroconversions puisque des ponctions amniotiques sont pratiquées chez des femmes dont la séroconversion a probablement eu lieu avant la grossesse et que certains obstétriciens pratiquent des ponctions amniotiques jusqu'à la 32^{ème} semaine de grossesse. Ces biais potentiels agissant dans un sens opposé, on peut considérer comme raisonnable l'estimation de 2676 séroconversions.

Les estimations réalisées à partir de 2 sources différentes d'information sont concordantes. L'incertitude est plus importante pour les estimations de l'enquête Périnatalité du fait du nombre important de séroconversions probables mais non confirmées. Le nombre annuel de séroconversions estimé à partir du nombre de ponctions amniotiques réalisées par les laboratoires de diagnostic prénatal (autour de 2700) semble moins biaisé que celui de l'enquête Périnatalité puisqu'il prend en compte les cas suivis d'une interruption de grossesse et qu'il repose sur un relevé annuel exhaustif auprès de tous les centres de diagnostic prénatal.

3.2.3. Estimation du nombre annuel de toxoplasmoses congénitales chez le nouveau-né vivant

- *A partir du nombre estimé de séroconversions annuelles*

Si l'on applique le taux de transmission materno-foetale de 29% observé dans la cohorte lyonnaise (Dunn, 1999) aux estimations réalisées à partir de :

- *l'enquête Périnatalité 1995* (1806 séroconversions certaines et 4402 en incluant les séroconversions probables), on estime qu'en 1995 le nombre d'infections transmises au fœtus était compris entre 524 et 1277,
- *du nombre de séroconversions (estimé à 2676 à partir de l'activité des laboratoires de diagnostic anténatal –cf. plus haut–) on estime qu'en 2000 le nombre d'infections transmises au fœtus était de 776.*

L'estimation obtenue à partir de l'activité des laboratoires de diagnostic prénatal paraît plus proche de la réalité car elle comporte moins d'incertitude et est plus récente (cf. paragraphe 3.2.2.).

Pour obtenir une estimation du nombre de nouveau-nés vivant ayant une infection congénitale, il faut soustraire les 47 grossesses annuelles non menées à terme liées à une infection foetale, ce qui fait un nombre d'enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale d'environ 729 cas.

- *A partir du nombre de fœtus ayant eu un diagnostic anténatal d'infection toxoplasmique*

Si l'on se base sur une estimation centrale de la sensibilité du diagnostic anténatal de 75%, le nombre de fœtus réellement infectés parmi les femmes ayant une ponction amniotique serait de 184 (138 ponctions positives /75*100). Si l'on exclue les 22 pertes foetales survenant après la ponction amniotique (17 IMG et 5 mort-nés) on estime à 162 le nombre de nouveau-nés vivants ayant bénéficié d'une ponction amniotique.

Une enquête a été réalisée auprès des laboratoires de parasitologie spécialisés dans le diagnostic de la toxoplasmose appartenant à l'association ANOFEL⁸ pour connaître le nombre de toxoplasmoses congénitales recensées par ces laboratoires en 2000 : 11 des 22 laboratoires agréés ont diagnostiqué 183 toxoplasmoses congénitales pour lesquelles 64 amniocentèses avaient été pratiquées. La proportion de cas de toxoplasmoses congénitales ayant bénéficié d'un diagnostic anténatal est donc de 35%. Si l'on tient compte de cette proportion, le nombre d'enfants nés vivants avec une toxoplasmose congénitale serait de 463 (162/35*100). Ce nombre peut être sous-estimé si des diagnostics tardifs d'infection congénitale réalisés lors de la première année de la vie échappent au recensement des laboratoires de parasitologie et ne sont pas pris en compte dans les 35%.

Au total le nombre d'enfants nés vivants avec une infection congénitale serait compris entre 463 et 729 cas. Connaissant les limites de ces estimations (sous-estimation du nombre de toxoplasmoses congénitales pour l'estimation basse, sur-estimation du nombre de toxoplasmoses congénitales en considérant que seules les femmes avec séroconversions avant la 28^{ème} semaine de grossesse ont eu une ponction amniotique). Il semble donc raisonnable d'estimer approximativement à 600 cas par an le nombre de toxoplasmoses congénitales à la naissance en 2000.

3.2.4. Estimation du nombre annuel de séquelles de toxoplasmose congénitale

Elles peuvent être faites en appliquant les résultats de la cohorte lyonnaise détaillés dans la Question 1 du rapport :

- au nombre estimé de séroconversions (2676) : en appliquant les proportions rapportées dans le Tableau 5 colonne (2) (cf. Section B, Question 1) aux 2676 séroconversions per-gravidiques estimées annuellement, on obtient 201 cas avec séquelles (167 rétinocoroïdites, 68 calcifications intracrâniennes, 13 hydrocéphalies et 2 microcéphalies),

⁸ ANOFEL : Association française des enseignants et Praticiens Hospitaliers Titulaires de Parasitologie et Mycologie Médicale

- au nombre estimé de cas de toxoplasmoses congénitales vivant à la naissance (600) : en appliquant les proportions rapportées dans le Tableau 6 (cf. section B, Question 1), on obtient 174 cas avec séquelles (145 rétinopathies, 59 calcifications intracrâniennes, 11 hydrocéphalies et 2 microcéphalies).

Ces estimations calculées avec 2 approches différentes (nombre de séroconversions estimées par le nombre de femmes ayant eu une ponction amniotique et nombre de toxoplasmoses congénitales estimé par les laboratoires de parasitologie participant à ANOFEL) sont très proches.

Si l'on affine ces estimations en se basant sur les données de la cohorte lyonnaise, on aurait 6 retards mentaux et 4 enfants avec convulsions. En ce qui concerne l'activité visuelle, aucun ne présenterait de cécité ou de vision basse bilatérale. Par contre au niveau de la vision unilatérale 14 enfants auraient une cécité unilatérale et 15 une vision basse unilatérale, en se basant sur la cohorte lyonnaise, où un nombre important de femmes sont traitées et que les enfants ont tous eu un traitement dans les premiers mois de leur vie.

Il ne faut pas perdre de vue qu'il faut prendre avec précaution ces estimations qui ont une précision limitée, le but étant de donner un ordre de grandeur du nombre de complications de la toxoplasmosse au cours de la grossesse en France.

Références bibliographiques

- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La toxoplasmosse chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une enquête nationale périnatale. BEH. 1996;51:227-229.
- Berger F. La toxoplasmosse en France chez la femme enceinte: séroprévalence et estimation de l'incidence à partir d'enquêtes nationales. Mémoire de Master M2 "Epidémiologie et recherche clinique". Université Paris XI. 2005.
- Binquet C, Wallon M, Metral P, Gadreau M, Quantin C, Peyron F. Séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte. Les différentes attitudes françaises. Presse Med. 2004 10;33(12 Pt1):775-9.
- Bourdillon F, Raffi F, Pradier C. Les principales circonstances de survenue de la toxoplasmosse cérébrale chez les patients atteints par le V.I.H. en France. Situation de *Corynebacterium diphtheriae* en France (1987-1995). BEH. 1996;17:96.
- Dunn D, Wallon M, Peyron F, Pertersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet. 1999;353:1829-1833.
- Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid N Engl J Med. 1994;331:695-9.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis. 1999;5:607-25.
- Papoz L, Simondon F, Saurin W, Sarmini H. A simple model relevant to toxoplasmosis applied to epidemiologic results in France. Am J Epidemiol. 1985;123:154-161.
- Vaillant V, Baron E, De Valk H. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. InVS. mars 2004.
- Wallon M, Gaucherand P, Al Kurdi M, Peyron F. Infection toxoplasmique de début de grossesse : conséquences et conduite à tenir. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2002;31:478-84.
- Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, Peyron F. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. Pediatrics. 2004;113:1567-72.

Section E : épidémiologie animale

Résumé de la section E

Le chat et les félidés sauvages sont responsables de la dissémination de *Toxoplasma gondii* dans l'environnement. A la suite de leur infestation par consommation de proies infectées ou d'oocystes sporulés, ils vont éliminer pendant quelques jours, dans leurs matières fécales, de très grandes quantités d'oocystes. Ces derniers seront à l'origine de la contamination des animaux herbivores ou omnivores ingérant des aliments souillés par les excréments de félidés contenant des oocystes sporulés. Les carnivores seront infestés par prédation des herbivores ou omnivores porteurs du parasite.

La séroprévalence de la toxoplasmose est très variable chez le chat en relation avec son mode de vie et d'alimentation puisque certains chats citadins n'ont plus la possibilité de chasser et ne consomment que des aliments industriels stérilisés. On estime que 1% des chats sont excréteurs d'oocystes à un moment donné. L'excrétion des oocystes ne se produit que pendant une courte période mais elle est très productive. La co-infection par le virus de l'immunodéficience féline (FIV) ou de la leucémie du chat (FeLV) augmenterait le risque de toxoplasmose chez le chat.

La prévalence sérologique est forte dans toutes les populations de félidés sauvages examinées et plus de dix sept espèces sont capables d'éliminer des oocystes.

La prévalence de la toxoplasmose est variable chez le bétail. Chez le mouton, elle est la plus élevée et se traduit par une grande fréquence d'avortements. L'importance de l'infection a nécessité la mise au point d'un vaccin utilisable chez les agnelles. Les chèvres sont moins fréquemment infectées mais leur lait cru pourrait être un véhicule pour les toxoplasmes. La contamination des porcs est extrêmement variable en relation avec leur mode de vie (plein air ou claustration) mais aussi avec leur alimentation, les animaux nourris avec des restes alimentaires étant plus exposés.

Les bovins ne présentent que des taux de séroprévalence relativement faibles mais qui manquent parfois de fiabilité selon la méthode sérologique utilisée chez cette espèce. Les différentes enquêtes révèlent que la viande bovine est rarement infectée. La présence du toxoplasme n'a jamais été rapportée dans le lait sauf lors d'une expérimentation.

La séroprévalence est faible chez le cheval mais les kystes musculaires persistent plus d'un an.

Chez les oiseaux, les taux d'infection sont variables. La volaille est un bon révélateur de la contamination de l'environnement du fait de son régime alimentaire. Les résultats des bio-essais montrent que les niveaux de risque sont très élevés dans les élevages traditionnels et que ce sont surtout les génotypes II et III qui sont isolés dans les pays où ces recherches ont été pratiquées. La contamination des œufs n'a jamais été rapportée dans les conditions naturelles.

La contamination des petits rongeurs, des carnivores, des sangliers et des ruminants sauvages est variable selon les conditions épidémiologiques locales. Tous ces animaux présentent un danger potentiel pour l'homme et les animaux domestiques.

Les mammifères marins sont exposés à des infestations par des oocystes entraînés par les eaux résiduaires ou les eaux pluviales. Les prévalences sérologiques varient selon les régions mais des cas de mortalité ont été décrits.

Question 17 : quel est le rôle du chat et des félinés ?

Responsable de la question : M. Dorchies

Co-rédacteurs : M. Derouin, M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Jacquiet, M. Losson

En tant qu'hôtes définitifs, assurant la dissémination d'une forme infectante (oocyste), le chat et les félinés tiennent une place primordiale dans le cycle épidémiologique. Ils sont la source d'une contamination de l'environnement, et les risques associés sont parfois difficiles à cerner compte tenu du grand nombre de chats domestiques (estimé à 9 millions en France – source Afirac⁹) et des très nombreux chats errants et sauvages.

1. Excrétion d'oocystes par le chat

Le chat se contamine en ingérant des bradyzoïtes (kystes) contenus dans une proie infectée ou par des oocystes sporulés présents sur le sol ou les végétaux. La multiplication sexuée des parasites dans l'épithélium intestinal du chat conduit à l'élimination d'une très grande quantité d'oocystes non sporulés avec les fèces. Ces oocystes sont très résistants et ne deviennent infectants qu'après sporulation, en 1 à 5 jours dans le milieu extérieur (cf. Question 1).

Il est à noter que chez des chats ayant excrété des millions d'oocystes dans les fèces, ceux-ci ne sont pas retrouvés 7 jours plus tard sur leur pelage (Dubey, 1995). De même, une étude a montré que les oocystes ne sporulaient pas lorsqu'ils étaient déposés sur le pelage d'un autre animal (Lindsay, 1997).

Plusieurs études expérimentales ont montré que la chronologie de l'élimination des oocystes dans les fèces variait avec la nature des stades parasitaires infectant le chat et que cette élimination était transitoire (7 à 20 jours).

1.1. Contamination par des bradyzoïtes

Les oocystes apparaissent dans les matières fécales 3 à 10 jours après l'infection par des bradyzoïtes contenus dans les kystes musculaires (Davis, 1995). L'élimination se poursuit une vingtaine de jours. L'intensité de l'élimination est variable : des chats mangeant de la viande de porc peuvent éliminer au total de 25 à 810 millions d'oocystes (Dubey, 2002).

Cent pour cent des chats recevant 1000 bradyzoïtes de la souche VEG sont infectés ; cette valeur tombe à 50 % avec une dose infectieuse de 100 et à 25 % avec de 1 à 10 parasites. Même après absorption d'un seul bradyzoïte de la souche VEG, le chat peut produire des millions d'oocystes (Dubey, 2001).

1.2. Contamination par des tachyzoïtes

Le chat peut se contaminer par des tachyzoïtes, lorsqu'il ingère une proie atteinte d'une forme aiguë de toxoplasmose, ou des abats contaminés. Dans ce cas, le délai d'apparition des oocystes dans les matières fécales est de 15 à 19 jours pour une durée d'excrétion de 7 à 19 jours ou plus ; l'excrétion peut atteindre 360 millions d'oocystes par jour (Tenter, 2000 ; Dubey, 2002).

1.3. Contamination par des oocystes

Après ingestion d'oocystes, la période prépatente d'excrétion d'oocystes est de 18 à 49 jours et l'élimination se poursuit pendant 10 jours ; cependant 20 % seulement des chats ingérant des oocystes en ré-excrèteront dans leurs matières fécales (Blewet, 1983). Avec la souche VEG, de 7,3 à 162 millions d'oocystes peuvent être excrétés par le chat en fonction de la dose infectante (Dubey, 1996). L'âge du chat, ou l'administration de corticoïdes n'ont pas d'influence sur l'élimination des oocystes. La dose infectante est élevée : 100 % des chats recevant 10000 oocystes s'infestent, 45 % avec 1000, 50 % avec 100 et aucun avec 1 à 10 oocystes (Dubey, 1996).

⁹ AFIRAC = Association Française d'Information et de Recherche sur l'Animal de Compagnie - <http://www.afirac.org>

1.4. Réinfection et réactivation

Il est admis qu'une première infection par *T. gondii* conduirait à une immunité solide qui préviendrait les ré-excrétions d'oocystes après réinfestation : des chats préalablement infestés avec la souche ME-49 n'éliminent aucun oocyste s'il sont réinfestés 39 jours plus tard avec la même souche (Dubey, 1995) ou trois mois plus tard (Davis, 1995). Cependant, six ans après ces infestations, sur les 9 chats survivant à nouveau inoculés avec une souche différente, 4 ont ré-excrété des oocystes (Dubey, 1995).

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

2. **Prévalence chez le chat**

Les résultats des études de prévalence (sérologiques ou parasitologiques) sont difficilement comparables entre-eux compte tenu des différences entre les méthodes utilisées, les modalités de recrutement des animaux inclus dans les études et leur état de santé ainsi que de l'approximation concernant leurs modes de vie et leur alimentation. Enfin, il est également impossible de tirer des conclusions sur une relation éventuelle avec le climat du pays où l'enquête a été réalisée.

2.1. Etudes sérologiques

Dans les 50 études rapportées par Tenter (2000) et publiées au cours des dix années précédentes, la prévalence est très variable suivant les pays. Chez les chats domestiques, elle est comprise entre 10 % (Japon, Singapour, Taiwan, Italie) et 71 % au Mexique ; chez les chats sauvages ou errants, elle est comprise entre 11% au Japon et 73 % au Brésil.

Comme pour les autres animaux, ces résultats doivent être examinés avec précaution, compte tenu des limites de la sérologie de la toxoplasmose chez l'animal (cf. Question 5) et de l'interférence possible des immunocomplexes (Lappin, 1993). De plus, l'homologie des antigènes de *T. gondii* et de *Hammondia hammondi* pourrait être une cause de réactions croisées (Riahi, 1998).

L'utilisation de méthodes ELISA permettant la mise en évidence d'IgM ou d'antigènes circulants a révélé qu'un nombre non négligeable de chats ne développait qu'une antigénémie et/ou ne produisait pas d'IgG (Lappin, 1989). Ces animaux échappent donc au dépistage. En Géorgie (USA), la prévalence d'IgG est de 41 % : ce pourcentage monte à 60,6 % en associant les recherches d'IgM, d'IgG et d'antigène. L'antigénémie seule, en absence d'IgM ou d'IgG a été observée chez 6,9 % des chats d'un effectif de 189 dont 5 % chez 81 chats en bonne santé (Lappin, 1989). Il faut remarquer que la mesure de l'antigénémie qui présenterait un grand intérêt pour le dépistage de la toxoplasmose évolutive n'a été étudiée par aucun autre auteur. Il semble que des observations complémentaires soient nécessaires pour valider ces informations.

En France, l'étude par immunofluorescence indirecte de 519 chats de Gironde (mode de vie "urbain") a montré une séroprévalence de 43 % (positifs au seuil de 1/50), 12 % des chats ayant un titre élevé (>1/1500) (Cabannes, 1997). Plus récemment, avec l'ADHS, des prévalences variables ont été observées dans différentes populations naturelles : 21 % chez 282 chats d'un milieu urbain, 54 % et 58 % chez 209 et 171 chats de deux populations rurales distinctes (Thulliez, Fromont, communication personnelle).

2.2. Etudes parasitologiques

Les publications qui rapportent des recherches d'oocystes dans les matières fécales fournissent peu de renseignements fiables. L'élimination fécale étant transitoire chez le chat, la mise en évidence des oocystes est aléatoire. En effet, moins de 1 % des chats sont excréteurs à un moment donné de leur vie (Buxton, 1998).

L'examen microscopique des fèces pose des difficultés d'identification car les oocystes de *T. gondii* ne peuvent pas être différenciés en microscopie optique. Sur 15 études regroupant plus de 7000 examens microscopiques des fèces, le pourcentage de chats éliminant des oocystes de *T. gondii* est en général inférieur à 1% ; des prévalences élevées ont été

observées au Canada et au Liban (Tableau 29). Certains auteurs précisent qu'ils ont observé des oocystes "*Toxoplasma-like*", mais beaucoup affirment qu'il s'agit de "*Toxoplasma*" sans preuve formelle, ce qui oblige à une certaine réserve sur ces résultats.

La recherche par bio-essais (souris) à partir des fèces de chats a également été réalisée dans deux études. Une prévalence de 23 % a été observée au Costa Rica (Ruiz, 1980) mais seulement de 0,5 % au Panama (Frenkel, 1995) (Tableau 29).

Tableau 29 : Présence d'oocystes dans les matières fécales du chat

Pays	Nb étudié	Nb positifs	Prévalence (%)	Référence
Examen microscopique				
Allemagne 1984-1991	1147	7	0,6	Epe, 1993
Allemagne 1998-2002	441	3**	0,7	Epe, 2004
Allemagne 1999-2002	3167	35*	1,1	Barutzki, 2003
Belgique	30	0	0	Vanparijs, 1991
Hollande	305	1	0,3	Robben, 2004
Czech Brno	620	8	1,29	Svobodova, 1986
Liban- Beyrouth	313	31	9,9	Deeb, 1985
Taiwan	117	0	0	Lin, 1990
Canada- San Mateo	107	6	5,6	MacNight, 1992
USA Maryland	650	3	0,5	Childs, 1986
USA Washington State	73	0	0	Ladiges, 1982
Australie	71	1	0	Collins, 1983
USA Illinois, 1975-76	217	2***	1	Guterbock, 1977
Bio-essais (souris)				
Costa Rica	237	55	23	Ruiz, 1980
Panama	383	2	05	Frenkel, 1995

* *Toxoplasma/Hammondia*

** « *Toxoplasma like oocystes* »

*** *Toxoplasma* ou *Besnoitia*

2.3. Facteurs intervenant sur la prévalence et sur l'excrétion des oocystes

2.3.1. Age

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

2.3.2. Mode de vie et alimentation

Cf. Tableau 30.

D'une façon globale, la séroprévalence de la toxoplasmose est plus élevée chez les chats sauvages ou errants que chez les chats domestiques (Tenter, 2000). Les publications n'apportent que des informations discordantes, très fragmentaires et sans aucune signification statistique sur ces facteurs de risque, sans doute du fait de l'incertitude des informations données par les propriétaires. Une étude polonaise a montré que les chats de compagnie nourris de viande crue avaient une séroprévalence plus élevée que ceux recevant des aliments industriels (69 % contre 19 %) (Smielewska-Los, 2002). Cette observation n'a pas été confirmée dans une étude en Argentine où ces valeurs sont respectivement de 19,3 % et 20 % (Fernandez, 1995) ; cependant, dans cette dernière étude, ce sont les chats vivant seuls et les non-chasseurs qui sont les moins infectés (13,8 % et 14 %) (Tableau 30).

Tableau 30 : Prévalence de la toxoplasmose chez le chat en fonction du mode de vie

Pays	Mode de vie	Seroprévalence (%)	Référence
Allemagne- Hannover	Chats errants	55	Tenter, 1994
USA- Washington State	Chats errants	41	Ladiges, 1982
Pologne- Wroclaw	Abandonnés	50	Smielewska-los, 2002
	Vivant en refuge	55	
USA- Washington State	Chats abandonnés à un refuge	28	Ladiges, 1982
Pologne- Wroclaw	Chat de compagnie	51,8	Smielewska-los, 2002
Allemagne- Hannover	Chat de compagnie ne sortant pas	32	Tenter, 1994
Argentine-Buenos Aires	Vivant en groupe	32	Fernandez, 1995
	Vivant seul	13,8	
	Présence d'un bac à déjections	19	
	Pas de bac à déjections	19,7	
Pologne- Wroclaw	Aliment industriel	19,3	Smielewska-los, 2002
	Viande crue	69,2	
Argentine-Buenos Aires	Aliment industriel	20	Fernandez, 1995
	Chasseur	48	
	Non chasseur	14	
	Viande crue	19,3	

2.3.3. Co-infection par le virus de l'immunodéficience féline (FIV) ou de la leucémie du chat (FeLV)

Les résultats des études de séroprévalence des co-infections ne sont pas concordantes : dans 3 études, la séroprévalence de la toxoplasmose n'est pas supérieure chez les chats infectés par le FIV ou le FeLV (O'Neil, 1991 ; Dorny, 2002 ; Lin, 1990), alors qu'elle l'est dans une (Whitt, 1989).

Une étude épidémiologique récente (Dorny, 2002) montre que les chats co-infectés par le FIV ont des titres d'anticorps anti-*T. gondii* plus élevés que les chats FIV-négatifs, ce qui pourrait traduire une plus grande susceptibilité à la toxoplasmose en cas de co-infection.

Expérimentalement, la co-infection FIV/*T. gondii* ne modifie pas la durée d'excrétion des oocystes et n'altère pas la résistance à une réinfection (Lappin, 1996).

3. **Prévalence chez les félidés sauvages**

(Tableau 31)

Tenter (2000) répertorie 17 espèces de félidés sauvages capables d'émettre des oocystes de *T. gondii*. Les enquêtes disponibles fournissent des prévalences sérologiques comprises entre 9 % et 100 % selon l'espèce (Tableau 31).

Comme pour le chat, des examens coprologiques ont révélé des oocystes de *Toxoplasma* que certains auteurs identifient aussi comme "*Toxoplasma-like*" ou différencient des *Hammondia*, ce qui est impossible lors d'un examen de routine.

Tableau 31 : Prévalence sérologique chez les félidés sauvages

Pays	Espèce étudiée	Nom vernaculaire	Nb étudié	Séroprévalence (%)	Références
Brésil*	Toutes espèces		865	54,6	Silva, 2001
	<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	Jaguarundis	99	45,9	
	<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelots	168	57,7	
	<i>Leopardus tigrinus</i>	Oncillas	131	51,9	
	<i>Leopardus wiedii</i>	Margays	63	55,5	
	<i>Oncifelis colocolo</i>	Pampas cats	8	12,5	
	<i>Oncifelis geoffroyi</i>	Geoffroy cats	12	75	
	<i>Panthera onca</i>	Jaguars	212	63,2	
	<i>Puma concolor</i>	Pumas	172	48,2	
Canada	<i>Felis concolor vancouverensis</i>	Cougar	12	92	Aramini, 1998
Grande Bretagne	<i>Felis sylvestris catus</i>	Chat sauvage d'Europe	ND	62	Yamaguchi, 1996
Grande Bretagne	<i>Felis sylvestris</i>	Chat sauvage d'Europe	42	100	McOrist, 1992
Etats-Unis-Colorado	<i>Otocolobus felis manul</i>	Pallas cat	16	100	Kenny, 2002
Etats-Unis-Floride	<i>Felis concolor coryi</i>	Panthère de Floride	38	9	

* = animaux vivants en zoo.

Références bibliographiques

- Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP *Toxoplasma gondii* in Vancouver island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. J Parasitol. 1998;84:438-440.
- Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. Parasitol Res. 2003;90:148-50.
- Blewett DA, Watson WA. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II; Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. Brit Vet J. 1983;139: 546-555.
- Buxton D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. Veterinary Research. 1998;29:289-310.
- Cabannes A, Lucchese F, Hernandez JC, Pelse H, Biesel N, Eymonnot M, Appriou M, Tribouley-Duret J. Enquête séroépidémiologique sur *Toxoplasma gondii* chez les ovins, bovins et félins dans le département de la Gironde. Bull Soc Franç Parasitol. 1997;15:11-22.
- Childs JE, Seegar WS. Epidemiologic observations on infection with *Toxoplasma gondii* in three species of urban mammals from Baltimore, Maryland, USA. Int J Zoonoses. 1986;13:249-61.
- Collins GH, Emslie DR, Farrow BR, Watson AD. Sporozoa in dogs and cats. Aust Vet J. 1983;60:289-90.
- Davis SW, Dubey JP. Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. J Parasitol. 1995;81:882-6.
- Deeb BJ, Sufan MM, DiGiacomo RF. *Toxoplasma gondii* infection of cats in Beirut, Lebanon. J Trop Med Hyg. 1985;88:301-6.
- Domy P, Speybroeck N, Verstraete S, Baeke M, berkvens D, Vercruyse J. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. Vet Rec. 2002;151:626-629.
- Dubey JP. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. J Parasitol. 1995;81:410-415.
- Dubey JP. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. J Parasitol. 2001;87:215-219.
- Dubey JP, Gamble HR, Hii D, Sreekumar C, Romand S, Thuilliez P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. J Parasitol. 2002;88:1234-1238.
- Dubey JP. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. J Parasitol. 1996;82:957-961.
- Dubey JP. Tachyzoite-induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. J Parasitol. 2002;88:713-717.
- Epe C, Coati N, Schnieder T. Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2004;111:243-7.
- Epe C, Ising-Volmer S, Stoye M. Parasitological fecal studies of equids, dogs, cats and hedgehogs during the years 1984-1991. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1993;100:426-8.
- Fernandez F, Ouvina G, Clot E, Fernandes Guido R, Codoni C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in the western part of Great Buenos Aires, Argentina, 1993. Vet Parasitol. 1995;59:75-79.
- Frenkel JK, Hassanein RS, Brown E, Thuilliez P, Qunitero-Nunez R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds and soil. Am J Trop med Hyg. 1995;53:458-468.

- Guterbock WM, Levine ND. Coccidia and intestinal nematodes of East Central Illinois cats. *J Am Vet Med Assoc.* 1977;170:1411-3.
- Kenny DE, Lappin MR, Knightly F, Baler J, Brewer M, Getsy DM. Toxoplasmosis in Pallas' cats (*Otocolobus felis manul*) at the Denver Zoological gardens. *J Zoo Wildl Med.* 2002;33:131-138.
- Ladiges WC, DiGiacomo RF, Yamaguchi RA. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and oocysts in pound-source cats. *J Am Vet Med Assoc.* 1982;180:1334-5.
- Lappin MR, Greene CE, Prestwood AK, Dawe DL, Marks A. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Georgia using enzyme-linked immunosorbent assays for IgM, IgG and antigens. *Vet Parasitol.* 1989;33:225-230.
- Lappin MR, Cayatte S, Powell CC, Gigliotti A, Cooper C, Roberts SM. Detection of *Toxoplasma gondii* antigen-containing immune complexes in the serum of cats. *Am. J Vet Res.* 1993;54:415-419.
- Lappin MR, George JW, Pedersen NC, Barlough JE, Murphy CJ, Morse LS. Primary and secondary *Toxoplasma gondii* infection in normal and feline immunodeficiency virus-infected cats. *J Parasitol.* 1996; 82:733-42.
- Lin DS, Lai SS, Bowman DD, Jacobson RH, Barr MC, Giovengo SL. Feline immunodeficiency virus, feline leukaemia virus, *Toxoplasma gondii*, and intestinal parasitic infections in Taiwanese cats. *Br Vet J.* 1990;146:468-75.
- Lindsay DS, Dubey JP, Butler JM, Blagburn BL. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet Parasitol.* 1997 15;73:27-33.
- MackKnight KT, Robinson HW. Epidemiologic studies on human and feline toxoplasmosis. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1992;36: 37-47.
- McOrist S. Diseases of the European wildcat (*Felis silvestris* Schreber 1777) in great Britain. *Rev Sci tech.* 1992;11:1143-1149.
- O'Neill SA, Lappin MR, Reif JS, Bishop BD, Childs JE. Complete clinical and epidemiological aspects of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* in coinfection in cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1991;27:211-220.
- Riahi H, Bouteille B, Darde ML. Antigenic similarity between *Hammondia hammondi* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *J Parasitol.* 1998;84:651-653.
- Robben SR, le Nobel WE, Dopfer D, Hendriks WM, Boersema JH, Franssen F, Eysker ME. Infections with helminths and/or protozoa in cats in animal shelters in the Netherlands. *Tijdschr Diergeneesk.* 2004;129:2-6.
- Ruiz A, Frenkel JK. *Toxoplasma gondii* in Costa Rica cats. *Am. J Trop Med Hyg.* 1980;29:1150-1160.
- Silva JC, Ogassawara S, Adania CH, Ferreira F, Gennari SM, Dubey JP, Ferreira-Neto JS. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids in Brazil. *Vet Parasitol.* 2001;102:217-224.
- Smielewska-los E, Pacon J. *Toxoplasma gondii* infection of cats in epizootiological and clinical aspects. *Pol J Vet Sci.* 2002;5:227-230.
- Svobodova V, Svoboda M. Incidence of *Toxoplasma gondii* oocysts in cat feces. *Vet Med (Praha).* 1986;31: 621-8.
- Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J for Parasitol.* 2000;30:1217-1258.
- Tenter AM, Viemeyer C, Johnson AM, Janitschke K, Rommel M, Lehmacher W. ELISAs based on recombinant antigens for seroepidemiological studies on *Toxoplasma gondii* infections in cats. *Parasitology.* 1994;109: 29-36.
- Vanparijs O, Hermans L, van der Flaes L. Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. *Vet Parasitol.* 1991;38:67-73.
- Wallace GD. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the feces on naturally infected cats. *J Infect Dis.* 1971;124:227-228.
- Whitt CJ, Moench TR, Gittelsohn AM. Epidemiological observation in FIV and *Toxoplasma gondii* coinfection in cats in Baltimore. *J Am Vet Med Assoc.* 1989;194:229-233.
- Yamaguchi N, Macdonald DW, Passanisi WC, Harbour DA, Hopper CD. Parasite prevalence in free-ranging farm cats, *Felis silvestris catus*. *Epidemiol Infect.* 1996 ;116 :217-223.

Question 18 : quel est le rôle des animaux d'élevage ?

Responsable de la question : M. Dorchies

Co-rédacteurs : Mme Villena, M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Jacquet, M. Chartier

La contamination des animaux d'élevage, en tant qu'hôtes intermédiaires du parasite, a des conséquences sanitaires, économiques et épidémiologiques considérables. La consommation de viande insuffisamment cuite étant le principal mode de contamination de l'homme la connaissance de la prévalence de la toxoplasmose et de la fréquence d'isolement du parasite chez les animaux de boucherie représente la base scientifique des recommandations de prévention et un préalable indispensable à toute analyse quantitative du risque.

La prévalence de la toxoplasmose est très variable selon les espèces ; elle est cependant toujours plus élevée chez le mouton, la chèvre et le porc que chez les autres animaux domestiques : bovins, volailles, chiens et chevaux.

En se basant sur la bibliographie retenue par le *Veterinary Bulletin* durant une vingtaine d'années, Blewett (1983) a donné une approximation de la médiane des séroprévalences : 30 % pour les moutons, 23,5 % pour le porc, 12,5 % pour les bovins et 6,5 % pour les équidés. Ces valeurs sont globalement retrouvées dans des travaux plus récents. Comme pour toutes les enquêtes, des biais très forts sont introduits dans l'exploitation des résultats : ils tiennent aux conditions de conservation des échantillons, aux techniques sérologiques utilisées (souvent modifiées par les utilisateurs) et aux seuils de positivité choisis. Les limites de la sérologie de toxoplasmose chez l'animal ont été précédemment exposées dans la Question 5.

Le climat des régions où les enquêtes sont réalisées (assurant une survie plus ou moins longue des oocystes infectants à l'extérieur) ainsi que le mode d'élevage des animaux (facilitant l'accès à une alimentation souillée par les oocystes) ont une influence majeure sur l'incidence et la prévalence de l'infection animale. Par exemple, chez le mouton et la chèvre, les séroprévalences sont plus faibles dans les pays secs que dans les pays humides (Deconinck, 1996) ; au Ghana, elles sont plus fortes dans la zone de savanes côtières (39,4 %) par rapport à la zone de savane sèche (20 %) (Van der Puije, 2000).

Pour la plupart des espèces, les données de parasitologie expérimentale permettent d'identifier les organes les plus fréquemment contaminés. Par contre, les informations sur la contamination des tissus chez les animaux naturellement infectés et sur la viande de boucherie restent limitées, et presque inexistantes en France.

1. Moutons

La plupart des données disponibles concernent la séroprévalence. De rares enquêtes sur les avortements ont permis d'apporter des informations sur l'incidence de la toxoplasmose, et très peu de publications rapportent les résultats des recherches de toxoplasmes dans la viande et les abats.

1.1. Séroprévalence

La séroprévalence est très variable suivant les pays, allant de moins de 5% au Zimbabwe, Pakistan, Arabie Saoudite, Croatie à plus de 80% en Turquie et en France (revue par Tenter, 2000).

En France, 8 enquêtes ont été réalisées dans différentes régions entre 1960 et 1997 montrant des séroprévalences comprises entre 15 et 92 %.

Tableau 32 : Séroprévalence de la toxoplasmose chez le mouton en France

Région	Technique*	Nb de sérums total	Prévalence (%)	Référence
Alsace	IFA	180	31	Callot, 1970
Anjou	IHA	60	15	Chabasse, 1978
Bretagne	IHA	609	36	Doby, 1984
Côte d'Or	IFA	583	72	Campana-Rouget, 1974
Limousin	DT	120	38	Pestre, 1962
Paris	DT	165	72	Guillot, 1960
Vendée	IHA	236	22	Himy-Dahan, 1980
Aquitaine	IFA	642	92	Cabannes, 1997

*IFA, immunofluorescence indirecte ; DT, dye test ; IHA, hémagglutination indirecte

1.2. Toxoplasmose et avortement

En Suisse, 19 % des 86 avortements de brebis constatés dans la région de Zurich entre 1996 et 1998 sont dus à *T. gondii* ce qui est la seconde étiologie après la chlamydie (Chanton-Greutmann, 2002). Ce pourcentage est de 11% sur 2471 fœtus avortés en Sardaigne (Masala, 2003) et atteint 23% sur 173 fœtus en Espagne (Pereira-Bueno, 2004). Il semble que la transmission verticale brebis/agneaux soit le facteur le plus important pour expliquer la prévalence élevée dans les troupeaux (Duncanson, 2001). Il faut cependant que la contamination prénatale se produise à une période de la gestation compatible avec la survie des fœtus. Les toxoplasmes ont pu être isolés de 42 % des placentas d'agneaux nés vivants et en bonne santé ce qui semble être une bonne confirmation de l'importance de la transmission verticale chez les moutons (Duncanson, 2001). Les souches de genotype II semblent être les plus fréquentes au cours des avortements d'ovins en Grande-Bretagne (Owen, 1999).

1.2.1. Facteurs de risques associés à une prévalence élevée dans les élevages de moutons

La présence journalière de chatons dans une bergerie est le principal facteur de risque (Skjerve, 1998). Responsable de la contamination horizontale, le chat dissémine irrégulièrement des oocystes. McColgan (1988) estime qu'un chat infecté déféquant dans 10 tonnes de céréales y dépose parfois 10 000 000 d'oocystes. Chaque kilogramme de grain peut être le véhicule de 5 à 25 doses infectantes par mouton.

1.3. Détection de toxoplasmes dans la viande de mouton

Chez les moutons infectés expérimentalement, les toxoplasmes sont retrouvés dans le cerveau, le cœur, le diaphragme, les muscles squelettiques et l'intestin. Tous les sujets infestés expérimentalement hébergent des toxoplasmes dans les muscles (Dubey, 1980). Selon les auteurs, les tissus les plus fréquemment contaminés sont le cerveau et les muscles squelettiques (Dubey, 1980, 1986) ou le cerveau et le myocarde (Esteban-Redondo, 1998 ; Esteban-Redondo, 1999). La répartition des kystes tissulaires est la même six semaines ou six mois après l'infection expérimentale (Esteban-Redondo, 1999).

Très peu d'études ont été faites à partir des animaux d'élevage ou des produits de boucherie. Par inoculation à la souris, Jacobs (1960) a isolé *T. gondii* d'un échantillon de diaphragme chez 8/86 montons (9,3%). Une étude roumaine, également réalisée par inoculation à la souris de pools de 10 échantillons de diaphragme provenant de 1340 moutons à l'abattoir a permis d'isoler le parasite dans 9% des pools (Pop, 1989). Plus récemment, 2 études par PCR ont été réalisées sur de petits échantillons: 6/9 échantillons (66 %) de viande d'agneau d'une boucherie de la région de Manchester (GB) se sont révélés positifs en PCR (Aspinal, 2002) alors que 6 % seulement ont été positifs par PCR dans la région de Berne (Wyss, 2000). Aucune donnée n'est disponible en France.

1.4. Conclusion sur le rôle du mouton dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

La toxoplasmose du mouton a donc un double impact : sanitaire comme source fréquente de contamination humaine par ingestion de viande et économique par la fréquence des avortements.

2. **Chèvres**

Le comportement alimentaire des chèvres (consommation naturelle de broussailles) se traduit en général par des niveaux d'infestation et de contamination congénitale plus faibles que chez le mouton. Les données de séroprévalence sont assez nombreuses (sauf en France), mais il n'y a pas de données parasitologiques sur la viande de chèvre.

2.1. Séroprévalence

La séroprévalence de la toxoplasmose chez la chèvre est très variable suivant les pays, comprise entre <5% (Pakistan, Mexique, Sénégal, Arabie Saoudite) à >60% (Autriche, République Tchèque, France, Inde, Ile de la Réunion) (Tenter, 2000). Comme pour le mouton, ces variations sont probablement liées à des facteurs climatiques avec, par exemple, une prévalence de 6,4% à Djibouti, où le climat est désertique (Chantal, 1994) contre 28,9% dans l'Etat de Bahia au Brésil, en climat humide océanique (Pita Gondim, 1999). Sa prévalence en France est mal connue.

2.1.1. Toxoplasmose et avortement

L'incidence de la toxoplasmose congénitale a été évaluée dans plusieurs études, par la recherche de *T. gondii* dans les produits d'avortement, soit par PCR, soit par inoculation à la souris. Le pourcentage de fœtus positifs est de 6,4 % en Sardaigne (Masala, 2003), 15 % en Suisse (Chanton-Greutmann, 2002) et 27 % au Botswana (Sharma, 2003). En France, la toxoplasmose a été estimée responsable de 5 à 10% des avortements (Calamel, 1975) et, dans une étude plus récente, comme la deuxième cause d'avortement après la fièvre Q (Chartier, 1997).

2.1.2. Détection de toxoplasmes dans la viande et le lait de chèvre

Chez la chèvre infectée expérimentalement, les toxoplasmes sont retrouvés par inoculation à la souris dans la plupart des tissus mais aussi dans le lait (Dubey, Sharma, Lopez, 1980). La présence de toxoplasme a été également démontrée dans le lait de chèvres naturellement infectées (Skinner, 1990 ; Chiari, 1984).

Aucune donnée n'est disponible sur les produits de boucherie.

2.2. Conclusion sur le rôle des chèvres dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

La toxoplasmose de la chèvre s'accompagne d'avortements souvent associés à d'autres infections. Le lait cru peut représenter une source de danger.

3. **Porcs**

Les données séro-épidémiologiques et parasitologiques sont abondantes pour le porc, dont la viande est considérée aux Etats Unis comme la principale source de contamination de l'homme. En France, les données sont très limitées à quelques études sérologiques déjà anciennes.

3.1. Séroprévalence

Les résultats des enquêtes sérologiques, en particulier les plus anciennes, sont à prendre avec précaution car ils ont été obtenus avec des techniques manquant de sensibilité ou de spécificité. La technique considérée actuellement comme la plus sensible et la plus spécifique est l'agglutination de parasites formolés de haute sensibilité (Dubey, 1996) (cf. Question 5).

- Chez les porcs à l'engraissement, la séroprévalence moyenne dans les études publiées après 1990 est de 10%, avec des valeurs très variables selon les pays, de 0,9% en Autriche (Edelhofer, 1994) à 64% dans une étude italienne (Genchi, 1991). La prévalence augmente avec l'âge (Tenter, 2000). Un net déclin est observé aux U.S.A : de 23,9% en 1983-1984 à 3,1% en 1992 sur des porcs charcutiers, analysés dans un même laboratoire (Dubey, 1995).
- Si l'on considère les élevages confinés intensifs en Allemagne, Pays-Bas, Autriche et Suède, la prévalence retrouvée dans des études faites après 1990 est inférieure à 1% (Van Knapen, 1995 ; Edelhofer, 1994 ; Lunden, 2002). En Caroline du Nord, cette prévalence n'est plus que de 0,057% (1 porc sur 1752) chez des porcs élevés en confinement total contre 19% (12/63) chez des porcs fermiers (Davies, 1998). Des chiffres très élevés de séroprévalence peuvent être trouvés dans des élevages traditionnels de ces mêmes pays : 92,7% (51/55) dans une ferme du Massachusetts (47% de 900 porcs charcutiers de 4 états de la Nouvelle-Angleterre (Gamble, 1999).
- Chez les truies, en raison d'un âge plus avancé, la prévalence moyenne (17,8%) est plus élevée ; il y a là encore une influence du mode d'élevage : elle passe de 33% avant 1990 à 15,25% en moyenne après 1990 dans des élevages confinés intensifs d'Allemagne, Autriche et Pays-Bas (Van Knapen, 1995 ; Edelhofer, 1994).

Dans des pays où prédomine l'élevage traditionnel, la prévalence atteint souvent des chiffres plus importants : 31% dans les abattoirs en Inde (Chhabra, 1979), 39% au Ghana (Arkho-Mensah, 1998), 32% au Pérou (Suarez-Aranda, 2000), 67% chez des porcs nourris de déchets à Hawaï (Dubey, 1992).

En France, il n'y a pas, à notre connaissance, d'études récentes sur le sujet. En 1969, sur 944 porcs prélevés dans divers abattoirs de France, la séroprévalence était de 10,4% (Hurisse, 1969). Ces résultats sont à prendre avec précaution compte tenu de la technique utilisée (hémagglutination passive). Dans la région strasbourgeoise, la prévalence évaluée par immunofluorescence était de 18,9% sur 312 porcs en 1970 et de 25,5% sur 400 porcs en 1980 (Himy-Dahan, 1983).

3.2. Facteurs de risques associés à une prévalence élevée dans les élevages de porcs

Les porcs vivant à l'extérieur sont plus exposés que les autres à l'infection toxoplasmique parce qu'ils peuvent se contaminer en consommant des petits rongeurs, des aliments ou de la terre contenant des oocystes. Les porcs vivant en élevages confinés intensifs peuvent être infectés par des aliments souillés par des oocystes mais aussi par l'ingestion de souris (Weigel, 1995).

La présence de chats, de souris, de rats et d'oiseaux contaminés ainsi que le cannibalisme habituel du porc sont les facteurs qui favorisent une extension facile de la toxoplasmose porcine (Dubey, Murrel, 1986 ; Lehmann, 2003). Le chat semble jouer le rôle le plus important : la diminution du nombre de chats ou celle de l'excrétion des oocystes (chats vaccinés) diminue la prévalence de la toxoplasmose chez les porcs à l'engraissement (Mateus-Pinilla, 1999).

3.3. Détection de toxoplasmes dans la viande de porc

Chez des porcs infectés expérimentalement avec 1 à 10 oocystes, Dubey (Dubey, 1996) a montré que la langue (93%) est plus souvent parasitée que le cerveau (72%) ou le cœur (45%). Avec des doses infectantes plus importantes (10 000 oocystes), le toxoplasme a été retrouvé de façon constante chez 41 porcs infectés, aussi bien dans le cœur que dans le cerveau (Wingstrand, 1997). Une autre expérimentation rapporte qu'après ingestion de 100 à 10 000 oocystes par des porcs, les toxoplasmes sont retrouvés préférentiellement dans le cœur et le cerveau (8/8), puis la langue (7/8), les muscles de la hanche (5/8), le diaphragme (4/8), les reins, le foie et l'intestin grêle (2/8), les glandes salivaires et les yeux (1/8) (Dubey, 1984).

De nombreuses études ont été réalisées sur des animaux d'élevage ou sur des produits de boucherie. Par bio-essai chez la souris, sur 59 études dans divers pays du monde de 1956 à 1981, des toxoplasmes ont été détectés dans 13% des 7185 prélèvements de viande de porc naturellement infectés (synthèse des études rapportées par Dubey, 1986b). Les prélèvements les plus étudiés et les plus souvent positifs dans ces études sont les diaphragmes (2805 prélèvements, 19% de positifs). Le taux d'isolement est moindre à partir du cerveau (5,4% sur 371 prélèvements) ou d'autres prélèvements de viande - côtelettes, hachis, viande hachée de porc- (12,5% sur 1167 prélèvements). Les autres tissus dans lesquels les toxoplasmes ont été recherchés sont les yeux (11% de positifs sur 974), le foie (1 positif sur 35) et les glandes salivaires (3,2% de positifs sur 91).

La distribution des toxoplasmes dans les tissus, étudiée chez 4 porcs naturellement infectés, retrouve la présence de toxoplasmes dans diverses pièces de viande commercialisées pour des préparations de charcuterie et de boucherie (échine de porc, jambon, filet, travers, bacon) et dans la langue, le diaphragme, le cœur, le cerveau et le rein (Dubey, Murrel Fayer, 1986).

Plus récemment, une étude réalisée au Massachussetts sur 55 porcs destinés à la consommation humaine a montré la présence de *T. gondii* (bio-essai chez le chat) dans la langue ou le cœur chez 51 d'entre-eux (93%) (Dubey Gamble, 2002).

A l'opposé, dans une étude canadienne sur 240 porcs séropositifs pour la toxoplasmose, aucun parasite n'a pu être isolé à partir des cœurs et des diaphragmes par bio-essai chez la souris, faisant penser aux auteurs que la viande de ces porcs ne contenait que de très faibles quantités de toxoplasmes (Gajadhar, 1998).

Par PCR, de l'ADN toxoplasmique a été détecté dans 20/58 (34%) échantillons de 1 g de viande de porc naturellement infectés en Angleterre (Aspinall, 2002), mais dans aucun de 28 échantillons de porc en Suisse (Wyss, 2000). Par PCR quantitative (gène ITS-1 de l'ADN ribosomal 18S), de l'ADN toxoplasmique est retrouvé, après digestion de 50 g de prélèvements, dans la langue et le cerveau de 47 mini-porcs infectés expérimentalement (Jauregui, 2001). La sensibilité de cette technique est évaluée à 4 toxoplasmes par gramme de viande.

3.4. Conclusion sur le rôle des porcs dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

L'élevage intensif a nettement réduit la prévalence de l'infection toxoplasmique du porc dans de nombreux pays. Cette prévalence reste élevée dans les élevages traditionnels. Des toxoplasmes ont été détectés dans de nombreuses pièces de viande destinées à la consommation.

4. Bovins

Les bovins sont considérés comme les animaux les moins réceptifs à la toxoplasmose (cf. Question 4). Les kystes tissulaires seraient peu nombreux et ne persisteraient pas nécessairement durant toute la vie de l'animal, mais peu d'explications claires et indiscutables ont été apportées ; il est possible qu'une réaction immunitaire, plus forte chez les bovins, limite la survie des parasites dans l'organisme (Esteban-Redondo, 1997).

4.1. Séroprévalence

Tout comme pour les porcs, de fortes réserves doivent être émises sur les résultats des enquêtes sérologiques réalisées avec des techniques autres que l'agglutination directe sensibilisée (le dye test n'étant pas utilisable chez les bovins) (cf. Question 5) (Dubey, 1985). Des quarante études rapportées par Tenter en 2000 et publiées au cours des dix années précédentes, la majorité repose sur des techniques de sensibilité insuffisante. Parmi celles d'origine européenne et utilisant l'agglutination de parasites formolés ou l'ELISA, le taux de positivité varie de 5% en Norvège, à 43% au Portugal. En Suisse, un taux de positivité de 11% a été observé en ELISA anti-SAG1 parmi 1689 animaux provenant de 113 élevages (Gottstein, 1998). Plus récemment, avec la technique d'agglutination, une séroprévalence de 53,8% a été rapportée sur 262 animaux dans le sud-est de la Pologne (Sroka, 2001).

En France, l'étude en immunofluorescence indirecte de 364 bovins de Gironde a montré une séroprévalence de 69%, 250 animaux étant positifs au 1/50 (seuil de la technique) et 2 à des dilutions supérieures (Cabannes, 1997). Une étude très récente a été menée dans le département de l'Aube par le laboratoire de Parasitologie du CHU de Reims, en partenariat avec le groupement de défense sanitaire de l'Aube : 1436 sérums prélevés chez des bovins issus de 30 exploitations (élevages pour la viande et élevages laitiers) tirées au sort sur 900 présentes dans ce département ont été testés. Un taux de positivité de 7.6% a été observé en ADHS (seuil retenu au 1/25) (Villena, 2004, données personnelles).

4.2. Détection de toxoplasmes dans la viande bovine et dans le lait

Deux études expérimentales ont été effectuées chez le veau:

- Dubey (1983) a recherché la distribution du parasite dans les tissus de veaux inoculés oralement avec 10^5 oocystes. Dix à 10 000 fois plus de toxoplasmes ont été retrouvés dans l'intestin et les ganglions mésentériques que dans le foie et le poumon, mais leur nombre diminuait significativement après une semaine. Chez 6 veaux autopsiés de 11 à 267 jours après l'inoculation, des kystes ont été mis en évidence dans plusieurs organes et le muscle semi tendineux (seul muscle squelettique étudié) ; le foie était le plus constamment parasité ; dans un cas, les examens étaient tous négatifs. Pour 2 animaux étudiés 256 et 267 jours après l'infestation, des prélèvements de 50 grammes du cerveau, du foie, du muscle et de l'intestin ont été inoculés à la souris : 10/12 prélèvements de foie étaient positifs, 3/12 du cerveau et du muscle, et 2/12 dans l'intestin.
- Esteban-Redondo (1999) a examiné 10 veaux de 6-7 mois après leur avoir inoculé oralement 10^3 ou 10^5 oocystes, 6 semaines ou 6 mois auparavant. Les inoculations à la souris à partir du cerveau, du cœur, et des muscles *psoas* et *gracillis* étaient toutes négatives, mais la taille des échantillons analysés n'était que de 1 à 3 g. Une PCR réalisée sur 2 g de chacun des prélèvements était également négative.

Les résultats de l'étude expérimentale la plus récente menée chez le bœuf sont résumés ci-dessous :

- Quatre animaux de 390 à 850 kg ont été euthanasiés 350, 539, 1191 et 1201 jours après avoir été inoculés oralement avec 10^4 oocystes (Dubey, Thulliez, 1993). Les bio-essais sur souris et les examens histologiques étaient négatifs dans les 4 cas alors que les bio-essais chez le chat (500 g de prélèvement inoculé par chat) étaient positifs à partir de 3/4 bovins dont 1 examiné 3 ans après l'inoculation. Les parasites ont été retrouvés 3 fois dans le cœur, 2 fois dans le foie et la langue, et 1 fois dans chacun des tissus suivants : cerveau, intestin, muscles intercostaux, muscles semitendineux et semimembraneux ; les isolements étaient négatifs à partir des reins et du filet. Un des bovins sacrifié à 3 ans était négatif par bio-essai chez le chat et sa sérologie s'était annulée en ADHS environ 18 mois après l'inoculation.

Le toxoplasme n'a que rarement été isolé de bovins naturellement infectés. Parmi les 24 études référencées par Dubey en 1986 (Dubey, 1986a), seules 2 ont utilisé le chat pour le bio-essai ; toutes les autres ont été réalisées par inoculation à la souris, méthode de sensibilité inférieure. Trois études rapportent des isolements positifs à partir du cerveau (8 sur 85 examinés), du diaphragme (9 sur 126 examinés dans 2 études) et du muscle (1 sur 104, étude japonaise). Trois autres études rapportent 191 isolements positifs à partir de la rétine d'un total de 936 animaux ; ces résultats sont critiquables selon Dubey, le parasite n'ayant jamais été isolé de l'œil de bovins infectés expérimentalement. Une étude roumaine, également réalisée par bio-essai sur des pools de 10 échantillons de diaphragme provenant de 910 bovins à l'abattoir a permis d'isoler le parasite dans 9,8% des pools (Pop, 1989).

En 1988, Dubey et Beattie soulignent qu'il n'existe aux Etats-Unis, en Australie ou en Europe, aucune observation publiée d'isolement de toxoplasmes à partir de tissus comestibles d'animaux naturellement infectés.

En 1992, aux USA, a été rapporté un cas d'isolement à partir de la paroi intestinale d'un bovin, mais les tissus comestibles étaient négatifs ; la souche était létale pour la souris (Dubey, 1992).

Plus récemment le toxoplasme a été mis en évidence dans des cerveaux de fœtus (un cas au Portugal, l'autre aux USA) à l'occasion d'une recherche de *Neospora caninum* chez des vaches qui avaient avorté (Canada, 2002).

Par PCR, Gottstein (1998) a rapporté 4 résultats positifs parmi 83 cerveaux de fœtus avortés.

La présence de *T. gondii* dans le lait de vache n'a jamais été démontrée, en dehors d'une infection expérimentale : Rommel et Breuning (1967) ne l'ont isolé qu'une fois chez 2058 souris inoculées avec du lait provenant de trois vaches laitières infectées expérimentalement. L'échantillon positif a été obtenu dans le lait produit 8 jours après l'infection.

4.3. Conclusion sur le rôle des bovins dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

Le manque de fiabilité de la plupart des techniques sérologiques utilisées jusqu'à présent, la sensibilité insuffisante de l'isolement sur souris compte tenu de la masse corporelle à étudier, la possibilité d'une guérison spontanée, et le peu d'études récentes, font que l'importance des bovins dans l'épidémiologie de la toxoplasmose reste actuellement mal déterminée.

5. Chevaux

5.1. Séroprévalence

La séroprévalence varie de 1 à 32 % dans les études les plus récentes (Tenter, 2000). En utilisant la technique d'ADHS, Dubey rapporte les taux suivants :

- aux Etats Unis, 0,4% chez 276 chevaux sauvages (Dubey, Mitchell, 2003) et 6,9% chez 1788 chevaux destinés à la boucherie (Dubey, Thulliez, 1999),
- en Argentine, 13,1% chez 76 chevaux (Dubey, Venturini, 1999),
- au Brésil, 16% sur 101 chevaux (Dubey, Kerber, 1999).

En Europe, deux études ont été publiées depuis 1990, montrant, en Suède, une prévalence de 1% chez 219 chevaux avec une technique ELISA (Uggla, 1990), et en République Tchèque, une prévalence de 7,7 % sur 2886 chevaux avec le dye test (Hejlíček, 1994).

5.2. Détection de toxoplasmes dans la viande de cheval

Trois études expérimentales d'infections orales rapportent l'isolement de parasites dans différents tissus : cœur, cerveau, moelle épinière, œil, langue, poumon, diaphragme, rein, foie et muscle (Dubey, 1988). L'une d'entre elles a étudié leur persistance chez 13 animaux (9 poneys, 3 chevaux, 1 mule) âgés de 6 mois à 13 ans, inoculés oralement avec 10^5 oocystes (Dubey, 1985) : des toxoplasmes ont été mis en évidence par bio-essai sur chat dans les muscles de 9 animaux, jusqu'à 15 mois après l'inoculation.

Très peu d'études ont été menées chez des chevaux naturellement infectés. La plus importante a porté, aux Etats Unis, sur 500 animaux destinés à la boucherie (Al-Khalidi, 1979). Des pools de prélèvements de cœur, diaphragme, moelle épinière, œsophage et sang ont été analysés par bio-essai sur le chat et sur la souris. Sept isollements de parasites (correspondant à au moins 7 animaux infectés) ont été obtenus dont 3 à partir des tissus de 128 chevaux dont la sérologie était négative en dye test.

5.3. Conclusion sur le rôle des chevaux dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

Malgré le peu d'études consacrées à l'infection du cheval il semble que sa prévalence soit faible mais que des kystes infectants puissent persister plus d'un an dans les tissus comestibles.

6. Lapins

Expérimentalement, il est établi que le lapin est réceptif à la toxoplasmose, mais aucune donnée de prévalence n'est disponible pour les animaux d'élevage.

7. Volaille domestique

La susceptibilité des oiseaux à *T. gondii* est connue de longue date et toutes les espèces peuvent être considérées comme des sources de contamination pour leurs prédateurs (dont le chat) (Dubey, 2002). En se nourrissant au sol, la volaille domestique (poulet, canard ...) est très exposée à une contamination par les oocystes.

7.1. Séroprévalence

Des séroprévalences extrêmement variables ont été rapportées chez les oiseaux, domestiques ou non (Dubey, 2002 ; Tenter, 2000). Chez le poulet, plusieurs enquêtes récentes combinant sérologie et bio-essais ont montré des prévalences très élevées dans des élevages traditionnels, atteignant 65% au Brésil (Tableau 33), mais aucune étude n'a porté sur des élevages intensifs.

Tableau 33 : Prévalence de la toxoplasmose chez le poulet

Pays	Nb. étudiés	Séroprévalence	Isolement de <i>T. gondii</i> (bio-essais)		Génotype	Référence
			Poulets séropositifs	Poulets séronégatifs		
Croatie	716	ND	0,4%		ND	Kuticic, 2000
Inde (Madras)	185	39%	ND	ND	ND	Devada, 1998
Inde	741	133 (17,9%)	0/186 (souris ou chat)	+ (pool) bio-essais : chat	II, III	Sreekumar, 2003
Mexique	208	6%	6/13 (46%)	ND	I, III	Dubey, Morales 2004
Brésil	82	39%	22/29 (76%)	+ (pool)	I, III	Dubey, Graham 2002
Brésil, Rio de Janeiro	96	ND	67/96 (70%)	ND	I, III	Dubey, Graham, 2003a
Brésil, Parana	40	40%	13/16 (81%)	+ (pool)	I, III	Dubey, Navarro 2003
Brésil	198	65%	61/98 (71%)	+	ND	Da Silva, 2003
Argentine	29	65%	9/19 (47%)	ND	I, II, III	Dubey, Venturini 2003
Etat-Unis Ohio, Massachusetts	129	17%	11/20 (55%)	0/63	II, III	Dubey, Graham 2003b
Israël	96	47%	19/45 (42%)	+ (pool)	II, III	Dubey, Salant 2004
Egypte	121	40%	19/49 (39%)	+ (pool)	II, III	Dubey, Graham, 2003c

Chez le pigeon, les séroprévalences varient de 2 à 10 % en Europe (Cotteleer, 1978 ; Mandelli, 1966) et aux USA (Kirkpatrick, 1990 ; Dubey, 2002) avec des effectifs de 15 à 322 sérums ; des taux de 33% (sur 12 sérums) et de 100% (sur 16 sérums) ont été rapportés respectivement en Iran (Ghorbani, 1990) et en Afrique du Sud (Mushi, 2001).

Les données de séroprévalence pour les autres volailles domestiques (canard, oie, dinde) sont très limitées, souvent anciennes et ne portent que sur des effectifs faibles (revu par Tenter, 2000); aucune donnée française n'est disponible

7.2. Détection de toxoplasmes

Les souches de toxoplasmes peuvent être isolées à partir du cœur ou du cerveau des poulets. Il est à noter que des parasites ont pu être isolés d'animaux séronégatifs. La fréquence variable des différents génotypes parmi les souches isolées est très probablement en rapport avec l'origine géographique des animaux étudiés (Tableau 33).

Chez le pigeon, les fréquences d'isolement sont faibles, de l'ordre de 1 à 6%, dans les études comportant des effectifs significatifs (20 à 600 oiseaux étudiés) (Litérak, 1992 ; Dubey, 2002).

7.3. Contamination des œufs

Une étude ancienne a rapporté l'isolement de *T. gondii* dans 4 œufs de poule (Pande, 1961) mais cette observation a été reconnue comme erronée. En fait, l'isolement du parasite à partir d'œufs n'a jamais été rapporté dans des conditions naturelles.

Après infection expérimentale de la poule, Jacobs (1966) a observé un œuf infecté sur 327 examinés mais Boch (1968) et Biancifiori (1986) n'ont obtenu aucun isolement à partir de 2214 et 720 œufs examinés.

7.4. Rôle des oiseaux et de la volaille domestique dans l'épidémiologie de la toxoplasmose

Les oiseaux semblent jouer un rôle important dans l'épidémiologie et la circulation de *T. gondii*. L'infection du poulet, en particulier, peut être considérée comme le témoin de la contamination tellurique par les oocystes.

La fréquence de la contamination de la volaille domestique pourrait représenter un risque potentiel pour l'homme. Cependant, les données parasitologiques issues des infections expérimentales chez le poulet, le pigeon, le canard (Biancifiori, 1986 ; Kaneto, 1997 ; Sedlak, 2004 ; Dubey, Ruff 1993) et les études de prévalence chez le poulet montrent que les parasites sont principalement localisés dans le cerveau, le cœur, à un degré moindre dans les autres viscères et plus rarement dans les muscles.

Références bibliographiques

- Al-Khalidi NW, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in horses. J Parasitol. 1979;65:331-4.
- Arko-Mensah J, Bosompem KM, Canacoo EA, Wastling JM, Akanmori BD. The seroprevalence of toxoplasmosis in pigs in Ghana. Acta Trop. 2000;76:27-31.
- Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE, Sims PF. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought? Int J Parasitol. 2002;32:1193-9.
- Biancifiori F, Rondini C, Grelloni V, Frescura T. Avian toxoplasmosis : experimental infection of chicken and pigeon. Comp Immunol Microb Infect Dis. 1986;9:337-46.
- Blewett DA. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. I. The interpretation of data for the prevalence of antibody in sheep and other host species. Brit Vet J. 1983;139:537-45.
- Boch J, Janitschke K, Rommel M. Untersuchungen deutscher Hühnerstände auf latente Toxoplasma-Infektionen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 1968;81:90.
- Cabannes A, Lucchese F, Hernandez JC, Pelse H, Biesel N, Eymonnot M, Appriou M, Tribouley-Duret J. Enquête séroépidémiologique sur *Toxoplasma gondii* chez les ovins, bovins et félins dans le département de la Gironde. Bull Soc Fr Parasitol. 1997;15:11-22.
- Calamel M, Giauffret A. Une enzootie de toxoplasmose caprine abortive. Bull Acad Vet. 1975;48:41-51.
- Callot J, Kremer M. Serological study of Toxoplasmosis in slaughter animals in Strasbourg. Rev Technique Vet des abattoirs et d'hygiène alimentaire. 1970;69:30.
- Campana-Rouget Y, Levitte F. Toxoplasmosis in cattle and sheep in the Cotes d'Or department. Rev Med Vet. 1974;125:99-106.
- Canada N, Meireles CS, Rocha A, da Costa JM, Erickson MW, Dubey JP. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. J Parasitol. 2002;88:1247-8.
- Chabasse D, Roberts R. Epidemiological study of animal and human toxoplasmosis in Maine et Loire. Arch Med Ouest. 1978;10:697-705.
- Chantal J, Dorchie P, Legueno B. Enquête sur certaines zoonoses en République de Djibouti : I- Chez les ruminants à l'abattoir de Djibouti. Rev Med Vet. 1994;145:633-40.

- Chanton-Greutmann H, Thoma R, Corboz L, Borel N, Pospischil A. Abortion in small ruminants in Switzerland : investigations during two lambing seasons (1996-1998) with special reference to chlamydial abortions. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2002;144:483-92.
- Chartier C, Beziaud E, Buzoni-Gatel D, Bout D, Calamel M, Russo P, Pepin M, Mallereau MP, Lenfant D, Dufour. Enquête séro-épidémiologique sur les avortements infectieux des caprins en région Poitou-Charentes. *Rev Med Vet.* 1997;148:489-96.
- Chhabra MB, Mahajan RC. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in slaughter pigs in India. *Trop Geogr Med.* 1979;31:123-6.
- Chiari CA, Neves DP. Human toxoplasmosis acquired by ingestion of goat's milk. *Mem I Osw Cruz.* 1984;79:337-40.
- Cotteleer C, Famerée L. Parasites intestinaux et anticorps antitoxoplasmiques chez les colombins en Belgique. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 1978;120:181-7.
- Da Silva DS, Bahia-Oliveira LM, Shen SK, Kwok OC, Lehman T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J Parasitol.* 2003;89:394-6.
- Davies PR, Morrow WE, Deen J, Gamble HR, Patton S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA. *Prev Vet Med.* 1998;17:67-76.
- Deconinck P, Akakpo J, Garrouste A, Komoin C, Pangui LJ, Ouattara L, Roger F, Tibayrenc R, Dorchie P. Prévalence de la toxoplasmose chez les petits ruminants en Afrique tropicale : résultats d'une enquête séro-épidémiologique. *Rev Med Vet.* 1996;147:377-8.
- Devada K, Anandan R, Dubey JP. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras, India. *J Parasitol.* 1998;84:621-2.
- Doby J, Deunff J. Toxoplasmosis of farm herbivores in Brittany. Serological by passive haemagglutination in more than 2500 cattle, sheep and goats. *Recueil de médecine vétérinaire de l'Ecole d'Alfort.* 1984;160:101-6.
- Dubey JP, Andrews CD, Lind P, Kwok OC, Thulliez P, Lunney JK. Antibody response measured by various serologic tests in pigs orally inoculated with low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1996;57:1733-7.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1988;220.
- Dubey JP, Desmonts G, McDonald C, Walls KW. Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma gondii*: comparison of Sabin-Feldman dye test and other agglutination tests. *Am J Vet Res.* 1985;46:1085-8.
- Dubey JP, Gamble HR, Hill D, Sreekumar C, Romand S, Thulliez P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. *J Parasitol.* 2002;88:1234-8.
- Dubey JP, Gamble HR, Rodrigues AO, Thulliez P. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* in 509 pigs from 31 farms in Oahu, Hawaii. *Vet Parasitol.* 1992;43:57-63.
- Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AM, Nishi SM, Shen SK, Kwok OC, Hill DE, Thulliez P. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil : unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32:99-105.
- Dubey JP, Graham DH, da Silva DS, Lehmann T, Bahia-Oliveira LM. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocyst shedding by cats. *J Parasitol.* 2003;89:851-3.
- Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Hilali M, El-Ghaysh A, Sreekumar C, Kwok OC, Shen SK, Lehmann T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens and ducks from Egypt. *Vet Parasitol.* 2003;114:89-95.
- Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Lehmann T, Davis MF, Morishita TY. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. *Parasitol.* 2003;89:1060-2.
- Dubey JP, Kerber CE, Granstrom DE. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *J Am Vet Med Assoc.* 1999;215:970-2.
- Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OC, Ashford DA, Thulliez P. Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *J Parasitol.* 1996;82:438-43.
- Dubey JP, Mitchell SM, Morrow JK, Rhyan JC, Stewart LM, Granstrom DE, Romand S, Thulliez P, Saville WJ, Lindsay DS. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from central Wyoming. *J Parasitol.* 2003;89:716-20.
- Dubey JP, Morales ES, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. *J Parasitol.* 2004;90:411-3.
- Dubey JP, Murrel KD, Fayer R, Schad GA. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. *J Am Vet Assoc.* 1986;188:1035-7.
- Dubey JP, Murrel KD, Fayer R. Persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs fed oocysts. *Am J Vet Res.* 1984;45:1941-3.
- Dubey JP, Murrel KD, Hanbury RD, Anderson WR, Doby PB, Miller HO. Epidemiologic findings on a swine farm with enzootic toxoplasmosis. *J Am Vet Assoc.* 1986;189:55-6.
- Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Parana, Brazil. *Vet Parasitol.* 2003;117:229-34.
- Dubey JP, Ruff MD, Camargo ME, Shen SK, Wilkins GL, Kwok OC, Thulliez P. Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1993;54:1668-72.
- Dubey JP, Salant H, Sreekumar C, Dahl E, Vianna MC, Shen SK, Kwok OC, Spira D, Hamburger J, Lehmann TV. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. *Vet Parasitol.* 2004;121:317-22.
- Dubey JP, Sharma S.P. Parasitemia and tissue infection in sheep fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol.* 1980;66:111-14.
- Dubey JP, Sharma SP, Lopes CW, Williams JF, Williams CS, Weisbrode SE. Toxoplasmosis : abortion, clinical signs, and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1980;41:1072-6.
- Dubey JP, Thulliez P, Romand S, Kwok OC, Shen SK, Gamble HR. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. *Vet Parasitol.* 1999;86:235-8.
- Dubey JP, Thulliez P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1993;54:270-3.
- Dubey JP, Towle A. *Toxoplasmosis in sheep, a review and annotated bibliography*. CAB International. St Albans UK. 1986.
- Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, McKinney J, Pecoraro M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet Parasitol.* 1999;86:59-62.
- Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, Piscopo M, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. *J Parasitol.* 2003;89:1063-4.

- Dubey JP, Weigel RM., Siegel AM, Thulliez P, Kitron UD, Mitchell MA, Manelli A, Mateus-Pinilla NE, Shen SK, Kwok OC., Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* on 47 swine farms in Illinois. J Parasitol. 1995;81:723-29.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in cattle. Vet Parasitol. 1986;22:177-202.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in pigs. Vet Parasitol. 1986;19:181-223.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol. 2002;106:121-53.
- Dubey JP. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. Vet Parasitol. 1983;13:199-211.
- Dubey JP. Isolation of *Toxoplasma gondii* from a naturally infected beef cow. J Parasitol. 1992;78:151-3.
- Dubey JP. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of equids fed oocysts. Am J Vet Res. 1985;46:1753-4.
- Duncanson P, Terry RS, Smith JE. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. Int J Parasitol. 2001;31:1699-1703.
- Edelhofer R. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in pigs in Austria – an evaluation of data from 1982 and 1992. Parasitol Res. 1994;80:642-44.
- Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, Innes EA. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet Parasitol. 1999;86:155-71.
- Esteban-Redondo I, Innes EA. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. Int J Parasitol. 1998;28:1459-66.
- Esteban-Redondo I, Innes EA. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. Comp Immunol Microb Infect Dis. 1997;20:191-6.
- Gajadhar AA, Aramini JJ, Tiffin G, Bisailon JR. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Canadian market-age pigs. J Parasitol. 1998;84:759-63.
- Gamble HR, Brady RC, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in the New England states. Vet Parasitol. 1999;82:129-36.
- Genchi G, Polidori GA, Zaghini L, Lanfranchi P, Aspetti epidemiologici della toxoplasmosi nell'allevamento intensivo del suino. Arch Vet Ital. 1991;42:105-11.
- Ghorbani M, Gharavi MJ, Kahnamou A. Serological and parasitological investigations on *Toxoplasma* infection in domestic fowls in Iran. Iranian J Public Health. 1990;19:9-17.
- Gottstein B, Hentrich B, Wyss R, Thur B, Busato A, Stark KD, Muller N. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. Int J Parasitol. 1998;28:679-91.
- Guillot B, Desmots G. Serological survey of toxoplasmosis in slaughter animals. Recueil de médecine vétérinaire de l'Ecole d'Alfort. 1960;136:383-98.
- Hejlíček K, Literák I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the Czech Republic. Acta Parasitol. 1994;39:217-9.
- Himy-Dahan R, Heinrich A. Human and animal toxoplasmosis in the Strasbourg area in 1980; Modification observed since 1970. Med Mal Inf. 1983;13:457-9.
- Hurisse G, Peyraud B. Enquête avec le test d'hémagglutination Eiken sur l'infection toxoplasmique des porcs abattus en France. Rev Med Vet. 1969;120:1023-41.
- Jacobs L, Melton ML. Toxoplasmosis in chickens. J Parasitol. 1966;52:1158-62.
- Jacobs L, Remington JS, Melton ML. A survey of meat samples from swine, cattle, and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. J Parasitol. 1960;46:23-8.
- Jauregui LH, Higgins J, Zarlenga D, Dubey JP, Lunney JK. Development of a real-time PCR assay for detection of *Toxoplasma gondii* in pig and mouse tissues. J Clin Microbiol. 2001;39:2065-7.
- Kaneto CN, Costa AJ, Paulillo AC, Moraes FR, Murakami TO, Meireles MV. Experimental toxoplasmosis in broiler chicks. Vet Parasitol. 1997;69:203-10.
- Kirkpatrick CE, Colvin BA, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* antibodies in common barn-owls (*Tyto alba*) and pigeons (*Columba livia*) in New Jersey. Vet Parasitol. 1990;36:177-80.
- Kuticic V, Wikerhauser TA. Survey of chickens for viable toxoplasms in Croatia. Acta Vet Hung. 2000;48:183-5.
- Literák I, Hejlíček K, Nezval J, Folk C. Incidence of *Toxoplasma gondii* in populations of wild birds in the Czech Republic. Avian Pathol. 1992;21:659-65.
- Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. Infect Genet Evol. 2003;3:135-41.
- Lunden A, Lind P, Engvall EO, Gustavsson K, Ugglå A, Vagsholm I. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs slaughtered in Sweden. Scand J Infect Dis. 2002;34:362-5.
- Mandelli G, Persiani G. Ricerche sierologiche sulla presenza e diffusione della toxoplasmosi nei piccioni torraioli (*Columba livia*). Clin Vet. (Milano) 1966;89:161-6.
- Masala G, Porcu R, Madau L, Tanda A, Ibbà B, Satta G, Tola S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. Vet Parasitol. 2003;117:15-21.
- Mateus-Pinilla NE, Dubey JP, Choromanski L, Weigel RM. A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. J Parasitol. 1999;85:855-60.
- McColgan C, Buxton D, Blewett DA. Titration of *Toxoplasma gondii* oocysts in non-pregnant sheep and the effects of subsequent challenge during pregnancy. Vet Rec. 1988;123:467-70.
- Mushi EZ, Binta MG, Chabo RG, Ndebele R, Panzirah R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Chlamydia psittaci* in domestic pigeons (*Columba livia domestica*) at Sebele, Gaborone, Botswana. Onderstepoort. J Vet Res. 2001;68:59-61.
- Owen MR, Trees AJ. Genotyping of *Toxoplasma gondii* associated with abortion in sheep. J Parasitol. 1999;85:382-4.
- Pande PG, Shukla RR, Sekariah PC. *Toxoplasma* from the eggs of the domestic fowl (*Gallus gallus*). Science. 1961;133:648.
- Pereira-Bueno J, Quintanilla-Gozaló A, Perez-Perez V, Alvarez-García G, Collantes-Fernández E, Ortega-Mora LM. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. Vet Parasitol. 2004;121:33-43.
- Pestre M, Mandoul R, Nicolas J. Sheep as reservoir of the toxoplasmosis virus: research on the possibilities of transmission of the pathogenic agent. Bull soc Path Exot. 1962;55:789-97.

- Pita Gondim LF, Barbosa HV, Ribeiro Filho CH, Saeki H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. *Vet Parasitol.* 1999;82:273-6.
- Pop A, Oprisan A, Pop A, Cerbu A, Stavarache M, Nitu R. Toxoplasmosis prevalence parasitologically evaluated in meat animals. *Arch Roum Pathol Exp Microbiol.* 1989;48:373-8.
- Rommel M, Breuning J. Untersuchungen über das Vorkommen von *Toxoplasma gondii* in der Milch einiger Tierarten und die Möglichkeit der laktogenen Infektion. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1967;80:365-9.
- Sedlak K, Literak I, Bartova E, Dvorakova H, Barta J. Susceptibility of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) to experimental infection with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Avian Pathol.* 2004;33:153-7.
- Sharma SP, Baipoledi EK, Nyange JF, Tlagae L. Isolation of *Toxoplasma gondii* from goats with history of reproductive disorders and the prevalence of *Toxoplasma* and *chlamydial* antibodies. *Onderstepoort J Vet Res.* 2003;70:65-8.
- Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JM, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scand J Infect Dis.* 1990;22:359-61.
- Skjerve E, Waldeland H, Nesbakken T, Kapperud G. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Prev Vet Med.* 1998;35:219-27.
- Sreekumar C, Graham DH, Dahl E, Lehmann T, Raman M, Bhalerao DP, Vianna MC, Dubey JP. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. *Vet Parasitol.* 2003;118:187-94.
- Sroka J. Seroepidemiology of toxoplasmosis in the Lublin region. *Ann Agric Environ Med.* 2001;8:25-31.
- Suarez-Aranda F, Galisteo AJ, Hiramoto RM, Cardoso RP, Meireles LR, Miguel O, Andrade HF. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet Parasitol.* 2000;24:23-32.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* : from animals to humans. *Int J Parasitol.* 2000;30:1217-58.
- Uggla A, Mattson S, Juntti N. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats, dogs and horses in Sweden. *Acta Vet Scand.* 1990;31:219-22.
- Van der Puije WN, Bosompem KM, Canacoo EA, Wastling JM, Akanmori BD. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Trop.* 2000;76:21-6.
- Van Knapen F, Kremers AFT, Franchimont JH, Narucka U. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cattle and swine in the Netherlands : towards an integrated control of livestock production. *Vet Quart.* 1995;17:87-91.
- Weigel RM, Dubey JP, Siegel AM, Kitron UD, Mannelli A, Mitchell MA, Mateus-Pinilla NE, Thulliez P, Shen SK, Kwok OC. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *J Parasitol.* 1995;81:736-41.
- Wingstrand A, Lind P, Haugegaard J, Henriksen SA, Bille-Hansen V, Sorensen V. Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.* 1997;72:129-40.
- Wyss R, Sager H, Muller N, Inderbitzin F, Konig M, Audige L, Gottstein B. The occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* as regards meat hygiene. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2000;142:95-108.

Question 19 : quel est le rôle des animaux sauvages ?

Responsable de la question : M. Dorchies

Co-rédacteurs : Mme Villena

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Jacquiet, M. Chartier

Le rôle des félinés sauvages, en tant qu'hôtes définitifs potentiels de *T. gondii* a été évoqué dans la Question 17. Le rôle des animaux sauvages en tant qu'hôtes intermédiaires du parasite est également à prendre en compte dans l'épidémiologie de la toxoplasmose, principalement comme facteur de dispersion du parasite et, secondairement, comme agent de contamination humaine.

D'une façon générale, la prévalence de la toxoplasmose est très variable selon les espèces et les études rapportées : les données sont souvent ponctuelles, parfois réalisées sur de faibles effectifs et sont issues majoritairement d'études menées aux USA ; les taux de séroprévalences observées peuvent varier en fonction de l'âge des animaux prélevés. Enfin, très peu de données existent concernant les génotypes des souches de *T. gondii* isolées, mais les 3 génotypes principaux semblent circuler chez les mammifères sauvages aux Etats Unis (Dubey, 2004).

La majorité des études sérologiques rapportées dans cette question reposent sur le dye-test ou le test d'agglutination modifié.

1. Mammifères sauvages terrestres

1.1. Chez les petits rongeurs et carnivores sauvages

Aux Etats-Unis, Smith (1995) a retrouvé une séroprévalence faible chez la souris et le rat (3%) et plus fortes chez les rats musqués (*Ondatra zibethicus*) (18%), les écureuils (*Sciurus spp.*) (18%) et les visons (*Mustela vison*) (66%). Hejlicek (1997) rapporte en République Tchèque, une séroprévalence de 24% chez les rats musqués avec un effectif plus grand (437 animaux testés). Une étude menée en Iowa entre 1984 et 1988 (Hill, 1998) rapporte des taux de séropositivité (par test d'agglutination modifiée) de 15% (134/885) pour les ratons laveurs (*Procyon lotor*), 47% (38/81) pour les mouffettes rayées (*Mephitis mephitis*) et 23% (12/53) pour l'opossum (*Didephis virginiana*). Des disparités sont cependant observées selon les études ; ainsi pour les ratons laveurs des taux d'environ de 46 - 49% ont été retrouvés (Franti, 1976 ; Lindsay, 2001; Mitchell, 1999) avec des différences notables de prévalences observées selon l'âge des animaux et les saisons de piégeage (Mitchell, 1999). *T. gondii* a été isolé de 7 ratons laveurs (sur 29) (Dubey, 2004).

Enfin, selon Lehmann (2003), des séroprévalences comprises entre 20 % et 80% ont été observées selon la localisation des animaux prélevés, et notamment en fonction de la proximité d'une ferme d'élevage traditionnel de porc (avec les taux les plus élevés pour des petits animaux sauvages capturés dans un rayon de 50 mètres autour d'une porcherie).

En France, une seule étude publiée fait état de séroprévalences faibles chez les petits rongeurs, avec des valeurs <1% en dye test, sauf chez les mustélidés chez qui la séroprévalence est de l'ordre de 30% (Doby, 1974).

Une étude plus récente¹⁰ a été menée dans la région Champagne-Ardenne, dans le cadre de campagnes de piégeage, sur 117 ragondins et 56 rats musqués. La séroprévalence de la toxoplasmose est de 12 % chez les ragondins et 11% chez les rats musqués ; 15 souches ont pu être isolées (10 de ragondins et 5 de rats musqués toutes de type II)

¹⁰ Les études sérologiques rapportées concernent principalement la Région Champagne-Ardenne. Elles ont été réalisées au laboratoire de Parasitologie du CHU de Reims en partenariat avec le LVD de l'Aube, l'AFSSA Nancy et l'ONCFS. La méthodologie employée a reposé sur une sérologie par agglutination modifiée (seuil retenu au 1/25^{ème}) avec parfois la mise en évidence du parasite (obtention d'une souche de *T. gondii*) par inoculation de la totalité du cœur à des souris. (Villena, données personnelles, 2004).

(Villena, données personnelles, 2004). Une étude similaire, menée en Limousin rapporte une séroprévalence de 15 % chez le ragondin (7/48) et l'isolement d'une souche de type II (Dumètre, communication personnelle).

1.2. Chez les Herbivores

1.2.1. Lapins de Garenne (*Oryctolagus cuniculus*)

peu d'études sont rapportées. En Norvège et Suède, une étude ancienne rapporte une séroprévalence de 21% sur 34 animaux testés (Kapperud, 1978). Plus récemment, en République Tchèque, une étude menée sur 366 animaux rapporte une séroprévalence de 53% (Hejlícek, 1994); mais ce même auteur a ultérieurement rapporté une prévalence parasitologique (isolement de *T. gondii*) de 5% sur 293 animaux examinés (Hejlícek, 1997). En France, une seule étude datant de 1990 rapporte une séroprévalence (immunofluorescence indirecte) de 5,9% sur 187 lapins de Garenne provenant des Bouches du Rhône, du Vaucluse et de la Région parisienne (Chalupsky, 1990).

1.2.2. Cervidés

Pour les chevreuils (*Capreolus capreolus*) et les cerfs (*Cervus elaphus*) peu de données sont disponibles. Les séroprévalences rapportées chez les chevreuils en Europe du Nord vont de 14% pour Hejlícek (1997) à 63% (5/8) pour Kapperud (1978). Dans l'étude comportant l'effectif le plus important (760 animaux) elle est de 34% (Vikoren, 2004), avec une prévalence plus faible chez les cerfs (7,7%) que chez le chevreuil (34 %). Aux USA, ces prévalences varient de 30 à 60% selon les études (Tenter, 2000 ; Dubey, 2004). Chez des cervidés (*Odocoileus virginianus*), Lindsay (1991) et Dubey (2004) ont isolé au total, 25 souches, toutes de génotype II.

Pour les cerfs, comme pour les chevreuils, il n'existe pas de corrélation entre la séroprévalence et le sexe. Par contre la prévalence est plus faible chez les cerfs adultes que chez les jeunes, l'inverse étant observé chez le chevreuil (Franti, 1975 ; Viroken, 2004).

En France, il n'existe pas de données publiées. Une étude récente¹¹ menée dans la région Champagne-Ardenne rapporte une prévalence de 37% chez les chevreuils (228 animaux positifs sur 615) avec isolement de 2 souches (génotype II) alors que seulement 2 cerfs sur 44 étaient séropositifs (Villena, données personnelles, 2004).

Des taux de prévalence variant de 1 à 15% sont retrouvés chez les rennes et les élans en fonction des régions géographiques où les études ont été menées (Tenter, 2000 ; Viroken, 2004).

1.3. Chez les Carnivores et omnivores

1.3.1. Renards

Les renards sont des prédateurs non spécifiques qui se nourrissent d'une grande variété de proies (campagnols, marmottes, lagomorphes et divers oiseaux) mais ceux-ci sont aussi des animaux fouilleurs d'ordures (scavenger). Ainsi la séroprévalence observée chez les renards pourrait être un bon reflet de la prévalence de la toxoplasmose dans la faune locale. Les séroprévalences observées sont généralement élevées (de 18% à 98%) et variables selon les régions (Buxton, 1997 ; Dubey, 1999 ; Jakubek, 2001 ; Kapperud, 1978 ; Losson, 1999 ; Moller, 1952 ; Wolfe, 2001 ; Smith, 1995 ; Warwrzkiewicz, 1961). L'étude faite par Dubey en 1999 (Dubey, 1999) est la plus importante : portant sur 283 sérums, elle montre une séroprévalence de 86% ; ce même auteur rapporte (Dubey, 2004) l'isolement d'une seule souche de type II. Antérieurement, De Lalla (1967) avait isolé *T. gondii* de 5 renards sur 17 (comparé à une séroprévalence de 43%).

¹¹ Les études sérologiques rapportées concernent principalement la Région Champagne-Ardenne. Elles ont été réalisées au laboratoire de Parasitologie du CHU de Reims en partenariat avec le LVD de l'Aube, l'AFSSA Nancy et l'ONCFS. La méthodologie employée a reposé sur une sérologie par agglutination modifiée (seuil retenu au 1/25^{ème}) avec parfois la mise en évidence du parasite (obtention d'une souche de *T. gondii*) par inoculation de la totalité du cœur à des souris. (Villena, données personnelles, 2004).

En France, une étude²⁰ rapporte une séroprévalence de 88% (212 animaux positifs sur 241) chez des renards prélevés dans tout le territoire national et l'isolement d'une souche de *T. gondii* (génotype II) (Villena, données personnelles, 2004).

1.3.2. Sanqliers (*Sus Scrofa*)

En Europe les séroprévalences rapportées sont de 15 à 25% selon les études ; aux USA elles sont de l'ordre de 35% (Tenter, 2000). Au Japon, la prévalence semble plus faible (6% sur un effectif de 108) (Nogami, 1999).

En France, la seule donnée disponible est issue d'une étude* menée en 2003 et 2004 avec une séroprévalence observée de 41% sur un effectif de 104 animaux et 9 souches de *T. gondii* (génotype II) isolées (Villena, données personnelles, 2004).

1.3.3. Loups (*Canis lupus*)

La seule étude publiée en Alaska rapporte une séroprévalence faible de 9% (sur un effectif de 125) (Zarnke, 2004). Au Brésil, les prévalences observées vont de 0 à 90% selon que les animaux testés soient en captivité (zoos) ou dans des réserves naturelles ; elles sont également variables selon l'âge des animaux étudiés (Vitaliano, 2004).

1.3.4. Ours (*Ursus americanus*)

Les séroprévalences rapportées (sur des effectifs importants) sont variables selon les régions étudiées : ainsi en Alaska elles varient de 15% (Chomel, 1995) à 45% (Zarnke, 2000) ; mais elles sont globalement élevées de l'ordre de 56% en Floride (Dunbar, 1998) et 75-80% en Pennsylvanie (Dubey, 1994 ; 1995). Dans cette dernière région, *T. gondii* a été isolé chez 10 ours par bio-essai chez la souris ou chez le chat (Dubey, 1995 ; 2004).

Globalement, Smith (1995) estime que la prévalence est plus forte chez les animaux carnivores ou omnivores que chez les herbivores et les rongeurs car la probabilité pour eux de consommer un animal infecté (environ 1 repas sur 10) est plus grande que celle des herbivores de consommer des végétaux souillés par des oocystes.

En milieu tropical, une étude de séroprévalence faite en Guyane Française révèle que les taux d'infection des mammifères terrestres rongeurs (PACA : 59,5%), artiodactyles (pécari à collier : 68%) ou carnivores est beaucoup plus important que celui des mammifères arboricoles (0 à 4% chez les singes arboricoles) et des marsupiaux (Opossum commun : 14%) (De Thoisy, 2003).

2. **Mammifères marins**

Un certain nombre de cas de toxoplasmoses ont été décrits chez des mammifères marins dès 1985 (Holshuh, 1985) : il s'agissait souvent de cas ponctuels observés sur des animaux captifs ou échoués. Des manifestations cliniques de la toxoplasmose ont été objectivées chez les belugas, les éléphants de mer et les dauphins (Dubey, 2003). Des méningo-encéphalites toxoplasmiques ont même été rapportées chez les loutres de mer (*Enhydra lutris*) en Californie, responsables de la mortalité de 16 % de ces mammifères (Miller, 2004) avec une atteinte conjointe par *Sarcocystis neurona* dans seulement 4% des cas. Les études réalisées sur les loutres de mer ont conduit à l'isolement de 35 souches de génotype II dans 40% des cas, et d'un génotype « atypique » dans les autres cas, en relation avec la gravité de la toxoplasmose (Cole, 2000 ; Miller, 2004).

Des enquêtes sérologiques ont aussi été réalisées sur des effectifs variables (compris entre 4 et 380). Les prévalences sont en général élevées hormis quelques exceptions. Ainsi la séroprévalence en Californie, chez les loutres de mer est comprise entre 42% (Miller, 2002b) et 82% et 29 % chez les lions de mer (*Zalophus californianus*) (Dubey, 2003). Par contre, en Alaska la prévalence est nulle pour les loutres de mer (Hanni, 2003) mais de 16 % chez les phoques veau-marin (*Phoca vitulina*) ou les phoques marbrés (*Phoca hispida*) (Dubey, 2003); tandis qu'au Canada, ces prévalences sont plus faibles chez ces mêmes animaux (environ 9%) (Measures, 2004). Des séroprévalences très élevées (entre 96 et 100%) ont

été également retrouvées en Californie et en Floride chez les dauphins (*Tursiops truncatus*) (Dubey, 2003) ; des valeurs de séroprévalences comprises entre 11 et 57% sont rapportées chez ces mêmes animaux en Espagne (Cabezon, 2004).

L'infection des mammifères marins pourrait se faire par l'intermédiaire des invertébrés marins jouant un rôle phorétique. Les oocystes de *T. gondii*, apportés dans la mer par le lessivage des sols par les pluies, seraient ensuite ingérés par ces invertébrés (Cole, 2000 ; Miller, 2002a), bien que *T. gondii* n'ait encore jamais été isolé des crustacés ou des coquillages en milieu naturel (Fayer, 2004). L'évacuation des déjections des chats domestiques dans les réseaux urbains et l'évacuation des rejets de certaines stations d'épurations en mer conduirait à la contamination du milieu marin par des oocystes non sporulés. Du fait de leur capacité de survie et de sporulation dans l'eau de mer (Lindsay, 2003), les oocystes peuvent évoluer en forme infectante et entrer ainsi dans la chaîne de contamination.

3. Oiseaux sauvages

T. gondii peut être retrouvé chez la plupart des espèces d'oiseaux sauvages avec des fréquences de prévalence et d'isolement du parasite très variables selon les études (Literak, 1992 ; Lindsay, 1993 ; Dubey, 2002). Ainsi, on peut retenir que les prévalences varient de 6 à 12 % chez les ansériformes (canards) et de 2 à 70% chez les galliformes (dindes, faisans, perdrix...). Chez les chouettes, les prévalences rapportées sont aux alentours de 25% aux USA, elles varient de 8 à 65% chez les rapaces (Tableau 34).

Tableau 34 : Fréquence d'isolement et séroprévalence de *Toxoplasma gondii* chez les oiseaux sauvages

Espèces	Région	Isolement* de <i>T. gondii</i> % (Nb de cas étudiés)	Séroprévalence % (Nb de cas étudiés)	Référence
Anseriformes (canards)				
Canard colvert (<i>Anas platyrhynchos</i>)	République tchèque	12% (184)	2% (297)	Literák, 1992 Literák, 1993
Fuligule milouin (<i>Aythya ferrina</i>)	République tchèque	12,5% (8)	-	Literák, 1992
Canard carolin (<i>Aix sponsa</i>)	USA (Floride)	-	6%(16)	Burridge, 1979
Accipitriformes (buses, vautours, etc.)				
Buse variable (<i>Buteo buteo</i>)	République tchèque	8% (123)	-	Literák, 1992
Buse à queue rousse (<i>Buteo jamaicensis</i>)	USA	41% (27)	-	Lindsay, 1993
Buse à épaulettes (<i>Buteo lineatus</i>)	USA	67% (12)	-	Lindsay, 1993
Vautour noir (<i>Aegypius monachus</i>)	Kazakhstan	25.0% (4)	-	Pak, 1976
Vautour à dos blanc (<i>Pseudogyps africanus</i>)	Nigeria	-	65% (240)	Arene, 1999
Vautour aura (<i>Cathartes aura</i>)	USA	0 (4)	50% (4)	Lindsay, 1993
Urubu noir (<i>Coragyps atratus</i>)	USA	0 (2)	-	Lindsay, 1993
Crecerelle d'Amérique (<i>Falco sparverius</i>)	USA	3%(33)	-	Lindsay, 1993
Strigiformes (chouettes)				
Chevêche d'Athéna (<i>Athene noctua</i>)	Kazakhstan	6.7% (15)	-	Pak (1976)
Grand-duc d'Amérique (<i>Bubo virginianus</i>)	USA	20% (5)	-	Lindsay, 1993
	USA	27% (15)	-	Lindsay, 1993
Chouette rayée (<i>Strix varia</i>)	USA	-	27% (38)	Kirkpatrick, 1990
Chouette effraie (<i>Tyto alba</i>)	USA	-	22.5 % (80)	Kirkpatrick, 1990
Galliformes (perdrix, faisans, dindons, etc.)				
Perdrix (<i>Perdix perdix</i>)	République tchèque	18,7% (16)	-	Literák, 1992
Faisans (<i>Phasianus colchicus</i>)	République tchèque	2,4% (590)	-	Literák, 1992
Dindons (<i>Meleagris gallopavo</i>)	USA	50%(16)	71% (16)	Lindsay, 1994
	(Alabama)			
	USA	-	10% (130)	Quist, 1995
Struthioniformes				
Autruches (<i>Struthio camelus</i>)	Canada	-	3% (973)	Dubey, 2000

(d'après la revue de Dubey, 2002)

* isolement : mise en évidence de *T. gondii* dans les tissus des oiseaux par bio essai chez la souris.

Dubey (2002) précise qu'il faut être prudent dans l'interprétation des prévalences observées car certains tests ne détectent pas les anticorps présents dans diverses espèces et des toxoplasmes viables ont pu être isolés d'oiseaux alors que les sérologies étaient négatives en dye-test ou en ADHS. Enfin, deux parasites très proches (*Atoxoplasma* et *Sarcocystis*)

peuvent être retrouvés chez de nombreux oiseaux, pouvant conduire à des diagnostics erronés de toxoplasmose (aspect morphologique semblable sur des coupes histologiques) ; ainsi les seules espèces d'oiseaux vérifiées pour être susceptible à l'infection par *T. gondii* sont celles où *T. gondii* a été isolé par bio-essai (Dubey, 2002).

Une étude* en France portant sur des sérums issus de divers oiseaux sauvages rapporte une prévalence de 100% (sur un effectif de 9 oiseaux) chez la buse variable (*Buteo buteo*), de 62,5% (sur un effectif de 8 oiseaux) chez la chouette hulotte (*Strix aluco*), de 42,8% (sur un effectif de 14 oiseaux) chez la chouette effraie (*Tyto alba*) et de 37.5% (sur un effectif de 8 oiseaux) chez le faucon crécerelle (*Falco tinnunculus*). (Villena, données personnelles, 2004).

Références bibliographiques

- Arene FO. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in vultures (*Pseudogyps africanus*) from eastern Nigeria. *Acta Parasitol.* 1999;44:79-80.
- Burns R, Williams ES, O'Toole D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in captive black-footed ferrets (*Mustela nigripes*), 1992-1998 : clinical signs, serology, pathology, and prevention. *J Wildl Dis.* 2003;39:787-97.
- Buxton D, Maley SW, Pastoret PP, Brochier B, Innes EA. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet Rec.* 1997;141:308-9.
- Burridge MJ, Bigler WJ, Forrester DJ, Hennemann JM. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. *J Am Vet Med Assoc.* 1979;175:964-7.
- Cabezón O, Resendes AR, Domingo M, Raga JA, Agusti C, Alegre F, Mons JL, Dubey JP, Almería S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild dolphins from the Spanish Mediterranean coast. *J Parasitol.* 2004;90:643-4.
- Chalupsky J, Vavra J, Gaudin JC, Vandewalle P, Arthur CP, Guenezan M, Launay H. Mise en évidence sérologique de la présence d'Encephalitozoonose et de toxoplasmose chez le lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) en France. *Bull Soc Fr Parasitol.* 1990 ;8:91-5.
- Chomel BB, Zamke RL, Kasten RW, Kass PH. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in grizzly bears (*Ursus arctos*) and black bears (*Ursus americanus*), from Alaska, 1988 to 1991. *J Wildl Dis.* 1995;31:472-9.
- Cole RA, Lindsay DS, Howe DK, Roderick CL, Dubey JP, Thomas NJ, Baeten LA. Biological and molecular characterisations of *Toxoplasma gondii* strains obtained from southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *J Parasitol.* 2000;86:526-30.
- De Lalla F, Bechelli G, Cavallini-sampieri L. Osservazioni sierologiche e parassitologiche sulla diffusione della toxoplasmosi nelle volpi dell'area di Siena. *La clinica Veterinaria.* 1967;90:393-400.
- De Thoisy B, Demar M, Aznar C, Carne B. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging neotropical mammals. *J Wildl Dis.* 2003;39:456-9.
- Doby JM, Desmonts G, Beaucournu JC, Akinchina GT. Recherche immunologique systématique de toxoplasmose chez les petits mammifères sauvages en France. *Folia Parasitol.* 1974;21:289-300.
- Dubey JP, Briscoe N, Gamble R, Zarlenga D, Humphreys JG, Thulliez P. Characterization of *Toxoplasma* and *Trichinella* isolates from muscles of black bears in Pennsylvania. *Am J Vet Res.* 1994;55:815-9.
- Dubey JP, Humphreys JG, Thulliez P. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* tissue cysts and antibodies to *T. gondii* by various serologic tests in black bears (*Ursus americanus*) from Pennsylvania. *J Parasitol.* 1995;81:109-12.
- Dubey JP, Storandt ST, Kwok OC, Thulliez P, Kazacos KR. *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed wild coyotes, red foxes and gray foxes and serologic diagnosis of Toxoplasmosis in red foxes fed *T. gondii* oocysts and tissue cysts. *J Parasitol.* 1999;85:240-3.
- Dubey JP, Scandrett WB, Kwok OCH, Gajadhar AA. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in ostriches (*Struthio camelus*). *J Parasitol.* 2000;86:623-4.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol.* 2002;106:121-53.
- Dubey J.P, Zarnke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OCH, Romand S, Thulliez P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora canis*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet Parasitol.* 2003;116:275-96.
- Dubey JP, Graham DH, De Young RW, Dahl E, Eberhard ML, Nace EK, Won K, Bishop H, Punkosdy G, Sreekumar C, Vianna MC, Shen SK, Kwok OC, Sumners JA, Demarais S, Humphreys JG, Lehmann T. Molecular and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. *J Parasitol.* 2004;90:67-71.
- Dunbar MR, Cunningham MW, Roof JC. Seroprevalence of selected disease agents from free-ranging black bears in Florida. *J Wildl Dis.* 1998;34:612-9.
- Fayer R, Dubey JP, Lindsay DS. Zoonotic protozoa : from land to sea. *Trends Parasitol.* 2004;20:531-6.
- Franti CE, Connolly GE, Riemann HP, Behymer DE, Ruppanner R, Willadsen CM, Longhurst WA. Survey for *Toxoplasma gondii* antibodies in deer and other wildlife on a sheep range. *J Am Vet Med Assoc.* 1975;167:565-8.
- Franti CE, Riemann HP, Behymer DE, Suther D, Howarth JA, Ruppanner R. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild and domestic animals in northern California. *J Am Vet Med Assoc.* 1976;169:901-6.
- Hanni KD, Mazet JA, Gulland FM, Estes J, Staedler M, Murray MJ, Miller M, Jessup DA. Clinical pathology and assessment of pathogen exposure in southern and Alaska sea otters. *J Wildl Dis.* 2003;39:837-50.
- Hejlíček K, Literák I. Prevalence of toxoplasmosis in rabbits in South Bohemia. *Acta Vet Brno.* 1994;63:145-50.
- Hejlíček K, Literák I, Nezval J. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *J Wildl Dis.* 1997;33:480-5.
- Hill RE, Zimmermann JJ, Wills RW, Patton S, Clark WR. Seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in free-ranging mammals in Iowa. *J Wildlife Dis.* 1998;34:811-5.

- Holshuh HJ, Sherrod AE, Taylor CR, Andrews BF, Howard EB. Toxoplasmosis in a feral northern fur seal. *J Am Vet Med Assoc.* 1985;187:1229-30.
- Jakubek EB, Brojer C, Regnersen C, Ugglå A, Schares G, Bjorkman C. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Swedish red foxes (*Vulpes vulpes*). *Vet Parasitol.* 2001;102:167-72.
- Kapperud G. Survey for toxoplasmosis in wild and domestic animals from Norway and Sweden. *J Wildl Dis.* 1978;14:157-62.
- Kirkpatrick CE, Colvin BA, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* antibodies in common barn-owls (*Tyto alba*) and pigeons (*Columba livia*) in New Jersey. *Vet Parasitol.* 1990;36:177-80.
- Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect Genet Evol.* 2003;3:135-41.
- Lindsay DS, Smith PC, Hoerr FJ, Blagburn BL. Prevalence of encysted *Toxoplasma gondii* in raptors from Alabama. *J Parasitol.* 1993;79:870-3.
- Lindsay DS, Smith PC, Blagburn BL. Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from wild turkeys in Alabama. *J Helminthol Soc W.* 1994;61:115-7.
- Lindsay DS, Spencer J, Rupprecht C, Blagburn BL. Prevalence of agglutinating antibodies to *Neospora caninum* raccoons, *Procyon lotor*. *J Parasitol.* 2001;87:1197-8.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Cole RA, Flick GJ, Wetch CN, Linquist A, Dubey JP. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. *J Eukaryot Microbiol.* 2003;50:687-8.
- Literak I, Hejlíček K, Nezvaal J, Folk C. Incidence of *Toxoplasma gondii* in populations of wild birds in the Czech Republic. *Avian pathol.* 1992;21:659-65.
- Literak I, Hejlíček K. Incidence of *Toxoplasma gondii* in populations of wild birds in the Czech Republic. *Avian pathol.* 1993;22:275-81.
- Losson BJ, Focant C, Brochier B, Chalon P, Meerschman FD. Age-related seroprevalence to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Belgium. *In proceedings of the 17th International Conference of the WAAVP, 1999, Copenhagen, Denmark, c.6.53*
- Measures LN, Dubey JP, Labelle P, Martineau D. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Canadian pinnipeds. *J Wildl Dis.* 2004;40:294-300.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int J Parasitol.* 2002;32:997-1006.
- Miller MA, Gardner IA, Packham A, Mazet JK, Hanni KD, Jessup D, Estes J, Jameson R, Dodd E, Barr BC, Lowenstine LJ, Gulland FM, Conrad PA. Evaluation of an indirect fluorescent antibody test (IFAT) for demonstration of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sea otter (*Enhydra lutris*). *J Parasitol.* 2002;88:594-9.
- Miller MA, Grigg ME, Kreuder C, James ER, Melli AC, Crosbie PR, Jessup DA, Boothroyd JC, Brownstein D, Conrad PA. An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. *Int J Parasitol.* 2004;34:275-84.
- Mitchell MA, Hungeford LL, Nixon C, Esker T, Sullivan J, Koerkenmeier R, Dubey JP. Serologic survey for selected infectious disease agents in raccoons from Illinois. *J Wildl Dis.* 1999;35:347-55.
- Moller T. Toxoplasmosis *Vulpis vulpis* (fox toxoplasmosis). *Acta Pathol Microbiol.* 1952;93:308-20.
- Nogami S, Tabata A, Moritomo T, Hayashi Y. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibody in wild boar, *Sus Scrofa riukiuanus*, on Iriomote Island, Japan. *Vet Res Commun.* 1999;23:211-4.
- Pak SM. Toxoplasmosis of birds in Kazakhstan (in Russian). Nauka Publishing, Alma-Ata. 1976;115 pp.
- Quist CF, Dubey JP, Luttrell MP, Davidson WR. Toxoplasmosis in wild turkeys : a case report and serologic survey. *J Wildl Dis.* 1995;31:255-8.
- Smith DD, Frenkel JK. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas : biologic and ecologic considerations of transmission. *J Wildl Dis.* 1995;31:15-21.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* : from animals to humans. *Int J Parasitol.* 2000;30:1217-58.
- Vikoren T, Tharaldsen J, Fredriksen B, Handeland K. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild red deer, roe deer, moose, and reindeer from Norway. *Vet Parasitol.* 2004;120:159-69.
- Vitaliano SN, Silva DA, Mineo TW, Ferreira RA, Bevilacqua E, Mineo JR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. *Vet Parasitol.* 2004;122:253-60.
- Wawrzkiwicz J, Uminski J. Tests on farm-reared foxes for detection of toxoplasmosis. *World Wide Abstr Gen Med.* 1961;7:407-9.
- Wolfe A, Hogan S, Maguire D, Fitzpatrick C, Vaughan L, Wall D, Hayden TJ, Mulcahy G. Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Vet Rec.* 2001;149:759-63.
- Zarnke RL, Dubey JP, Kwok OC, Ver Hoef JM. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in selected wildlife species from Alaska. *J Wildlife Dis.* 2000;36:219-24.

Question 20 : quel est le rôle des insectes et des annélides ?

Responsable de la question : M. Derouin

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Chartier

Le rôle des insectes dans le transport des oocystes de *T. gondii* a été démontré dans plusieurs études expérimentales:

- Avec *Musca domestica* et *Chrysomya megacephala* (mouches), capables de transporter des oocystes sur des aliments 24 à 48 heures après un contact avec des fèces de chat contaminées (Wallace, 1971) ;
- Avec *Leucophaea madera*, *Periplaneta americana* (cafards) : Wallace a montré que des oocystes infectants pouvaient être retrouvés dans les déjections ou le tube digestif des insectes jusqu'à 20 jours après un contact contaminant sur des fèces de chat (Wallace, 1972 ; Wallace, 1973). Avec *Blattella germanica*, la capacité de portage est limitée au jour du contact avec les fèces (Smith, 1978) ;
- Avec *Ornithophagus spp* (blatte), suivant un protocole expérimental comparable, Saitoh retrouve des oocystes infectants à la surface des insectes et dans leurs déjections jusqu'à 3 jours après le contact avec les fèces (Saitoh, 1990).

Le rôle des vers de terre comme hôte paraténique de *T. gondii* a été suggéré par une étude expérimentale montrant la possibilité de contaminer des petits marsupiaux (*Perameles nasula*) par des vers de terre préalablement maintenus dans un sol contenant des oocystes (Bettioli, 2000). Ce rôle a été confirmé en milieu naturel, au Costa Rica, en montrant la contamination de 4 lots de vers de terre sur 16 examinés (Ruiz, 1980).

L'implication épidémiologique du transport d'oocystes par les insectes a été évaluée lors d'une étude réalisée au Panama, portant sur les facteurs de risque de contamination par *T. gondii* chez 500 enfants. Un risque significativement supérieur de séroconversion a pu être associé à la présence de nombreuses mouches (RR=3,6) ou de nombreuses blattes (RR=2,2) dans l'environnement (Frenkel, 1995).

A partir de cette observation, on peut certainement considérer que les insectes jouent un rôle dans la dissémination des oocystes. Ceci justifie leur élimination au sein des élevages d'animaux domestiques.

Quant aux vers de terre, ils pourraient contribuer à la contamination des oiseaux et à ramener à la surface du sol des oocystes enterrés avec les fèces de chats contaminées.

Références bibliographiques

- Bettioli SS, Obendorf DL, Nowarkowski M, Milstein T, Goldsmid JM. Earthworms as paratenic hosts of toxoplasmosis in eastern barred bandicoots in Tasmania. *J Wildl Dis.* 2000;36:145-8.
- Frenkel JK, Hassanein KM, Hassanein RS, Brown E, Thulliez P, Quintero-Nunez R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;53:458-68.
- Ruiz A, Frenkel JK. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29:1161-6.
- Saitoh Y, Itagaki H. Dung beetles, *Onthophagus spp.*, as potential transport hosts of feline coccidia. *Nippon Juigaku Zasshi.* 1990;52:293-7.
- Smith DD, Frenkel JK. Cockroaches as vectors of *Sarcocystis muris* and of other coccidia in the laboratory. *J Parasitol.* 1978;64:315-9.
- Wallace GD. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. *J Infect Dis.* 1972;126:545-7.
- Wallace GD. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by filth-flies. *Am J Trop Med Hyg.* 1971;20:411-3.
- Wallace GD. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am J Trop Med Hyg.* 1973;22:456-64.

Section F: épidémiologie environnementale et alimentaire

Résumé de la section F

Les oocystes émis dans les fèces de félidés sont disséminés dans l'environnement et peuvent contaminer les eaux de surface, le sol et les fruits et légumes au contact de la terre. Dans tous ces supports, la présence des oocystes est suspectée sur des arguments indirects (cas groupés ou épidémies de toxoplasmose à partir de l'eau ou du sol, contamination d'animaux herbivores, de poulets ...) mais la mise en évidence directe des oocystes n'a été faite que dans le sol (isolement par bio-essai à partir de sol de fermes d'élevage de porcs). Cependant, la présence d'ADN de *T. gondii* a récemment été démontrée dans les eaux de surface.

Expérimentalement, il a été montré que les oocystes étaient résistants aux températures usuelles en milieu naturel, que ce soit dans l'eau (y compris l'eau de mer), le sol ou les matières fécales. Ainsi, les oocystes non sporulés ne perdent pas leur infectiosité après conservation à +4°C pendant des durées prolongées, ils peuvent même sporuler dans l'eau de mer. Les durées de survie et d'infectiosité des oocystes sporulés peuvent excéder 1 an en milieu naturel, le froid n'altère pas leur infectiosité et la congélation peut ne pas être suffisante pour les tuer. Par contre, leur infectiosité diminue sensiblement pour des températures >35°C et sous l'effet de la sécheresse. Cependant, l'habitude des chats d'enterrer leur fèces contribue à assurer une bonne viabilité aux oocystes, en limitant l'effet délétère de la sécheresse et de la chaleur. Il n'y a pas d'études spécifiques faites sur les boues (en particulier résiduaires).

Très peu de données sont disponibles concernant la présence de *T. gondii* dans les aliments, bien que de nombreux arguments biologiques (études de séroprévalence sur les animaux de boucherie, mise en évidence du parasite par bio-essai ou détection d'ADN) et épidémiologiques (plusieurs cas de toxoplasmose d'origine alimentaire décrits) les impliquent dans la contamination de l'homme. La mise en évidence du parasite peut être effectuée sur des animaux naturellement infectés ou lors d'études expérimentales visant à déceler la localisation des kystes. Il n'existe pas à l'heure actuelle, de système de surveillance dans les denrées alimentaires.

- Les viandes de boucherie (porcs, moutons essentiellement, bovins moins fréquemment) et la volaille peuvent contenir des kystes de *T. gondii*. Les kystes demeurent infectants dans des carcasses réfrigérées à 4°C probablement aussi longtemps que la viande demeure consommable pour l'homme.
- Les plats cuisinés à base de viande (charcuterie et viande fumée) peuvent plus rarement contenir des kystes de *T. gondii*, mis en évidence par bio-essais ou plus récemment par PCR. Cependant, la recherche du parasite n'est que très rarement effectuée.
- La contamination des légumes et celle des mollusques (huîtres, moules) est possible expérimentalement par des oocystes de *T. gondii* mais n'a pas été démontrée dans des échantillons naturels ou commercialisés.
- La contamination par des oocystes via l'eau de boisson a été suspectée lors d'épidémies récentes, cependant la présence de *T. gondii* n'a jamais été retrouvée (absence de recherche ou recherche tardive).
- La contamination par le lait demeure exceptionnelle, des cas ont été rapportés avec du lait de chèvre non pasteurisé. Le risque de contamination par le lait de vache est considéré comme nul.

Question 21 : que sait-on de la présence et de la survie des oocystes de *Toxoplasma gondii* dans l'environnement ?

Responsable de question : Mme Villena

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure: M. Aubert, M. Dumètre, M. Miegerville.

Les oocystes émis dans les fèces de félinés sont disséminés dans l'environnement par le vent, l'eau, les vers de terre et les arthropodes. Ils peuvent contaminer les eaux de surface, le sol et les fruits et légumes au contact de la terre (Dubey, 1970a ; Frenkel, 1975 ; Smith, 1978 ; Ruiz, 1980 ; Dubey, 1988 ; Dumètre, 2003).

Dans tous ces supports, la présence des oocystes est suspectée sur des arguments indirects (cas groupés ou épidémies de toxoplasmose à partir de l'eau ou du sol, contamination d'animaux herbivores, de poulets, etc.). Cependant la recherche directe des oocystes est très rarement effectuée et n'a été couronnée de succès, à l'heure actuelle, qu'à partir du sol.

La connaissance sur les conditions de survie des oocystes provient de diverses études expérimentales recréant plus ou moins les conditions du milieu environnant (eau, sol, matières fécales) (Tableau 35). En l'absence de méthode microscopique permettant la distinction entre oocystes viables et non viables, la survie des parasites est appréciée globalement par des bio-essais (inoculations à la souris) (cf. Question 25).

1. Dans l'eau (surface, loisirs, eau de mer)

La présence des oocystes dans les eaux de surface, de loisirs ou d'eau de mer est suspectée du fait même de leur dispersion, notamment par les eaux de pluie, mais aucune étude ne les a mis en évidence. Une seule publication fait état de la mise en évidence par PCR d'ADN toxoplasmique dans des eaux (de surface et de consommation) en dehors de tout contexte épidémique (Villena, 2004).

Les arguments indirects de la présence des oocystes dans l'eau sont :

- pour les eaux douces, des épidémies liées à la consommation d'eau (Aramini 1999 ; Benenson, 1982 ; Bowie, 1997 ; Taverne, 2002) et une association dans les enquêtes épidémiologiques entre la prévalence de la toxoplasmose et une consommation d'eau non filtrée (Bahia-Oliveira, 2003).
- pour l'eau de mer, les infections des mammifères marins (Dubey 2003) et la présence et la survie des oocystes dans les mollusques d'eau de mer infestés expérimentalement (Lindsay et al. 2001 ; Arkush et al. 2003).

Les conditions de survie

(cf. Tableau 35)

Elles ont été évaluées expérimentalement, pour des températures pouvant être observées en conditions naturelles.

- Les oocystes non sporulés perdent leur capacité à sporuler après 1 jour à -21°C ou 7 jours à -6°C et après une exposition de 10 minutes à 50°C (Dubey, 1970b ; Frenkel, 1973). Ils ne perdent pas leur infectiosité après conservation à 4°C pendant 6 à 11 semaines (Lindsay, 2002). La sporulation est possible dans l'eau de mer à 24°C (eau de mer artificielle à 15 et 32 ppt) (Lindsay, 2003).
- Les oocystes sporulés peuvent survivre et rester infectieux dans l'eau :
 - à température ambiante pendant 15 mois (Hutchison, 1967),
 - à 4°C pendant au moins 54 mois (Dubey, 1998a), sans perte d'infectiosité pendant 18 mois (Dubey, 1998b),

- à des températures variant de 10°C à 25°C pendant 200 jours ; cependant une augmentation des températures allant de 30°C à 45°C réduit la durée de survie de plusieurs semaines. Ainsi, à 45°C, les oocystes restent infectieux pendant 1 jour mais pas 2. De même, à 50°C le pouvoir infectieux persiste pendant 1 heure (perte du pouvoir à 2 heures). Les oocystes perdent leur infectiosité à en 1 minute à 60°C (Dubey, 1998a).
- après une congélation constante pendant 28 jours à -21°C (Frenkel, 1973) et sans perte d'infectiosité pendant 106 jours à -5°C et -10°C (Dubey, 1998a). Ainsi, la congélation peut ne pas être suffisante pour tuer les oocystes sporulés (Frenkel, 1973).
- après exposition dans le milieu extérieur, à des conditions de températures fluctuant entre -6°C et 39°C (moyenne annuelle 20°C) sur une période de 306 jours (Yilmaz, 1972).
- après 6 mois dans de l'eau de mer (15 ppt) à température ambiante ou à 4°C (Lindsay, 2003).

2. Dans le sol

Les arguments indirects de la présence des oocystes dans le sol sont :

- la forte association, dans les enquêtes épidémiologiques sur les facteurs de risque de la toxoplasmose, entre contamination par *T. gondii* et contact avec le sol (Baril, 1996 ; Weigel, 1999 ; Cook, 2000) (cf. Question 13).
- l'existence d'épidémies de toxoplasmoses humaines associées à l'ingestion d'oocystes à partir du sol (Teutsch, 1979 ; Stagno, 1980 ; Coutinho, 1982).
- la forte prévalence de la toxoplasmose chez des poulets (élevage classique) (Lehmann, 2003). L'étude de la prévalence de *T. gondii* chez les poulets est d'ailleurs proposée comme mode d'évaluation de la contamination environnementale par les oocystes (Da Silva, 2003).

Des oocystes ont pu être mis en évidence directement dans le sol :

- Les méthodes de concentration des oocystes directement à partir du sol sont gênées par la présence de nombreux débris. La récupération est généralement faite par homogénéisation de l'échantillon, filtration, méthode de flottaison standard (sucrose ou sulfate de zinc) et/ou inoculation à la souris (Ruiz, 1973 ; Coutinho, 1982 ; Dubey, 1995 ; Frenkel, 1995 ; Kniel, 2002). Les techniques de PCR peuvent être limitées par de grandes quantités d'inhibiteurs de PCR présents dans la terre.
- La présence d'oocystes de *T. gondii* dans le sol n'a été démontrée que lors d'une seule épidémie (Coutinho, 1982). En dehors de toute épidémie, des oocystes ont été retrouvés dans des sols naturellement contaminés par des selles de chats (Dubey, 1988 ; Ruiz, 1973), mais une difficulté provient du fait que les félidés enterrent leurs fèces (Frenkel, 1975). *Toxoplasma gondii* a été isolé par bio-essai à partir de prélèvements de sol de fermes d'élevage de porcs (Dubey, 1995). Les oocystes sont plus volontiers retrouvés dans des zones humides et ombragées. Dans le sol, les oocystes restent à la surface ou jusqu'à 10 cm de profondeur (Frenkel, 1975) mais leur transport à travers le sol est mal connu (vers de terre, drainage, etc.) (Hutchison, 1967). Les vers de terre, maintenus au contact de sols contaminés, sont capables de transmettre l'infection (Frenkel, 1975 ; Bettiol 2000).

Les conditions de survie des oocystes dans le sol

(cf. Tableau 35)

- Les oocystes sporulés peuvent rester infectants pendant 18 mois à des températures diverses (de -20°C à +35°C) dans des sols ensemencés expérimentalement (Frenkel, 1975 ; Frenkel, 1970).
- Tout comme dans l'eau, les oocystes sont sensibles aux températures élevées : des toxoplasmes infectants ont été isolés dans un sol à 20-27°C mais deux mois après, sur le même site, la température du sol était de 40-43°C et les toxoplasmes isolés

n'étaient plus infectants (Ruiz, 1973). A l'effet de la température peut s'ajouter celui de la dessiccation.

3. Dans d'autres supports (fèces, boues, etc.)

- Il n'y a pas eu, à notre connaissance, d'études spécifiques faites sur les boues et notamment les boues résiduaires. Les connaissances que l'on peut avoir doivent se déduire des expériences faites sur d'autres types de supports.
- Dans des dépôts de fèces sur le sol, des oocystes viables ont été retrouvés jusqu'à 18 mois après conservation à des températures variant de -20 à 35°C (Frenkel, 1975). Les oocystes peuvent rester viables dans des suspensions de fèces après exposition à des températures de -6° à -21°C pendant 28 jours (Frenkel, 1973). Le séchage direct ou l'exposition au soleil de suspensions fécales ou de fèces contaminées n'entraîne qu'une réduction partielle (30 à 70%) de la viabilité des oocystes (cf. Tableau 35) (Yilmaz, 1972 ; Dubey, 1988 ; Kutičić, 1996). Cependant, l'habitude des chats d'enterrer leur fèces contribue à assurer une bonne viabilité aux oocystes, en limitant l'effet délétère de la sécheresse et de la chaleur.

Tableau 35 : Durée d'infectiosité des oocystes de *Toxoplasma gondii* dans des conditions environnementales

Température (°C)	Conditions	Durée de survie ^a	Références
En laboratoire			
-20	Eau	14–28 j ^b	Frenkel et Dubey, 1973; Kutičić et Wikerhauser, 1996
-10/-5	Eau	106 j	Dubey, 1998a
0	Eau	13 mo ^b	Dubey, 1998a
+4	Suspensions fécales Dépôts de fèces Eau Sur des baies	183–410 j ^c 214–410 j ^c 54 mo 56 j	Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972 Dubey, 1998a Kniel et al., 2002
+4/24	Eau de mer 15 ppt	180 j	Lindsay et al. 2003
+10/+25	Eau	200 j	Dubey, 1998b
+22.5	Eau Suspensions fécales Dépôts de fèces	306–410 j ^c 153–410 j ^c 107–306 j ^c	Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972
+23/29	Sols humides	117 j	Dubey et al., 1970a
+30	Eau	107 j	Dubey, 1998a
+35	Eau	32 j ^c	Dubey, 1998a
+37	Eau Suspensions fécales Dépôts de fèces	91–306 j ^c 46–199 j ^c 30–153 j ^c	Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972
+40	Eau	9 j	Dubey, 1998b
+45	Eau	1 j	Dubey, 1998a
+50	Eau	30–60 min ^b	Dubey et al., 1970a; Dubey, 1998b
+55/+58	Eau	< 15 min	Kutičić et Wikerhauser, 1996; Dubey, 1998a
+60/+70	Eau	< 1 min	Dubey, 1998a
Dans l'environnement			
-20/+35	Dépôts de fèces dans le sol	18 mo	Frenkel et al., 1975
-6/+39	Eau Suspensions fécales Dépôts de fèces	122–306 j / 153–410 j ^d 76–306 j / 91–306 j ^d 46–183 j / 76–334 j ^d	Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972 Yilmaz et Hopkins, 1972
+15/+30	Dépôts de fèces dans le sol	56–357 j	Frenkel et al., 1975
+20/+27	Sol humide	106 j	Ruiz et al., 1973

(d'après Dumètre, 2003)

^a infectivité globale de la suspension d'oocystes évaluée par bio-essais chez la souris.

^b abréviations: j, jours; mo, mois; min, minutes.

^c 1^{ers} nombres = durée de l'infectivité des oocystes dans des suspensions non couvertes – 2^{èmes} nombres = durée de l'infectivité des oocystes dans des suspensions couvertes.

^d suspensions non couvertes (1^{ers} nombres) et couvertes (2^{èmes} nombres) exposées au soleil / ou placées à l'ombre.

Références bibliographiques

- Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoft C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect.* 1999;122:305-15.
- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckerroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Int J Parasitol.* 2003;33:1087-97.
- Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:55-62.
- Baril L, Ancelle T, Thulliez P, Goulet V, Tirard V, Carme B. Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez les femmes enceintes en 1995 (France). *Bull Epidemiol Hebd.* 1996;16:73-5.
- Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *New Engl J Med.* 1982;307:666-9.
- Bettiol SS, Obendorf DL, Nowarkowski M, Milstein T, Goldsmid JM. Earthworms as paratenic hosts of toxoplasmosis in eastern barred bandicoots in Tasmania. *J Wild Dis.* 2000;36:145-8.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet.* 1997;350:173-7.
- Cook AJ, Gilbert RE, Buffalano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: a European multicentre case-control study. *Brit Med J.* 2000;321:142-7.
- Coutinho SG, Lobo R, Dutra G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. *J Parasitol.* 1982;68:866-8.
- Da Silva D, Bahia-Oliveira LM, Shen SK, Kwok OC, Lehmann T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J Parasitol.* 2003;89:394-6.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 1970;56:447-56.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J Exp Med.* 1970;132:636-62.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man.* Boca Raton, FL : CRC Press. 1988.
- Dubey JP, Weigel RM, Siegel AM, Thulliez P, Kitron UD, Mitchell MA, Mannelli A, Mateus-Pinilla NE, Shen SK, Kwok OCH, Todd KS. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol.* 1995;81:723-9.
- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocysts survival under defined temperatures. *J Parasitol.* 1998;84:862-5.
- Dubey JP, Thayer DW, Speer CA, Shen SK. Effect of gamma irradiation on unsporulated and sporulated *Toxoplasma gondii* oocysts. *Int J Parasitol.* 1998;28:369-75.
- Dubey JP, Zarnke R, Thomas NJ, Wong, SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OC, Romand S, Thulliez P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet Parasitol.* 2003; 116:275-96.
- Dumètre A, Dardé ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples ? *FEMS Microbiol Rev.* 2003;27:651-61.
- Frenkel JK, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.* 1970;164:893-96.
- Frenkel JK, Dubey JP. Effects of freezing on the viability of *Toxoplasma* oocysts. *J Parasitol.* 1973;59:587-8.
- Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 1975;24:439-43.
- Frenkel JK, Hassanein KM, Hassanein RS, Brown E, Thulliez P, Quintero-Nunez R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;53:458-68.
- Hutchison WM. The nematode transmission of *Toxoplasma gondii*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1967;61:80-9.
- Kniel KE, Lindsay DS, Sumner SS, Hackney CR, Pierson MD, Dubey JP. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. *J Parasitol.* 2002;88:790-3.
- Kutičić V, Wikerhauser T. Studies of the effect of various treatments on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts and oocysts. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;219:261-5.
- Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect Genet Evol.* 2003;3:135-41.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Survival of non sporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet Parasitol.* 2002;103:309-13.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Cole RA, Flick GJ, Wetch CN, Lindquist A, Dubey JP. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. *J Eukaryot Microbiol.* 2003;50:687-8.
- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J Eukaryot Microbiol.* 2001;Suppl,197S-198S.
- Ruiz A, Frenkel JK. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29:1161-6.
- Ruiz A, Frenkel JK, Cerdas L. Isolation of *Toxoplasma* from soil. *J Parasitol.* 1973;59:204-6.
- Smith DD, Frenkel JK. Cockroaches as vectors of *Sarcocystis muris* and other coccidia in the laboratory. *J Parasitol.* 1978;64:315-9.
- Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. *Pediatrics.* 1980;65:706-11.
- Taverne J. Toxoplasmosis in Brazil. *Trends Parasitol.* 2002;18:203-4.
- Teutsch SM, Juranek DD, Sulzer A, Dubey JP, Sikes RK. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *New Engl J Med.* 1979;300:695-9.
- Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferté H, Inglard M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl Environ Microb.* 2004;70:4035-9.
- Weigel RM, Dubey JP, Dyer D, Siegel AM. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:793-8.
- Yilmaz SM, Hopkins SH. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol.* 1972;58:938-9.

Question 22 : que sait-on de la présence et de la survie de *T. gondii* dans les denrées alimentaires ?

Responsable de la question : Mme Villena

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure: M. Aubert, M. Dumètre, M. Miegerville

La connaissance de la présence de *T. gondii* dans les denrées alimentaires repose sur des arguments *indirects* (épidémies de toxoplasmose d'origine alimentaire) et *directs*, par les études de prévalence chez les animaux de boucherie et la mise en évidence du parasite par bio essai ou biologie moléculaire (PCR) dans les aliments.

Il faut souligner l'absence de mesures législatives et de texte réglementaire portant sur la détection de *T. gondii* dans les denrées alimentaires, avec, comme conséquence, le peu de données disponibles concernant la présence de *T. gondii* dans l'eau ou les aliments.

1. Dans les denrées d'origine animale

Plusieurs denrées d'origine animale peuvent être source de contamination humaine par *T. gondii*.

1.1. Viande et abats

Les *arguments indirects* de la présence des kystes dans la viande reposent sur les épidémies liées à la consommation de viande de boucherie ou de gibier et sur les données de prévalence de la toxoplasmose chez les différents animaux destinés à la consommation (cf. Question 14).

- Plusieurs épidémies directement liées à la consommation de viande de boucherie ou de gibier ont été publiées (cf. Question 14).
- Par ailleurs, plusieurs études sur les facteurs de risque de la toxoplasmose identifient la consommation de viande de boucherie comme significative : consommation de viande d'agneau et de porc insuffisamment cuite (mais pas de bœuf) dans une étude norvégienne (Kapperud, 1996), consommation de viande de bœuf et d'agneau (mais pas de porc) dans 2 études françaises (Baril 1996, 1999).

Arguments directs

Rappelons que les kystes de *T. gondii* sont plus souvent observés dans la viande et les organes des porcs, des moutons et des chèvres que chez les bovins, la volaille, les lapins ou les chevaux. Les tissus concernés sont principalement la cervelle, les muscles, la langue et le cœur (revue par Dubey, 1988 ; Tenter, 2000). La présence de kystes dans d'autres tissus destinés à la consommation ne peut être totalement exclue, même si elle est plus rare (reins, foie, intestin, notamment). Les données précises concernant ces recherches sont rapportées dans la Question 18.

La recherche de *T. gondii* dans la viande à l'étalage n'est pas effectuée en dehors de rares enquêtes épidémiologiques ponctuelles.

- Chez le porc naturellement infecté, Dubey (1986) a isolé *T. gondii* par bio essai, à partir de pièces de boucherie destinées à être commercialisées.
- Dans une étude menée par Rothe (1985), portant sur 60 échantillons (côtelettes de porc et d'agneau), la présence de kystes a été décelée (par inoculation à la souris) dans 1 prélèvement de porc (sur 30 étudiés) et dans aucun prélèvement d'agneau (sur 30 étudiés).
- Dans une étude plus récente menée par Wyss en Suisse (2000), la présence de *T. gondii* a été décelée par PCR dans les muscles et les cervelles de 3% des vaches adultes testées, 2% des jeunes taureaux, 1% des veaux, 6% des moutons, mais aucun des échantillons testés sur des chevaux et des porcs n'était positif.
- La charcuterie et les viandes fumées peuvent être source de contamination toxoplasmique. Ainsi, Warnekulasuriya (1998) a mis en évidence de l'ADN de *T. gondii* et

isolé des toxoplasmes viables dans 1/67 échantillons de viande fumée (saucisses sèches, saucisses fermentées et jambons fumés). Plus récemment, Aspinall (2002) a montré la présence d'ADN toxoplasmique dans 27 des 71 (38%) échantillons testés (issus de saucisses, pâté, saucisson, jambon fumé, etc.) sans démonstration de la viabilité des toxoplasmes. Pour la plupart, ces plats comportaient un mélange de viandes (essentiellement d'agneau et de porc) issues de différents animaux.

Survie des parasites dans la viande et les abats :

Les kystes demeurent infectants dans des carcasses réfrigérées conservées plus de 3 semaines à 4°C (Dubey, 1990) et probablement aussi longtemps que la viande demeure consommable pour l'homme (Dubey, 2000).

1.2. Lait cru

Les arguments indirects : Une étude sur les facteurs de risques associés aux séroconversions chez des femmes en âge d'enfanter en Pologne suggère que la consommation de lait pourrait être un facteur de risque potentiel (Paul, 1998). De même, dans l'étude européenne de Cook (2000), à Lausanne, 14% des infections toxoplasmiques étaient attribuées à la consommation de lait non pasteurisé ou de produits laitiers.

Les arguments directs : Des tachyzoïtes de *T. gondii* ont été retrouvés dans le lait de plusieurs hôtes intermédiaires (brebis, chèvre et vache) mais des cas de toxoplasmoses humaines n'ont été associés qu'à la consommation de lait de chèvre non pasteurisé (Sacks, 1982 ; Skinner, 1990). Le risque de contamination par le lait de vache est jusqu'à présent considéré comme quasi nul. La survie des tachyzoïtes dans le lait de chèvre a été démontrée (Walsh, 1999).

2. Dans les denrées alimentaires d'origine végétale

Les arguments indirects de la présence d'oocystes sur ces supports sont :

- l'existence d'infections chez les végétariens, même si, dans ces cas, le rôle de l'eau ou des sols souillés peut aussi être évoqué (Hall, 1999 ; Carme, 2002).
- Le fait que la consommation de crudités (préparées hors du domicile) soit identifiée comme facteur de risque d'acquisition de la toxoplasmosé chez les femmes enceintes (Baril, 1996, 1999).

Les arguments directs :

La présence d'oocystes sur les fruits et légumes destinés à la consommation humaine n'a jamais été recherchée. Par contre, *T. gondii* a été isolé par bio essai à partir d'échantillons de grains destinés à la nourriture des porcs (Dubey, 1995).

Expérimentalement l'adhésion et la survie des oocystes sur les fruits ont été démontrées (Kniel, 2002) : des oocystes demeurent infectieux pendant 8 semaines sur des framboises stockées à 4°C, et peuvent adhérer aux myrtilles et aux framboises. Leur mise en évidence est possible par bio-essai sur la souris.

3. Dans l'eau de boisson

Les arguments indirects de la présence des oocystes dans les eaux de boisson reposent sur :

- les épidémies de toxoplasmosé humaine liées à la consommation d'eau et rapportées à la contamination des ressources naturelles par des félidés sauvages infectés par *T. gondii*. (Benenson, 1982 ; Bowie, 1997 ; Taverne, 2002 ; Hall, 1999).
- la relation, au Brésil, entre la consommation d'eau non traitée et un risque accru (x3) de séropositivité vis à vis de *T. gondii* (Bahia-Oliveira, 2003).

Les arguments directs de la présence des oocystes dans les eaux de boisson sont faibles. *T. gondii* n'a jamais été mis en évidence au cours d'une épidémie supposée d'origine

hydrique, soit par absence de recherche, soit parce que cette recherche n'a été effectuée que tardivement après la constatation de l'épidémie. Par contre, la présence d'ADN a été récemment démontrée en France sur des échantillons d'eaux brute (55 analysés), d'eaux souterraines (88 analysés) et d'eau de distribution (98 analysés) (Villena, 2004). Sur 241 prélèvements analysés sur une période de 30 mois, la présence d'ADN toxoplasmique a été retrouvée dans 12 échantillons sur 225 interprétables: 3 échantillons d'eaux de surface, 8 d'eaux souterraines et 1 d'eau du réseau de consommation (Villena, 2004 et données personnelles).

4. Dans les coquillages et les produits de la mer

La présence et la survie des oocystes dans les produits de la mer sont suspectées sur des arguments indirects :

- par l'existence de cas de toxoplasmoses chez les mammifères marins (Dubey, 1988 ; Miller, 2002 ; Dubey, 2003)
- par possibilité d'infecter expérimentalement des huîtres (Lindsay, 2001) ou des moules (Arkush, 2003) immergées dans l'eau de mer.

Cependant, aucune étude n'a été réalisée (ou publiée) sur des coquillages prélevés en milieu naturel ou commercialisés.

Références bibliographiques

- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckerroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Int J Parasitol. 2003;33:1087-97.
- Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE, Sims PFG. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought? Int J Parasitol. 2002;32:1193-9.
- Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. Emerg Infect Dis. 2003;9:55-62.
- Baril L, Ancelle T, Thulliez P, Goulet V, Tirard V, Carme B. Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez les femmes enceintes en 1995 (France). Bull Epidemiol Hebd. 1996;16:73-5.
- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: a case-control study in France. Scand J Infect Dis. 1999;31:305-9.
- Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. New Engl J Med. 1982;307:666-9.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. Lancet. 1997;350:173-7.
- Carme B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, Bichat S, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Dardé ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J Clin Microbiol. 2002;40:4037-44.
- Choi WY, Nam HW, Kwak NH, Huh W, Kim YR, Kang MW, Cho SY, Dubey JP. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. J Infect Dis. 1997;175:1280-2.
- Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women : a European multicenter case-control study. Brit Med J. 2000;321:142-7.
- Dubey JP, Murrell KD, Fayer R, Schad GA. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. J Am Vet Med Assoc. 1986;188:1035-7.
- Dubey JP, Beattie CP. (). Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton, FL : CRC. Press. 1988.
- Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, Andrews CD, Lindsay DS. Effects of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Parasitol. 1990;76:201-4.
- Dubey JP, Weigel RM, Siegel AM, Thulliez P, Kitron UD, Mitchell MA, Mannelli A, Mateus-Pinilla NE, Shen SK, Kwok OC, Todd KS. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. J Parasit. 1995;81:723-9.
- Dubey JP. The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures; In: Ambroise Thomas, P., Petersen, E. Editors. Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control, Paris. Springer- Verlag. 2000;271-5.
- Dubey JP, Zarnke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OCH. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. Vet Parasitol. 2003;30:275-96.
- Hall SM, Pandit A, Golwilkar A, Williams TS. How do Jains get *Toxoplasma* infection ? Lancet. 1999;35:486-7.
- Kapperud G, Jenum PA, Stray-Petersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. Am J Epidemiol. 1996;144:405-12.
- Kniel KE, Lindsay DS, Sumner SS, Hackney CR, Pierson MD, Dubey JP. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. J Parasitol. 2002;88:790-3.

- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). J Eukaryot Microbiol. 2001;Suppl:197S-198S.
- Mc Donald JC, Gyorkos TW, Alberton B, MacLean JD, Richer G, Juranek D. An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec. J Infect Dis. 1990;161:769-74.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). Int J Parasitol. 2002;32:997-1006.
- Paul M. Potential risk factors for *Toxoplasma gondii* in cases with recently acquired toxoplasmosis. Przegl Epidemiol. 1998;52:447-54.
- Ross RD, Stec LA, Werner JC, Blumenkranz MS, Glazer L, Williams GA. Presumed acquired ocular toxoplasmosis in deer hunter. Retina. 2001;21:226-9.
- Rothe J, McDonald PJ, Johnson AM. Detection of *Toxoplasma* cysts and oocysts in an urban environment in a developed country. Pathology. 1985;17:497-9.
- Sacks JJ, Roberto RR, Brooks NF. Toxoplasmosis infection associated with raw goat milk. J Am Med Assoc. 1982;248:1728-32.
- Sacks JJ, Delgado DG, Lobel HO, Parker RL. Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. Am J Epidemiol. 1983;118:832-8.
- Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Cahatterton JMW, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goat owner's family. Scand J Infect Dis. 1990;22:359-61.
- Taverne J. Toxoplasmosis in Brazil. Trends Parasitol. 2002;18:203-4.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* : from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30:1217-58.
- Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferté H, Inglard M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. Appl Environ Microb, 2004;70:4035-9.
- Walsh CP, Hammond SE, Zajac AM, Lindsay DS. Survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites in goat milk : potential source of human toxoplasmosis. J Eukaryot Microbiol. 1999;46:73S-74S.
- Warnekulasuriya MR, Johnson JD, Holliman RE. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. Int J Food Microbiol. 1998;45:211-5.
- Wyss R, Sager H, Muller N, Inderbitzin F, Konig M, Audige L, Gottstein B. The occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* as regards meat hygiene. Schweiz Arch Tierh. 2000;142:95-108.

Question 23 : existe-t-il des systèmes de surveillance de *T. gondii* en France dans l'environnement et les denrées alimentaires ?

Responsable de la question : Mme Villena

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure: M. Aubert, M. Dumètre, M. Miegerville

Il n'existe pas à l'heure actuelle de système de surveillance, en France ou à l'étranger.

- *Sur l'eau*, une expérience pilote a été menée dans la région Champagne-Ardenne, portant sur la mise au point de nouvelles techniques de détection des oocystes de *T. gondii* dans l'eau (cf. Question 22).
- *Sur le sol ou les boues résiduaires*, la présence d'oocystes de *T. gondii* n'est pas recherchée.
- *Dans les denrées alimentaires*, la détection de *T. gondii* n'est pas effectuée de façon routinière à l'abattoir (absence de contrôle sanitaire). Aucune recherche n'est réalisée sur les végétaux.

Références bibliographiques

Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferté H, Ingland M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. Appl Environ Microb. 2004;70:4035-9.

Section G : isolement et identification

Résumé de la section G

La recherche de *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau n'est que rarement réalisée et se heurte à de nombreuses difficultés techniques.

Dans les denrées d'origine animale, la recherche de parasites (kystes) est habituellement faite par inoculation à la souris ; elle doit être précédée par une digestion enzymatique. Aucun protocole (quantités de viande traitées, procédés d'extraction) n'est pour l'instant validé pour une détection fiable des parasites à visée sanitaire. La PCR a récemment été proposée, mais sa sensibilité comparativement aux bio-essais n'est pas évaluée.

Dans l'eau, la recherche de *T. gondii* ne concerne que les oocystes et se heurte à plusieurs difficultés: le petit nombre d'oocystes probablement présent dans l'environnement du fait de leur dilution, la confusion possible avec les oocystes d'*Hammondia*, la résistance de la paroi des oocystes, et le manque de technique ou de réactifs adaptés pour *T. gondii*. Plusieurs techniques d'enrichissement sont actuellement proposées (filtration, flottation) en préalable à la détection par examen microscopique (autofluorescence des oocystes), par bio-essai sur la souris ou par PCR. Récemment, une méthode par séparation immunomagnétique a été mise au point.

Sur les végétaux, il n'existe aucune méthode spécifique pour détecter les oocystes de *T. gondii*. Les techniques proposées pour la détection de *Cyclospora cayentanensis* pourraient être appliquées à *T. gondii*.

Plusieurs techniques sont proposées pour la recherche et l'estimation de la viabilité de *T. gondii* dans les aliments ou dans l'eau, mais aucune n'est actuellement normalisée.

L'examen microscopique (avec ou sans colorant vital) peut permettre d'évaluer la viabilité des tachyzoïtes ou des bradyzoïtes, mais n'est pas fiable pour les oocystes.

L'inoculation à la souris reste la technique de référence pour évaluer la viabilité et l'infectiosité de *T. gondii*, mais le taux d'infectiosité peut varier entre 1 et 100 selon la voie d'inoculation et le stade inoculé. La voie intra-péritonéale est recommandée, car plus sensible quelque soit le stade parasite inoculé. L'inoculation au chat aurait une sensibilité supérieure mais reste d'exécution plus difficile. La culture cellulaire est très peu appliquée de même que les techniques de biologie moléculaire (RT-PCR) qui sont encore très peu utilisées et d'interprétation difficile.

Question 24 : quelles sont les méthodes de détection et d'isolement de *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau ?

Responsable de la question : Mme Villena

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure: M. Aubert, M. Dumètre, M. Bonnin

Il n'y a pas de méthode normalisée pour la recherche de *T. gondii* dans les denrées alimentaires ou l'eau. Les méthodes utilisées pour la détection des kystes dérivent directement de celles utilisées pour le diagnostic parasitologique (cf. Question 2 et Question 5). Celles utilisables pour la détection des oocystes dans l'eau ou les denrées alimentaires d'origine végétale découlent des mêmes principes (observation microscopique, bio-essai et biologie moléculaire) mais avec des adaptations. Elles sont souvent couplées à des techniques de concentration ou d'enrichissement préalable de l'échantillon (cf. Figure 8).

1. Dans les denrées alimentaires d'origine animale

Le plus souvent, il s'agit d'échantillons de viande dans lesquels la présence de kystes est recherchée. L'examen direct de coupes histologiques après coloration est très peu sensible et n'est pas pratiquée.

En préalable aux techniques d'identification (bio-essais, culture, PCR), une digestion enzymatique artificielle des tissus est nécessaire, pour permettre la « libération » des parasites

et leur concentration. La digestion enzymatique permet d'obtenir une meilleure sensibilité de détection par l'inoculation à la souris qu'en l'absence de digestion enzymatique préalable (Dubey, 1980).

- la digestion trypsique des échantillons de viande est réalisée sur des quantités généralement peu importantes (1-3 g) de prélèvements (muscle cardiaque ou muscle squelettique) préalablement broyés (Esteban-Redondo, 1999). Des échantillons de volume plus important (50 g) sont parfois traités par le même procédé. Les échantillons sont homogénéisés dans 10 ml (pour 1 g d'échantillon) d'une solution de trypsine à 2.5% (dilution en PBS), puis incubés pendant 1 H à 37°C. Après cette incubation, le broyat est filtré au travers d'une fine gaze (éliminant les plus gros débris); le filtrat est ensuite centrifugé (1000g pendant 15mn) puis le culot obtenu est inoculé par voie intra-péritonéale à 3 souris (sans qu'aucun ratio ne soit recommandé). La digestion par la pepsine semble supérieure à celle par la trypsine : ainsi en conditions expérimentales, après 120 min. dans une solution de trypsine à 37°C, l'infectiosité des bradyzoïtes chez la souris est réduite de 100 fois alors qu'il n'y a pas de réduction de l'infectiosité lorsque les bradyzoïtes sont mis dans une solution de pepsine (Sharma, 1981 ; Dubey, 1998).

Sur les échantillons obtenus, plusieurs techniques d'identification peuvent être appliquées :

- le *bio-essai chez la souris* a une sensibilité de détection estimée à 1 kyste pour 100 grammes de viande de porc (Rothe, 1985). Le bio-essai a également permis de démontrer la survie et l'infectiosité d'oocystes de *T. gondii* dans des moules (Arkush, 2003) et des huîtres (Lindsay, 2001) artificiellement infectées. *Le bio-essai peut être effectué chez le chat*, la technique de réalisation est identique, l'infection du chat se traduisant par la présence d'oocystes dans ses fèces. La sensibilité de détection semble être supérieure à celle observée chez la souris, probablement en raison de la possibilité d'analyser une plus grande quantité de viande (jusqu'à 500g) (Dubey, 1993). Cependant, ce bio-essai est rarement effectué du fait de sa moindre facilité d'exécution.
- la *culture cellulaire* : la présence des parasites viables est révélée par un effet cytopathogène, 14 jours après la mise en culture (Warnekulasuriya, 1998). La limite de sensibilité de la méthode a été évaluée en conditions expérimentales à 10^3 tachyzoïtes/g de viande artificiellement infestée.
- la *recherche de l'ADN parasitaire par PCR* dans la viande (Gamble, 1998 ; Esteban-Redondo, 1999) et divers plats cuisinés. Ainsi, Warnekulasuriya (1998) par amplification du gène *SAG1* a détecté la présence d'ADN après avoir inoculé des tachyzoïtes dans de la viande avec une limite de sensibilité évaluée à 5×10^3 parasites/g. Cependant, les auteurs soulignent que la forte teneur en sel des plats cuisinés peut inhiber la *Taq* polymérase conduisant à un résultat de PCR faussement négatif. Récemment, Aspinall (2002), utilisant le gène *SAG2*, a montré la présence d'ADN toxoplasmique dans 27 des 71 prélèvements de plats cuisinés testés (38%) sans toutefois démontrer la viabilité des parasites détectés. Enfin Arkush (2003) a proposé une PCR pour la détection de *T. gondii* dans les moules infectées expérimentalement : les auteurs ont introduit $1,5 \times 10^6$ oocystes dans 25 litres d'eau de mer contenant 72 moules ; le nombre estimé d'oocystes restants après 6 heures était de 2×10^4 et la présence d'ADN toxoplasmique a été retrouvée dans les glandes digestives, l'hémolymphe et les branchies des moules jusqu'à 21 jours après l'introduction des oocystes.

La sensibilité comparative des techniques de bio-essais chez la souris et de PCR est en cours d'évaluation. Les volumes d'aliment analysés sont généralement faibles expliquant le peu de sensibilité de toutes ces techniques. Le volume étudié en PCR est en général plus faible (de l'ordre de 1 gramme) que celui qui peut être analysé par bio-essai.

2. Dans l'eau

La détection concerne uniquement la recherche d'oocystes. Peu de méthodes ont été décrites (Dubey, 1995 ; Isaac-Renton, 1998 ; Kourenti, 2004 ; Villena, 2004) et aucune n'est normalisée.

2.1. Etudes expérimentales

Quelques études expérimentales ont tenté d'optimiser les conditions d'enrichissement, de purification puis de détection des oocystes dans l'eauensemencée artificiellement avec des oocystes.

2.1.1. Techniques d'enrichissement et de purification

- *la concentration/filtration* : des procédures de simple concentration (deux techniques de floculation et une par centrifugation) ont été évaluées par Kourenti (2003) pour la détection des oocystes de *T. gondii*. Des taux de récupération >80% ont été rapportés avec maintien de l'infectiosité des oocystes pour les souris ; cependant ces techniques ont été réalisées avec des eaux non turbides. Le procédé de filtration apparaît meilleur pour l'étude sur des eaux turbides. Plusieurs auteurs (Isaac-Renton, 1998 ; Villena, 2004) ont appliqué à la recherche des oocystes de *T. gondii* la filtration sur capsules comportant une membrane de polyethersulfonate de porosité 1- μ m selon des procédures standardisées pour la recherche d'autres protozoaires (*Giardia*, *Cryptosporidium*) (Anonymous, 1999 ; US-EPA, 1999 ; norme AFNOR NF T 90-455). Après filtration de grands volumes d'eau, les parasites sont élués des filtres par agitation dans un tampon contenant des détergents (Tween 80, Laureth 12), puis recherchés dans le culot de centrifugation. Dans l'expérience de Villena (2004), cette technique de filtration est suivie d'une étape de flottaison avec du sucrose (densité 1,15) puis d'une recherche des oocystes par PCR et bio-essai.
- la technique de *flottaison avec du sucrose* (densité $\geq 1,15$) est la plus utilisée pour purifier les oocystes de *T. gondii* (de densité 1,104-1,140) à partir des culots de centrifugation (Dubey, 1970 ; Dubey, 1988). Des flottaisons sur Percoll-sucrose ont été proposées (Isaac-Renton, 1998). Cependant, la flottaison n'est pas suffisante pour éliminer les débris de même densité ni les substances qui peuvent inhiber la détection moléculaire du parasite ou gêner sa détection microscopique.
- les techniques de *séparation immunomagnétique (IMS)* déjà employées pour les kystes de *Giardia* ou les oocystes de *Cryptosporidium* et de *tri par cytométrie en flux* ne sont pas disponibles pour la détection des oocystes de toxoplasmes. L'autofluorescence des oocystes de *T. gondii* pourrait permettre l'emploi de tri en cytométrie en flux. A l'heure actuelle, un anticorps monoclonal dirigé contre la paroi externe des oocystes de *T. gondii* est en cours d'évaluation (Dumètre, 2005).

2.1.2. Méthodes de détection

- *Détection microscopique*

La microscopie classique (lumière blanche) est suffisante pour détecter des oocystes dans des échantillons fortement contaminés (*i.e.* les selles de félidés) ; L'examen sous ultra-violet (excitation 330-385 nm) facilite leur détection car les oocystes sporulés ou non sporulés sont autofluorescents, comme les oocystes de *Neospora*, *Hammondia*, et de *Cyclospora* sp. (Berlin, 1998, Dumètre, 2003) (Illustration 12).

Cependant, les techniques microscopiques sont souvent très longues, avec une sensibilité et une spécificité médiocres en cas de purification insuffisante des échantillons. De plus, la confusion est possible avec d'autres coccidies proches morphologiquement telles que *Hammondia* sp. et *Neospora* sp.. Enfin, tous les oocystes présents dans une même suspension peuvent ne pas être autofluorescents sous UV, conduisant à des résultats faussement négatifs.

- *Détection par bio-essai*

L'inoculation des culots obtenus après concentration/filtration de l'eau peut être faite par voie orale ou intrapéritonéale à la souris (après ajout d'antibiotiques dans la suspension). La sensibilité de détection après inoculation intrapéritonéale chez la souris est estimée entre 1 et 2,5 oocystes (Isaac-Renton, 1998 ; Villena, 2004) mais le délai de réponse est de 4 semaines. Le bio-essai chez le chat est peu pratiqué, avec un délai de réponse de 3 semaines minimum.

- *Détection par analyse moléculaire*

Il n'y a pas, à l'heure actuelle de technique de PCR standardisée. Les deux principales difficultés rencontrées sont : i) l'extraction de l'ADN des oocystes dont la paroi est très résistante et, ii) la présence d'inhibiteurs de la PCR dans les matrices environnementales: les principaux sont l'acide humique, l'argile et des polysaccharides (Chung, 1999 ; Wiedenmann, 1998) ; ils entraînent une réduction 100 à 1000 de la sensibilité de la PCR (Johnson, 1995).

Deux approches techniques ont été proposées pour extraire l'ADN des oocystes: l'une est de réaliser le dékystement in vitro suivi de l'extraction de l'ADN des sporozoïtes; l'autre consiste à détruire la paroi des oocystes par différents procédés avant l'extraction d'ADN (rupture des oocystes par congélation/décongélation ou par écrasement sur des billes de verre suivie d'une longue digestion par la protéinase K). Cependant aucun procédé n'est standardisé : le nombre optimum de cycles de congélation/décongélation n'est pas défini et l'écrasement sur verre pourrait être insuffisant en cas de faible nombre d'oocystes (Zhao, 2001). La lyse par des tampons de saturation incluant la protéinase K et le cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) a permis d'obtenir des résultats prometteurs sur des coccidies proches de *T. gondii* (Zhao, 2001).

Deux études expérimentales récentes ont tenté d'optimiser la détection par PCR d'oocystes dans l'eau (Schwab, 2003 ; Villena, 2004).

- dans l'étude de Schwab (2003), l'extraction d'ADN a été pratiquée selon 2 protocoles : l'un utilisant une lyse préalable des oocystes par digestion enzymatique (protéinase K pendant 1 heure) suivie d'une extraction par phénol-chloroforme, l'autre résultant de la cassure des oocystes par 3 cycles de congélation (en carboglace et éthanol) / décongélation (5 mn à 55°C). La PCR a été réalisée par amplification du gène B1 et introduction d'un standard interne pour déceler les inhibiteurs potentiels de la réaction. La présence d'ADN a été démontrée par 2 techniques : par hybridation avec une sonde spécifique marquée à la digoxigénine et révélée par transfert sur une membrane (Southern), ou par hybridation avec sonde spécifique marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et révélée par Enzyme-linked Immunoassay. En surchargeant des échantillons d'eau de laboratoire ou des culots d'élution obtenus après filtration de 10L d'eau de rivière, les auteurs ont évalué la sensibilité de détection à 50 oocystes sur le culot de filtration secondairement ensemencé avec des oocystes. La méthode d'extraction de l'ADN combinant digestion enzymatique et précipitation au phénol-chloroforme semble donner de meilleurs résultats sur les prélèvements environnementaux chargés, avec une moindre fréquence d'inhibiteur de la PCR.
- Villena (2004) proposent d'ajouter une étape de concentration en gradient de sucrose sur le culot obtenu après filtration, avant de réaliser trois cycles de congélation/décongélation puis une digestion par la protéinase K. Avec cette technique, la PCR (amplification du gène B1) détecte 10 oocystes par litre d'eau déminéralisée dans 100% des cas alors que le bio-essai n'est positif que dans 60% des cas seulement ; pour les eaux de surface, les taux de détection par PCR sont seulement de 50% pour 1000 oocystes/L et 20% pour 100 oocystes/L d'eau filtrée. Les taux de détection par PCR sont toujours supérieurs à ceux du bio-essai.

Pour éliminer les inhibiteurs de la PCR dans les échantillons d'eau, des protocoles utilisant la sérum albumine bovine (BSA) ont été proposés (Rochelle, 1997 ; Villena, 2004). En présence de BSA, Villena (2004) obtient une réduction du taux des inhibiteurs de 38% à 10% dans 139 échantillons d'eau issus de l'environnement.

2.2. Etudes sur des prélèvements d'environnement et d'eau de distribution

Sur des prélèvements d'environnement, les quelques recherches effectuées au décours d'épidémies se sont toutes soldées par des échecs (cf. Section F).

Récemment, Villena (2004) a pu mettre en évidence de l'ADN de *T. gondii* dans des échantillons d'eaux, en associant une filtration sur cartouches (Gelman, GES et GHV) selon les normes établies pour les cryptosporidies, une concentration par flottaison avec du sucrose (densité 1,15) et une PCR spécifique (PCR temps réel sur le gène B1). Sur une période de 20 mois, 139 prélèvements ont été analysés comportant 45 prélèvements d'eaux de surface et 94

d'eaux souterraines (dont 44 eaux du réseau de consommation). La présence d'ADN de *T. gondii* a été détectée par biologie moléculaire sur les culots de filtration (de 40L à 100L) dans 10 échantillons (3 eaux de surface, 6 eaux souterraines et 1 eau du réseau de consommation); cependant les bio-essais ont toujours été négatifs. La présence de parasites vivants infectieux n'a donc jamais été démontrée.

Remarques à propos de la recherche de *T. gondii* dans l'environnement

Plusieurs éléments peuvent expliquer la difficulté de détection des oocystes dans l'environnement:

- ils sont exclusivement émis par les félinés, souvent en grandes quantités (jusqu'à 10^8) mais durant une période brève (1-3 semaines) puis sont disséminés par des acteurs biotiques et abiotiques (Dubey, 1988). Ainsi le nombre d'oocystes retrouvés dans des échantillons de l'environnement est probablement faible.
- ils peuvent être confondus avec des oocystes d'*Hammondia* sp. et de *Neospora* sp., deux coccidies proches qui peuvent être présentes dans l'environnement (Frenkel, 1975 ; Dubey, 2002).
- les débris dans les échantillons compliquent leur détection.
- la détection des oocystes dans l'eau de mer peut poser un problème en raison de leur nombre probablement faible dans cet environnement même si les mollusques peuvent les concentrer dans leurs tissus (Lindsay, 2001 ; Arkush, 2003).

3. Dans les denrées alimentaires d'origine végétale

Il n'existe aucune méthode spécifique pour détecter les oocystes de toxoplasmes dans les fruits et légumes. Des méthodes pouvant être appliquées à *T. gondii* ont été décrites pour détecter *C. cayetanensis* sur les aliments (Anonymous, 1997 ; Orlandi 2000). Un protocole utilisant des techniques de PCR est décrit sur le site de la Food and Drug Administration (Anonymous, 1997). Il repose sur le broyage de 250 à 500 g de végétaux frais (laitues, baies ...) dans de l'eau distillée suivi d'une agitation puis d'une centrifugation. La recherche est effectuée sur le culot par examen microscopique sous UV et par PCR pour *Cyclospora cayetanensis*. Il est précisé que les fruits déjà mâchés ou coupés avant le traitement sont responsables d'inhibition de la PCR. Une méthode voisine a été appliquée à la recherche des oocystes de toxoplasmes après ensemencement artificiel de baies (framboises, myrtilles), mais seules 3 baies ont été broyées et la détection des oocystes a été faite par microscopie en lumière normale et bio-essai chez la souris (Kniel, 2002).

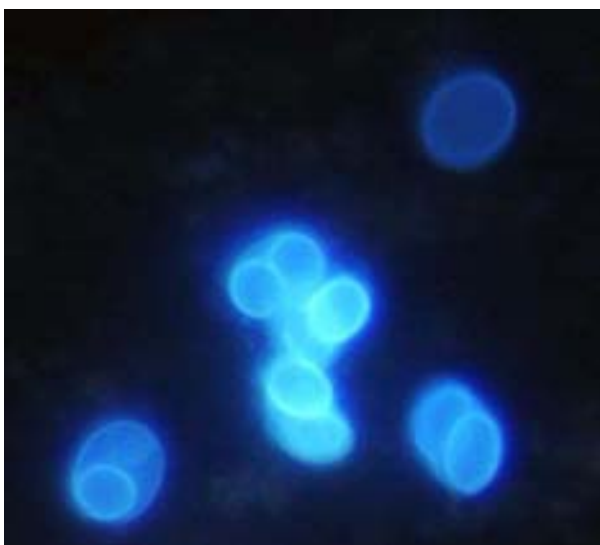


Illustration 12 : Oocystes de *T. gondii* : autofluorescence en microscopie sous UV

(Photo: A. Dumètre, M.L. Dardé)

Références bibliographiques

- Anonymous. *Cyclospora cayetanensis* protocol: concentration and preparation of oocysts from produce for the polymerase chain reaction (PCR) and microscopy. [WWW document]. URL 1997 www.cfsan.fda.gov/~mow/cyclmet.html
- Anonymous. Standard Operating Protocol 2000 for the Monitoring of *Cryptosporidium* oocysts in Treated Water Supplies to Satisfy Water Supply (Water Quality) (Amendment). Regul. 1999;1524.
- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckerroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytillus galloprovincialis*). Int J Parasitol. 2003;33:1087-97.
- Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE, Sims PFG. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought ? Int J Parasitol. 2002;32:1193-9.
- Berlin OGW, Peter JB, Gagne C, Conteas CN, Ash LR. Autofluorescence and the detection of *Cyclospora* oocysts. Emerging Infect Dis. 1998;4:127-8.
- Chung E, Aldom JE, Chagla AH, Kostrzynska M, Lee H, Palmateer G, Trevors JT, Unger S, De Grandis S. Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in municipal water samples by the polymerase chain reaction. J Microbiol Meth. 1999;33:171-80.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. J Exp Med. 1970;132:636-62.
- Dubey JP, Sharma SP. Parasitemia and tissue infection in sheep fed *Toxoplasma gondii* oocysts. J Parasitol. 1980;66:111-14.
- Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton, FL : CRC Press 1988.
- Dubey JP, Thulliez P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res. 1993;54:270-3.
- Dubey JP, Weigel RM, Siegel AM, Thulliez P, Kitron UD, Mitchell MA, Mannelli A, Mateus-Pinilla NE, Shen SK, Kwok OC, Todd KS. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. J Parasitol. 1995;81:723-9.
- Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Vet Parasitol. 1998;74:75-7.
- Dubey JP, Barr BC, Barta JR, Björkås I, Björkman C, Blagburn BL, Bowman DD, Buxton D, Ellis JT, Gottstein B, Hemphill A, Hill DE, Howe DK, Jenkins MC, Kobayashi Y, Koudela B, Marsh AE, Mattsson JG, McAllister MM, Modrý D, Omata Y, Sibley LD, Speer CA, Trees AJ, Uggla A, Upton SJ, Williams DJL, Lindsay DS. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. Int J Parasitol. 2002;32:929-46.
- Dumètre A, Dardé ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples ? FEMS Microbiol Rev. 2003;27:651-61.
- Dumètre A, Dardé ML. Immunomagnetic separation of *Toxoplasma gondii* oocysts using a monoclonal antibody directed against the oocyst wall. J Microbiol Meth. 2005;61:209-17.
- Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, Innes EA. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet Parasitol. 1999;86:155-71.
- Frenkel JK, Dubey JP. *Hammondia hammondi* gen. nov., sp. nov., from domestic cats, a new coccidian related to *Toxoplasma* and *Sarcocystis*. Z Parasitenkd. 1975;46:3-12.
- Gamble HR, Murrel KD. Detection of parasites in food. Parasitology. 1998;117:S97-S111.
- Isaac-Renton J, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, Shokeir MO, Dubey JP. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Appl Environ Microb. 1998;64:2278-80.
- Johnson DW, Pieniazek NJ, Griffin DW, Misener I, Rose JB. Development of a PCR protocol for sensitive detection of *Cryptosporidium* oocysts in water samples. Appl Environ Microb. 1995;61:3849-55.
- Kniel KE, Lindsay DS, Sumner SS, Hackney CR, Pierson MD, Dubey JP. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. J Parasitol. 2002;88:790-3.
- Kourenti C, Heckerroth A, Tenter A, Karanis P. Development and application of different methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. Appl Environ Microb. 2003;69:102-6.
- Kourenti C, Karanis P. Development of a sensitive polymerase chain reaction method for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. Water Sci Technol. 2004;50:287-91.
- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). J Eukaryot Microbiol. 2001:197S-198S.
- Orlandi PA, Lampel KA. Extraction-free, filter-based template preparation for rapid and sensitive PCR detection of pathogenic parasitic protozoa. J Clin Microbiol. 2000;38:2271-7.
- Rochelle PA, De Leon R, Stewart MH, Wolfe RL. Comparison of primers and optimisation of PCR conditions for detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water. Appl Environ Microb. 1997;63:106-14.
- Rothe J, McDonald PJ, Johnson AM. Detection of *Toxoplasma* cysts and oocysts in an urban environment in a developed country. Pathology. 1985;17:497-9.
- Sharma SP, Dubey JP. Quantitative survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites in pepsin and in trypsin solutions. Am J Vet Res. 1981;42:128-30.
- Schwab KJ, McDevitt JJ. Development of a PCR-enzyme immunoassay oligoprobe detection method for *Toxoplasma gondii* oocysts, incorporating PCR controls. Appl Environ Microb. 2003;69:5819-25.
- US EPA. Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA. Office of Water. 1999 EPA-; 821-R-99-006.
- Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferté H, Ingland M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. Appl Environ Microb. 2004;70:4035-9.
- Warnekuhler MR, Johnson JD, Holliman RE. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. Int J Food Microbiol. 1998;45:211-5.
- Wiedenmann A, Krüger P, Botzenhart K. PCR detection of *Cryptosporidium parvum* in environmental samples – a review of published protocols and current developments. J Ind Microbiol. & Biotechnol. 1998;21:150-66.
- Zhao X, Duszynski DW, Loker ES. A simple method of DNA extraction for *Eimeria* species. J Microbiol Meth. 2001;44:131-7.

OOCYSTES

Origine: fèces de félidés, Principales caractéristiques: 10x13 µm, autofluorescents sous excitation ultra-violet

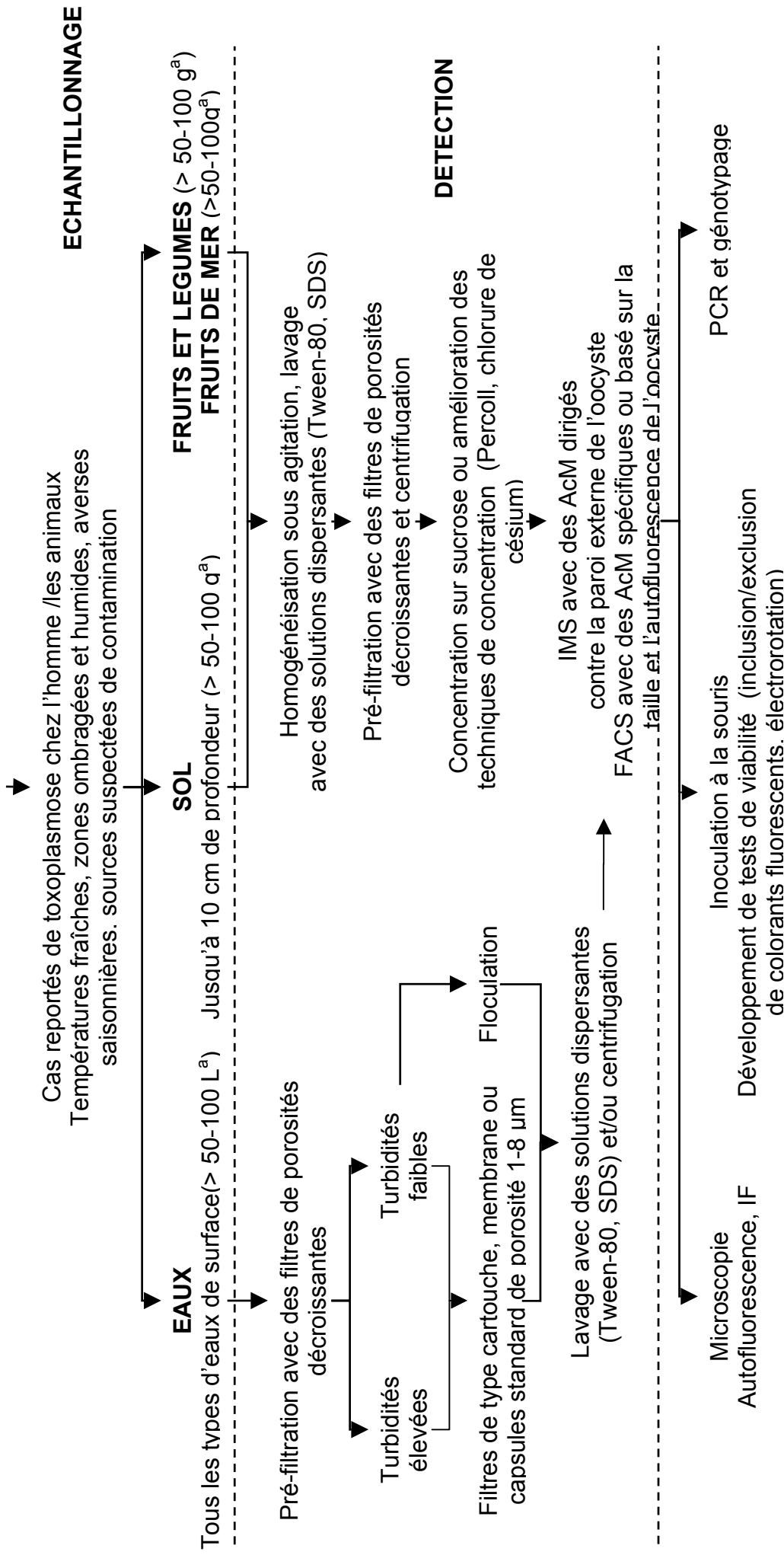


Figure 8 : Méthodes proposées pour la détection des oocystes de *Toxoplasma gondii* dans les échantillons environnementaux

UV, ultraviolet; IMS, immunomagnetic separation; AcM, anticorps monoclonaux; FACS, fluorescence-activated cell sorting; IF, immunofluorescence; PCR, polymérase chain reaction. ^a fonction du volume d'échantillon disponible

Question 25 : Existe-t-il des méthodes pour évaluer la viabilité et l'infectiosité de *T. gondii* ?

Responsable de la question : Mme Villena

Co-rédacteurs : Mme Dardé

Personnalités consultées et relecture extérieure: M. Aubert, M. Dumètre, M. Bonnin

La viabilité de *T. gondii* est définie par la capacité du parasite (tachyzoïte, kyste ou oocyste) à présenter des formes infectantes, l'infectiosité par sa capacité à induire une infection chez un hôte (animal ou modèle cellulaire) donné. Plusieurs méthodes d'évaluation de la viabilité et de l'infectiosité ont été proposées mais les bio-essais restent la référence.

1. Bio-essais

La méthode la plus couramment employée est l'inoculation à la souris (cf. Question 2) alors que le bio-essai sur le chat est rarement utilisé (cf. Question 5). Ces méthodes ne donnent qu'une idée de l'infectiosité globale de la suspension parasitaire car un seul parasite vivant peut suffire à infecter une souris. Le taux d'infectiosité peut être calculé sur la dose capable d'infecter environ 50% des souris (DI 50) selon la méthode de Reed et Muench (Dubey, 1973).

Chez l'animal, l'inoculation peut être faite par voie orale (gavage), ou parentérale (par injection intrapéritonéale ou sous cutanée). Pour une souche donnée, le taux d'infectiosité peut varier entre 1 et 100 selon la voie d'inoculation et le stade inoculé.

- Globalement, la voie orale est moins infectante d'un facteur 10 à 100 que la voie parentérale. De plus, par voie orale, les kystes sont 10 à 100 fois moins infectants que les oocystes et les tachyzoïtes ne sont pratiquement pas infectants.
- Pour les oocystes, l'infectiosité est pratiquement identique par voie orale et par voie sous cutanée ; elle est supérieure d'un facteur 10 par voie intrapéritonéale.
- Par voie intrapéritonéale, la DI 50 est entre 1 et 10 parasites quelque soit le stade (Dubey, 1973).

NB. La dose infectante exprimée en nombre de kystes ou d'oocystes ne correspond pas à la dose infectante en nombre de parasites étant donné que les oocystes contiennent 8 sporozoïtes et que les kystes peuvent contenir quelques dizaines à centaines de bradyzoïtes.

La culture cellulaire peut être employée mais sa sensibilité est inférieure à celle de l'inoculation à la souris (cf. Question 2). L'infectiosité des parasites dans l'inoculum est objectivée par la formation de foyers parasitaires dans les cultures avec la libération de tachyzoïtes dans le surnageant. La formation d'un effet cytopathogène est souvent tardif (4-10 jours suivant l'inoculum), justifiant l'utilisation d'une réaction d'immunofluorescence pour la mise en évidence précoce des parasites dans les cultures (Derouin, 1987). La culture cellulaire a été très peu appliquée à la recherche et à l'estimation de la viabilité de toxoplasmes dans l'environnement ou dans les aliments (Warnekulasuriya, 1998) (cf. Question 24).

2. Observation microscopique

L'examen microscopique direct, en contraste de phase, avec ou sans colorants vitaux peut permettre d'évaluer la viabilité, essentiellement pour les tachyzoïtes et les bradyzoïtes :

- pour les *tachyzoïtes* : l'observation des tachyzoïtes en contraste de phase permet de repérer les tachyzoïtes morts (noirs et granuleux) des tachyzoïtes vivants. On peut également utiliser des colorants vitaux tel le bleu de méthylène qui colore les

toxoplasmes morts. Parmi les substances fluorogéniques, l'acridine-orange et le bisbenzimidazole colorent les tachyzoïtes viables alors que le bromure d'éthidium et l'iodure de propidium marquent les toxoplasmes morts (Borel, 1998).

- pour les *kystes* : la viabilité des bradyzoïtes après dékystement peut être appréciée microscopiquement de la même façon que pour les tachyzoïtes (i.e. contraste de phase et méthodes de coloration).
- pour les *oocystes* : il n'existe pas de méthode microscopique fiable pour évaluer la viabilité des oocystes. Seul un aspect très dégénéré des oocystes (contenu granuleux, absence de distinction des sporozoïtes au sein de l'oocyste) est évocateur de non-viabilité après dékystement. L'utilisation des tests d'inclusion du 4',6-diamidino-2-phénylindole (DAPI) ou d'exclusion de l'iodure de propidium, tels qu'ils sont proposés pour *Cryptosporidium* ou *Giardia* (Freire-Santos, 2000) ne serait pas applicable pour *T. gondii* du fait de différences dans la composition de la paroi des oocystes par rapport à celle des oocystes de *Cryptosporidium*, et de l'autofluorescence spontanée des oocystes de *T. gondii* (Dumètre, 2003).

3. Méthodes de biologie moléculaire de type RT-PCR (détection d'ARNm par reverse transcription polymerase chain reaction)

Elles peuvent être proposées comme pour d'autres protozoaires (Kaucner, 1998 ; Warnekulasuriya, 1998). Comme les méthodes de bio-essais, elles ne donnent cependant qu'une indication sur la viabilité globale de la suspension. La difficulté d'extraction de l'ARNm et la fréquente présence d'inhibiteurs dans les échantillons environnementaux pourraient cependant limiter la sensibilité de détection comme cela est rapporté pour la détermination de la viabilité des oocystes de *Cryptosporidium* (Carey, 2004). Aucune technique de RT-PCR n'est actuellement validée en tant que marqueur de viabilité.

Références Bibliographiques

- Borel E, Mayencon M, Kaiser K, Picot S, Peyron F. Fluorogenic detection of viable *Toxoplasma gondii*. Parasite. 1998;5:371-3.
- Carey CM, Lee H, Trevors JT. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. Water Res. 2004;38:818-62.
- Derouin F, Mazon MC, Garin YJ. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. J Clin Microbiol. 1987;25:1597-600.
- Dubey JP, Frenkel JK. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. Parasitology. 1973;59:505-12.
- Dumètre A, Dardé ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples ?, FEMS Microbiol Rev. 2003;27:651-61.
- Freire-Santos F, Oteiza-López AM, Vergara-Castiblanco CA, Ares-Mazás E. Study of the combined influence of environmental factors on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water evaluated by fluorogenic vital dyes and excystation techniques. Vet Parasitol. 2000;89:253-9.
- Kaucner C, Stinear T. Sensitive and rapid detection of viable *Giardia* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts in large-volume water samples with wound fiberglass cartridge filters and reverse transcription-PCR. Appl Environ Microb. 1998;64:1743-9.
- Warnekulasuriya MR, Johnson JD, Holliman RE. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. Int J Food Microbiol. 1998;45:211-5.

Section H : résistance et sensibilité de *Toxoplasma gondii*

Résumé de la section H

Les données de résistance/sensibilité des différents stades parasitaires du toxoplasme sont souvent limitées et d'interprétation difficile en fonction des paramètres expérimentaux. On peut cependant retenir que :

- les **kystes** sont tués par une température de 67°C et par une congélation à -12°C pendant au minimum 3 jours ; appliquée à une pièce de viande, cette durée de congélation peut être insuffisante si la pièce est épaisse. Ils restent infectants après plusieurs semaines à 4°C. Leur infectiosité est maintenue pendant 2 heures en milieu très acide. En raison de résultats expérimentaux contradictoires à propos de l'action de la concentration en NaCl, l'inactivation par des concentrations salines de 2% à 3% pendant 48 heures ne peut être considérée comme certaine.
- les **oocystes sporulés** sont tués par une température de 60°C appliquée pendant 1 minute ; une congélation, même à -20°C, est insuffisante pour inactiver complètement les oocystes, ce qui rend la congélation inapplicable pour garantir la non infectiosité des végétaux. Ils résistent longtemps en milieu très acide et en milieu alcalin. Comme les oocystes d'autres coccidies, ils sont très résistants à de nombreux agents utilisés pour la désinfection, dont l'eau de Javel.
- les **tachyzoïtes** sont des formes plus fragiles : ils sont détruits par l'eau pure, mais peuvent persister plusieurs jours dans des liquides physiologiques comme le lait à 4°C ; ils sont détruits par la pasteurisation.

Parmi les autres conditions pouvant être utilisées dans le traitement des aliments, seule l'ionisation à une dose minimale de 0,5kGy a été recommandée. Les autres modes de traitement (micro-onde, salaison, fumaison) n'ont pas une efficacité certaine.

Question 26 : que sait-on du comportement de *Toxoplasma gondii* vis-à-vis des facteurs physico-chimiques ?

Responsable de la question : Mme Dardé

Co-rédacteurs : Mme Roze, M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Dumètre, M. Salvat

Pour chacun des paramètres physico-chimiques, l'effet sur la viabilité et l'infectivité des trois formes parasitaires (tachyzoïtes, oocystes et kyste/bradyzoïtes) a été examiné. Les données sont souvent limitées et d'interprétation difficile en fonction des protocoles expérimentaux utilisés.

1. Effets de la température

L'influence de la température sur les éléments infectants de *T. gondii* est le paramètre physico-chimique le plus étudié.

1.1. Oocystes

Deux paramètres sont à prendre en compte : les conditions de sporulation et la survie des oocystes sporulés. L'influence de la température a été en partie présentée dans la section F rapportant la survie des oocystes dans l'environnement.

1.1.1. Influence de la température sur la sporulation des oocystes de *T. gondii*

La mise en évidence de l'inhibition de la sporulation dépend de la méthode utilisée pour l'expérience. Ainsi, par comptage, la sporulation des oocystes serait complètement inhibée pour une exposition à 60-70°C, pendant 10 secondes, ou 30 secondes à 55°C ; par bio-essai sur la souris, les oocystes deviennent complètement non infectants après chauffage à 90°C pendant 30 secondes, ou 80°C pendant 1 minute (Ito, 1975). L'exposition à 37°C, pendant 24 heures, d'oocystes non sporulés est létale.

Les oocystes non sporulés perdent leur capacité à sporuler après 1 jour à -21°C ou 7 jours à -6°C et après une exposition de 10 minutes à 50°C (Dubey, 1970b ; Frenkel, 1973 ; Smith, 1991). Après un stockage à 4°C (oocystes dans des fèces de chat) pendant 6 à 11 semaines, l'examen microscopique indique qu'il n'y a pas de développement visible mais la sporulation est toujours possible après une remise en température ambiante (Lindsay, 2002).

Tableau 36 : Influence de la température sur la sporulation des oocystes

T°	Durée d'exposition	Influence sur la sporulation	Référence
-21°C	1 jour	pas de sporulation	Frenkel, 1973
-6°C	7 jours	aucune sporulation	Dubey, 1970b
4°C	6-11 semaines	sporulation possible après remise en température ambiante	Lindsay, 2002
11°C		sporulation retardée jusqu'à 21 jours	Dubey, 1970b
15°C		sporulation en 2-5 jours	Dubey, 1970b
25°C		sporulation en 24-48 heures	Dubey, 1970b
37°C	8 heures	sporulation réduite de 70 à 28%	Dubey, 1970b
37°C	1 jour	pas de sporulation	Dubey, 1970b
45°C	1 heure	sporulation réduite de 40%	Dubey, 1970b
50°C	10 minutes	pas de sporulation	Dubey, 1970b

1.1.2. Influence de la température sur les oocystes sporulés

Etant donné qu'à température ambiante (15-25°C), dans l'environnement, la sporulation se produit en 2 à 5 jours en moyenne, la majorité des oocystes qui peuvent souiller les matrices alimentaires sont probablement sporulés. La plupart des expériences relatant l'influence du froid ou de la chaleur sur les oocystes sporulés ont été effectuées avec comme matrice de l'eau ou de la terreensemencée par des oocystes. La synthèse des données de sensibilité des oocystes sporulés au froid et à la chaleur est présentée dans le Tableau 36.

- *Influence du froid*

Les oocystes peuvent rester viables après une congélation constante pendant 28 jours à -21°C (Frenkel, 1973 ; Smith, 1991) et sans perte d'infectiosité pendant 106 jours à -5°C et -10°C (Dubey, 1998). Ainsi, la congélation peut ne pas être suffisante pour tuer la totalité des oocystes sporulés (Frenkel, 1973).

A 4°C, les oocystes restent viables pendant au moins 54 mois sans perte d'infectiosité pendant 18 mois (Dubey, 1998). Sur des matrices alimentaires, la seule donnée disponible est que des oocystes gardent leur pouvoir infectant après 8 semaines à 4°C sur des framboises et des mûresensemencées expérimentalement (Kniel, 2002).

- *Influence de la chaleur*

Des oocystes sporulés peuvent survivre 32 jours à 35°C, ou 9 jours à 40°C (Dubey, 1970a,b). A 45°C, ils ne restent infectieux que pendant 1 jour, à 50°C pendant 1 heure, à 60°C pendant 1 minute (Dubey, 1998).

D'autres expériences rapportant les conditions de survie à des températures fluctuantes -20°C à + 35°C) pendant plusieurs mois sont décrites dans la Question 21.

1.2. Kystes

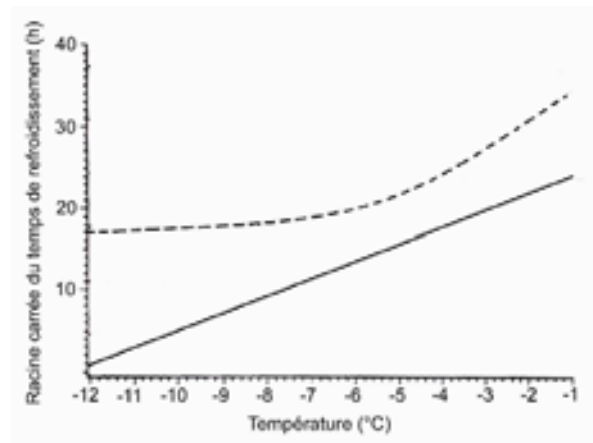
1.2.1. Influence du froid

- Congélation

Les kystes de *T. gondii* seraient rendus non infectieux (vérification par bio-essais sur chats et souris) par une congélation pendant au moins 3 jours, à -12°C , de la viande de porcs expérimentalement infectés (Dubey, 1988). L'épaisseur de la pièce de viande contenant les kystes influence l'expérience : plus la pièce de viande est volumineuse, plus le kyste peut être profond et donc plus le temps de congélation nécessaire pour obtenir la température d'inactivation du kyste est élevé.

En conditions expérimentales, des essais ont été réalisés sur des homogénats de cerveaux de souris et/ou de muscle de lapin : l'inactivation des kystes, testée par bio-essai, est obtenue par un passage à au moins -18°C , pendant une durée supérieure ou égale à 5 heures (Pejsova, 1989 ; Hellenes, 1977). Une courbe d'inactivation thermique, illustrant l'influence des basses températures sur l'inactivation des kystes (-1°C à -171°C pendant des durées variant de 1 seconde à + de 67 jours) a été établie (Kotula, 1991) (Figure 9) . Elle permet de confirmer que généralement les kystes sont tués à une température de $-12,4^{\circ}\text{C}$, bien que, dans au moins un cas, une souche de toxoplasme ait pu être isolée après 16 jours à -20°C . Des kystes ont pu survivre à des températures plus basses, mais pendant des temps très brefs, sans rapport avec les durées de congélation des aliments (par exemple, -37°C pendant 30 secondes). Ces expérimentations ont été faites sur plusieurs souches de toxoplasmes : elles n'ont pas révélé de différence entre souches dans la sensibilité à la congélation.

Figure 9 : Régression linéaire des temps de congélation et des températures pour l'inactivation des kystes de *T. gondii*



Relation exprimée par l'équation : racine carrée du temps (h) = $26.72 + 16 (^{\circ}\text{C})$ avec $r=0.77$ et l'intervalle de confiance 99% supérieur pour les valeurs individuelles (ligne en pointillé) (D'après Kotula, 1991)

L'existence d'une variabilité de sensibilité à la congélation en fonction de l'espèce hôte, comme cela a été décrit pour *Trichinella sp.* (Theodoropoulos, 2000) n'est pas documentée pour *T. gondii*.

- Réfrigération

A 4°C , des kystes restent infectants pendant 7 semaines dans des cerveaux de souris broyés (Djurkovic-Djakovic, 2000). Les kystes demeurent infectants dans des carcasses réfrigérées conservées plus de 3 semaines à 4°C et probablement aussi longtemps que la viande demeure consommable pour l'homme (Dubey, 1988).

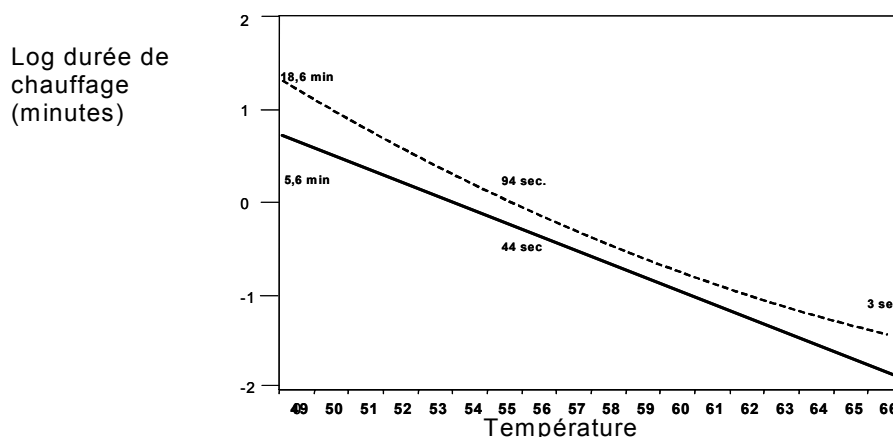
1.2.2. Influence de la chaleur

Un des paramètres les plus utilisés pour qualifier la résistance aux traitements thermiques des organismes dans une matrice alimentaire est la valeur « D », ou temps de réduction décimale : il correspond à la durée d'application nécessaire d'une température donnée pour détruire 90 % des organismes initialement présents dans un milieu. Smith (1992) précise que la valeur de D obtenue pour l'inactivation de bradyzoïtes est de 53,5 minutes à 49°C, 5,8 minutes à 55°C et 3,8 minutes à 61°C.

Il est couramment admis que les températures nécessaires à la destruction de *Trichinella spiralis* sont adaptées à la destruction de la plupart des parasites qui pourraient être présents dans la viande, et en particulier des kystes de *T. gondii*, soit l'application d'une température de 54,5°C pendant 30 minutes, ou 56,6°C pendant 15 minutes (Dubey, 1990).

L'effet de la température sur l'infectiosité des kystes a été étudié sur de la viande de porc infectée ; cette étude a permis l'établissement d'une courbe de destruction thermique (Dubey, 1990) (Figure 10) : les kystes ne sont plus viables après un traitement à 58°C pendant 9,5 minutes, mais peuvent survivre après 3 minutes à 64°C. Compte tenu de cette courbe, Dubey (1990) estime qu'il faut atteindre une température de 67° au coeur de la viande pour obtenir une inactivation totale des kystes. Par ailleurs, de cette expérience, les auteurs concluent que la résistance à la chaleur des kystes ne dépend pas de la souche.

Figure 10 : Régression linéaire (intervalle de confiance 95% -en pointillé-) entre le temps (en minutes) et la température requise pour l'inactivation des kystes de *T. gondii*



Un temps additionnel de 3 minutes 30 sec de montée en température doit être ajouté aux temps indiqués sur la courbe (d'après Dubey, 1990)

L'influence de l'espèce hôte sur la sensibilité à la chaleur n'est pas documentée.

1.3. Tachyzoïtes

1.3.1. Influence du froid

Les tachyzoïtes survivent à 4°C dans du lait pendant au moins une semaine (Zardi, 1979). L'expérience des laboratoires travaillant sur des tachyzoïtes de toxoplasmes permet de conclure à une destruction par la congélation, mais les conditions précises de congélation n'ont pas été décrites.

1.3.2. Influence de la chaleur

Les tachyzoïtes restent infectants pour la souris après une exposition de 30 minutes à 45°C. Ils sont détruits après 30 minutes à 50°C (Dubey, 1970a). Ils sont détruits par la pasteurisation (Tenter, 2000).

Conclusion sur les effets de la température :

Compte tenu des observations faites sur la résistance de *T. gondii* aux températures et pour réduire la transmission de kystes de *T. gondii* à l'homme, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- soit congeler la viande à -12°C pendant au moins 3 jours (en tenant compte cependant de l'épaisseur de la pièce de viande),
- soit la cuire à une température à cœur de 67°C minimum (Dubey, 1990). La FDA avait recommandé, en 1980, une cuisson à cœur de $73,9^{\circ}\text{C}$ pour la viande (Smith, 1991).

Pour détruire des oocystes dans des matrices alimentaires, une température de 60°C pendant une 1 minute apparaît suffisante. La congélation des végétaux ne garantit pas la disparition complète de l'infectiosité des oocystes.

2. pH

2.1. Oocystes

Au laboratoire, les oocystes sporulés sont habituellement conservés à 4°C dans une solution d'acide sulfurique à 2% ($\text{pH} < 1$) avec conservation de l'infectiosité pendant plus d'un an, ce qui témoigne de leur résistance importante à des pH très acides. Concernant la résistance à des solutions alcalines, des informations peuvent être tirées des expériences réalisées avec des solutions d'hydroxyde de sodium (NaOH) et de carbonate de sodium (Na_2CO_3) : 24 heures sont nécessaires pour obtenir une inactivation totale d'une suspension d'oocystes dans une solution de NaOH à 6% ($\text{pH} > 12$) (Dubey, 1988), l'infectiosité des oocystes est diminuée d'un facteur 100 après 1 heure dans une solution de NaOH à 10%, d'un facteur 1000 dans une solution de NaOH à 20%. Une solution composée de NaOH à 0,4% et de Na_2CO_3 à 2% ($\text{pH} = 11,8$) réduit cette infectiosité d'un facteur 100 en 1 heure (Dubey, 1970a, b) (Tableau 37).

2.2. Kystes

Les bradyzoïtes contenus dans les kystes perdent complètement leur pouvoir infectieux après 2 heures dans une solution d'HCl $\text{pH} < 1$ à température ambiante (Pettersen, 1979). Concernant l'alcalinisation du milieu, on peut signaler qu'*in vitro*, en culture cellulaire, la formation des kystes et leur survie pendant plusieurs semaines est favorisée à pH 8 (Soete, 1994).

2.3. Tachyzoïtes

Les tachyzoïtes sont plus sensibles que les kystes à l'action d'une solution d'HCl ($\text{pH} < 1$). Ils sont détruits en 25 minutes à température ambiante (Pettersen 1979). Aucune donnée n'a été retrouvée sur l'action de l'alcalinisation du milieu.

Tableau 37 : Influence de solutions alcalines ou acides sur les différentes formes parasitaires.

	Conditions	Inactivation
Oocystes	Acide H_2SO_4 2%, $\text{pH} < 1$	Conservation de l'infectiosité pendant plus d'un an
	Alcaline, $\text{pH} > 12$	
	NaOH 6%,	24 heures pour une inactivation totale
	NaOH 10%,	Diminution d'infectiosité d'un facteur 100 en 1 heure
	NaOH 20%,	Diminution d'infectiosité d'un facteur 100 en 1 heure
	NaOH 0.4% + Na_2CO_3 2%	Diminution d'infectiosité d'un facteur 100 en 1 heure
Kystes (bradyzoïtes)	Acide HCl, $\text{pH} < 1$	2 heures à température ambiante
Tachyzoïtes	Acide HCl, $\text{pH} < 1$	25 minutes à température ambiante

(D'après Dubey 1970, 1988 et Pettersen 1979)

Conclusion sur les effets du pH :

Les oocystes sont capables de survivre longtemps en milieu très acide (pH de l'ordre de 1) ; leur résistance en milieu très alcalin (pH>11) est également importante, mais moins prolongée. Le pouvoir infectieux des kystes est perdu en 2 à 3 heures à pH très acide, celui des tachyzoïtes en 25 minutes.

3. NaCl

3.1. Oocystes

La sporulation est possible à 24°C dans de l'eau à 1,5% et 3,2% de salinité (Lindsay, 2003). Les oocystes sporulés survivent au moins 6 mois à température ambiante ou à 4°C dans une solution d'eau de mer artificielle à 15 ppt, soit une concentration de NaCl d'environ 1,5% (Lindsay, 2003).

3.2. Kystes

Les résultats obtenus par les divers expérimentateurs font apparaître des différences :

- L'influence de la concentration en sel (NaCl) sur la survie de kystes isolés, à différentes températures, a été testée par Dubey (1997). Les kystes sont tués dans une solution à 6 % de NaCl, quelle que soit la température de stockage. Mais à 4°C, les kystes peuvent survivre 56 jours dans une solution contenant 0,85 % de NaCl, 49 jours à 2 % et 21 jours à 3,3 %. Pour des températures plus élevées (15 ou 20°C), la survie dans 3,3 % de NaCl est moindre (Dubey, 1997). La viabilité des kystes (testée par bio-essai) est donc dépendante de la concentration en sel et de la température de stockage
- Dans l'expérience de Jamra (1991), des broyats de cerveaux de souris infectés ont été salés à différentes concentrations (2,2%, 2,5%, 3%), conservés à 4°C pendant 1 à 7 jours et testés par bio-essai sur des souris. L'inactivation des kystes obtenue pour une concentration de 3 % de NaCl pendant 5 à 7 jours d'exposition n'est que partielle.
- Dans une expérience plus récente (Hill, 2004), des cerveaux de souris ou des filets de porcs infectés expérimentalement, injectés avec des solutions de NaCl à 2% et conservés à 4°C ne sont plus infectants pour le chat 7 jours après. Dans la même expérience, les solutions à 1% de NaCl ont une efficacité inconstante sur l'inactivation des kystes.
- Navarro (1992) a travaillé sur une matrice « saucisse ». Des saucisses fraîches ont été préparées avec de la viande de porc artificiellement contaminée, puis salées à différentes concentrations et conservées sous température réfrigérée sur différentes durées. Les résultats des bio-essais montrent qu'une exposition au sel durant moins de 24 heures ne tue pas les parasites ; en revanche, après 48 heures de stockage, et pour des concentrations de sel à 2 % et 2,5 %, les kystes sont inactivés. En France, d'après l'AFSSA (rapport Sel : Evaluations et recommandations –2002) la teneur en sel des saucisses de Toulouse et de Strasbourg est de l'ordre de 2 %.

Les discordances observées dans les résultats de ces diverses expériences ne permettent pas de conclure à une efficacité absolue d'une concentration en NaCl de 2 à 3% appliquée pendant quelques jours.

3.3. Tachyzoïtes

Les tachyzoïtes peuvent rester infectants dans les liquides biologiques (NaCl 0,9%) : 3 jours dans du colostrum, 15 à 43 jours dans du sérum (Raisanen, 1978), dans du lait de vache 7 jours à 4°C et 3 jours à température ambiante (Zardi, 1979). Ils seraient cependant capables de conserver leur infectiosité à des concentrations salines plus élevées : une suspension de tachyzoïtes reste infectieuse après exposition pendant 48 heures à des concentrations de 2,2%, 2,5% et 3% de NaCl ; à une concentration de 3% pendant 3 à 7 jours, l'inactivation des tachyzoïtes reste incomplète (évaluation par bio-essai chez la souris) (Jamra, 1991). A l'opposé, les tachyzoïtes sont détruits très rapidement en eau distillée (Raisanen, 1976).

Références bibliographiques

- Djurkovic-Djakovic O, Milenkovic V. Effect of refrigeration and freezing on survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Acta Veterinaria-Beograd*. 2000;50:375-80.
- Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res*. 1988;49:910-3.
- Dubey JP. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-20 C. *J Parasitol*. 1997; 83:946-9.
- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocysts survival under defined temperatures. *J Parasitol*. 1998;84:862-5.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. 1988. CRC Press, Boca Raton, Florida, 220p.
- Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, Andrews CD, Lindsay CS. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol*. 1990;76:201-4.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*. 1970a;56:447-56.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J Exp Med*. 1970b;132:636-62.
- Frenkel JK, Dubey JP. Effects of freezing on the viability of *Toxoplasma* oocysts. *J Parasitol*. 1973;59:587-8.
- Hellesnes I, Mohn SF. Effects of freezing on the infectivity of *Toxoplasma gondii* cysts for white mice. *Zentralbl Bakteriol [Orig A]*. 1970;238:143-8.
- Hill DE, Sreekumar C, Gamble HR., Dubey JP. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. *J Food Protection*. 2004;67:2230-3.
- Ito S, Tsunoda K, Taki T, Nishikawa H, Matsui T. Destructive effect of heating against *Toxoplasma* oocysts. *Natl Inst Anim Health Q (Tokyo)*. 1975;15:128-30.
- Jamra LM, Martins MC, Melton ML. [Effect of table salt on *Toxoplasma gondii*]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1991;33:359-63.
- Kniel KE, Lindsay DS, Sumner SS, Hackney CR, Pierson MD, Dubey JP. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. *J Parasitol*. 2002;88:790-3
- Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Food Protection*. 1991;54:687-90.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet Parasitol*. 2002;103:309-13.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Cole RA, Flick GJ, Wetch CN, Lindquist A, Dubey JP. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. *J Eukaryot Microbiol*. 2003;50Suppl:687-8.
- Navarro IT, Vidotto O, Giraldi N, Mitsuka K. [Resistance of *Toxoplasma gondii* to sodium chloride and condiments in pork sausage]. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1992;112:138-43.
- Pettersen EK. Destruction of *Toxoplasma gondii* by HCl solution. *Acta path. Microbiol. Scand. Sect B*. 1979;87:217-20.
- Raisanen SA. The importance of trophozoites in transmission of toxoplasmosis: survival and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* trophozoites in liquid media. *Medical Hypotheses* 1978;4:367-75.
- Raisanen S, Saari M. The survival of *Toxoplasma gondii* trophozoites in changes in osmotic pressure. *Med Biol*. 1976;54:152-5.
- Smith JL. Foodborne toxoplasmosis. *J Food Safety*. 1991;12:17-57.
- Smith JL. *Toxoplasma gondii* in meats - A matter of concern? *Dairy, Food and Environmental Sanitation*. 1992;12:341-5.
- Soete M, Camus D, Dubremetz JF. Experimental induction of bradyzoite-specific antigen expression and cyst formation by the RH strain of *Toxoplasma gondii* in vitro. *Exp Parasitol*. 1994;78:361-70.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol*. 2000;30:1217-58.
- Theodoropoulos G, Kapel CMO, Webster P, Saravanos L, Zaki J, Koustolis K. Infectivity, predilection sites and freeze tolerance of *Trichinella* spp. in experimentally infected sheep. *Parasitol Res*. 2000;86:401-5.
- Zardi O, Soubotian B. Biology of *Toxoplasma gondii*, its survival in body tissues and liquids, risks for the pregnant woman. *Bioch Exp Biol*. 1979;15:355-60.

Question 27 : que sait-on du comportement de *Toxoplasma gondii* vis-à-vis des procédés utilisés pour la préparation et la conservation des aliments (sauf la cuisson et la réfrigération/congélation) ?

Responsable de la question : Mme Dardé

Co-rédacteurs : Mme Roze, M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Dumètre, M. Salvat

Peu d'informations existent sur le comportement de *T. gondii* vis-à-vis des traitements appliqués aux aliments pour permettre leur conservation, en dehors de la salaison (cf. Question 26). Le postulat est que, si les traitements sont efficaces pour détruire *Trichinella spiralis*, il est supposé que les formes infectantes de *T. gondii* seront également détruites (Smith 1992).

1. Condiments

Navarro (1992) a testé l'effet de différents condiments sur l'inactivation de kystes de *T. gondii*, présents dans des saucisses fraîches préparées avec de la viande de porc artificiellement contaminée. Ni le poivre, ni l'ail n'ont d'effet sur la viabilité des kystes.

2. Aérobiose-anaérobiose

La disponibilité en oxygène affecte la sporulation des oocystes : celle-ci passe de 24 heures en milieu aéré à 4 jours, en milieu non aéré (Dubey, 1970b). En revanche, l'anaérobiose inhibe la sporulation qui peut reprendre très partiellement (4% des oocystes) après la remise en présence d'air. Cependant, aucune étude spécifique n'a été rapportée permettant d'évaluer le comportement de *T. gondii*, quelque soit la forme parasitaire, dans le cadre de la conservation des aliments en atmosphère sous vide.

3. Micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électro-magnétiques, diffusées sur les aliments et entraînant une excitation des molécules d'eau composant les aliments et la production de chaleur.

3.1. Oocystes

Aucun résultat n'a été publié à notre connaissance.

3.2. Kystes

En condition expérimentale, la cuisson au micro-onde a une activité partielle sur l'infectiosité des kystes de *T. gondii*. Des échantillons de viande de mouton contaminée (200 à 360 grammes) ont été cuits à 2 puissances : 600W durant 10-15 minutes (selon leur poids) et 300W avec une durée permettant d'atteindre une température à cœur de +65°C. L'infectiosité de la viande (et donc des kystes) n'est pas totalement supprimée : une partie des kystes restent infectants (2 échantillons sur 4 positifs après bio-essai chez la souris) (Lunden, 1992).

Ce résultat s'explique par l'hétérogénéité de la cuisson obtenue avec cette technique : le chauffage rapide par la technique de micro-onde ne permettrait pas (comme avec les techniques de cuisson classiques) d'atteindre en tout point de la viande l'équilibre temps-température nécessaire pour détruire les kystes. Cette méthode de cuisson apparaît donc moins efficace pour la destruction des kystes que la cuisson classique, pour une même température à cœur atteinte.

3.3. Tachyzoïtes

Il n'y a pas eu à notre connaissance de résultat publié sur l'activité des micro-ondes sur les tachyzoïtes.

4. **Dessiccation**

Des oocystes sporulés perdent leur pouvoir infectant avec la diminution de l'humidité relative (Smith, 1991). Après 30 jours à 100 % d'humidité, des oocystes sporulés dans des fèces restent infectants. Une suspension de toxoplasmes laissée à sécher complètement pendant 24 heures perd son infectiosité ; à 58% d'humidité relative, l'infectiosité de la suspension est perdue en 7 jours, à 37% d'humidité relative, elle disparaît en 3 jours (Dubey, 1970a). Aucune expérience de ce genre n'a été réalisée sur une matrice alimentaire.

Aucun résultat publié n'est disponible pour les kystes ou les tachyzoïtes, mais l'expérience des laboratoires travaillant sur le toxoplasme permet de dire que la dessiccation complète fait perdre rapidement leur viabilité et leur infectiosité à ces formes parasitaires.

Les effets de la lyophilisation n'ont pas été évalués.

5. **Ionisation**¹²

Le traitement ionisant consiste à soumettre les aliments soit à un rayonnement gamma (issu du cobalt 60), soit à des rayons X d'énergie supérieure à 5 MeV, soit à un faisceau d'électrons accélérés de moins de 10 MeV. Les effets positifs (amélioration de la durée de conservation de l'aliment) comme négatifs (mauvaises odeurs, etc.) dépendent de la « dose » appliquée, mesurée en gray (Gy), 1 gray correspond à l'absorption d'une énergie d'un Joule par kg d'aliment. Ainsi, des doses de 1 à 6 kGy permettent la destruction de la plupart des bactéries pathogènes non sporulées (traitement équivalent à une pasteurisation).

5.1. Oocystes

Des études spécifiques ont porté sur l'efficacité du traitement ionisant sur l'infectiosité des oocystes : l'ingestion par des souris d'oocystes sporulés, traités à une dose supérieure ou égale à 0,25 kGy (Dubey, 1996) n'entraîne pas de développement de kystes. Par ailleurs, l'ingestion par des souris de doses létales d'oocystes traitées à la dose de 0,2 et 0,4 kGy confère une protection partielle.

Sur un modèle de baies ensemencées par des oocystes de toxoplasmes (Dubey, 1998), l'ionisation paraît un moyen efficace pour détruire les oocystes de *T. gondii* : l'ionisation à des doses de 0,4 kGy à 0,8 kGy d'oocystes non sporulés n'empêche pas la sporulation, mais les oocystes sporulés obtenus ne sont pas infectants pour des souris. L'ionisation, à des doses $\geq 0,4$ kGy, d'oocystes sporulés n'empêche pas les sporozoïtes de sortir de l'oocyste ni de pénétrer dans les cellules intestinales des souris après ingestion mais l'infection ne se développe pas au-delà. Une irradiation à 0,5 kGy est donc efficace pour détruire les oocystes sur les végétaux.

5.2. Kystes

Song (1993) a calculé que la dose minimale effective entraînant la perte d'infectiosité des kystes de *T. gondii* présents dans de la viande de porcs et de souris est de l'ordre de

¹² Note d'information : En Europe, les denrées alimentaires ionisées sont réglementées par 2 directives européennes (1999/2/CE et 1999/3/CE) qui couvrent pour la première les aspects généraux et techniques de mise en œuvre du procédé, d'étiquetage des denrées ionisées et les conditions d'autorisations d'ionisation, et qui établit, pour la seconde, une liste positive qui ne contient à ce jour qu'une seule catégorie d'aliment : « les herbes aromatiques séchées, les épices et les condiments végétaux ». La dose de traitement maximale autorisée est de 10 kGy. Ces directives ont été retranscrites en France, selon 2 textes : le décret 2001-1096 (16 novembre 2001) et l'arrêté du 20 août 2002 qui reprend la liste positive de la directive 1999/3/CE et une liste d'autorisations nationales pour certaines denrées (dont : épices, aromates et légumes déshydratés, herbes aromatiques surgelées, VSM et abats de volailles) en précisant les doses de traitement, en attendant l'élargissement de la liste positive européenne. Pour cette liste positive nationale, les doses de traitement sont comprises entre 0,15 et 10 kGy selon les denrées. A l'heure actuelle, le traitement par ionisation de denrées alimentaires reste marginal en France : 4300 tonnes de denrées traitées en 2003 (DGCCRF, 2004)

0,6 kGy (ionisation au cobalt-60). L'expérience menée par Dubey (1986) en ionisant de la viande de porc contaminée par *T. gondii* rapporte une perte d'infectiosité des kystes, évaluée par bio-essai sur souris, pour une dose appliquée de 0,5 kGy (ionisation au césium-137 et au cobalt-60). Une dose de 1 kGy permet d'obtenir une viande indemne de kystes infectants (Smith, 1992).

Enfin, l'effet des rayonnements ionisants sur la viabilité des kystes ne semble pas dépendre de la température d'application d'après Dubey (1994).

5.3. Tachyzoïtes

Des tachyzoïtes irradiés ont été utilisés expérimentalement dans un but vaccinal. Les tachyzoïtes irradiés ne se développent pas chez l'animal inoculé.

6. Rayonnements UV – Infra rouge

Les traitements aux rayonnements ultra-violet (UV) sont utilisés dans le cadre de la désinfection des eaux de distribution pour la consommation humaine et en production agro-alimentaire.

6.1. Kystes et oocystes

Il n'y a pas eu à notre connaissance de résultat publié sur l'activité des UV ou des infra-rouge sur les oocystes ou sur les kystes.

6.2. Tachyzoïtes

L'exposition aux *ultra-violet*s affecte la viabilité et la virulence du parasite. La durée d'exposition efficace varie en fonction des milieux dans lesquels les parasites sont mis en suspension : de 40 minutes en solution saline à 5 heures dans le lait (Rifaat, 1966). Des flux d'UV de 70 J/m² appliqués sur des cultures cellulaires de toxoplasmes rendent non viables et non infectants les tachyzoïtes (Grimwood, 1980).

Concernant les rayonnements *infra-rouge*, des tachyzoïtes en suspension saline restent viables et infectants après exposition à une lampe de 220 volts pendant au moins 3 heures à 50°C, 4,5 heures à 75°C, 7 heures à 100°C (Rifaat, 1967). Les rayonnements infra-rouge ne semblent donc pas avoir d'effet létal sur les tachyzoïtes de toxoplasmes.

7. Hautes pressions

Le traitement des aliments à hautes pressions est un procédé de compression et de décompression adiabatique, c'est à dire sans transfert de chaleur, dans une gamme de 100 à 800 méga Pascal (M Pa) pour des durées de 0,001 à 1200 secondes, ou plus.

Des oocystes ont été exposés durant 1 minute à des pressions comprises entre 100 et 550 M Pa et injectés à des souris : des pertes d'infectiosité sont observées pour certains oocystes, à partir de 340 M Pa (Lindsay, 2005).

8. Salaison –Fumaison

8.1. Oocystes

La salaison ou la fumaison concerne rarement des produits susceptibles d'être souillés par des oocystes (fruits, légumes). Aucun résultat sur ce sujet n'a été publié à notre connaissance.

8.2. Kystes

Des études de viabilité de kystes dans de la viande de moutons (expérimentalement infectés) soumise à différents procédés de préparation (salaison, fumage) ont été réalisées (Lunden, 1992) :

- pour la fumaison : une solution de NaCl est injectée dans la viande, puis celle-ci est fumée à une température n'excédant pas 50°C pendant 24-48 heures,

- pour la salaison : la pièce de viande (200 à 360 g) est mise dans un sac plastique avec 30-50 g de NaCl et 25-40 g de sucre pendant 64 heures à 4°C.

Dans les 2 cas, le pouvoir infectant des kystes a disparu. Les auteurs pensent que la destruction des parasites durant ces opérations de salaison est due au changement de pression osmotique lié à l'ajout de sel et de sucre.

8.3. Tachyzoïtes

Aucun résultat n'a été publié à notre connaissance à propos de matrice alimentaire.

9. Saumure et exhausteurs de goût

Dans une étude récente, l'effet de l'injection de différents exhausteurs de goût ou saumures a été évalué sur des cerveaux de souris et filets de porcs infectés par *T. gondii* (Hill, 2004). Après l'injection de NaCl 2%, les tissus ne sont plus infectants pour le chat 7 jours après ; les solutions à 1% de NaCl ont une efficacité inconstante sur l'inactivation des kystes. Lors d'études antérieures, l'inactivation totale des kystes n'était cependant obtenue qu'avec des concentrations supérieures (cf. Question 26). Le diacétate de sodium (0,1% et 0,2%) et le tripolyphosphate de sodium (0,25% et 0,5%) seuls ou en combinaison sont sans action sur la survie des kystes, alors que le lactate de potassium (1,4% et 1,96%) ou le lactate de sodium (1,4%, 1,5% et 2%) seuls ou en combinaison, à 4°C pendant 7, 28, et 45 jours rendent les kystes non infectieux lors d'un bio-essai chez le chat (Hill, 2004). Ces polyphosphates associés à des sels sont autorisés et utilisés en France de façon courante pour certaines préparations de viande.

Tableau 38 : Efficacité (évaluée par bio-essai chez le chat) de différents exhausteurs de goût ou saumures sur l'infectiosité des kystes contenus dans de la viande de porc à 4°C

Solution	Durée de l'exposition de la viande de porc		
	7 jours	28 jours	45 jours
Tripolyphosphate de sodium 0,25%	Inefficace	Inefficace	Inefficace
Lactate de sodium 1,5% + Tripolyphosphate de sodium 0,25%	Efficace	Efficace	Efficace
Lactate de sodium 2% + Diacétate de sodium 0,2%	Efficace	Efficace	Efficace
Chlorure de sodium 1%	Inefficace	Inefficace	Efficace
Tripolyphosphate de sodium 0,25% + Diacétate de sodium 0,1%	Inefficace	Inefficace	Inefficace
Tripolyphosphate de sodium 0,25% + Diacétate de sodium 0,1% + Lactate de potassium 1,4%	Efficace	Efficace	Efficace
Tripolyphosphate de sodium 0,25% + Diacétate de sodium 0,1% + Lactate de sodium 1,4%	Efficace	Efficace	Efficace
Tripolyphosphate de sodium 0,25% + Diacétate de sodium 0,14% + Lactate de potassium 1,96%	Efficace	Efficace	Efficace
Tripolyphosphate de sodium 0,25% + Chlorure de sodium 1%	Inefficace	Inefficace	Inefficace
Tripolyphosphate de sodium 0,5% + Chlorure de sodium 2%	Efficace	Efficace	Efficace
Lactate de sodium 2%	Efficace	Efficace	Efficace

(d'après Hill, 2004)

Références bibliographiques

- DGCCRF (2004), Statistiques annuelles des denrées traitées par ionisation, Note d'information n°2004-59.
- Dubey JP, Brake RJ, Murell KD, Fayer R. Effect of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs. Am J Vet Res. 1986;47:518-22.
- Dubey JP, Jenkins MC, Thayer DW, Kwok OC, Shen SK. Killing of *Toxoplasma gondii* oocysts by irradiation and protective immunity induced by vaccination with irradiated oocysts. J Parasitol. 1996;82:24-7.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 1970a;56:447-56.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. J Exp Med. 1970b;132:636-62.
- Dubey JP, Thayer DW, Speer CA, Shen SK. Effect of gamma irradiation on unsporulated and sporulated *Toxoplasma gondii* oocysts. Int J Parasitol. 1998;28:369-75.
- Grimwood BG. Infective *Toxoplasma gondii* trophozoites attenuated by ultraviolet irradiation. Infect Immun. 1980;28:532-5.
- Hill DE, Sreekumar C, Gamble HR, Dubey JP. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. J Food Protection. 2004;67:2230-3.
- Lindsay DS, Collins MC, Jordan CN, Flick GJ, Dubey JP. Effects of high pressure processing on infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for mice. J Parasitol. 2005; 91:699-701.
- Lunden A, Ugglå A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. Int J Food Microbiol. 1992;15:357-63.
- Navarro IT, Vidotto O, Giraldo N, Mitsuka K. [Resistance of *Toxoplasma gondii* to sodium chloride and condiments in pork sausage]. Bol Oficina Sanit Panam. 1992;112:138-43.
- Rifaat MA, Morsy TA, Sadek MS. Resistance of *Toxoplasma gondii* to ultra-violet irradiation. J Trop Med Hyg. 1996;69:1-2.
- Rifaat MA, Morsy TA, Sadek MS. Resistance of *Toxoplasma* to infra-red irradiation. J Trop Med Hyg. 1967;70:296.
- Smith JL. Foodborne toxoplasmosis. J Food Safety. 1991;12:17-57.
- Smith JL. *Toxoplasma gondii* in meats - A matter of concern? Dairy, Food and Environmental Sanitation. 1992;12:341-5.
- Song CC, Yuan XZ, Shen LY, Gan XX, Ding JZ. The effect of cobalt-60 irradiation on the infectivity of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol. 1993;23:89-93.

Question 28 : que sait-on du comportement de *Toxoplasma gondii* vis-à-vis des désinfectants utilisés en agro-alimentaire ?

Responsable de la question : Mme Dardé

Co-rédacteurs : Mme Villena

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Dumètre, M. Salvat

En pratique, les désinfectants utilisés en agro-alimentaires concernent essentiellement le stade oocyste qui peut souiller les végétaux et l'eau de boisson ou de lavage des aliments. Les kystes dans la viande ou les tachyzoïtes éventuellement présents dans des liquides biologiques tels que le sang ou le lait sont peu susceptibles d'être soumis à l'action de ces désinfectants, sauf souillure d'outils (couteaux) ou de plan de travail. Aucune étude, à notre connaissance, ne porte sur le comportement de ces 2 dernières formes parasitaires vis à vis des désinfectants agro-alimentaires, mais l'on peut rappeler ici leur sensibilité à la chaleur, à l'eau pure et à la dessiccation (cf. Question 26 et Question 27).

La grande résistance des oocystes de coccidie à différents désinfectants ou autres produits chimiques est connue. Dubey (1970) rapporte que ces oocystes sont résistants aux solutions acides, alcalines et à la plupart des désinfectants utilisés en laboratoire.

1. Chlore

Il n'a pas d'effet sur l'inactivation des oocystes. La résistance des oocystes à différentes concentrations d'hypochlorite de sodium a été évaluée (Tableau 39) (Dubey, 1970). La désinfection des locaux ou des litières de chat éventuellement souillés par des oocystes ne peut reposer sur l'eau de Javel aux concentrations habituellement préconisées pour la désinfection.

Des études ont été menées sur des oocystes sporulés inoculés par gavage à des souris et mis en contact préalablement pendant 4 heures avec diverses préparations ou dérivés chlorés:

- des suspensions de chlore à 3 concentrations (2, 20 et 200 mg/L) sont inefficaces sur les oocystes de *T. gondii* (les concentrations de chlore habituellement utilisées pour la désinfection des eaux de consommation se situent autour de 0.1 mg/L en fin de réseau) (Villena, 2004).
- des dérivés chlorés tels que la chloramine (hydrochlorazone®), utilisée en prophylaxie individuelle pour la décontamination bactérienne des eaux à la dose de 1cp (12,5 mg) dissout dans 1L d'eau, est inefficace sur les oocystes de *T. gondii* (infectiosité conservée chez toutes les souris inoculées) de même que le dioxyde de chlore (efficace en particulier sur les légionelles) utilisé à la dose de 1mg/L (Villena, 2004).

Tableau 39 : Résistance des oocystes à l'hypochlorite de sodium

Concentration d'hypochlorite de sodium	Temps nécessaire pour une inactivation totale des oocystes
12,5%	>30 min
8,3%	>30 min
6%	>24 h à 4°C
3,6%	>30 min

D'après Dubey, 1970

2. Ozone

A notre connaissance, aucune étude n'a été publiée sur l'action de l'ozone.

3. Ammoniaque

Les oocystes perdent leur infectiosité après un passage dans l'ammoniaque à 28 % pendant 10 minutes (Smith 1991) ou à 5,5% pendant 3 heures (Dubey, 2004).

4. Solution de formol à 10 %

Quatre jours sont nécessaires pour tuer les oocystes de *T. gondii* (Ito, 1975).

5. Solution d'iode

La disparition du pouvoir infectant des oocystes est obtenue après un passage de 30 minutes dans une solution de I₂ 7% / KI 5% (Smith, 1991), 3 heures dans une solution de teinture d'iode à 2%, 10 minutes dans une solution de teinture d'iode à 7% (Dubey, 2004).

6. Alcools

Ils ne sont pas efficaces, hormis l'éthanol pur (99 %) mis en contact avec les oocystes pendant 24 heures (Ito 1975). L'éthanol (95%) en association avec l'acide acétique (5%) tue les oocystes en 24 heures (Dubey, 1970).

Références bibliographiques

- Dubey, J P, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 1970;54:447-56.
Dubey JP. Toxoplasmosis, a waterborne disease. Vet Parasitol. 2004;126:57-72.
Ito S, Tsunoda K, Shimada K, Taki T, Matsui T. Disinfectant effects of several chemicals against *Toxoplasma* oocysts. Nippon Juigaku Zasshi. 1975;37:229-34.
Smith JL. Foodborne toxoplasmosis. J Food Safety. 1991;12:17-57.
Villena I. Risques environnementaux parasitaires d'origine hydrique et incidence de *Toxoplasma gondii*. Thèse d'Université de Reims Champagne- Ardenne, Biologie Parasitaire, Mai 2004.

Section I : dose/réponse. Modélisation – appréciation quantitative du risque

Résumé de la section I

Une Appréciation Quantitative des Risques (AQR) peut être définie comme une méthodologie dans le cadre de laquelle des réponses quantitatives peuvent être apportées par l'évaluateur de risque au gestionnaire du risque. Dans ce contexte, le principal objectif d'une AQR serait l'évaluation de l'impact de la consommation de tels ou tels aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés ou de telle ou telle mesure de prévention sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale.

Un premier constat confirme qu'en France les connaissances sont insuffisantes sur un certain nombre de points critiques : données de contamination et modes de consommation des femmes enceintes, efficacité de procédés d'abattage et données permettant d'établir une relation dose-infection fiable. L'acquisition de données sur la contamination des aliments serait une première étape indispensable, envisageable en France par la mise en place d'un plan d'échantillonnage ou de surveillance des aliments, associés à une ou plusieurs études épidémiologiques au niveau des élevages, en utilisant des tests de dépistage adaptés.

De plus, pour des raisons éthiques, l'élaboration d'une relation dose-infection n'est pas envisageable chez l'homme à partir d'études expérimentales chez des volontaires sains, et les données épidémiologiques issues de l'analyse de cas individuels ou groupés de toxoplasmose sont insuffisantes.

Dans un premier temps, nous avons donc tenté d'établir une relation dose-infection à partir des données expérimentales chez l'animal. Un modèle de type exponentiel, s'ajustant bien à la plupart des données publiées, a été élaboré afin de comparer les relations dose-infection obtenues pour les oocystes et les bradyzoïtes de différentes souches et génotypes de *T. gondii* et pour différentes espèces animales. L'extrapolation à l'homme de la relation dose-infection établie chez l'animal ne serait cependant envisageable que si des données complémentaires étaient acquises sur les souches de génotype II (prédominant chez l'homme) et sur leur infectiosité dans plusieurs espèces animales.

Pour la toxoplasmose congénitale, les relations infection-transmission-maladie sont bien documentées, à partir de données épidémiologiques humaines. Une étude de sensibilité indique qu'elles ne seraient donc pas un facteur limitant à la mise en place d'une démarche d'AQR pour de faibles doses de contamination. Les résultats obtenus sur les relations dose-infection, devraient aussi pouvoir être validés au regard des données d'incidence annuelle de la toxoplasmose chez l'homme.

Dans un deuxième temps, en complément de l'approche expérimentale animale que nous avons tentée sur la relation dose-infection, nous proposons un modèle d'AQR qui, sur le plan conceptuel, permet de comprendre de façon globale le processus de contamination et de mettre en évidence les besoins de connaissances.

Le modèle proposé a pour objectif de décrire l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. Il permettrait d'évaluer l'impact de différentes mesures de gestion (vaccination des cheptels, information des femmes enceintes) sur l'incidence annuelle attendue de la toxoplasmose congénitale.

Une approche quantitative peut être tentée, même partiellement, à partir de ce modèle. Dans un premier temps cela permettrait de quantifier les besoins prioritaires de connaissances par une analyse de sensibilité. Au fur et à mesure de l'acquisition des connaissances, le modèle pourrait être peu à peu complété et validé. Ceci permettra alors de répondre de façon pertinente sur l'efficacité de différentes mesures de gestion.

Question 29 : quels sont les modèles expérimentaux utilisés pour établir la relation dose-réponse ?

Responsable de la question : Mme Thébault
Co-rédacteurs : Mme Dardé, M. Derouin
Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Pouillot

1. Données disponibles pour l'établissement d'une relation dose/infection

1.1. Données chez l'homme

Aucune étude dose-infection n'a été réalisée chez l'homme (volontaire sain).

À partir des observations de cas groupés de toxoplasmose, il n'est pas possible d'extraire des données pouvant alimenter un modèle de dose-infection, car, pour la quasi-totalité des épidémies observées, l'origine de la contamination a été suspectée sur des arguments d'épidémiologie descriptive ou d'épidémiologie analytique sans identification du parasite ni, *a fortiori*, de quantification. Dans une seule étude portant sur une petite épidémie familiale (Skinner, 1990), le parasite a été isolé du lait de chèvre mais sans aucune notion de la charge parasitaire de l'inoculum.

L'analyse des contaminations accidentelles au laboratoire (Herwaldt, 2001) n'apporte pas non plus d'élément quantitatif précis. Sur les 47 cas rapportés dans cette revue, la contamination par ingestion est présumée dans 9 cas et probable dans 14 cas. Dans aucune de ces observations, la charge parasitaire contaminante n'a pu être identifiée.

En conséquence, seuls des modèles expérimentaux animaux peuvent être utilisés pour définir les paramètres d'une relation dose-réponse.

1.2. Différents modèles expérimentaux

Plusieurs études ont été publiées pour évaluer l'infectiosité ou la virulence de différentes souches de *T. gondii*, mais très peu l'ont fait avec une gamme d'inoculum suffisamment large, permettant une bonne approche de la relation dose-infection.

Il faut cependant noter que la quantification de l'inoculum reste imprécise dans plusieurs études notamment pour les faibles valeurs, estimées à partir de dilutions successives de raison 10 d'une solution mère dont la concentration est évaluée par comptage microscopique ou par titrage.

L'infectiosité des 3 stades parasitaires (tachyzoïte, bradyzoïte ou kyste et oocyste) a fait l'objet d'études expérimentales chez l'animal. Cependant, dans le cadre de ce rapport, nous ne prendrons en compte que les infections par voie orale par des kystes (ou les bradyzoïtes) ou des oocystes car la contamination alimentaire par des tachyzoïtes peut être considérée comme exceptionnelle (cf. Question 9).

Les oocystes seront considérés comme une unité infectieuse, bien qu'ils contiennent 8 sporozoïtes.

Les kystes peuvent contenir une quantité variable de bradyzoïtes, comprise entre 100 à plus de 1000 bradyzoïtes. En conséquence, les études expérimentales réalisées avec des kystes n'ont pas été prises en compte, au profit des seules études faites avec un inoculum de bradyzoïtes purifiés.

Les études expérimentales avec ces formes parasitaires ont été réalisées sur différentes espèces animales. Nous n'avons retenu que les études incluant l'évaluation d'une gamme suffisamment large d'inoculum, chez des mammifères, et comportant une évaluation de l'infection par bio-essai.

Nous prendrons également en compte les données disponibles portant sur différents génotypes de *T. gondii*.

2. Premières estimations des relations dose-(relatives)-infections et comparaison des virulences issues des expérimentations animales ; possibilités d'extrapolation

2.1. Justification du choix d'une relation de type exponentielle dans une première approche et hypothèses

Les études ont été analysées individuellement, en assumant une relation dose-réponse de type exponentielle. Dans ce type de relation, la notion de dose minimale infectante disparaît, puisque pour une dose moyenne non nulle, un risque d'infection existe. Ce modèle, mécaniste, considère qu'on ne peut exclure l'hypothèse qu'une seule particule infectieuse est supposée être capable de produire une infection et que la distribution de la contamination dans les aliments est aléatoire et suit une distribution de poisson (Haas, 1999).

Le modèle exponentiel est un modèle à un seul paramètre, ce qui permet une estimation avec un jeu de données limité, avec parfois très peu de doses étudiées pour une espèce donnée. Il ne paraît pas forcément judicieux, dans un premier temps, de choisir un modèle plus complexe avec davantage de paramètres si on dispose de peu de données (une dose parfois) et si on veut comparer des études sur des espèces différentes, pour lesquelles on dispose de jeux de données différents. Le calcul de la déviance obtenue permettra de valider ce choix (Haas, 1999). Le modèle exponentiel permet de comparer facilement les valeurs obtenues de paramètres entre les différentes études menées sur les différentes espèces animales et entre souches.

On peut aussi rappeler que d'autres modèles dose-réponse parasitaires comme celui de *Giardia* ou de *Cryptosporidium* sont eux aussi des modèles exponentiels (Gofti, 1999 ; Haas, 1999).

Pour *T. gondii*, les 8 sporozoïtes contenus dans les oocystes sont les unités infectieuses du modèle exponentiel, satisfaisant à l'hypothèse mécaniste de Haas (cf. ci-dessous). Cependant on préférera exprimer l'unité (la dose moyenne ingérée) sous forme d'oocystes. La valeur de « 8r » en termes de probabilité de survie des sporozoïtes (au sens de Haas) est obtenue en divisant la valeur du paramètre obtenue par 8.

En définissant « D » comme la dose d'oocyste quantifiée par l'expérimentateur, et « d » la dose correspondante de sporozoïtes ($d=8D$), l'équation du modèle exponentiel s'écrit :

$$P(\text{infecté}/\text{dose moyenne ingérée d'oocystes } D)=1-e^{-8rD} \text{ ou}$$

$$P(\text{infecté} / \text{dose moyenne ingérée de sporozoïtes } d)=1-e^{-rd}.$$

La dose infectieuse médiane (N_{50}) correspond à la dose moyenne qui provoque une infection de la moitié des sujets ayant consommé l'aliment (ou une probabilité de 50% d'être infecté avec une dose considérée d'oocystes).

Dans le cas du modèle exponentiel pour les oocystes la relation s'écrit :

$$N_{50} = \ln 2 / 8r$$

Pour les sporozoïtes la relation s'écrit :

$$N_{50} = \ln 2 / r$$

Dans la suite on fera des inférences sur « 8r » pour les oocystes et sur « r » pour les sporozoïtes. Il est donc possible que $8r > 1$ (pour les oocystes) sans que $r > 1$ (pour les sporozoïtes qui sont les véritables unités infectieuses).

Il faut également préciser que la dose d'oocyste inoculée est souvent définie de façon indirecte, par comptage ou par dilution. La dose mesurée est supposée liée à une dose réelle à une constante multiplicative près. Pour transposer ce résultat à ceux obtenus sur des valeurs mesurées dans les aliments, il faudra s'assurer de la comparabilité de la quantification des techniques. Haas (1999) reconnaît que les méthodes de mesures sont imparfaites, qu'une dose microbienne est connue à une constante multiplicative près, et que de ce fait la dose-réponse peut être spécifique à une méthode de mesure donnée.

2.2. Données expérimentales

L'ensemble des données exploitables est présent dans l'Annexe I. Les données les plus complètes concernent les infections par des oocystes et des bradyzoïtes, effectuées chez la souris, le rat et le porc (Dubey, 1973, 1984, 1986, 1988, 1990, 1996, 1997, 1998 ; Dubey, Speer, 1997 ; Dubey, Lunney, 1996). Des données plus limitées sont disponibles chez le veau et le mouton (Dubey, 1983 ; Dubey, 1993 ; Esteban-Redondo, 1998, 1999).

2.3. Principales hypothèses pour l'établissement des doses-réponse

Les principales hypothèses et données prises en compte sont (en dehors du choix du modèle exponentiel) :

- pour les doses inférieures à 1, la dose n'étant pas réellement connue, cette valeur a été ramenée à une valeur de 0,1 par hypothèse, et par symétrie de dilution
- Les résultats analysés ne concernent que le nombre d'infectés par rapport au nombre inoculés, et ne comptabilisent par le nombre de décès ou d'infections chroniques
- Les animaux sont supposés représentatifs de leur espèce
- Une hypothèse *a priori* « forte » est de supposer que la technique de quantification utilisée est parfaitement reproductible, c'est à dire qu'elle a la même signification en terme de quantification et les mêmes performances d'une expérience à l'autre, d'une espèce animale à l'autre
- Hypothèses liées au modèle exponentiel (Haas, 1999) :
- Un parasite (sporozoïte ou bradyzoïte) peut suffire pour provoquer une infection
- Les individus ingèrent un nombre de parasites qui représentent un échantillon aléatoire d'une distribution de Poisson
- La survie d'un microorganisme dans l'hôte est indépendante de la survie d'autres microorganismes dans le même hôte
- La probabilité de survie des parasites dans l'hôte est une constante, identique entre les parasites et les individus

2.4. Méthodes utilisées

Trois méthodes différentes ont été utilisées pour le calcul des intervalles de confiance ou de crédibilité des paramètres des relations dose-réponses de type exponentielle. Le principe des 3 méthodes utilisées est rappelé en Annexe I.

La première méthode fait intervenir le maximum de vraisemblance, et la méthode de calcul un calcul de ratio de la Log-vraisemblance (déviance) pour estimer la valeur du paramètre $8r$ (Haas, 1999). On en déduit la valeur N_{50} du paramètre $8r$. Un intervalle de confiance du paramètre $8r$ est bâti à l'aide d'une loi de distribution de χ^2 (Haas, 1999). Les différentes valeurs ont été calculées sur Excel 2000 en utilisant la macro Solver. Le calcul de déviance permet de tester l'ajustement du modèle aux données par un test de χ^2 (Haas, 1999) (détails en Annexe I).

La deuxième méthode fait encore intervenir le maximum de vraisemblance pour l'estimation du paramètre $8r$, et l'intervalle de crédibilité de $8r$ est estimé par un bootstrap paramétrique. La méthode est globalement décrite par Haas (Haas, 1999). Le programme a été bâti pour *Cryptosporidium* (Pouillot, 2002, 2004) sur le logiciel R (© The R Core Team, 2001) ; 1000 simulations ont été utilisées pour estimer les valeurs du paramètre $8r$ (détails en Annexe I).

La troisième méthode est une méthode bayésienne de type MCMC (Monte-Carlo Markov Chain) (Gilks, 1996). Le programme a été écrit sous WINBUGS 1.4(© Imperial College and MRC UK, 2003) et utilise en moyenne 100 000 simulations, après une phase d'adaptation (Gilks, 1996). Une distribution uniforme de faible précision, une loi Gamma (0.001,0.001) a été utilisée comme loi de distribution *a priori* sur $8r$. Cette méthode est relativement souple et permet des approches hiérarchiques, par exemple pour obtenir une valeur de paramètres combinant les résultats de différentes études. Les résultats ont été considérés comme corrects si l'erreur liée au MCMC était inférieure à 5% de l'écart type pour tous les modèles. Pour certains modèles, différentes lois *a priori* ont été testées. La convergence du modèle

par le test de Gelman et Rubin a été vérifiée (Gilks, 1996) pour les différents modèles avec une valeur statistique qui converge rapidement vers 1.

Les résultats de ces 3 approches, très différentes en terme de méthodes donnent des résultats voisins : les intervalles de crédibilité et de confiance sont globalement les mêmes, mais les distributions sont non rigoureusement identiques (valeur médiane et moyenne). D'autres études menées sur les différentes approches sur d'autres jeux de données montrent le même type de résultat, à savoir des résultats voisins mais non identiques (Haas, 1999). Les résultats globaux ne changent pas, en terme de comparaison de virulence entre études suivant les méthodes utilisées.

C'est la valeur de paramètres δ_r , obtenue par MCMC qui est retenue dans les résultats ci-dessous, en estimant que les valeurs du paramètre δ_r obtenues sont aussi des valeurs sécuritaires. Un exemple de résultats par les 3 méthodes est montré dans les exemples ci-dessous.

3. Résultats

3.1. Estimation des paramètres de la relation dose-infection par les différentes approches

La Figure 11 et le Tableau 40 montrent l'effet des différentes approches pour l'estimation du paramètre δ_r pour estimer la probabilité d'infection en fonction de la dose moyenne ingérée en oocystes.

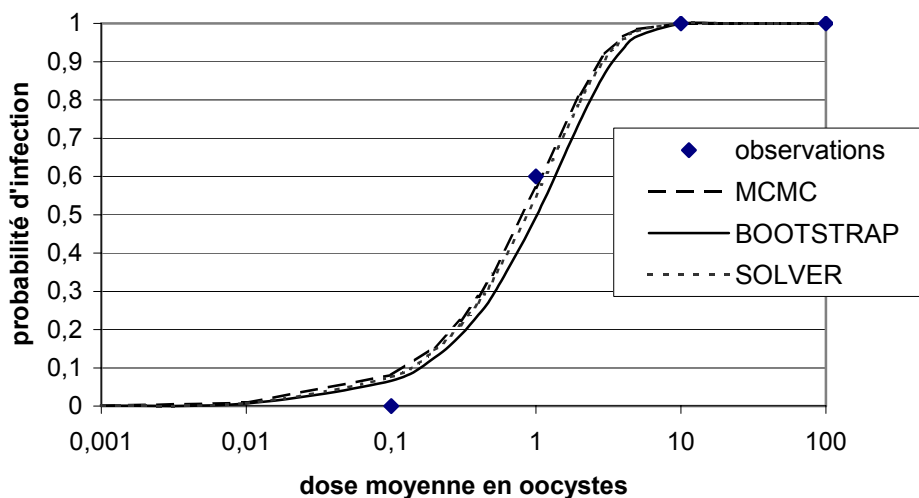


Figure 11 : Probabilité d'infection en fonction de la dose moyenne ingérée d'oocystes de la souche VEG chez le rat, (d'après les données de Dubey, 1996)

Tableau 40 : Résultat des différentes approches d'estimation du paramètre « 8r » de la relation dose infection

	Solver MV	Bootstrap	MCMC
Estimation de 8r Données rats/oocystes (Dubey, 1996)	8r=0.792 [0.24-2.11] N₅₀=0.875	Moyenne 8r=0.67[0.27-1.7] N₅₀= 1.03	Moyenne 8r=0.844[0.24-2] N₅₀= 0.82
Estimation de 8r Données porcs/oocystes (Dubey, 1996)	8r=0.96 [0.57-1.52] N₅₀=0.72	Moyenne 8r=1[0.51-1.86] N₅₀= 0.69	Moyenne 8r=0.98[0.56-1.51] N₅₀= 0.71

D'après les données de Dubey (Dubey, 1996) sur l'infection de rats ou de porcs par des oocystes de la souche VEG

Les différentes approches donnent des résultats proches en terme de moyennes et d'intervalle de confiance ou de crédibilité et d'ajustement aux données observées. Toutes les approches par MCMC ont été menées parallèlement par Bootstrap et par le calcul du minimum de déviance (SOLVER Excel). Ces différentes approches donnent des résultats voisins (résultats non montrés).

3.2. Estimation des paramètres en fonction du stade parasitaire, du génotype de la souche et de l'animal d'expérimentation

Les résultats des études expérimentales sélectionnées (cf. Annexes I et II) ont permis d'établir plusieurs relations dose-effet en fonction du stade parasitaire infectieux (oocyste ou bradyzoïte) et du génotype parasitaire.

3.2.1. Résultats obtenus pour les oocystes par MCMC

Les études ont été regroupées lorsque les différences entre les études n'étaient pas significatives (recoupement des intervalles de confiance) ou lorsque les études se complétaient pour apporter une gamme relative de doses plus étendue.

Lorsque la déviance est inférieure à 3.84 (méthode MV-SOLVER), aucun autre modèle plus complexe et par exemple un modèle Bêta Poisson ne pourra améliorer significativement l'ajustement aux données (Haas, 1999). Dans le cas du porc, par exemple le modèle exponentiel ne semble pas être le meilleur modèle possible. Si au lieu de 13/14 porcs infectés à la dose relative 10 on avait considéré 14/14 porcs infectés, la valeur de déviance serait de 0.14 au lieu de 23 (pour 8r=2.85) et le modèle exponentiel ne serait pas rejeté.

On a ensuite utilisé un modèle Bêta Poisson, en utilisant l'approximation de Furumoto (1967) : l'ajustement est meilleur avec une valeur acceptable de déviance de 2.29 (<3.84) pour une valeur $\alpha=0.83$; $\beta=0.145$ et $N_{50}=0.19$. Cependant les valeurs obtenues ne sont pas en accord avec les conditions d'approximation de Furumoto (1967); avec $\beta \gg 1$ et $\alpha \ll \beta$ (Teunis, 2000).

Par la suite, c'est le modèle exponentiel qui a été gardé pour le porc, malgré le moins bon ajustement aux données. L'ajustement des données sur le porc entre modèle exponentiel et Bêta Poisson, ou par d'autres modèles, par une approche exacte notamment, pourra être abordé par d'autres approches, ultérieurement, ou après de nouvelles expérimentations.

Dans la plupart des cas la valeur de χ^2 à 5% (avec nombre de doses-nombres de paramètres du modèle) est supérieure à la valeur de déviance calculée. Ce test, même peu puissant, indique un ajustement acceptable, selon Haas (1999) du modèle aux données.

Tableau 41 : Estimation du paramètre 8r et de la dose infectieuse médiane pour les oocystes, en fonction du génotype parasitaire et de l'espèce animale

Doses en oocystes = 8 sporozoïtes	Rats	Souris	Porc	Vache/boeufs	Moutons
Type III : Souche VEG Intervalle de crédibilité à 95%	Données : Dubey 1996 8r=[0.238-1.99] moy 8r=0.844 N ₅₀ =0.82 Deviance 0.864 χ ² à 5% et (8-1) ddl=14.06	Données : Dubey 1996, 1997 8r =[0.608-2.824] moy 8r =1.47 N ₅₀ =0.47 Déviance 1.52 χ ² à 5% et (9-1) ddl=15.5	Données Dubey 1996 8r =[0.562-1.501] moy 8r =0.967 N ₅₀ =0.716 Deviance 23.56 χ ² à 5% et (3-1) ddl=6		
Type III : Souche M7741		Données Dubey 1973 Etude 1 8r =[0.001645-0.0179] moy 8r =0.00688 N ₅₀ =100.6 Déviance 0.613 χ ² à 5% et (5-1) ddl=9.5 Etude 28r =[0.064-0.3972] moy 8r =0.1872 N ₅₀ =3.7 Deviance 0.0081 χ ² à 5% et (6-1) ddl=11.07			
Type I : Souche GT-1			Données Dubey 1984, 1986, 1988, 1990 Min8r =0.19 Sous l'hypothèse d'un modèle exponentiel	Données Dubey 1983 et Dubey 1993 (vaches et bœufs) 8r =[0.0000075-0.0000388] moy 8r =0.00002 N ₅₀ =35256 Deviance 7.66 χ ² à 5% et (2-1) ddl=3.84	
Type II : Souche M3					Données Esteban-Redondo 1998, 1999 Min rk = 0.02 Hyp mod exp

3.2.2. Résultats obtenus pour les oocystes de la souche VEG (type III) sur différentes espèces d'hôtes

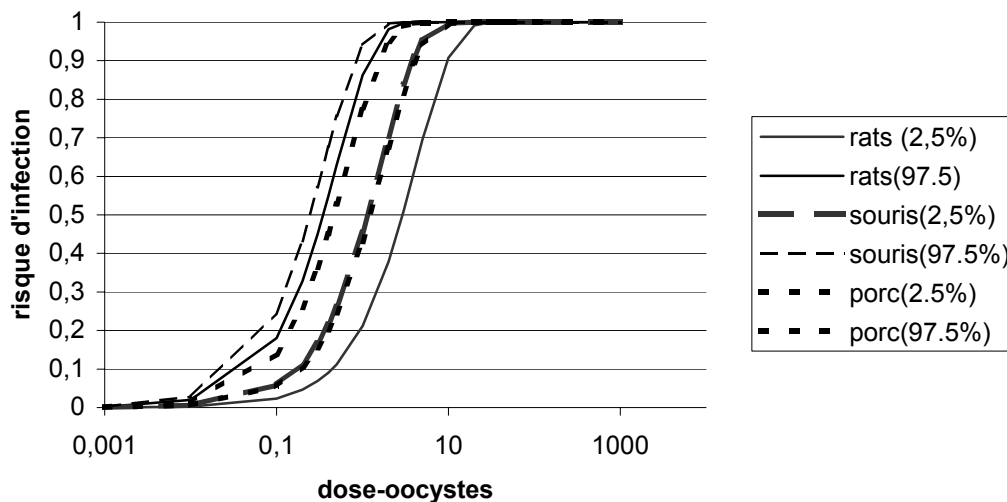


Figure 12 : Intervalles de crédibilité pour chacune des relations dose-infection vis à vis de la souche VEG (type III) sur différentes espèces d'hôtes)

Données issues du Tableau 41

On peut voir que pour une même souche, les intervalles se superposent en grande partie entre trois espèces d'hôtes différentes.

3.2.3. Résultats obtenus par MCMC pour les bradyzoïtes des différentes souches chez la souris et le rat.

Le modèle exponentiel s'ajuste bien aux données obtenues sur les bradyzoïtes, comme le montrent les valeurs de déviance du Tableau 42.

La souche VEG représentant le génotype III semble la plus infectieuse (Tableau 42 et Figure 13). On observe des différences d'infectiosité entre les espèces d'hôtes, pour une même souche (type I) et entre génotypes (Tableau 42 et Figure 13). On observe aussi des différences entre expérimentations (Tableau 42).

Si, pour la souche VEG (type III), on compare l'infectiosité des sporozoïtes et des bradyzoïtes (en gardant les résultats des deux expérimentations sur bradyzoïtes), la différence d'infectiosité n'apparaît pas clairement (Figure 13).

Tableau 42 : Estimation du paramètre « r » et de la dose infectieuse médiane pour les bradyzoïtes, en fonction du génotype parasite et de l'espèce animale infectée (rat, souris)

Paramètre r Pour les bradyzoïtes	Rats	Souris
Type III : Souche VEG	Données Dubey 1998 r =[0.005341-0.03802] moy r =0.01723 N ₅₀ =40.2 Deviance 5.01 χ ² à 5% et (6-1) ddl=11.1	Données Exp 1 Dubey 1997 r =[0.0000224-0.042] moy r =0.023 N ₅₀ =30.1 Deviance 0.46 χ ² à 5% et (7-1) ddl=12.6 Données Exp3 Dubey 1998 r =[0.00067-0.947] moy r =0.3772 N ₅₀ =1.8 Deviance 0.938 χ ² à 5% et (7-1) ddl=12.6
Type II : Souche ME49		Données Dubey 1997 r =[0.00071-0.0027] moy r =0.001535 N ₅₀ =451.5 Deviance 2.358 χ ² à 5% et (7-1) ddl=12.6
Type I : Souche GT1	Données Dubey 1998 r =[0.0001-0.00056] moy r =0.000274 N ₅₀ =2529 Deviance 4.1 χ ² à 5% et (7-1) ddl=12.6	Données Dubey 1998 r =[0.0033-0.0248] moy r =0.011 N ₅₀ =63 Deviance 1.004 χ ² à 5% et (8-1) ddl=14

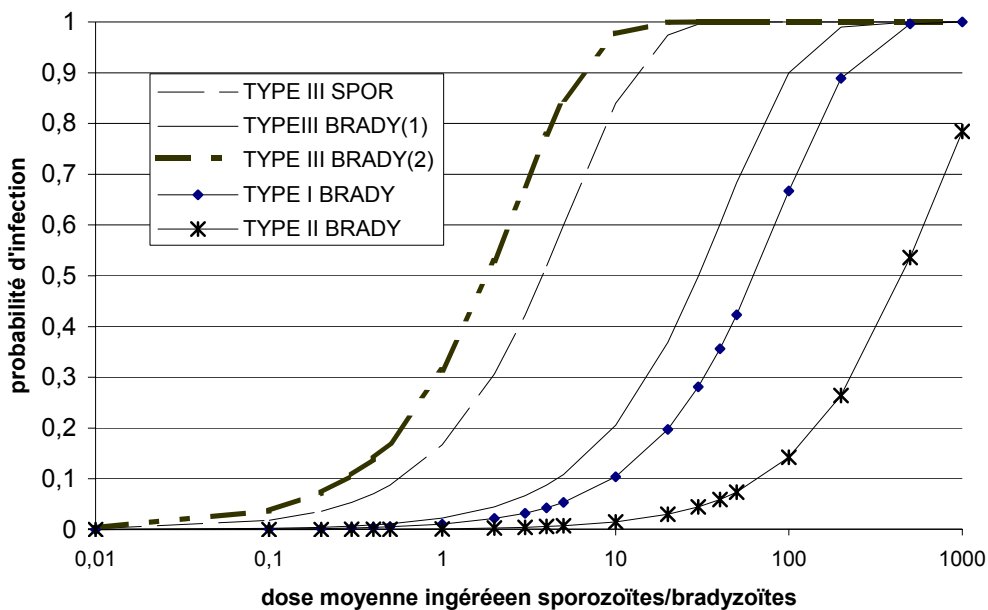


Figure 13 : Comparaison de l'infectiosité des sporozoïtes et des bradyzoïtes de trois génotypes différents de *T. gondii* chez la souris

3.3. Approche multi-espèces ou multi-souches

On dispose finalement de résultats sur différentes doses-réponses chez l'animal.

Dans certains cas particuliers la transposition à l'homme de modèles animaux a été proposée, par exemple pour décrire une dose-réponse sécuritaire pour des individus immunodéprimés, à partir de données obtenues sur des souris immunodéprimés vis à vis de *Cryptosporidium* (Pouillot, 2002).

Dans le cas présent, on dispose pour les oocystes et pour les bradyzoïtes de différentes dose-réponse, mais dont aucune n'a été bâtie sur la souche majoritaire chez l'homme (type II). La souche VEG (type III) étant la plus infectieuse, une approche sécuritaire serait donc de considérer les doses-réponses sur cette souche.

Trois espèces animales ont été testées avec cette souche. Si on veut tenir compte des résultats obtenus sur ces 3 espèces, différentes stratégies sont possibles, dont celle de tenir compte des doses-réponses les plus extrêmes, et obtenir ainsi une enveloppe de courbes (Powell, 2000) ou tenir compte de la diversité de virulences de différentes souches (Latimer, 2001 ; Oscar, 2004).

Deux approches ont été testées :

-celle de Haas (1999) proposant de pooler différentes doses-réponses. Cette approche a été tentée sur les doses-réponses d'oocystes de toxoplasmes de la souche VEG. Le modèle obtenu ne peut être retenu, parce que la valeur de déviance est trop élevée, et l'ajustement aux données n'est pas satisfaisant.

-une approche hiérarchique a été tentée par MCMC pour les sporozoïtes de la souche VEG, en combinant les études sur les 3 espèces. Cette approche a l'avantage de garder en considération le fait que les résultats obtenus sur une même espèce sont corrélés, et ne mélange donc plus simplement les données. Par hypothèse, les 3 espèces (porcs, souris, rats) sont considérées comme représentatives de l'ensemble des espèces animales sensibles aux oocystes de la souche VEG. Nous avons utilisé une approche comparable à celle développée par Messner (2004) sur *Cryptosporidium*. La distribution des paramètres entre les espèces animales a été supposée normale de moyenne « mu » et d'écart type « tau » (hyperparamètres). Les distributions *a priori* sur ces hyperparamètres étaient vagues (uniforme pour mu et gamma pour tau), et plusieurs chaînes ont été lancées en parallèle avec différentes valeurs initiales. Les inférences bayésiennes ont été effectuées sur 100 000 simulations (WINBUGS), après une phase d'adaptation et la convergence examinée par l'approche de Gelman et Rubin. Les valeurs moyennes de r obtenues de façon indépendante étaient respectivement, pour la souris, le rat et le porc de 0,18, 0,11, 0,12. Les valeurs moyennes de r obtenues pour les 3 espèces par une approche hiérarchique sont très proches respectivement de 0,172, 0,14, 0,13. La valeur de mu est de 0,1523 et l'écart-type de 0,086, avec une incertitude associée à ces valeurs. Les distributions *a posteriori* des paramètres r obtenues de façon indépendante sont représentées dans la Figure 14 ci-dessous.

L'approche hiérarchique est donc prometteuse, car elle permet de prendre en compte la variabilité inter-espèce, qui sera d'autant plus acceptable si on élargit les investigations à d'autres espèces animales.

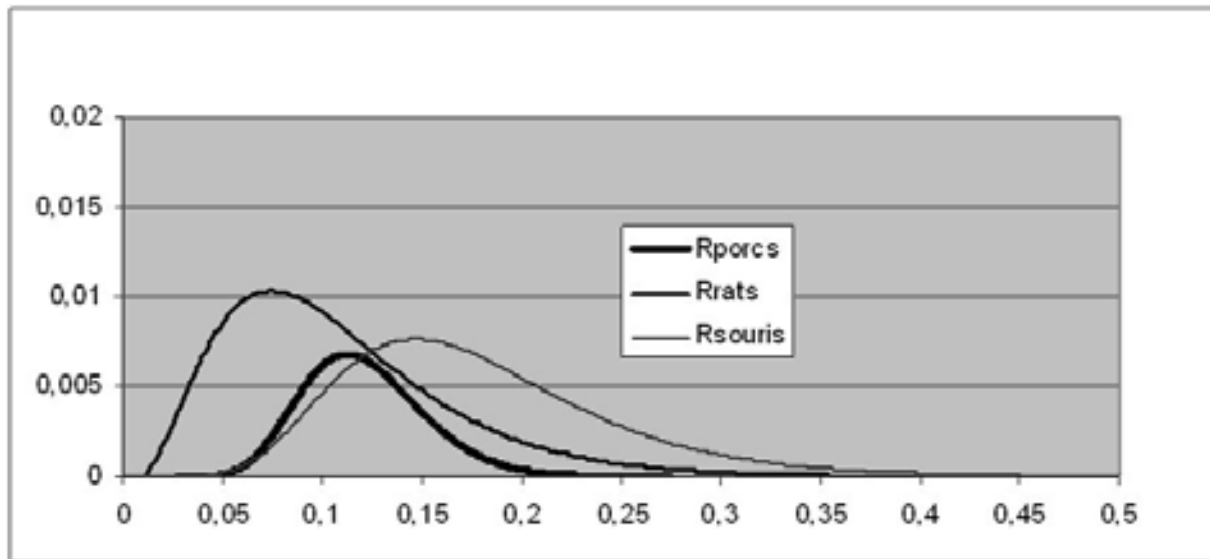


Figure 14 : Distributions *a posteriori* des paramètres r exprimés pour des inoculum croissants de sporozoïtes de la souche VEG (type III)

3.4. Discussions sur les résultats / les limites

- Les souches les plus expérimentées, principalement de génotype III, ne sont pas représentatives des souches isolées principalement chez l'homme (type II prédominant).
- La reproductibilité n'est pas toujours bonne, comme le montrent les expériences sur les souris infectées par la souche M7741 (type III) (Dubey, 1973).
- Il peut exister des différences d'infectiosité importantes entre des oocystes de souches différentes appartenant à un même génotype (par exemple entre les souches VEG et M7741, de type III).
- La souche VEG est la plus infectieuse dans les différentes expérimentations, que ce soit pour les oocystes ou pour les bradyzoïtes.
- Pour la souche VEG, les bradyzoïtes sont moins infectieux que les oocystes, mais cette différence devient moins nette si on compare les bradyzoïtes aux sporozoïtes.
- En première approche on ne voit pas de différence significative d'infectiosité, pour les oocystes de la souche VEG entre les espèces animales.
- On pourrait alors, dans une approche sécuritaire, tenter d'extrapoler les résultats des oocystes de la souche VEG chez l'homme, compte tenu d'une faible variabilité inter-spécifique. Il semble cependant préférable de recommander la réalisation d'une étude *ad-hoc* sur les porcs et éventuellement sur d'autres espèces animales, pour mieux estimer la variabilité inter-spécifique des oocystes de la souche VEG.
- Enfin, il serait judicieux de mieux estimer les faibles doses d'oocystes et de bradyzoïtes ou de mener des études avec davantage de doses dans l'intervalle correspondant à la dose infectieuse médiane supposée comprise entre 0 et 10 parasites. Il faut aussi déterminer si les résultats obtenus par Dubey, qui est l'origine de la majeure partie des expérimentations, sont reproductibles dans un autre laboratoire.

4. **Relation infection / maladie**

4.1. Utilisation des données épidémiologiques chez l'homme

Chez l'homme immunocompétent, on estime que 15 à 20% des infections sont symptomatiques (Mead, 1999).

Chez la femme enceinte, on estime que le risque de transmission materno-fœtale en cas de contamination per-gravidique est, pour l'ensemble de la durée de la grossesse, de 29% (Dunn, 1999).

Si l'on admet que :

- la transmission est indépendante de la dose moyenne ingérée,
- la probabilité de transmission est la même pour toutes les femmes enceintes séronégatives immunocompétentes,
- la population étudiée est représentative de la population générale,
- on ne tient pas compte du fait que cette probabilité n'est pas constante au cours de la grossesse, ni du génotype ou de la souche,

l'incertitude de ce risque de 29% peut être estimée par une loi Bêta (Vose, 2000).

Cette loi Bêta est de la forme (s+1, n-s+1). Ici « n » est le nombre de femmes contaminées au cours de leur grossesse, soit 557, et « s » le nombre de fœtus détectés contaminés *in utero* soit 161 (Dunn, 1999). La loi Bêta (162, 397) représente l'incertitude sur l'estimation de cette probabilité de transmission materno-fœtale (Vose, 2000) avec un intervalle à 95% (0.25-0.33). Le nombre d'enfants nés vivants d'une mère contaminée pendant sa grossesse, et présentant une infection peut être estimé à 153/557 (27%) (Bêta (154, 405)) (Dunn, 1999).

En cas d'infection congénitale, chez 327 enfants infectés nés vivant, 95 ont présenté des signes cliniques soit 29% de ceux-ci d'après l'étude d'observation de Wallon (2004) portant sur une période médiane de suivi de 6 ans. De la même façon que précédemment, sur la base d'hypothèses similaires, l'incertitude sur cette estimation peut être estimée par une loi Bêta (96, 233) et un intervalle de crédibilité à 95% de (0.24-0.34).

Les données relatives aux différents signes cliniques rencontrés chez ces enfants contaminés *in utero* permettent d'établir des distributions de probabilité séparées et plus précises à partir des données de l'étude Wallon (2004).

L'estimation du risque et lois Bêta suivantes peuvent être proposées pour les signes cliniques suivants, à partir de l'étude Wallon (2004) pour un enfant né vivant et infecté *in utero* :

- Risque d'hydrocéphalie, 1,8 % (Bêta (7, 322))
- Risque de microcéphalie, 0,3 % (Bêta (2, 327))
- Risque de calcifications cérébrales, 9,5 % (Bêta (32, 397))
- Risque de lésions oculaires, 24% (Bêta (80, 249))

D'autre part, il faut tenir compte, de la probabilité de survie des fœtus (P survie) des femmes infectées en cours de grossesse, et qui peut être estimée à 3,52% sur la cohorte suivie par Wallon (2004) soit le rapport 53/1506 séroconversions pour toutes les causes de mortalités confondues (cf. Question 1). La mortalité après transmission *in utero* est estimée à 1,48% (cf. Question 16). D'autres études permettraient de préciser ces valeurs.

Chez les malades immunodéprimés (SIDA principalement), les manifestations cliniques sont liées à une réactivation d'une infection acquise antérieurement, qui elle, est presque toujours asymptomatique. Elle peut être très différée dans le temps (plusieurs années). Schématiquement, avant l'introduction des traitements actifs sur le VIH, l'incidence de la toxoplasmose était de 27 cas pour 1000 patients/années (cf. Question 16) (quelle que soit la sérologie de toxoplasmose) ; depuis 1996 cette incidence a fortement diminué pour atteindre 3 cas pour 1000 patients/années en 2002. Les facteurs favorisant la survenue d'une toxoplasmose cérébrale sont une très forte immunodépression (taux de CD4 <100/mm³), l'absence de chimioprophylaxie de la toxoplasmose et l'absence de traitement anti-rétroviral).

4.2. Utilisation des données expérimentales chez l'animal

La transposition des données issues des études expérimentales chez la souris sur les souches de génotype I conduirait à une forte surestimation chez l'homme dans la mesure où

ces souches sont létales chez la souris alors qu'elles ne le sont jamais ou de façon très exceptionnelle chez l'homme. La transposition peut être envisagée à partir d'études expérimentales sur d'autres espèces animales.

En ce qui concerne les souches de génotype II ou III, on observe chez la souris ou dans d'autres espèces animales, une infection chronique qui pourrait éventuellement être considérée comme comparable à ce que l'on observe chez l'homme.

Le groupe de travail estime que l'application à l'homme des relations infection-maladies issues des expérimentations animales n'est pas réaliste.

5. Analyse de sensibilité

A partir d'une dose moyenne ingérée, le risque pour une femme enceinte séronégative d'avoir un enfant (né vivant) qui présentera des symptômes, peut être traduit par une distribution de probabilité, qui est le produit des distributions de probabilités suivantes :

$P(\text{symptômes} / \text{dose ingérée}) = P(\text{inf/dose}) \times (P \text{ survie}) \times P(\text{infecté à naissance}) \times P(\text{symptômes} / \text{infecté})$

Les différentes distributions de probabilité correspondant à l'incertitude sur les différents paramètres estimés ont été données ci-dessus.

Une analyse de sensibilité a été menée à partir de la dose-réponse obtenue expérimentalement chez des souris ayant ingérés des sporozoïtes de toxoplasmes de la souche VEG. L'incertitude sur le paramètre r a été ajustée par une loi Gamma. La dose moyenne ingérée considérée pour l'analyse est de 8 sporozoïtes, équivalente à 1 oocyste.

L'analyse de corrélation des rangs (Vose, 2000), menée sur 10000 simulations sur le logiciel @risk v 4.5.2(©2002 Palisade Corporation) montre que le degré de corrélation le plus fort entre l'incertitude sur le résultat et l'incertitude des données d'entrée est dans l'ordre décroissant de 0,83 pour le paramètre r de la dose-réponse, de 0,41 pour l'estimation de la probabilité qu'un enfant présente des signes cliniques après une infection in utero et de 0,33 pour la probabilité de transmission foëto-maternelle.

Ceci indique clairement que l'amélioration du modèle dans cette partie de caractérisation du risque, pour des faibles doses-moyenne ingérées, dépend principalement de l'acquisition des connaissances sur les relations dose-infection. Il faut seulement rappeler ici que l'incertitude sur l'estimation des mortalités n'a pas été prise en compte, ni les performances des outils de détection, ni l'effet des différents traitements mis en place (cf. publication Wallon, 2004). Un graphe ci-dessous dit « Tornado chart » représente graphiquement les résultats obtenus sur l'analyse de corrélation.

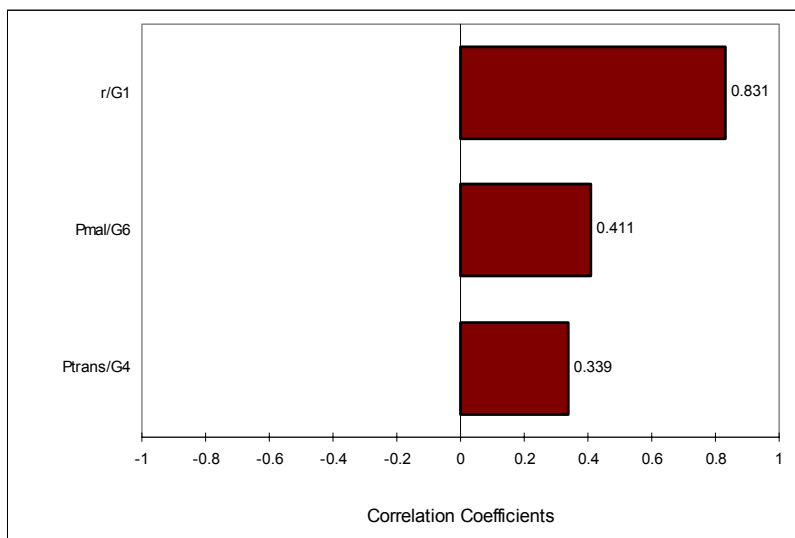


Figure 15 : Tornado chart décrivant la corrélation de l'incertitude des paramètres du modèle sur l'incertitude du résultat final

6. Conclusion

Pour la toxoplasmose congénitale, les relations infection-transmission-maladie sont bien documentées, à partir de données épidémiologiques humaines. Elles ne seraient donc pas un facteur limitant à la mise en place d'une démarche d'AQR. Ceci est confirmé par les résultats de l'analyse de sensibilité, à ceci près qu'elle ne tient pas compte de l'incertitude sur l'estimation des mortalités fœtales.

Il ressort de cette analyse, et au regard d'autres éléments décrits dans cette question que les approches expérimentales des relations dose-infection mériteraient d'être approfondies.

Les résultats obtenus sur les relations dose-infection, devraient aussi pouvoir être validés au regard des données d'incidence annuelle de la toxoplasmose chez l'homme.

Références bibliographiques

- Dubey JP, Frenkel JK. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. *J Parasitol.* 1973;59:505-12.
- Dubey JP. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Vet Pathol.* 1983;13:199-211.
- Dubey JP, Murrell KD, Fayer R. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs fed oocysts. *Am J Vet Res.* 1984;45:1941-3.
- Dubey JP, Murrell KD, Fayer R, Schad GA. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. *J Am Vet Med Assoc.* 1986;188:1035-7.
- Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res.* 1988;49:910-3.
- Dubey JP, Urban JF. Diagnosis of transplacentally induced toxoplasmosis in pigs. *Am Vet Med Ass.* 1990;51:1295-1299.
- Dubey JP, Thulliez P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1993;54:270-3.
- Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OC, Ashford DA, Thulliez P. Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *J Parasitol.* 1996;82:438-43.
- Dubey JP. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. *J Parasitol.* 1996;82:951-6.
- Dubey JP, Speer CA, Shen SK, Kwok OC, Blixt JA. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol.* 1997;83:870-82.
- Dubey JP. Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. *J Eukaryot Microbiol.* 1997;44:592-602.
- Dubey JP. Comparative infectivity of *Toxoplasma gondii* bradyzoites in rats and mice. *J Parasitol.* 1998;84:1279-82.
- Dunn D, Wallon M, Peyron F, Pertersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet.* 1999;353:1829-1833.
- Elliott P, Wakefield J, Best N, Briggs D. *Spatial Epidemiology : Methods and Applications.* 2001. Oxford University Press, London, 475 pp.
- Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, Innes EA. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. *Vet Parasitol.* 1999;86:155-71.
- Esteban-Redondo I, Innes EA. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. *Int J Parasitol.* 1998;28:1459-1466.
- Furumoto WA, Mickey R. A mathematical model for the infectivity dilution curve of tobacco mosaic virus : theoretical considerations. *Virology.* 1967;32:216.
- Gilks WR, Richardson S, Spiegelhalter DJ. *Markov Chain Monte Carlo in practice.* 1996 Chapman and Hall, London, 486 pp.
- Goffi L, Zmirou D, Seigle Mu Randi F, Hartemann P, Potelon J.L. Evaluation du risque microbiologique d'origine hydrique : un état de l'art et des perspectives. *Rev Epidemiol Santé Publique* 1999;47:61-73.
- Haas CN, Rose JB, Gerba CP. *Quantitative microbial risk assessment.* 1999, John Wiley and Sons, Inc., 449 pp.
- Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:659-88.
- Latimer HJ, Jaykus LA, Morales M, Cowen P, Crawford-Brown, D. A weighted composite dose response model for Human salmonellosis. *Risk Anal.* 2001;21:295-305.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Taure RV. Food related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5:607-625.
- Messner MJ, Chappel C, Okhuysen P. Risk assessment for *Cryptosporidium* : a hierarchical bayesian analysis of human dose response data. *Water Research.* 2004;38:3934-3940.
- Oscar T. Dose-response model for 13 strains of Salmonella. *Risk Anal.* 2004;24:41-49.
- Pouillot R, Beaudou P, Roze S, Derouin F. Evaluation quantitative du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium sp* dans l'eau distribuée. 2002. AFSSA, Paris, 185 pp.
- Pouillot R, Beaudou P, Denis JB, Derouin F. A quantitative risk assessment of waterborne cryptosporidiosis in France using second-order Monte Carlo simulation. *Risk Anal.* 2004;24:1-17.
- Powell MR, Ebel E, Schlosser W, Walderhaug M, Kause JD. Dose-response envelope for *Escherichia coli* O157-H7. *Quantitative Microbiol.* 2000;2:141-163.
- Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JM, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scand J Infect Dis.* 1990;22:359-61.
- Vose, D. *Risk analysis : a quantitative guide.* 2000, John Wiley and sons, New York, 418 pp.
- Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, Peyron F. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics.* 2004;113:1567-72.

Question 30 : dans quels domaines peut-on envisager une appréciation quantitative du risque pour la toxoplasmose humaine ?

Responsable de la question : Mme Thébault

Co-rédacteurs : M. Derouin

Personnalités consultées et relecture extérieure : M. Volatier, Mme Dubuisson, M. Pouillot

A l'heure actuelle, aucune Appréciation Quantitative du Risque (AQR) n'a été publiée sur la toxoplasmose humaine ou animale.

L'une des premières difficultés rencontrée est l'incertitude sur la part respective de la contamination alimentaire et de la contamination directe par des oocystes de l'environnement (contamination tellurique, "mains sales").

Dans une étude des facteurs de risque alimentaire, Cook estime que 30 à 63% des infections peuvent être attribuées à la consommation de viande en Europe, mais cette étude n'a pas pris en considération la consommation des végétaux (Cook, 2000). Les autres études sur les facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose concordent sur la prédominance du risque alimentaire, mais ne le chiffrent pas (cf. Question 13).

En prenant en compte uniquement le risque lié à la consommation de viande, une première approche d'AQR a été tentée, sous forme de « risk profile » par le New Zealand Food Safety Agency en 2002 (Lake 2002). Les auteurs concluent que l'appréciation quantitative n'est pas réalisable en raison principalement du manque de données sur la contamination des aliments.

1. Quels objectifs pour une appréciation quantitative du risque ?

Une AQR peut être définie comme une méthodologie dans le cadre de laquelle des réponses quantitatives peuvent être apportées par l'évaluateur de risque au gestionnaire du risque. Dans ce contexte, le principal objectif d'une AQR pourrait être l'évaluation de l'impact de la consommation de tel ou tel aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés ou de telle ou telle mesure de prévention sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale

L'évaluation du risque chez les malades immunodéprimés n'est pas envisageable car le lien entre contamination et maladie est complexe, évolutif, et intègre de nombreux paramètres difficiles à modéliser (évolution de l'immunodépression, chimioprophylaxies, traitements anti-rétroviraux ...).

Plusieurs applications de cette modélisation peuvent être envisagées:

- L'évaluation du retentissement de mesures visant à réduire la contamination des animaux de boucherie (vaccination du cheptel, protection des élevages) ;
- L'évaluation du retentissement de la pratique de congélation ;
- L'évaluation de l'impact des recommandations individuelles concernant la consommation de viande, de végétaux crus et concernant la cuisson ou la congélation de la viande.

Ces applications ne sont envisageables que si le modèle a une précision suffisante permettant d'interpréter l'effet attendu de la modification réaliste d'un facteur sur l'incidence de la toxoplasmose. Le manque de données accroît l'incertitude dans le modèle, ce qui peut devenir un facteur limitant pour l'analyse de l'effet attendu d'une mesure de gestion ; il contraint également à émettre beaucoup d'hypothèses « fortes », *i.e.* émises sur une base difficilement vérifiable, diminuant ainsi la fiabilité et la robustesse du modèle obtenu.

Dans ce cas, il semble plus réaliste de définir un second objectif pour l'AQR, qui serait une étude de sensibilité portant sur les différentes sources d'incertitude et de variabilité du

modèle, de montrer les priorités et la pertinence de mettre en place des programmes de recherche en vue de réduire ces sources d'incertitude. L'étude complète supposerait de pouvoir approximer ou modéliser les sources d'incertitude de façon raisonnable ce qui ne sera pas forcément réalisable. Une fois cet objectif atteint et en fonction des réponses apportées, ou de l'acquisition de nouvelles données, il serait alors possible de répondre au principal objectif portant sur l'évaluation de l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose. Enfin lorsque ce modèle sera validé, c'est-à-dire confronté à des données de terrain, il sera envisageable de l'utiliser afin d'évaluer l'effet sanitaire attendu de différentes mesures de prévention.

2. Etapes de l'appréciation quantitative du risque

2.1. Identification du danger

Ce sujet a été abordé en détail dans la Section A, pour la description du parasite et des formes infectantes et dans la Question 6, pour les critères de pathogénicité liés aux différents génotypes parasitaires. S'agissant de toxoplasmose humaine, il est nécessaire de privilégier l'AQR sur les souches de génotype 2 qui sont plus largement représentées chez l'homme. Quant aux stades parasitaires, seuls des kystes (ou les bradyzoïtes) ou des oocystes sont à prendre en considération car la contamination alimentaire par des tachyzoïtes peut être considérée comme exceptionnelle (cf. Question 9).

2.2. Appréciation de l'exposition : estimation de la contamination des produits

Les éléments portant sur l'estimation de la contamination des produits ont été abordés dans la section F, en ce qui concerne la présence d'oocystes dans l'environnement ou dans l'alimentation et indirectement dans la section E pour ce qui est de la contamination des viandes destinées à la consommation. Rappelons que le parasite ne se multiplie pas dans la matrice alimentaire ni dans l'eau, ce qui simplifie fortement la tâche d'AQR.

A l'heure actuelle, on ne dispose de peu d'éléments quantitatifs fiables sur la contamination des supports alimentaires.

2.2.1. Contamination de la viande de boucherie par les kystes (bradyzoïtes)

Les données de séroprévalence chez l'animal permettent indirectement d'estimer la contamination du cheptel et de la viande dans la mesure où une sérologie positive traduit une infection passée avec une très forte probabilité de persistance de kyste dans les muscles striés. Quant aux données parasitologiques sur la viande destinée à la consommation, elles sont très limitées et non quantitatives (présence/absence, sur des volumes d'échantillon très variables) ; aucune donnée n'est disponible en France.

D'après les données de la littérature, on peut considérer que les viandes de porc et de mouton présentent une plus forte prévalence de contamination, avec de fortes variabilités de prévalence chez le porc en fonction des modes d'élevage (cf. Question 18). Les données sur la viande de cheval et de chèvre sont limitées, mais montrent que ces animaux sont réceptifs à la toxoplasmose. Par contre le bœuf semble moins contaminé. La chair des poulets issus d'élevages traditionnels peut également contenir des kystes de *T. gondii*, la séroprévalence chez ces poulets pouvant atteindre >60% dans certains pays (Da Silva, 2003), mais il n'y a pas de donnée française à ce jour et aucune étude ne concerne l'élevage intensif confiné (cf. Question 18). Compte tenu de ces données épidémiologiques et des fréquences de consommation, il est possible de considérer que la viande de mouton, de porc et de bœuf sont à considérer en priorité dans une AQR.

Le cheval et le poulet sont à considérer secondairement pour plusieurs raisons :

- pour le cheval, la contamination parasitaire est moins fréquente, et la fréquence de consommation est faible.
- pour le poulet, le niveau de séroprévalence et le génotype parasitaire infectant sont mal connus, la fréquence de consommation est forte (habituellement bien cuite), et les études

épidémiologiques ne font pas ressortir la viande de poulet comme facteur de risque alimentaire.

2.2.2. Contamination des végétaux et de l'eau

La contamination des végétaux par des oocystes est très probable, mais n'a jamais été démontrée ni quantifiée. La contamination de l'eau par des oocystes est également suspectée sur des données épidémiologiques et n'a été confirmée (mais pas quantifiée) sur des eaux brutes que très récemment à l'aide d'outils moléculaires. Compte tenu de ce manque d'information, il est extrêmement difficile de proposer une modélisation de la diffusion du danger pour les supports alimentaires pouvant être contaminés par des oocystes.

Il serait cependant souhaitable de pouvoir prendre en compte ces risques dans l'analyse car la consommation de végétaux crus est un facteur de risque significatif dans plusieurs études cas-témoins (Kapperud, 1996 ; Baril 1999). Les végétaux qui seraient à prendre en compte dans une étude préalable sont tous ceux qui peuvent être souillés par de la terre et qui sont consommés crus, non épluchés : exemples : salade, radis, fraise (cf. Question 22).

2.3. Appréciation de l'exposition : la consommation

L'exposition au danger associe les données de consommation et les données quantitatives de la contamination des aliments. Comme nous l'avons vu, ces dernières ne sont pas ou peu disponibles.

2.3.1. Données de consommation en France

En ce qui concerne la consommation, plusieurs types de données peuvent être recueillies. Une première extraction des données issues de l'enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires (INCA) (Volatier, 2000) a été réalisée (Annexe III). Elle a été centrée sur les aliments considérés comme potentiellement contaminés par *T. gondii* (viandes, végétaux, eau), avec une analyse des consommations par classe d'âge. Les résultats portent sur les fréquences de consommation, ainsi que sur les quantités moyennes ingérées à chaque acte de consommation. Dans toutes les tranches d'âge, la consommation de bœuf est prédominante (>75%), avec une très faible proportion de consommation de bœuf cru (<1%). Viennent ensuite, par ordre de fréquence, le porc (principalement sous forme de charcuterie), le poulet, le veau, l'agneau et le cheval. La taille des portions est du même ordre de grandeur pour toutes les viandes (comprise entre 90 et 180 grammes), dans toutes les classes d'âge.

Les données sur les légumes crus et les salades montent également une très grande fréquence de consommation dans toutes les classes d'âge (65-78%) et une plus faible fréquence de consommation des fruits, comprise entre 4,9 et 14,1% suivant les classes d'âge : les portions sont de tailles comparables dans les différentes classes d'âge.

L'analyse des données du panel SECODIP (1997-1998) (Dufour, 2001 a, b, c, d ; Dufour, 2003 ; Volatier, 2000) permet de préciser les quantités achetées et de distinguer les produits frais des produits surgelés, mais ne permet pas de préciser si ceux-ci ont été consommés crus ou cuits. Ces données sont cohérentes avec celles fournies par l'enquête INCA.

Il doit être noté que ces bases de données contiennent peu d'informations spécifiques sur les femmes enceintes alors que leur comportement alimentaire pourrait se différencier de celui de la population générale, notamment du fait des campagnes de prévention de la toxoplasmose.

2.3.2. Origine des aliments

C'est un paramètre à prendre en considération si l'impact d'une mesure de prévention ou de vaccination dans les élevages français veut être évalué. A l'heure actuelle, l'origine des aliments consommés en France n'est pas une donnée directement accessible mais la part relative des produits importés par rapport aux produits d'origine nationale peut être approchée par le solde des importations et des exportations, par rapport à la production nationale. En 2002, à partir des données du rapport de l'OFIVAL (Barral, 2004), on peut

estimer que plus de 80% des viandes bovines, porcines, et des viandes de volaille consommées en France sont d'origine française. Pour les viandes ovines et caprines, en 2002, ce chiffre est de l'ordre de 50% et pour les viandes équine inférieures à 1%¹³. Une meilleure estimation devrait être faite, en quantifiant la part des viandes importées surgelées ou cuites.

2.3.3. Traitement des aliments

- *Viabilité et infectiosité des formes parasitaires infectantes dans les matrices alimentaires*

En complément, la mesure de l'exposition au danger devrait aussi intégrer les conditions de cuisson ou de consommation des aliments, qui peuvent influencer sur la viabilité ou l'infectiosité des formes parasitaires. Rappelons que la consommation de viande mal cuite est un facteur significatif de risque dans plusieurs études « cas-témoins ».

Les données issues de la section F montrent que les oocystes sont extrêmement résistants dans l'environnement et conservent leurs potentiels infectieux pendant de nombreux mois, voire années. En ce qui concerne les kystes présents dans la viande, leur survie est également prolongée lorsque la viande est conservée à + 4°C. Par contre la congélation détruit les kystes. La mesure de l'exposition au danger devrait donc intégrer les paramètres de conservation de la viande avant sa consommation et appliquer un abattement de 100% en cas de congélation à -20°C pendant plusieurs jours. Par ailleurs, il est possible qu'une partie de la viande conservée congelée soit vendue décongelée. L'information sur la part relative de ce type de congélation avant l'achat sera à appréhender. L'ignorer est plutôt une hypothèse sécuritaire vis-à-vis du risque de toxoplasmose.

Un abattement est également à prévoir pour la viande de porc subissant un traitement par injection de chlorure de sodium (2%) ou de lactate de sodium ou de potassium (>1,4%) (Hill, 2004).

- *Effet de la cuisson*

Pour les aliments consommés crus, aucun abattement n'est à prévoir par rapport à la charge parasitaire dans l'aliment brut commercialisé.

Pour les aliments cuits, il est nécessaire d'intégrer un abattement tenant compte de la température de cuisson sachant que les kystes sont détruits pour des températures supérieures à 67 °C à coeur et que les oocystes perdent leur capacité à sporuler à la suite d'une exposition à 60°C pendant 1 minute (cf. Question 26).

Il est cependant difficile de savoir dans quelle mesure les conditions d'inactivation, évaluées expérimentalement, sont appliquées par le consommateur.

Trois études nationales sont représentatives des comportements alimentaires en France (Annexe IV) :

- le baromètre Nutrition de l'InPES (Guilbert, 2002), mais qui n'aborde pas spécifiquement les modes de cuisson en dehors du type de matière grasse ajoutée.
- l'Etude Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires (Enquête INCA) (Maffre, 2000)

Réalisée en 1999 par le Crédoc avec l'appui de la DGAL et de l'AFSSA auprès d'un échantillon d'environ 2 000 personnes de 15 ans et plus et 1 000 enfants de 3 à 14 ans, cette étude comporte un volet « pratiques culinaires et de consommation » qui est rempli directement par l'enquêté (adulte)¹⁴.

¹³ Le % de viande consommée issue de la production nationale est évalué à partir du rapport importations/consommation indigènes brutes sur les données exprimées en TEC (Tonnes Equivalent Carcasses) (rapport Barral, 2004). Les données ne tiennent pas compte ni de la transformation, ni de la congélation, ni de la pièce de viande, ni de la classe d'âge (agneaux).

¹⁴ Cette partie des questionnaires ne concerne que les adultes et elle est auto administrée, c'est à dire laissée à l'enquêté lors de la première visite et rendue remplie lors de la deuxième visite de l'enquêteur au domicile de l'enquêté.

Dans l'enquête INCA réalisée en 1999, la question posée sur les modes de cuisson de la viande était la suivante :

«B23. Quand vous consommez de la viande rouge, la mangez-vous le plus souvent ... »
(en %, une seule réponse possible)

1. Crue	0,8
2. Bleue.....	10,9
3. Saignante.....	35,2
4. A point.....	36,8
5. Très cuite	13,8
6. Ne sait pas	2,6
Ensemble.....	100,0

Cette question ne permet pas de distinguer les différents types de viande (agneau, bœuf ...) ni d'estimer les fréquences relatives des différents modes de cuisson. On ne demande que ce qui est pratiqué « le plus souvent » et non les pratiques rares ou occasionnelles (cf. Annexe IV).

En complément de ce relevé, il importerait de préciser quelle proportion de viande dépasse la température de 67°C lorsque la viande est cuite « bleue », « saignante », ou « à point » ; par contre, lorsque la viande est dite « bien cuite », cette température est atteinte à coeur (cf. Question 26) (source : ADIV, 2004, non publié).

- l'enquête pilote INCA 2004/2005, réalisée d'octobre à décembre 2004 chez 150 enfants et 150 adultes. Dans cette enquête, figure une question sur les habitudes de consommation d'aliments d'origine animale consommés crus, mais, en raison de la difficulté à préciser ce que représente une viande « pas assez cuite », aucune question sur le degré de cuisson n'a été posée.

- *Effet du lavage des végétaux crus*

Le lavage des végétaux pouvant être souillés par de la terre est probablement efficace pour éliminer une partie des oocystes éventuellement présents à leur surface. Ce paramètre, difficile à quantifier pourrait justifier l'application d'un abattement sur la contamination des végétaux.

En conclusion si on peut espérer avoir des données sur le traitement des aliments avant achat, le traitement des aliments après achat est mal connu. Il faut souligner que le comportement des femmes enceintes n'est peut-être pas assimilable à celui de la population générale et nécessiterait d'être étudiée spécifiquement. En effet, les études cas-témoins menées chez les femmes enceintes pour évaluer les facteurs de risque pour la toxoplasmose ont été faites avec appariement des témoins (femmes enceinte également), il n'est pas possible d'en extraire le comportement particulier des femmes enceintes par rapport à la population générale.

2.4. Evaluation des effets : relation dose-infection, infection-transmission foeto-maternelle, infection *in utero*-maladie

2.4.1. Relation dose-infection

Les modèles expérimentaux animaux permettent de décrire des relations dose-infection pour les deux formes parasitaires infectantes (cf. Question 29). Sur le plan technique, la dose administrée moyenne dans les expérimentations de dose-réponse a été estimée par une technique de quantification directe (comptage microscopique) ou indirecte (dilution limite). Pour permettre d'utiliser d'appliquer les paramètres de la relation dose-infection sur des mesures de la contamination parasitaire des aliments, cette technique de quantification

devrait être comparée à celle obtenue par les techniques habituellement sur les échantillons biologiques ou alimentaires (bio-essais après digestion enzymatique).

La transposition à l'homme des résultats obtenus dans des modèles expérimentaux est une démarche classique pour les contaminants physico-chimiques, moyennant la prise en compte de facteurs d'extrapolation et/ou de précaution. Dans le domaine microbiologique, la spécificité d'un agent infectieux pour son hôte limite sérieusement les possibilités d'extrapolation. Cependant si on dispose d'études dose-réponses sur des espèces de mammifères très différentes et qu'on aboutit à des résultats voisins sur le taux d'infection ou de maladie à partir d'une même dose, d'une même technique, on peut imaginer, en absence de données humaines, une éventuelle extrapolation à l'homme, assortie ou non d'un facteur de précaution et tenant compte de cette variabilité interspécifique de réponse (Haas, 1999). De même, si on peut combiner les résultats des différentes études qui ne présentent pas de différences significatives, les intervalles de confiance des paramètres estimés seront réduits (Haas, 1999). Les approches par modèle animal permettent en général d'étudier l'effet de différents facteurs, par exemple un effet matrice sur les dose-réponses, mais sont rarement utilisées pour être extrapolées à l'homme en microbiologie.

Pour la toxoplasmose, la transposition des données expérimentales animales à l'homme et la femme enceinte est assortie d'une grande incertitude. L'une des difficultés d'extrapolation est lié au fait que les modèles exponentiels de dose-réponse pour *T. gondii* ont été ajustés sur des données d'expérimentation animale obtenues avec des souches de génotype III principalement alors que ce n'est pas le génotype prédominant chez l'homme. Des données sont donc à acquérir pour les souches de type II. D'autres facteurs, comme le statut immunitaire, ou la gestation, doivent également être pris en compte dans la dose-réponse (cf. Question 29).

Pour vérifier la pertinence des modèles élaborés, des études épidémiologiques *ad-hoc*, comme une estimation de l'incidence annuelle des séroconversions chez la femme enceinte (avec une estimation du risque attribuable¹⁵ pour chaque type d'aliment), ainsi que des données concernant la contamination et la consommation des aliments potentiellement contaminés, permettraient de valider rétrospectivement la relation dose-infection obtenue sur des modèles animaux. Cette validation serait un préalable indispensable à l'utilisation du modèle pour l'évaluation de l'efficacité d'une mesure de prévention.

2.4.2. Relation infection-transmission

Le groupe de travail estime que l'application à l'homme de la relation infection-maladie issue des expérimentations animales n'est pas réaliste, ni forcément nécessaire. En effet les souches de type I sont létales chez la souris, alors qu'elles ne le sont jamais ou de façon très exceptionnelle chez l'homme, et les données expérimentales sur les souches de type II sont trop limitées pour permettre ce type d'estimation.

Par contre, les estimations chez la femme enceinte sont bien documentées et fournissent des indications utilisables. Dans l'étude de Dunn, le taux de transmission a été estimé chez 557 femmes enceintes dont l'infection à *T. gondii* a pu être confirmée et 161 enfants ont développé une infection congénitale prouvée, soit 29% (Dunn, 1999). La distribution de cette probabilité suit alors une loi Bêta de paramètres (162-397) avec un intervalle de crédibilité à 95% de (0,25-0,33) (cf. Question 29). Il faut noter que cette probabilité de transmission varie beaucoup au cours du temps et qu'il s'agit d'une estimation globale sur toute la durée de la gestation.

2.4.3. Relation transmission-maladie et estimation des mortalités fœtales

Dans cette évaluation, il faut tenir compte des lésions à la naissance, des lésions retardées et des morts fœtales. La proportion des morts fœtales consécutives à une contamination toxoplasmique (fausses couches spontanées + interruptions médicales de grossesse +

¹⁵Risque attribuable : proportion de cas qui seraient évitées si l'exposition au facteur était supprimée, à condition bien sûr que la relation entre le facteur et la maladie soit causale. On a besoin pour calculer le risque attribuable de connaître la fréquence de l'exposition dans la population, le risque relatif (ou l'odds-ratio sous certaines conditions (Coste, 1991)

interruptions volontaires de grossesses) a été estimée à 1,48% (cf. Question 16) à partir des publications Hohfeld, 1994 ; Gilbert, 2001 ; Wallon, 2002).

La probabilité qu'un enfant infecté *in utero* et né vivant développe des signes cliniques (séquelles) a été estimée à 29% (cf. Question 16), à partir des publications de Dunn, 1999, Binquet, 2001 et Wallon, 2004). Dans la cohorte lyonnaise (Dunn, 1999), le nombre d'enfants contaminés *in utero* nés vivants étaient de 325, dont 95 ont présenté des lésions au cours du suivi: hydrocéphalie, calcifications intracrâniennes, rétinoblastome, avec parfois des associations de lésions. Il est alors possible d'estimer des distributions de probabilités séparées selon les signes cliniques (cf. Question 29).

2.5. Modalités et évaluation de l'efficacité de mesures de prévention

Différentes mesures de prévention peuvent être envisagées :

- Au niveau des élevages, il peut s'agir de vaccination (cf. Question 32), de protections particulières vis-à-vis de la présence de chats (cf. Question 18) ou de dépistage des animaux séropositifs.
- Au niveau des consommateurs et particulièrement des femmes enceintes, il peut s'agir de campagnes de sensibilisation et d'éducation (cf. Question 35).

Une première approche serait de fixer un objectif de diminution de l'incidence de la toxoplasmose congénitale, puis déterminer quelle serait l'efficacité à atteindre pour différentes mesures de prévention. Par exemple, pour des mesures de prévention dans les élevages, de combien faudrait-il diminuer la séroprévalence chez les animaux de boucherie pour espérer atteindre l'objectif fixé. Il faut ensuite envisager quelles seraient les mesures de prévention dans les élevages qui permettraient cette diminution et leur faisabilité.

Une deuxième approche serait de comparer l'effet attendu de différentes mesures de prévention. Dans ce cas, une fois les modalités de cette mesure précisées, il faudrait être en mesure d'évaluer l'efficacité d'une mesure de prévention sur la diminution de la séroprévalence dans les troupeaux, ou de la contamination de la viande et estimer secondairement la diminution attendue de la toxoplasmose congénitale.

Des méthodes existent pour évaluer l'efficacité et l'effet attendu de différentes mesures de prévention, comme, par exemple, d'une campagne de vaccination chez l'animal (Mateus-Pinilla 2002, Durand 2002, Minas 2004). Une telle approche serait intéressante si un vaccin était bien protecteur vis à vis d'une infection (cf. Question 32) pour une ou plusieurs espèces animales, ce qui n'est pas le cas aujourd'hui. La mesure de l'efficacité de campagnes de sensibilisation ou de prévention sur les consommations des femmes enceintes sera plus difficile à évaluer, a priori. En effet, cette prévention implique de nombreuses composantes notamment sociologiques, épidémiologiques et économiques. Une approche par scénario, en spécifiant le pourcentage de femmes enceintes qui changeraient de comportement de consommation permettra seulement d'évaluer la diminution du risque sous certaines hypothèses. Le manque de données disponibles limite, pour l'instant, les possibilités d'évaluation de l'efficacité de ces mesures de prévention.

3. Conduite d'une appréciation quantitative du risque pour la toxoplasmose

3.1. Proposition d'un schéma d'appréciation du risque lié à l'alimentation

Un schéma théorique d'appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose congénitale peut être bâti en intégrant les principales sources de contamination alimentaire (Figure 16). Ce schéma n'inclut pas l'eau de consommation dans la mesure où le risque hydrique n'est pas encore totalement démontré. Il ne tient pas compte non plus des risques de contamination « non alimentaire », notamment par ingestion accidentelle de terre.

Compte tenu des limites que nous avons soulevées sur les différents compartiments de cette analyse, ce schéma n'est pas applicable en pratique, mais il permet de bien identifier les points critiques justifiant l'acquisition de données complémentaires.

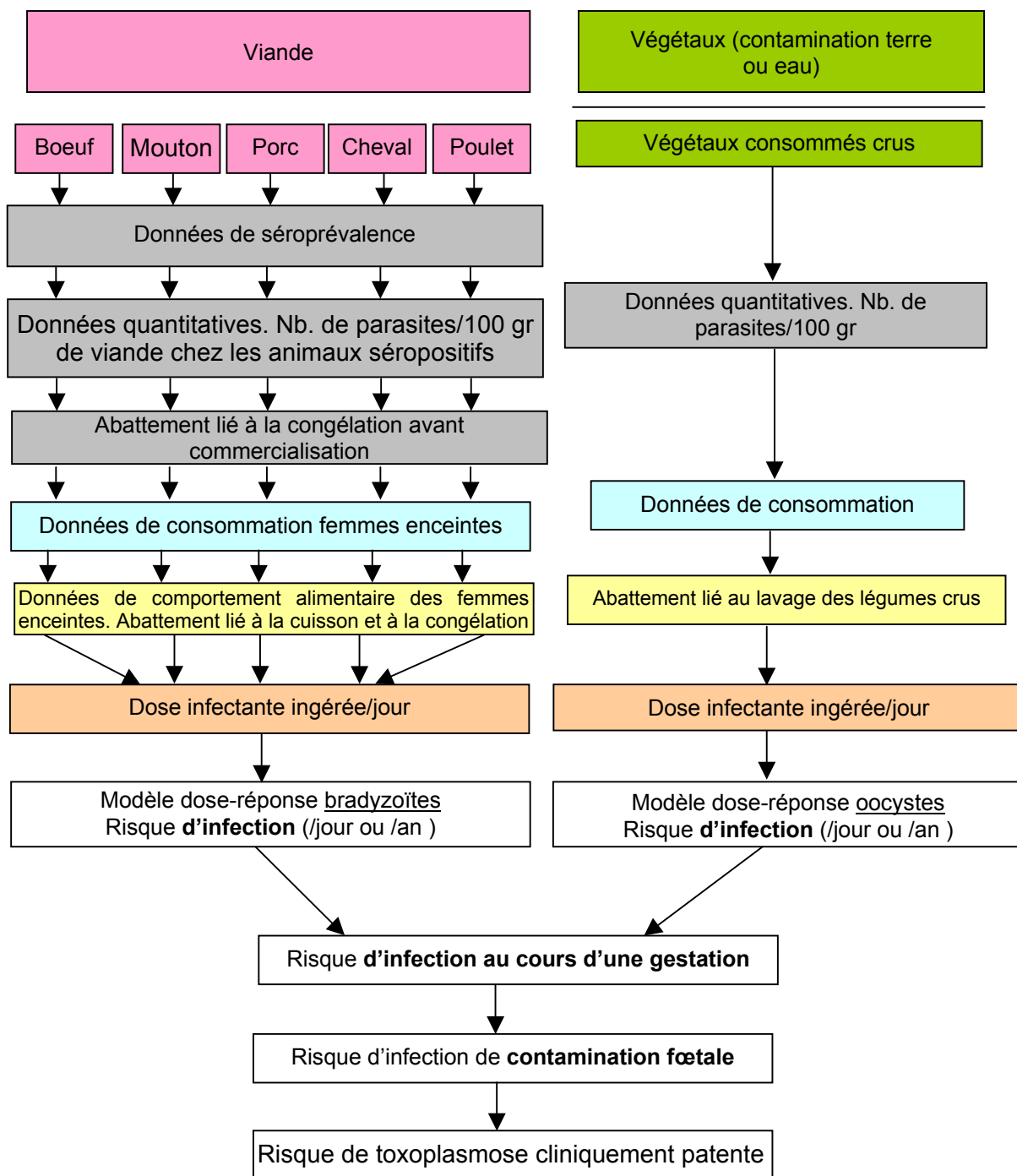


Figure 16 : Schéma intégrant les principales sources de contamination (viande, végétaux consommés crus) et toutes les étapes

Note : Toutes les étapes sont à considérer séparément pour chaque espèce animale ou type de produit végétal, depuis les données de séroprévalence ou de contamination jusqu'aux données de comportement alimentaires. Les estimations de risques sont à mener pour chaque matrice mais aussi si possible de façon globale, pour tenir compte d'éventuelles corrélations.

3.2. Principaux points critiques

3.2.1. Choix des aliments à intégrer dans l'analyse

La priorité doit être définie en fonction des données de consommation et de la probabilité de contamination des aliments. Celle-ci reste encore mal définie, notamment pour les végétaux et l'eau, ce qui justifie une étude préliminaire permettant une sélection préalable incluant notamment les salades, les radis, et les fraises (cf. Question 22).

En ce qui concerne la viande, les données bibliographiques et de consommation permettent de classer deux groupes par ordre de priorité décroissante : le groupe 1 avec la viande de porc, de mouton, et de bœuf, et le groupe 2 avec la viande de poulet et de cheval.

3.2.2. Données de séroprévalence chez les animaux d'élevage

Elles sont déterminantes, dans la mesure où seuls les animaux séropositifs sont considérés porteurs de kystes tissulaires. Elles doivent être recueillies sur différents types d'élevage, dans la mesure où celui-ci influe considérablement sur le risque de contamination. Une ou plusieurs enquêtes en épidémiologie descriptive (Toma, 2000), avec un questionnaire recueillant les informations sur différents facteurs de risques, pourrait apporter des éléments d'information nécessaires sur ce volet. Un effort important doit être fait en France pour évaluer cette prévalence (en tenant compte des génotypes parasitaires) chez toutes les espèces d'animaux d'élevage destinés à la boucherie et en particulier pour l'évaluation de la contamination des poulets. Pour chaque espèce animale, la valeur de la sérologie en tant qu'indicateur d'une infection parasitaire dans les tissus devrait être mieux évaluée, en terme de sensibilité et de spécificité, afin de pouvoir l'utiliser pour une estimation de la prévalence toxoplasmique réelle dans les élevages.

3.2.3. Données quantitatives sur la contamination des aliments

C'est un facteur limitant très important de l'appréciation quantitative du risque. Actuellement, seuls les bio essais permettent d'apporter une preuve de la contamination parasitaire des aliments mais les résultats sont qualitatifs (« présence » ou « absence »), car la quantification sur des dilutions successives de la matrice n'est pas réalisable en pratique. La mise au point de techniques alternative doit être encouragée.

Le seuil de détection et le rendement de cette technique quantitative devraient être définis, notamment du fait de la digestion trypsique préalable de l'aliment (viande).

Chez un animal séropositif, la distribution de la contamination parasitaire dans les aliments (notamment en fonction de la pièce de viande) devrait être évaluée de façon à pouvoir mieux estimer le risque lié à la consommation d'une portion.

3.2.4. Evaluation des abattements liés aux procédés de conservation et de cuisson

Des données expérimentales sont disponibles sur l'effet de la température : elles seraient à compléter en fonction des modes de cuisson habituellement pratiqués par les consommateurs ; elles sont à acquérir pour d'autres procédés de conservation ou de traitement des aliments (en particulier pour les lavages des végétaux).

Les données sur les pratiques de congélation avant commercialisation et les parts de viande congelées mises sur le marché restent à préciser.

3.2.5. Données de consommation

La part de l'importation et sa nature dans la consommation doivent pouvoir être estimée de façon satisfaisante, pour apprécier la part imputable à la consommation de viande d'origine française ou importée.

Les données de consommation sur la population générale sont disponibles, mais elles restent insuffisantes pour apprécier notamment le traitement des aliments après l'achat et les modes de consommation (cuisson et congélation). Le comportement des femmes enceintes (et séronégatives) vis-à-vis de leur alimentation n'ayant pas fait l'objet d'études spécifiques il est difficile d'apprécier si celui-ci est différent de la population générale ; il devrait donc faire l'objet d'études *ad-hoc*.

3.2.6. Relation dose-infection

En l'absence de données permettant d'établir les paramètres de la relation dose-réponse chez l'homme, une extrapolation des données acquises chez l'animal est nécessaire. L'intérêt mais aussi les limites des modèles existants ont été discutés dans la Question 29. Il apparaît indispensable d'affiner les données actuelles, notamment pour les faibles doses (1 à 1000 unités) et d'obtenir des données plus précises sur les souches de génotype II (prédominantes chez l'homme) sur différentes espèces animales.

3.2.7. Risque d'infection et de transmission en cours de gestation

Le pourcentage de femmes enceintes qui ont déjà été infectées avant leur gestation est estimé en France à 54% (Ancelle, 1996), de sorte que 46% des femmes enceintes qui n'ont pas été infectées avant la gestation, sont susceptibles de l'être. L'incidence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes séronégatives en 1995 est estimée à 13 cas/1000 femmes séronégatives (cf. Question 15).

En cas de contamination en cours de grossesse, on peut considérer que l'estimation du risque de contamination fœtale - 29% pour l'ensemble de la gestation (Dunn, 1999) et la loi Bêta de distribution de cette probabilité qui a déterminée ci-dessus - est une donnée qui pourrait être utilisée pour une appréciation quantitative des risques .

3.2.8. Risque de toxoplasmose cliniquement patente

Dans une première étape, il faudra estimer le nombre annuel de morts fœtales, consécutives à une contamination toxoplasmique. Dans la Question 16, ce pourcentage été estimé à 1,48%. Ce pourcentage méritera d'être réactualisé en fonction des pratiques de prise en charge thérapeutique des toxoplasmoses congénitales.

Le risque cumulé de voir survenir des manifestations cliniques de toxoplasmose chez un enfant contaminé *in utero* a été estimé à 29%, sur la population d'enfants nés vivants, à partir d'une étude française récente incluant un suivi prolongé des enfants contaminés (Wallon, 2004). Dans la mesure du possible, cette donnée serait à renforcer par d'autres études suivies de cas de toxoplasmose congénitale.

3.2.9. Estimation de l'efficacité attendue de différentes mesures de gestion

Les différents éléments permettant d'estimer l'efficacité des différentes mesures de prévention sont à acquérir.

3.3. Approches méthodologiques

Les principes de l'approche méthodologique de l'appréciation de risque quantitative ont fait l'objet de livres, de publications et ont été rappelées dans différents rapports de l'AFSSA (Haas, 1999 ; Vose, 2000 ; Pouillot, 2002).

Comme toute modélisation, le modèle pour l'évaluation des risques permet de décrire la séquence des événements, de conceptualiser ceux-ci et ainsi de mieux comprendre le phénomène dans sa globalité et de visualiser différents points critiques. On aboutit ainsi au modèle conceptuel de la Figure 1.

Par la suite, pour une approche quantitative des risques, on doit traduire ce modèle qualitatif pour chacun de ces compartiments par des distributions de probabilités adaptées (à partir de données observées) et traduire le lien entre ceux-ci sous forme de relation mathématique, au prix de différentes hypothèses justifiées ou clairement formulées. Le résultat obtenu, c'est-à-dire le nombre de cas attendu dans une population donnée, au cours d'une période donnée, est aussi une distribution, qui reflète la variabilité du risque et/ou l'incertitude sur ces estimations.

L'effet de différentes hypothèses sur le résultat attendu peut être étudié (prise en compte de différentes dose-réponses), comme l'effet de différents scénarios (congélation ou non, par exemple). Un exemple de projet possible est donné dans la proposition 2 du chapitre « conclusion-recommandation ».

3.3.1. Etude de sensibilité

L'objectif d'une étude de sensibilité serait de décrire comment l'incertitude dans les résultats d'un modèle peut être liée aux différentes incertitudes des variables (ou paramètres) d'entrée du modèle (Vose, 1999). Plus l'incertitude d'un paramètre sera liée au résultat final, plus il sera intéressant de réduire l'incertitude sur ce paramètre, en mettant en place, par exemple des programmes de recherches spécifiques (Vose, 1999).

L'analyse de sensibilité est considérée comme un préalable à l'interprétation et à l'utilisation des résultats d'une évaluation quantitative de risque, au même titre que la validation, c'est-à-dire la confrontation des résultats aux données observées (Saltelli, 2002). Elle permet d'identifier les points critiques, de prioriser le besoin en données ou en recherche, de vérifier la robustesse d'un modèle (Frey, 2002).

Plusieurs méthodes sont possibles, certaines mettant sur le même plan l'incertitude et la variabilité, d'autres les séparant (Vose, 1999). Une des méthodes les plus connues dans le domaine du risque alimentaire est l'analyse de corrélation des rangs et dont la représentation graphique est le « tornado chart » (Vose, 1999).

3.3.2. Applications envisageables

L'appréciation de risque telle qu'elle est présentée sur la Figure 1 peut cependant s'envisager pour certaines parties du modèle global décrit. Par exemple il serait intéressant de savoir si une part importante d'une denrée alimentaire est issue majoritairement de l'importation ou non. Dans ce cas, si la réponse est oui, il faudra accentuer la recherche en données sur la contamination des aliments, non pas dans les élevages, mais sur les marchés de distribution, afin d'expliquer les résultats. Le modèle peut aussi être analysé partiellement, entre quelques modules, avant d'être analysé dans sa globalité.

Par exemple, si on disposait de données de séroprévalence représentatives et précises pour chaque catégorie d'espèce animale élevée en France (avec une sensibilité et une spécificité connue vis-à-vis d'une contamination de pièces comestibles), et les génotypes concernés, on pourrait comparer les taux de séroprévalence entre espèces et mieux estimer les actions prioritaires en combinant les données issues de la consommation, en vérifiant la cohérence des résultats avec les génotypes trouvés en circulation chez l'homme (Hald, 2004).

Enfin, il ne faut pas oublier, que pour la toxoplasmose, si l'incidence annuelle des toxoplasmoses des femmes enceintes pouvait être estimée, si le risque attribuable à certains aliments pouvait être évalué et si les données de contamination étaient connues, cela permettrait un ajustement rétrospectif du modèle, notamment sur la relation dose-infection. Par exemple, dans l'étude menée par l'Agence Américaine de Sécurité Alimentaire sur l'impact de *Vibrio parahaemolyticus* dans les coquillages, cette attitude rétrospective a ainsi conduit à une correction de la dose-réponse d'un facteur 10 (Miliotis, 2000).

Si de nouvelles données sont acquises et si le modèle est validé sur quelques exemples, il sera alors possible de l'utiliser, pour tester, par exemple, l'effet attendu d'une ou de plusieurs mesures de prévention. Et si des mesures de prévention sont mises en place, et que leurs effets sont mesurés, il sera alors possible de tester de nouveau la validité du modèle.

Références bibliographiques

- ADIV. Aide à l'estimation de la destruction de *Toxoplasma* lors de la cuisson des viandes. Note Technique pour l'AFSSA 2004, 8 pp.
- Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Du Mazaubrun C, Thulliez P, Wcislo M, Carme B. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Résultats d'une enquête nationale périnatale. BEH 1996;51:227-229.
- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez Ph, Tirard Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy : A case control study in France. Scand J Infect Dis 1999;31:305-309.
- Barral MB, Boussier D, Dessagne C, Devine R, Lacour L, Lebois S, Peyraud D, Susani B Tregaro Y, Morisseau A. Le marché des produits carnés et avicoles en 2003. Ed OFIVAL, Paris, 2004, 432 pp.
- Binquet C, Wallon M, Metral P, Gadreau M, Quantin C, Peyron F. Séroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte. Les différentes études françaises Presse Med. 2004;33:775-779
- Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenun P, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women : European multicenter case-control study. Br Med J. 2000;321:142-147.

- Coste J, Spira A. La proportion de cas attribuables en santé publique : définition, estimation et interprétation. Rev Epidemiol Santé publique. 1991;39:399-411.
- Dufour A. 2001a. Note technique OCA/AD/2001-174 « Données des panels consommateurs SECODIP sur la consommation des produits ovins et d'abats » 2001, 8 pp.
- Dufour A. 2001b . Note technique OCA/AD/2001-181 « Données des panels consommateurs SECODIP sur la consommation de viandes et d'abats ». 2001, 8pp.
- Dufour A. 2001c. Note technique OCA/AD/2001-268 « Estimation de la consommation annuelle de salades par les Français ». 2001, 8 pp.
- Dufour A., 2001d. Note technique OCA/AD/2001-280 « Données sur la consommation de poulet et autres volailles ». 2001, 9 pp.
- Dufour A., 2003. Note technique OCA/AD/2003-501 « Données complémentaires sur la consommation de poulet ». 2003, 8 pp.
- Dunn D, Wallon M, Peyron F, Pertersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet. 1999; 353: 1829-1833.
- Frey HC, Sumeet SR. Identification and review of sensitivity analysis methods. Risk Anal. 2002;22:553-571.
- Durand B, Moutou F, Mahul O. Apport de la modélisation pour l'aide à la décision lors d'épizooties de fièvre aphteuse. Epidémiol et Santé Animale. 2002;42:43-56.
- Gilbert RE, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii* : retrospective cohort study of 554 mother childpairs in Lyon, France. Int J Epidemiol. 2001;30:1303-1308.
- Guilbert P, Perrin H. Baromètre Santé Nutrition 2002. Editions de l'InPES, 259 pp.
- Haas CN, Rose JB, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. Ed. John Wiley and sons, USA, New York, 1999, 449 pp.
- Hald T, Vose D, Wegener HC, Koupeev T. A bayesian approach to quantify the contribution of animal food sources to human salmonellosis. Risk Anal. 2004;24:255-268.
- Hill DE, Sreekumar C, Gamble HR, Dubey JP. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. J Food Protect. 2004;67:2230-2233.
- Hohfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a PCR test on amniotic fluid. N Eng J Med. 1994;331:695-699.
- Kapperud G, Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case control study in Norway. Am J Epidemiol. 1996;144:405-412.
- Lake, Hudson A, Cressey P. Risk profile : *Toxoplasma gondii* in red meat and meat products. New Zealand Food Safety Authority. 2002, 36 pp.
- Miliotis M, Watkins W, Wekell M, De Paola A, Cook D, Ross M, Di Novi M, Burr D, Bowers J, Walderhaug M. Risk Assessment on the Public Health Impact of *Vibrio Parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish, USFDA; 2000, 118pp.
- Maffre J. Tris à plat de l'étude INCA, 4 vagues. 2000. Rapport interne AFSSA.
- Mateus-Pinilla NE, Hannon B, Weigel R. A computer simulation of the prevention of transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms using a feline *T. gondii* vaccine. Prev Vet Medecine. 2002;55:17-36
- Minas A, Minas M, Stournara A, Tselepidis S. The effects of Rev-1 vaccination of sheep and goats on human brucellosis in Greece. Prev Vet Medecine. 2004;64:41-47.
- Pouillot R, Beaudeau P, Roze, S, Derouin F. Evaluation quantitative du risque sanitaire lié à la présence de *Cryptosporidium* sp dans l'eau distribuée. AFSSA, Paris, 2002, 185 pp.
- Saltelli A. Sensitivity analysis for importance assessment. Risk Anal. 2002;22:579-590.
- Da Silva DS, Bahia-Oliveira LM, Shen SK, Kwok OC, Lehman T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. J Parasitol. 2003;89:394-6.
- Toma B, Dufour B, Sanaa M, Benet JJ, Shaw A, Moutou F, Louza A. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 2nd ed. AEEMA. Paris.2001: 696pp.
- Volatier JL. Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Tec et Doc. Lavoisier , Paris, 2000, 158 p.
- Vose D. Risk analysis : a quantitative guide. Ed. John Wiley and sons, New York, 2000, 418 pp.
- Wallon M, Gaucherand P, Al Kurdi M, Peyron F. Infection toxoplasmique de début de grossesse : conséquences et conduite à tenir. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2002;31:478-484.
- Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, Peyron F. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. Pediatrics. 2004;113:1567-72.

Section J : réglementation

Résumé de la section J

En France, le législateur a rendu obligatoire le dépistage et la surveillance de la toxoplasmose (décret du 14 février 1992) chez les femmes enceintes avant la fin du premier trimestre de grossesse ce qui demeure une spécificité française. Au niveau européen les pratiques ne sont pas harmonisées, les états membres favorisant soit des mesures incitatives de dépistage soit de simples recommandations en direction de populations ciblées.

Sur le plan vétérinaire, il n'existe à l'heure actuelle aucun dispositif de dépistage de la toxoplasmose animale, y compris lors de l'examen de salubrité des viandes à l'abattage. Sur le plan international, la toxoplasmose ne fait pas partie des zoonoses à déclaration obligatoire dans les cheptels mais récemment, la directive européenne 2003/99/CE vient de renforcer le dispositif en classant la toxoplasmose parmi les zoonoses à surveiller en fonction de la situation épidémiologique.

Question 31 : quelle est la position actuelle de la législation sur la toxoplasmose humaine et animale ?

Responsable de la question : Mme Tenailleau

Co-rédacteur : M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Danan

1. En France

1.1. Chez l'homme

1.1.1. Prévention et dépistage de la toxoplasmose humaine lors de la grossesse

La toxoplasmose, quelle que soit sa forme clinique, n'est pas une maladie à déclaration obligatoire (Décret n° 2001-437 du 16 mai 2001 / Décret n° 99-363 du 6 mai 1999 / Décret n° 99-362 du 6 mai 1999).

Dans le cadre de la prévention de la toxoplasmose, les premiers textes en vigueur (décret du 17 mars 1978, arrêtés ministériels du 20 juin 1980 et du 17 décembre 1981) ont prévu la mise en place d'un dépistage sérologique systématique dans le cadre unique du certificat prénuptial. La circulaire N°605 du 27 septembre 1983 y adjoint la prescription de règles hygiéno-diététiques.

Mais cette politique de dépistage ne prenait pas en considération le nombre croissant de maternités hors mariage et donc un nombre important de femmes n'étaient pas dépistées. Dès lors, il a fallu prendre en compte l'évolution de ces comportements sociaux et la législation inclut désormais le dépistage systématique lors de la grossesse.

C'est le décret d'application n° 92-143 du 14 février 1992 qui rend ainsi obligatoire le dépistage et la surveillance des femmes enceintes, avant la fin du premier trimestre et jusqu'à la fin de la grossesse.

Ce décret est codifié par 2 articles du code de la Santé publique (nouvelle partie réglementaire 2003), ce qui demeure aujourd'hui encore une spécificité française.

- L'article R2121-1 précise que « *le médecin ne peut délivrer le certificat prénuptial qu'au vu des résultats, pour les femmes âgées de moins de cinquante ans, des examens sérologiques de la rubéole et de la toxoplasmose qui sont obligatoirement effectués, en l'absence de documents écrits permettant de considérer l'immunité comme acquise.* »

- L'article, R2122-2, relatif aux examens réalisés pendant la grossesse rend obligatoire dans les mêmes termes, le dépistage de la toxoplasmose. Si la recherche est positive, l'identification et le titrage des anticorps sont obligatoires. En outre, la sérologie toxoplasmique est répétée chaque mois à partir du deuxième examen prénatal si l'immunité n'est pas acquise.

1.1.2. Prévention de la toxoplasmose humaine lors des greffes

Le décret n°97-928 du 9 octobre 1997 définit les règles de sécurité sanitaire applicables à tout prélèvement d'éléments ou toute collecte de produits du corps humain et à leur utilisation à des fins thérapeutiques, à l'exception des gamètes, du sang, de ses composants et de leurs dérivés.

« Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement d'organe, de moelle osseuse ou de cellules, les analyses de biologie médicale destinées à faire le diagnostic des maladies infectieuses transmissibles, dont l'infection par l'agent responsable de la toxoplasmose doivent être réalisées. »

L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) a créé un dispositif national de biovigilance (décret n°1206 du 12 décembre 2003) pour coordonner la prévention et la sécurité de l'ensemble du processus allant du prélèvement à l'utilisation du greffon.

1.1.3. Toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA

C'est une des pathologies classantes définissant le SIDA et enregistré comme telle dans le dossier médical informatisé version 2 (DMI2).

1.1.4. Examens biologiques et prise en charge

L'arrêté du 3 avril 1985 fixant la Nomenclature des actes de biologie médicale dresse la liste des examens pratiqués et leur code de nomenclature qui permet la prise en charge totale et sans entente préalable par le régime d'assurance maladie français. Il précise en outre : Tous les examens devront préciser le seuil de positivité du réactif et éventuellement du lot utilisé.

À l'issue de chaque examen, le biologiste doit apporter une conclusion au médecin prescripteur sur la présence ou l'absence d'anticorps anti-toxoplasmes et sur l'ancienneté probable de l'infection en cas de positivité ; le biologiste propose les modalités du suivi sérologique éventuel.

1.2. Chez l'animal

La toxoplasmose animale n'est pas une maladie vétérinaire à déclaration obligatoire et elle n'entre pas dans le cadre de l'examen de salubrité des viandes en abattoirs.

Il n'existe pas actuellement de plans de surveillance de la toxoplasmose chez les animaux d'élevage tels bovins, caprins, porcins, ovins et équidés sur le plan national d'où une méconnaissance de la prévalence et de l'incidence sur les avortements.

2. **Dans les autres pays**

2.1. Chez l'homme

2.1.1. A l'échelle mondiale

Un rapport d'un groupe d'étude de l'OMS¹⁶ recommandait dès 1999 à ses Etats Membres une harmonisation des systèmes nationaux de surveillance des zoonoses et des affections zoonotiques d'origine alimentaire, dont la toxoplasmose.

Ainsi il est prévu en collaboration avec la FAO¹⁷ et l'Office international des Epizooties, que l'OMS passe en revue et mette à jour les listes existantes de maladies à déclaration

¹⁶ Teramo (Italie), 1er-5 mars 1999, OMS

¹⁷ FAO : Food and Agriculture Organization, organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

obligatoire communes à l'homme et aux animaux, mais à ce jour la toxoplasmose humaine n'a pas été retenue.

2.1.2. A l'échelle européenne

Dès 2000, la Commission européenne a mis en place un réseau de surveillance spécialisé¹⁸ concernant les maladies transmissibles de l'animal à l'Homme.

En annexe I, la toxoplasmose est classée parmi les maladies d'origine alimentaire et hydrique ou environnementale, devant faire l'objet « *d'une collecte et analyse de données standardisées, selon des modalités qui devront être arrêtées pour chaque maladie transmissible* ».

La décision¹⁹ de la Commission du 19 mars 2002, en établissant les définitions de cas pour la déclaration des maladies transmissibles, rend possible la standardisation des données nécessaires au réseau communautaire. Cette décision est applicable et obligatoire depuis le 1^{er} janvier 2003 aux états membres dans tous ses éléments pour les destinataires qu'elle désigne conformément à l'article 249 du Traité.

Cette décision précise la description clinique de la maladie et préconise les méthodes de diagnostic.

Toutefois à ce jour, concernant le dépistage de la toxoplasmose humaine dans les états membres il n'existe pas de législation, sauf en France. Par ailleurs des recommandations sont préconisées :

- *Allemagne (Janitschke, 2003)*

Il existe un programme national de prévention qui encourage les femmes enceintes à faire un sérodiagnostic en cas de suspicion clinique de toxoplasmose. Depuis 1996, des lignes directrices officielles recommandent le diagnostic de la toxoplasmose lors d'un traitement contre la stérilité, avant la conception, pendant la grossesse et après la naissance.

Cependant, un projet de collecte de données sur le dépistage des nouveau-nés d'abord envisagé, a finalement été abandonné pour des raisons financières.

- *Autriche (Aspöck, 2003)*

Des mesures financières incitatives depuis 1975 encouragent les femmes à effectuer des examens de dépistage durant la grossesse. Celles qui ont été correctement suivies touchent une allocation. Cette allocation a été revue sévèrement à la baisse (de 1090€ à 145€) en 1997 et a entraîné rapidement une diminution du dépistage (-10%) ; ceci qui a conduit les autorités autrichiennes à réexaminer les modalités de financement de ces contrôles incitatifs. Aujourd'hui les autrichiennes touchent environ 60€ par mois jusqu'aux 3 ans de l'enfant à condition de se soumettre aux examens de dépistage de la toxoplasmose, entre autres.

- *Belgique (Naessens, 2003)*

La forte incidence de la toxoplasmose congénitale a conduit les autorités belges à mener une réflexion stratégique sur la prévention chez la femme enceinte. Des lignes directrices ont été élaborées par des associations de gynécologie obstétrique conduisant à :

Un meilleur dépistage durant la grossesse dès la première consultation. En cas de séronégativité, la femme enceinte fait une sérologie trimestrielle pour dépister une éventuelle séroconversion.

Des recommandations portant sur la consommation et la cuisson de certains aliments.

- *Danemark (Lebech, 1999)*

Depuis 1999 est réalisé au plan national un dépistage sérologique de la toxoplasmose congénitale chez les nouveau-nés.

¹⁸ Décision 2000/96/CE relative au fonctionnement des réseaux de surveillance spécialisés.

¹⁹ Décision 2002/253/CE

- *Italie (Buffolano, 2003)*

Depuis 1994, sous la pression des praticiens faisant l'objet de contentieux liés à des toxoplasmoses non diagnostiquées, 2 examens sont désormais pris en charge et remboursés par l'assurance maladie. Ces sérologies doivent avoir lieu à 20 et 36 semaines d'aménorrhée chez les femmes à risques. Depuis 1998, les femmes séronégatives bénéficient d'une sérologie mensuelle et d'un diagnostic anténatal en cas de séroconversion. Il manque encore une harmonisation au niveau national, tant dans les méthodes d'analyse que dans le recensement des cas (maladie à déclaration non obligatoire).

- *Finlande (Lappalainen, 2003)*

Il n'y a pas de dépistage systématique pendant la grossesse mais un dépistage ciblé. D'autre part, une information sur la prévention primaire est délivrée aux futures mères.

- *Norvège (Stray-Pedersen, 2003)*

Au début des années 1990, un programme de dépistage portant sur 36000 femmes enceintes a conclu à la nécessité de recourir à un dépistage systématique chez les femmes à risques. Ces recommandations ont été ciblées sur des populations étant considérées à plus haut risque de contamination. Des conseils diététiques et hygiéniques sont rappelés à toutes les femmes enceintes.

- *Portugal (Angelo, 2003)*

Bien qu'il n'existe pas de législation qui oblige au dépistage, les autorités de santé publique encouragent à effectuer les tests dès le début de grossesse. L'interruption de grossesse est alors autorisée en cas d'atteinte fœtale.

Des recommandations sur les mesures d'hygiène à prendre sont proposées pour éviter les sources de contamination mais, dans la pratique, l'attitude médicale peut varier entre l'absence totale de surveillance, les recommandations de prévention et la surveillance mensuelle.

- *Royaume-Uni (Joyson, 2003)*

Depuis 1998 il existe un centre national de référence qui centralise les données du Royaume Uni. Chaque femme enceinte reçoit un livret d'information édité par les autorités ou par des associations caritatives qui l'informe des risques liés à la toxoplasmose. Ces conseils varient beaucoup selon les sources.

Il n'y a pas de surveillance obligatoire ni de dépistage de la toxoplasmose, pendant ou après la grossesse ; ces tests sérologiques ne sont réalisés qu'à la demande de la patiente.

2.1.3. Aux Etats-Unis

(Eaton RB, www.umassmed.edu/nbs/).

Un programme de dépistage sérologique de la toxoplasmose congénitale n'existe que dans l'état du Massachusetts. Il est réalisé chez les nouveau-nés, avant leur sortie de maternité, en même temps qu'un dépistage de 9 autres maladies.

2.2. Chez l'animal

L'Organisation Internationale des Epizooties²⁰ (OIE) élabore les documents normatifs relatifs aux règles utilisables par les Pays Membres pour se protéger de l'introduction de maladies et d'agents pathogènes sans pour autant instaurer des barrières sanitaires injustifiées. Ainsi, l'objectif du *Code sanitaire pour les animaux terrestres*²¹ est d'assurer la sécurité sanitaire

²⁰ Organisation Internationale des Epizooties, regroupe 164 pays membres, reconnue par la FAO, OMS (site : www.oie.int/fr) Dans le cadre de ce nouveau domaine d'action, l'OIE collabore avec d'autres organisations compétentes à la réduction des risques de santé publique liés aux aliments du fait de dangers provenant des animaux eux-mêmes avant la première transformation des produits d'origine animale, étant entendu comme danger tout agent biologique, chimique ou physique présent dans un aliment pouvant avoir un effet nocif sur la santé.

²¹ http://www.oie.int/fr/publicat/fr_code.htm

des échanges internationaux d'animaux terrestres et de leurs produits dérivés. Ces mesures sont formellement adoptées par le Comité international de l'OIE qui rassemble tous les Délégués des Pays Membres de l'OIE et constitue l'organe suprême de l'organisation.

La 72e Session générale de l'OIE qui s'est tenue en mai 2004 intègre des amendements apportés au *Code sanitaire* portant sur les sujets suivants : définitions générales, maladies de la liste de l'OIE, notification et informations épidémiologiques, obligations et éthique dans les échanges internationaux, évaluation des Services vétérinaires ... Mais, la toxoplasmose, inscrite sur la liste C, ne fait pas partie des maladies à recensement obligatoire de l'OIE. Il n'existe donc pas de législation internationale rendant obligatoire la recherche et la déclaration de la toxoplasmose dans les cheptels.

Au niveau européen, la directive 2003/99/CE classe cependant la toxoplasmose parmi les zoonoses à surveiller en fonction de la situation épidémiologique et vient renforcer le dispositif législatif européen.

Références bibliographiques

- Ängelo MH. Dispositions légales et stratégies préventives de la toxoplasmose congénitale au Portugal. Arch. Pédiatr. 2003;10(hors série 1):25-26.
- Aspöck H. Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):6-17.
- Buffolano W. Failure to implement a preventive strategy against congenital toxoplasmosis in Italy. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):21-22.
- Janitschke K. Official recommendations and strategy for prevention of congenital toxoplasmosis in Germany. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):15.
- Joynson DHM. Congenital *Toxoplasma* infection in the United Kingdom. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):27-28.
- Lappalainen M. Current situation regarding toxoplasmosis in Finland. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):19.
- Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, Rechnitzer C, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B, Petersen E. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. Lancet. 1999;353:1834-7.
- Naessens A. Screening for toxoplasmosis during pregnancy : the situation in Belgium. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):18.
- Stray-Pedersen B. Prevention of congenital toxoplasmosis in Norway. Arch Pédiatr. 2003;10(hors série 1):23-24

Section K : mesures de prévention

Résumé de la section K

La gravité potentielle de la toxoplasmose humaine rend primordiales les mesures de prévention contre cette maladie.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin humain. Toutefois, ce mode de prévention est envisageable du fait de la forte immunité cellulaire et humorale induite par *Toxoplasma gondii*. Un vaccin vivant atténué est commercialisé pour le mouton. Son efficacité porte essentiellement sur la prévention des avortements toxoplasmiques. Chez l'homme, l'expérimentation des vaccins ADN pourrait amener d'importants progrès dans la prévention vaccinale de la maladie.

Actuellement, les mesures de prévention primaire représentent l'unique mode de protection des femmes enceintes réceptives à la toxoplasmose (séronégatives). Une liste de recommandations a été publiée dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) de 1996. Ces mesures sont toujours valables mais doivent être actualisées.

A la lumière des données actualisées recueillies dans le rapport, le groupe de travail a estimé que les mesures préventives portant sur la cuisson de la viande, l'hygiène des mains, le lavage des crudités et les précautions concernant la manipulation de la litière des chats sont essentielles et doivent être maintenues. D'autres mesures peuvent être proposées, notamment la surgélation de la viande. La recommandation de limiter la consommation des crudités en dehors du domicile et de ne pas consommer des mollusques crus mesure relève de la précaution. A l'heure actuelle, aucune mesure concernant l'eau de boisson n'apparaît justifiée. En effet, bien que le rôle de l'eau en tant que véhicule des formes infectantes (oocystes) soit probable, la contamination des ressources d'eau et l'éventualité d'une contamination de l'eau de boisson restent à établir et doivent faire l'objet d'une évaluation complémentaire.

En France, les recommandations hygiéno-diététiques de prévention ont fait l'objet d'une diffusion auprès du grand public (carnet de maternité) et des personnels médicaux, mais on ignore comment elles ont été relayées et appliquées. De nombreuses recommandations non officielles et pas toujours scientifiquement étayées sont disponibles, en particulier sur internet. Leur hétérogénéité provoque une confusion qui nuit à leur efficacité.

Un effort d'information doit être fait auprès des femmes : des recommandations de prévention primaire, officielles, régulièrement mises à jour et présentées de façon compréhensive et attractive, utilisant des supports d'information modernes devraient être disponibles auprès des professionnels de santé mais également auprès des femmes enceintes elles-mêmes.

Parallèlement, l'impact de ces recommandations doit être évalué. A ce jour, quatre études ont été réalisées en France entre 1990 et 1999 sur le niveau de connaissances des femmes enceintes sur la toxoplasmose. Les résultats montraient que la proportion des participantes connaissant au moins deux modes de prévention de la toxoplasmose variaient entre 35 et 96%. Malgré cela, la connaissance des mesures de prévention n'a pas toujours conduit à leur application. L'efficacité des programmes d'information a été évaluée au Canada, en France, en Hollande et en Belgique au cours de la période 1976-1989. Trois études observationnelles concluaient à un impact positif des programmes sur l'incidence des séroconversions. Une 4ème étude, randomisée, montrait une application de certains comportements mais n'avait pas la puissance suffisante pour montrer un impact significatif sur les séroconversions. Une étude récente réalisée en France auprès de 3000 femmes enceintes ne semble pas confirmer l'efficacité d'un programme d'information. Si les modes de contamination et de prévention étaient bien connus de la plupart des participantes, leur application restait faible et la modification des comportements n'était pas liée au fait d'avoir reçu ou non une information spécifique en début de grossesse.

Ce constat montre bien l'effort qu'il reste à faire dans le domaine de l'information et de l'évaluation de l'observance et de l'impact des recommandations, justifiant la mise en place d'une initiative nationale, concertée entre les différents professionnels de santé en charge de la prévention des infections congénitales.

Chez les patients immunodéprimés, les mesures de prévention de la toxoplasmose sont mieux définies et diffusées. La prévention de la contamination repose sur les mêmes mesures que celles préconisées pour la prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte. Chez les patients très immunodéprimés et séropositifs pour la toxoplasmose la prévention des réactivations par chimioprophylaxie (cotrimoxazole) est largement appliquée et efficace .

Enfin, dans le cadre professionnel, la toxoplasmose ne représente un risque infectieux important que pour les personnels travaillant dans les laboratoires et directement exposé aux parasites, justifiant l'interdiction stricte de toute manipulation de *T. gondii* par des femmes enceintes séronégatives. Pour les personnels des professions de santé, le risque de contamination par *T. gondii* est moindre, mais doit être prévenu par l'application des mesures d'hygiène de base qui sont recommandées pour la prévention des autres risques infectieux (hygiène des mains, port de gants ...). Pour les autres professions (agro-alimentaire notamment), la toxoplasmose ne justifie pas d'autres mesures de prévention que les mesures d'hygiène habituellement appliquées dans ces professions (lavage des mains en particulier).

Question 32 : quelles sont les possibilités vaccinales chez l'homme et l'animal ?

Responsable de la question : M. Peyron

Co-rédacteurs : M. Derouin

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Cesbron-Delaw

La gravité potentielle de la toxoplasmose chez l'homme et son impact économique chez l'animal justifient l'obtention d'un vaccin. Les objectifs d'une telle immunisation sont multiples :

- Chez l'homme, réduire, voire supprimer la mortalité ou la morbidité de la maladie.
- Chez l'animal, améliorer la situation économique des élevages et réduire les risques de contamination humaine en diminuant la contamination de la viande de boucherie ou en réduisant la dissémination des parasites dans l'environnement.

Malgré de nombreuses recherches, le vaccin humain reste encore hypothétique, alors qu'un vaccin animal est commercialisé pour les ovins.

Nous exposerons les principales stratégies vaccinales envisageables, leurs limites et leurs applications possibles chez l'animal et chez l'homme.

1. Bases moléculaires de la vaccination

Au cours de la toxoplasmose, on observe le développement d'une immunité spécifique durable reposant essentiellement sur l'immunité cellulaire (cf. Question 7). Les parasites induisent une production d'interleukine 12 (IL-12) et de tumor necrosis factor (TNF) par les macrophages. L'IL-12 activera les cellules Natural killer (NK) et les lymphocytes T qui produiront à leur tour de l'Interferon γ (IFN- γ). L'IFN- γ et le TNF agissent de façon synergique pour détruire les parasites dans les macrophages. Cette immunité limite les manifestations pathologiques de l'infection mais n'empêche pas la formation de kystes tissulaires ; elle confère cependant une protection contre une nouvelle infection. Cette résistance est à la base de toutes les recherches vaccinales et s'appuie sur plusieurs composantes de l'immunité protectrice.

1.1. Principales composantes de l'immunité protectrice vis-à-vis de *T. gondii*

1.1.1. Lymphocytes T et B

Le rôle des lymphocytes T dans la résistance à *Toxoplasma gondii* a clairement été démontré. Les lymphocytes CD 4+ et CD8+ sont impliqués dans ce phénomène. La réponse protectrice dépend essentiellement de la faculté des cellules T à produire de l'IFN- γ . Si la réponse cellulaire est essentiellement de type TH1 (immunité cellulaire), l'immunité humorale joue également un rôle. Les données expérimentales ont démontré que les cellules B étaient également importantes pour l'acquisition d'une immunité protectrice.

1.1.2. IgA sécrétoires

Les IgA sont un élément important de l'immunité au niveau des muqueuses. Dans le cas de la toxoplasmose, la contamination se faisant par voie digestive, la muqueuse intestinale est la première barrière contre le parasite. Chez l'homme, les IgA sécrétoires spécifiques de *Toxoplasma gondii* ont montré leur capacité à réduire l'infection des entérocytes.

1.1.3. Tissus lymphoïdes digestifs (Muquosal Associated lymphoïd tissues : MALT)

C'est à ce niveau que les lymphocytes B, sous l'influence des lymphocytes T CD4+, vont sécréter préférentiellement des IgA. D'autres cytokines sécrétées par des CD4 de type TH2 participent également à ce phénomène.

1.1.4. Cellules dendritiques

Elles jouent également un rôle par leur possibilité de présenter l'antigène au système immunitaire. Des souris CBA/J injectées avec des cellules dendritiques stimulées par un extrait de toxoplasme présentent un nombre réduit de kystes cérébraux par rapport aux animaux contrôles. Les animaux immunisés présentent un fort titre d'anticorps ainsi qu'une forte sécrétion en IFN- γ et en IL-2. (Bourguin, 1998).

1.2. Quelles contraintes pour un candidat vaccin ?

Les données immunologiques sur la résistance vis à vis de *T. gondii* montrent que le vaccin antitoxoplasmique devra d'une part induire une forte réponse lymphocytaire T avec en particulier des CD8+ spécifiques et d'autre part susciter une bonne réponse humorale au niveau intestinal. De plus, la façon de présenter l'antigène par le biais des cellules dendritiques semble jouer un rôle important.

Toutes ces considérations permettent de préfigurer le candidat vaccin mais il est clair que nous devons mieux connaître les cellules B et T effectrices au niveau intestinal (Bout, 2002). La question est de savoir comment reproduire l'immunisation naturelle et comment les antigènes peuvent être présentés au système immunitaire par les cellules dendritiques. Cette question pose le problème de la nature de l'antigène, de sa dose, la nature de l'adjuvant et de son mode d'administration.

1.2.1. Nature de l'antigène utilisé

Des travaux expérimentaux ont montré que l'immunisation d'un animal contre un stade parasitaire ne protège pas contre une infection par un stade différent (Jenkins, 2001). Une immunisation par des parasites atténués peut être envisagée chez l'animal (cf. paragraphe « Vaccination chez l'animal » ci-après) mais n'était pas applicable à l'homme du fait du risque de mutation qui pourrait restituer sa virulence au parasite.

Des immunisations avec des protéines recombinantes essentiellement dérivées des antigènes de surface des tachyzoïtes (revue par Bhopale, 2003) ont été tentées avec des succès variables. Des résultats prometteurs ont été observés par immunisation avec la protéine recombinante SAG1 produite dans *Escherichia coli*. L'administration simultanée de cette protéine recombinante avec de l'IL-12 réduit de façon significative le nombre de kystes observés dans le cerveau des souris (Letscher-Bru, 1998), mais l'efficacité vaccinale est dépendante du terrain génétique de l'hôte (Letscher-Bru, 2003).

Les progrès de la biologie moléculaire permettent depuis quelques années d'envisager des vaccinations géniques. Un fragment d'ADN (contenant le gène d'intérêt) est inclus dans des cellules de l'hôte qui exprimeront la protéine correspondante. Cette méthode de recherche s'avère prometteuse car elle réalise une présentation de l'antigène au système immunitaire proche de ce que l'on observe *in vivo*. Les souris immunisées avec un plasmide codant pour la protéine SAG1 ont montré 80-100 % de protection vis à vis d'une infection par une souche létale (Nielsen, 1999), mais ce type d'immunisation ne protège par contre la transmission au fœtus (Couper, 2003). Des immunisations similaires avec d'autres protéines ont donné des résultats plus décevants (revu par Bhopale, 2003), ces vaccins ADN plasmidiques s'avérant peu immunogènes. Une possibilité d'amélioration, serait l'utilisation de vaccins ARN qui seraient plus efficaces pour induire une réponse immunitaire protectrice (Bout, 2002).

1.2.2. Nature de l'adjuvant

Les travaux expérimentaux ont montré que l'immunisation avec un extrait de toxoplasme associé à la toxine cholérique augmentait la résistance à l'infection (Bout, 2002). Cet adjuvant est à la fois un bon inducteur de sécrétion d'IgA spécifiques et d'IFN- γ . D'autres adjuvants ont été utilisés en particulier des entérotoxines thermosensibles d'*Escherichia coli*, qui, administrés avec la protéine SAG1, induisent une bonne réponse cellulaire et humorale.

1.2.3. Voie d'immunisation

Dans les modèles expérimentaux, la majorité des vaccins ont été administrés par voie parentérale. Cette voie d'immunisation induit rarement une bonne immunité muqueuse. Ce point est capital car, *in vivo*, le premier contact entre l'organisme et le parasite se situe au niveau de la muqueuse intestinale. L'utilisation d'un vaccin oral paraît donc logique. Toutefois, le tractus digestif étant un milieu peu favorable à l'antigène, la vaccination orale nécessite un inoculum important pour être efficace (Bout, 2002). La voie intra nasale s'est avérée efficace dans la mesure où elle permet, avec des doses antigéniques faibles, d'induire une réponse immunologique muqueuse importante (Wu, 1997). L'administration par cette voie de la protéine SAG1 associée à la toxine cholérique s'est avérée efficace pour la protection des souris et induit une réduction importante du nombre de kystes chez l'animal immunisé (Debard, 1996).

1.2.4. Evaluation de l'efficacité vaccinale

Expérimentalement, l'efficacité d'un vaccin peut être évaluée par la réduction de mortalité à la suite d'un challenge par une souche létale, par la réduction de la charge parasitaire, estimée soit par le nombre de kystes dans le cerveau soit par PCR quantitative (Kirisits, 2000), ou par la réduction de la transmission materno-fœtale.

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

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

2. Vaccination chez l'animal

Elle peut être envisagée chez le bétail comme moyen de prévention des manifestations cliniques de la toxoplasmose (avortement), et, indirectement pour réduire le risque de

contamination de l'homme. On peut également concevoir une vaccination chez le chat afin de réduire le risque de dissémination parasitaire dans l'environnement.

2.1. Vaccination des petits ruminants

La toxoplasmose est une des principales causes d'avortement chez la brebis et chez la chèvre (cf. Question 3). Dans un troupeau non protégé, une épidémie de toxoplasmose se produisant en période de gestation entraînera de nombreux avortements. Par contre, une immunité acquise au décours d'une primo-infection, confèrera une protection durable à l'animal.

Le vaccin OVILIS TOXOVAX²² est destiné exclusivement aux ovins, dans le but de prévenir une infection pendant la gestation – et donc le risque de toxoplasmose congénitale et d'avortement. Ce vaccin consiste en une suspension de tachyzoïtes de la souche S 48 de *Toxoplasma gondii* isolée à partir de membranes fœtales d'un avortement d'agneau et ayant subi 2 passages par semaine depuis 1958. Cette souche est dite « incomplète » car elle a perdu sa capacité à former des kystes tissulaires (Buxton, 1993). De plus, chez le chat, cette souche s'est avérée incapable de produire des oocystes. Le vaccin est commercialisé sous forme de flacons multi-doses que l'éleveur doit reconstituer avec un solvant et utiliser dans les 2 heures. Il doit donc être manipulé avec précaution et surtout ne doit pas être administré chez l'homme. L'injection se fait par voie intramusculaire et provoque une hyperthermie transitoire dans les 10 jours qui suivent l'injection. Les brebis doivent être vaccinées au moins 3 semaines avant la période de reproduction et les agnelles de remplacement (jeunes brebis remplaçant les brebis âgées) doivent être vaccinées à partir de l'âge de 5 mois. La durée de l'immunité n'est pas connue mais elle couvre 2 saisons d'agnelage. Dans les conditions de terrain le vaccin n'est administré qu'une fois. Pour les troupeaux ayant une haute valeur génétique ou n'étant pas soumis à des infections naturelles, il est recommandé de renouveler la vaccination tous les 2 ans (documentation Intervet).

Après vaccination, le parasite se multiplie dans les ganglions régionaux pendant 5 à 10 jours. Au cours de cette période, des tachyzoïtes peuvent être détectés dans le sang. Passé ce délai, ils disparaissent au profit des anticorps spécifiques. Des parasites viables n'ont pas été retrouvés dans les tissus des brebis vaccinées à partir du 10^{ème} jour post-vaccination et pendant une période de 6 mois (Buxton, 1995).

Le pic d'anticorps est atteint en 6 semaines, puis décroît progressivement jusqu'à 20 semaines.

L'efficacité de ce vaccin sur les avortements a été démontrée au cours de plusieurs études (Buxton, 1995) :

Onze mille brebis de 1 an réparties en 101 troupeaux ont été vaccinées. Les résultats ont montré que 20 troupeaux ont été exposés à des infections naturelles et que chez les animaux vaccinés, l'avortement était réduit de façon significative, et que les agneaux étaient de classe supérieure dans les critères d'évaluation des carcasses. Une étude menée en 1992 par l'Institut Moredun (Grande-Bretagne) et publiée par Intervet sous forme de rapport technique confirme la bonne protection des brebis pendant la gestation. Au cours de ce travail, trois lots de brebis gestantes ont été individualisés. Le lot A comprenait 32 animaux vaccinés 77 jours avant fécondation et soumis à une infection par ingestion de kystes de *T. gondii*. Le lot B comprenait 20 brebis gestantes et soumises également à une infection dans les mêmes conditions. Enfin, le lot C contrôle comprenait 10 brebis gestantes non vaccinées, non soumises à infection.

Les résultats ont montré que le pourcentage d'agneaux viables était comparable entre le lot A et le lot C et significativement plus faible dans le lot B. Cependant, le faible nombre d'animaux inclus dans chaque lot limite la portée de ces résultats.

Une autre étude effectuée selon un protocole similaire a montré que le vaccin Ovilis Toxovax améliorerait les performances de reproduction, avec notamment un poids des agneaux

²²Le vaccin OVILIS TOXOVAX, est commercialisé par la Société INTERVET

supérieur dans le groupe vacciné. De plus, le groupe des agneaux vaccinés présentait une bonne réponse anticorps de type secondaire 75 semaines après vaccination.

Ces résultats, très prometteurs, sont donc en faveur de l'efficacité du vaccin. Ils doivent être modulés par le fait qu'il s'agit d'un vaccin vivant, atténué par passages successifs. Il est toujours à craindre que sous l'influence de stimuli extérieurs pour l'instant inconnus, la souche puisse retrouver sa virulence. Une possibilité intéressante consisterait à définir parmi les antigènes exprimés par la souche S 48 ceux, qui présentés de façon appropriée au système immunitaire, induiraient une immunité protectrice.

En ce qui concerne la possibilité de consommer la viande des animaux vaccinés, l'AMM du vaccin précise de respecter un temps d'attente de 6 semaines entre la vaccination et la commercialisation de la viande. Pour la consommation de lait, cette recommandation est sans objet.

La vaccination ne peut cependant pas être une garantie de l'absence de kystes dans la viande, car on ne peut exclure une contamination naturelle antérieure à la vaccination, celle-ci n'éliminant pas les kystes antérieurement formés. De même une contamination naturelle postérieure à la vaccination est possible ; elle induit un renforcement de l'immunité (effet de rappel), ne provoque pas de manifestation clinique ni d'avortement mais cela n'exclut pas la formation de kystes (D. Buxton, EA Innes, communication personnelle, août 2005).

2.2. Vaccination du chat

Une autre possibilité d'immunisation animale est représentée par la souche T 263 de *Toxoplasma gondii* qui, administrée par voie orale à des chats, induit une réaction immunitaire qui supprime l'élimination d'oocystes dans les fécès. Cette souche parasitaire est maintenue par passage intra-péritonéal chez la souris (Freyre, 1993). Tous les chats immunisés par ingestion de kystes ou de bradyzoïtes obtenus par digestion pepsinique de kystes ont présenté des séroconversions. Après contamination par des souches oocystogènes, aucune forme parasitaire n'a été observée dans les fécès de chats. De façon intéressante, des chats immunisés par des tachyzoïtes de T-263 administrés par tubages duodénaux ont présenté une séroconversion. Par contre, la réaction immunitaire induite ne supprime pas totalement la sécrétion d'oocystes. Ces travaux montrent bien l'importance du stade parasitaire dans l'orientation de la réponse immunitaire. L'idée de vacciner les chats pour supprimer l'émission d'oocystes est une idée originale dans la mesure où elle ne protège pas l'animal, mais diminue la biomasse parasitaire dans le milieu. Pour être efficace, une telle vaccination devrait être réalisée à large échelle chez le tout jeune chat avant que ne survienne la contamination naturelle.

2.3. Autres perspectives utilisant des vaccins vivants

D'autres vaccins vivants atténués ont été utilisés dans le modèle murin. La souche TS4 a été obtenue par mutation chimique. Cette souche est thermosensible et ne peut pas se multiplier ou former des kystes à une température de 37°C. Cette souche est avirulente chez la souris immunocompétente, par contre elle est létale chez la souris *nude* déficiente en lymphocytes T. Chez la souris normale, elle induit une bonne protection contre la réinfestation expérimentale. Cette résistance est essentiellement médiée par les lymphocytes T CD8+. De plus, des anticorps monoclonaux anti-IFN- γ suppriment cette protection. La transmission verticale de la maladie est réduite chez les souris immunisées par voie digestive, mais non chez les animaux immunisés par voie sous-cutanée (revu par Bout, 2002). Plus récemment, Fox (2002) a montré que la voie de synthèse *de novo* des pyrimidines était indispensable à l'expression de la virulence de *Toxoplasma gondii*. Une souche RH rendue déficiente pour une enzyme clé de la voie de synthèse des pyrimidines (Carbamoyl phosphate synthetase 2) devient totalement avirulente chez la souris BALB/C immunocompétente et également chez les souris déficitaires en IFN- γ . De plus, une seule injection de cette souche mutée confère une immunité durable chez la souris.

En conclusion, l'intérêt des vaccins anti-toxoplasmiques chez l'animal est évident. Toutefois, la vaccination à large échelle se heurte à un problème économique et technique. L'utilisation de vaccins mutés génétiquement afin d'obtenir une suppression de leur virulence pose toujours un problème de biosécurité. D'autre part, ces vaccins ont une durée de vie relativement courte et nécessitent des conditions de conservation et d'utilisation contraignantes. Enfin, du fait de leur coût de production, il convient de cibler parfaitement le ou les animaux les plus impliqués dans la transmission de la maladie à l'homme. Si en Europe la viande de mouton semble être la source principale d'infection, aux États-Unis, il semble que ce soit le porc (Araujo, 1994). Il est à craindre que l'efficacité des vaccins diffère d'une espèce à l'autre.

3. Perspectives vaccinales chez l'homme

Pour l'instant, aucune étude de vaccination antitoxoplasmique n'a été entreprise chez l'homme. Les données expérimentales proviennent exclusivement de travaux réalisés chez la souris. Des recherches chez le rat, modèle de résistance similaire à l'homme, devraient être encouragées. Les vaccins tués ou les antigènes purifiés s'étant avérés peu immunogènes et peu protecteurs dans les modèles animaux, les recherches dans ce domaine ont jusqu'à ce jour essentiellement porté sur des vaccins vivants atténués. Or de tels vaccins sont inutilisables chez l'homme du fait du risque de mutation qui pourrait restituer sa virulence au parasite.

En théorie, la vaccination de l'homme contre la toxoplasmose reste envisageable. Les modèles animaux ont apporté des informations immunologiques essentielles à la conception d'un vaccin efficace, et les progrès récents de la biologie moléculaire et de la vaccinologie, notamment par l'utilisation de vaccins ADN codant pour des épitopes très immunogènes et l'amélioration des conditions de vaccination (voie intra-nasale, utilisation d'adjuvants efficaces et bien tolérés) permettent d'être optimistes.

Toutefois, l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin chez l'homme est, nous l'avons vu, très problématique.

En plus des contraintes scientifiques, des aspects économiques et de santé publique, risquant de freiner la recherche dans ce domaine, doivent être évalués.

La mise au point d'un vaccin moderne, les contrôles de sécurité auxquels il est soumis avant d'être commercialisé, font que son coût de production est élevé. Pour inciter l'industrie à entreprendre la mise au point d'un vaccin, il faut avoir une vision claire des populations cibles ainsi que la certitude que les pouvoirs publics aient identifié la maladie comme étant importante en terme de santé publique (André, 2001).

Il conviendrait dès à présent de déterminer les personnes pouvant bénéficier de cette vaccination afin d'évaluer le marché potentiel du vaccin.

- Un vaccin sûr, conférant une immunité durable pourrait être inclus dans le carnet de vaccination des petites filles. Si l'immunité est de durée limitée, la vaccination devra être pratiquée plus tardivement voire même être renouvelée au cours de la période d'activité génitale. L'acceptabilité d'une telle mesure doit être évaluée. Une étude coût/bénéfice d'une campagne de vaccination doit également être préalablement entreprise afin de convaincre les pouvoirs publics de son intérêt pour la population.
- Dans la mesure où ce vaccin pourrait prévenir les réactivations observées au cours d'une immunodépression, la population masculine pourrait également en bénéficier.

En conclusion, à l'heure actuelle, grâce aux progrès de l'immunologie et de la biologie moléculaire, le vaccin humain contre la toxoplasmose n'apparaît pas comme une utopie. Dans un premier temps, il paraît indispensable de parfaitement connaître les mécanismes de la réponse immunitaire impliquée dans la réponse contre le parasite, en particulier au niveau de la muqueuse intestinale. Dans un deuxième temps, les antigènes spécifiques devront être

sélectionnés en fonction de leur impact sur le système immunitaire ainsi que l'adjuvant le plus efficace et la meilleure voie d'administration du vaccin. En plus de l'aspect scientifique, l'intérêt économique d'un tel vaccin doit également être pris en considération.

Références bibliographiques

- André FG. The future of vaccines, immunisation concept and practice. *Vaccine*. 2001;19:2206-2209.
- Araujo FG. Immunization against *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Today*. 1994;10:358-360.
- Bhopale GM. Development of a vaccine for toxoplasmosis : current status. *Microbes Infection*. 2003;5:457-462.
- Bourguin I, Moser M, Buzoni-Gatel D, Tielmans F, Bout D, Urbain J, Leo O. Murine dendritic cells pulsed in vitro with *Toxoplasma gondii* antigens induce protective immunity in vivo. *Infect Immun*. 1998;66:4867-4874.
- Bout DT, Mevelec MN, Velge-Roussel F, Dimier-Poisson I, Lebrun M. Prospects for a human *Toxoplasma* vaccine. *Current Drug Targets Immune Endoc Metabol Disord*. 2002;2:227-234.
- Buxton D, Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitology*. 1995;110:S11-S16.
- Buxton D. Toxoplasmosis : the first commercial vaccine. *Parasitol Today*. 1993;9:335-337.
- Couper KN, Nielsen HV, Petersen E, Roberts F, Roberts CW, Alexander J. ADN vaccination with the immunodominant tachyzoite surface antigen (SAG1) protects against adult acquired *Toxoplasma gondii* infection but does not prevent maternofetal transmission. *Vaccine*. 2003;21:2813-20.
- Debard N, Buzoni-Gatel D, Bout D. Intranasal immunization with SAG1 protein of *Toxoplasma gondii* in association with cholera toxin dramatically reduces development of cerebral cysts after oral infection. *Infect Immun*. 1998;64:2158-2166.
- Dimier-Poisson I, Aline F, Mevelec MN, Beauvillain C, Buzoni-Gatel D, Bout D. Protective mucosal Th2 immune response against *Toxoplasma gondii* by murine mesenteric lymph node dendritic cells. *Infect Immun*. 2003;71:5254-65.
- Freyre A, Choromanski L, Fishback JL, Popiel I. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*. 1993;79:716-719.
- Fox BA, Bzik DJ. *De novo* pyrimidine biosynthesis is required for virulence of *Toxoplasma gondii*. *Nature*. 2002;415:926-929.
- Jenkins MC. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Vet Parasitol*. 2001;101:291-310.
- Kirisits MJ, Mui E, McLeod R. Measurement of the efficacy of vaccines and antimicrobial therapy against infection with *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*. 2000;30:149-155.
- Letscher-Bru V, Villard O, Risse H, Zauke M, Klein JP, Kien TT. Protective effect of vaccination with a combination of recombinant surface antigen 1 and Interleukin-12 against toxoplasmosis in mice. *Infect Immun*. 1998;66:4503-4506.
- Letscher-Bru V, Pfaff AW, Abou-Bacar A, Filisetti D, Antoni E, Villard O, Klein JP, Candolfi E. Vaccination with *Toxoplasma gondii* SAG1 protein is protective against congenital toxoplasmosis in BALB/c mice but not in CBA/J mice. *Infect Immun*. 2003;71:6615-6619.
- Nielsen VH, Lauemoller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. *Infect Immun*. 1999;67:6358-6363.
- Wu H.Y., Nguyen HH, Russel M.W. Nasal lymphoid tissue (NALT) as a mucosal immune inductive site. *Scand J Immunol*. 1997;46:506-513.

Question 33 : quelles sont les recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte (prévention primaire) ?

Responsable de la question : M. Peyron

Co-rédacteurs : M. Thulliez

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Chêne

Depuis la mise en place du programme français de prévention de la toxoplasmose congénitale en 1978, deux mesures ont été prises pour promouvoir l'information des femmes à risque (séronégatives).

La première a consisté en la diffusion, en 1983, d'une circulaire²³ demandant aux médecins français de distribuer à toute femme enceinte séronégative une lettre d'information type. Celle-ci, élaborée par un groupe de spécialistes, comportait les recommandations suivantes :

- *Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé de la viande saignante ou de la terre et avant chaque repas.*
- *Manger de la viande très cuite. Ne pas manger de la viande saignante : beefsteak, tartares, fondue bourguignonne, brochettes, méchouis, côtelettes ou un quelconque morceau de viande crue.*
- *Laver à grande eau tous les aliments souillés de terre, surtout s'ils doivent être consommés crus, en particulier salade verte et fraises.*
- *Éviter les contacts avec les chats. Ne pas leur donner de viande crue. Faire nettoyer tous les jours par une autre personne, avec de l'eau bouillante ou un désinfectant, les récipients qui recueillent leurs excréments.*

Cette mesure n'a fait l'objet d'aucune vérification de son application ou d'évaluation de son efficacité. Cette démarche n'a pas été renouvelée à l'intention des médecins installés depuis 1983.

La circulaire de 1983 demandait également aux biologistes de fournir à leurs patientes une liste de recommandations. Aucune décision n'a été prise pour vérifier l'application de ces mesures.

En 1996, ont été publiées dans le BEH des recommandations pour la prévention de la séroconversion toxoplasmique chez les femmes enceintes (Anonyme, 1996). Ces recommandations, approuvées par le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France en février 1996, s'appuyaient sur les résultats d'une étude cas-témoin effectuée en France en 1995 (Baril, 1999). Elles étaient les suivantes :

- *Bien cuire la viande (bœuf, mouton, porc, cheval), c'est-à-dire une cuisson d'au moins 65°C dans toute l'épaisseur de la viande. Éviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée (comme cela peut être le cas pour le gibier).*
- *Lors de la préparation des repas : laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques surtout s'ils sont terreux et consommés crus. Laver soigneusement les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail. Se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue et avant de passer à table. Une bonne hygiène des mains et des ustensiles de cuisine est importante pendant la grossesse pour éviter la transmission de la toxoplasmose.*
- *Éviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments de chat (comme les bacs des litières, la terre) et porter chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets. Désinfecter les bacs des litières de chat avec de l'eau de Javel.*
- *Éviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après les activités de jardinage même si elles sont protégées par des gants.*

²³ Circulaire N° 605 DGS et DH du 27 septembre 1983 relative à la prévention de la toxoplasmose congénitale.

Une recherche sur Internet a permis de trouver de nombreux sites sur lesquels figurent des conseils pour la prévention primaire de la toxoplasmose. Comme on peut le voir sur le Tableau 43, ces recommandations sont très variées. On peut les regrouper en différentes rubriques :

- Hygiène alimentaire
- Hygiène corporelle
- Précautions vis-à-vis des chats
- Précautions concernant le mode de vie et les activités.

Ces conseils ne sont pas tous validés, comme ceux recommandant de pratiquer une sérologie à son chat ou de ne pas boire d'eau contaminée par *T. gondii*, et ne semblent pas réalistes.

Tableau 43 : Liste de recommandations disponibles sur Internet pour la prévention de la toxoplasmose

- Manger la viande bien cuite (mouton, bœuf, veau, porc, cheval, gibier) (cuisson à 65°C au moins dans toute l'épaisseur de la viande).
- Ne pas « goûter » la viande avant qu'elle ne soit cuite.
- Eviter le steak tartare, les grillades et la fondue bourguignonne.
- Congeler la viande à -20° Celsius pendant deux jours avant de la manger saignante.
- Ne pas manger de charcuterie crue, fumée ou salée.
- Ne pas gober d'œufs crus.
- Ne pas consommer de lait non pasteurisé (en particulier de chèvre).
- Laver abondamment les fruits et les légumes destinés à être mangés crus.
- Enlever la terre des aliments et des fruits avant de les manger.
- Ne pas porter la main à la bouche ou au visage (ne pas fumer) pendant que l'on manipule de la viande crue, pendant que l'on s'occupe de la litière de son chat ou que l'on manipule un objet potentiellement souillé par les selles de son chat.
- Laver les instruments de cuisine, les éviers et les plans de travail qui ont été en contact avec de la viande crue ou tout aliment susceptible d'avoir été en contact avec de la viande crue.
- Utiliser des assiettes séparées pour la viande crue et pour les aliments cuits.
- Se laver les mains avec de l'eau et du savon avant les repas, avant de se toucher la bouche ou les yeux et après avoir manipulé de la viande crue, de la terre (ou des objets souillés par de la terre), des fleurs coupées ou la litière d'un chat.
- Déterminer le statut sérologique de son chat.
- Changer sa litière tous les jours et laver la caisse avec de l'eau bouillante.
- Eviter de s'occuper de la litière soi-même, à tout le moins porter des gants pour le faire.
- Ne pas entreposer la litière du chat dans la cuisine.
- Eviter tout contact avec du matériel qui a pu être en contact avec les matières fécales d'un chat.
- Mettre des gants pour travailler la terre susceptible d'avoir été contaminée par des excréments de chat.
- Couvrir les bacs à sable pour en empêcher l'accès aux chats.
- Ne nourrir son chat qu'avec des produits cuits ou des conserves.
- L'empêcher de sortir seul et de chasser.
- Lui attacher une clochette autour du cou pour effrayer ses proies potentielles (sic).
- Ne pas ramener chez soi un chat qui a pu se nourrir de viande crue.
- Ne pas adopter de chats errants ni de chatons.
- Lutter contre les mouches et les cafards.
- Eviter les voyages dans des zones de transmission importante.
- Ne pas boire de l'eau contaminée par *T. gondii*.
- Ne pas prendre de repas en dehors de son domicile.

Diffusion de ces recommandations

Ces recommandations publiées dans le BEH n'ont pas fait l'objet d'une diffusion particulière auprès du grand public ou auprès des médecins qui sont la première source d'information des patientes (Wallon, 1994).

Une étude faite récemment auprès des médecins généralistes de Bourgogne a montré que beaucoup avaient une connaissance insuffisante des modes de contamination (Binet, 2003). Ainsi, près de 74% des praticiens interrogés considéraient qu'une griffure de chat pouvait être un facteur de risque, 23% invoquaient la consommation de fromage cru. La pratique du jardinage était considérée comme un facteur de risque par 52% des praticiens, la consommation de jambon fumé par 36 %. Onze pour cent citaient un voyage en zone tropicale comme mode de contamination.

Les médecins généralistes et gynécologues français ne sont pas suffisamment informés de l'existence de ces recommandations, ce qui expliquerait les nombreux documents édités par les praticiens eux-mêmes et leur contenu souvent imprécis (Wallon, communication personnelle).

Des conseils sont également disponibles dans la presse. Ils manquent souvent de précision (exemple : « la viande peut être consommée crue si elle a été préalablement congelée », sans précision de température ou de durée).

Ho-Yen et coll. (1995) ont examiné le matériel utilisé pour l'information des femmes à risque dans plusieurs pays d'Europe, dont la France, et ont découvert des différences de présentation et de contenu importantes. Certains participants à cette enquête ignoraient que des documents étaient disponibles dans leur propre pays.

Après analyse du matériel utilisé en Angleterre et au Pays de Galles, une étude a abouti à la même conclusion, à savoir qu'il est urgent d'accorder plus d'intérêt aux possibilités offertes par l'éducation pour la santé, à l'évaluation des moyens disponibles dans ce domaine et, peut-être, à la conception de nouvelles méthodes (Newton, 1995). Cette opinion est également partagée par Pawlowski à l'issue d'une campagne d'information des femmes enceintes en Pologne (Pawlowski, 2001).

En conclusion, il existe de nombreuses recommandations concernant la prévention primaire de la toxoplasmose. Certaines d'entre elles ne sont pas suffisamment validées. Afin d'éviter toute confusion, il est important d'établir une liste officielle de recommandations, de s'assurer de leur diffusion auprès des médecins, d'étudier leur diffusion réelle et d'évaluer leur impact auprès des femmes enceintes. La Question 35 présente les résultats d'études portant sur le niveau de connaissance des femmes enceintes et sur l'efficacité des programmes d'éducation. Ces données montrent la nécessité d'informer les femmes et d'évaluer l'efficacité des campagnes d'information.

Références bibliographiques

- Anonyme. Recommandations pour la prévention de la séroconversion toxoplasmique chez les femmes enceintes. BEH. 1996;16:75.
- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez Ph, Tirard Fleury V, Carne B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in Pregnancy : A case control study in France. Scand J Infect Dis. 1999;31:305-9.
- Binet C. Evaluation des stratégies de dépistage et de prise en charge de la toxoplasmose congénitale. Thèse de doctorat, Dijon, 2003.
- Ho-Yen DO, Dargie L, Chatterton JMW, Petersen E. *Toxoplasma* health education in Europe. Health Educ J. 1995;54:415-20.
- Newton LH, Hall SM. A survey of health education material for the primary prevention of congenital toxoplasmosis. Communicable Dis Report. 1995;5:R21-7.
- Pawlowski ZS, Gromadcka-Stutkiewicz M, Skommer J, Paul M, Rokossowski H, Suchocka E, Schantz PM. Impact of health education on knowledge and prevention behavior for congenital toxoplasmosis: the experience in Poznan. Poland Health Educ Res. 2001;16:493-502.
- Wallon M, Mallaret MR, Mojon M, Peyron F. Toxoplasmose congénitale, évaluation de la politique de prévention. Presse Med. 1994;23:1467-70.

Question 34 : en fonction des données actualisées sur la biologie et l'épidémiologie de *Toxoplasma gondii*, les recommandations actuelles de prévention de la toxoplasmose chez les femmes enceintes sont-elles toujours valables ? Quelles autres mesures pourraient être préconisées ?

Responsable de la question : M. Peyron
Co-rédacteurs : Mme Tenaillon, M. Thulliez
Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Chêne

Dans cette question, nous n'aborderons que la prévention de l'infection de la femme enceinte, fondée sur des mesures hygiéno-diététiques et comportementales, sachant qu'il s'agit indirectement d'une prévention de la toxoplasmose fœtale. Les traitements visant à réduire le risque de transmission materno-fœtale, les lésions fœtales et leurs séquelles sont exposés dans la Question 3. Les perspectives vaccinales sont exposées dans la Question 32.

1. Justification des mesures de prévention

En France, la politique de détection anténatale systématique de la toxoplasmose (contrôle sérologique des femmes enceintes) permet d'informer les femmes à risque (séronégatives) des mesures hygiéno-diététiques et comportementales visant à réduire le risque d'infection. Les informer des mesures validées de prévention est une conséquence logique en terme de santé publique. Le livre bleu, édité par le Comité National de l'Enfance et envoyé par les Caisses d'Allocations Familiales dès la déclaration de grossesse, contient des informations sur les examens pratiqués pendant la grossesse, en particulier sur le dépistage de la toxoplasmose, et fait le point sur les recommandations d'hygiène alimentaire. Cependant, aucune politique active de prévention primaire n'est entreprise (Binquet, 2003). En particulier, l'absence de diffusion large de recommandations standardisées entraîne la multiplication d'initiatives individuelles, sources d'erreur et de confusion.

2. Pertinence et hiérarchisation des recommandations actuelles

Actuellement les seules recommandations officielles qui existent sont celles publiées dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (Anonyme, 1996) (cf. Question 33). Ces recommandations, émises par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) en février 1996, s'appuient sur les résultats d'une étude cas-témoins effectuée en France en 1995 (Baril, 1999).

La liste de ces recommandations est considérablement plus courte que celles qui figurent dans certains documents ou que l'on peut constituer d'après Internet (cf. Question 33), et qui mêlent sans distinction, risques anecdotiques et facteurs importants. Sachant que des recommandations trop nombreuses découragent et dissuadent tout effort de les appliquer, une liste courte et bien documentée de recommandations ne peut avoir qu'un effet positif sur la motivation à les suivre.

Pour évaluer la pertinence de ces mesures, nous les avons comparées avec les résultats de six études transversales ou cas-témoins, effectuées dans 7 pays européens (cf. Question 9). Les recommandations ont ainsi été classées en 2 groupes : « mesures indispensables », et les « autres mesures », étayées par un niveau insuffisant de preuve. Dans le paragraphe 3, nous présenterons les mesures qui ne figurent pas dans la liste actuelle du CSHPF mais qui sont identifiées comme importantes. Le Tableau 44 fait la synthèse de l'ensemble des recommandations.

3. Mesures indispensables

- *Cuisson de la viande.* La consommation de viande mal cuite est associée à un risque accru de toxoplasmose dans toutes les études et doit donc être *impérativement* retenue comme mode de transmission. La nature des viandes les plus à risque reste néanmoins imprécise. Le bœuf et le mouton sont le plus souvent incriminés dans les études cas-témoins, en particulier celles conduites en France (Baril, 1999). En revanche, les données parasitologiques disponibles soulignent la plus grande fréquence de la contamination des viandes de mouton et de porc plutôt que de bœuf, ce dernier apparaissant peu infecté par *T. gondii* (cf. Question 4 et Question 18). Il importe également de citer la viande de gibier, source occasionnelle mais reconnue de contamination humaine. Il convient donc d'insister sur l'importance de cuire la viande à une température de 67°C dans toute son épaisseur, ce qui dans certains cas pourra altérer ses qualités gustatives²⁴. L'efficacité de la cuisson au four à micro-ondes pour détruire les kystes n'est pas démontrée à ce jour (Dubey, 2000).
- *Lavage des mains.* Une mauvaise hygiène des mains est un mode de transmission retenu par 2 études cas-témoins. Il s'agit essentiellement de lavage des mains au cours de la préparation des repas. Une troisième étude démontre que le contact avec la terre, à rapprocher de l'hygiène des mains, est également un mode de transmission. Ces mesures doivent être logiquement étendues à l'hygiène des ustensiles de cuisine, dont le rôle a été trouvé dans une seule étude.
- *Lavage des crudités.* La consommation de crudités, surtout si elles peuvent être souillées par la terre, figure de façon explicite dans la liste officielle du CSHPF comme facteur de risque. Les mesures pour éviter ce mode de contamination doivent impérativement être maintenues. Il faut souligner l'importance du lavage à grande eau des végétaux souvent souillés par de la terre et consommés crus (radis, salade, fraises, champignons).
- *Précautions vis-à-vis du chat.* La femme enceinte doit surtout éviter de manipuler la litière du chat. Si cela s'avère impossible ou irréaliste, le port de gants et le nettoyage à l'eau bouillante des bacs des litières ou de tout objet ayant été en contact avec des excréments de chat sont impératifs. Une précaution supplémentaire consisterait à n'alimenter le chat qu'avec des aliments industriels.

4. Autres mesures

4.1. Mesures d'efficacité probable

- *Congélation de la viande.* La congélation préalable est un moyen pour détruire les kystes si elle atteint impérativement la température de -12°C à cœur, mais certains kystes peuvent parfois survivre à ces températures. En pratique, la réglementation française sur la congélation des viandes impose que sont « seuls autorisés les processus permettant d'obtenir une température inférieure ou égale à -12°C en tous points du produit » (arrêté du 26 juin 1974 publié au JORF le 31 juillet 1974). Pour les plats cuisinés et toute autre denrée d'origine animale vendue surgelée²⁵, cette température maximale est de -18°C. Cela signifie que la viande surgelée industriellement peut être considérée comme produit sans risque vis-à-vis de *T. gondii*, ce qui n'est pas le cas pour une congélation familiale

²⁴ D'après l'ADIV, pour les viandes rouges, une température à cœur de 68 à 72°C correspond à un aspect extérieur doré, voire marron, avec un centre rose très clair, presque beige (cuisson bien cuite). La température à cœur n'est que de 60 à 64°C lors de la cuisson « à point », et de 52 à 58°C lors de la cuisson saignante. Pour les viandes blanches, dans le cas de cuisson à sec, l'utilisation de températures comprises entre 65 et 80°C est communément admise.

²⁵ Surgélation : Processus permettant de franchir aussi rapidement que nécessaire, en fonction de la nature du produit, la zone de cristallisation maximale ayant pour effet que la température du produit dans tous ses points - après stabilisation thermique - est maintenue sans interruption à des valeurs égales ou inférieures à -18°C (Directive 89/108/CEE du 21 décembre 1988 relative au rapprochement des législations des Etats Membres concernant les aliments surgelés destinés à l'alimentation humaine)

qui peut être insuffisante pour détruire les kystes. Il est souligné que la surgélation des végétaux est quant à elle inefficace vis-à-vis des oocystes.

4.2. Mesures à confirmer car insuffisamment étayées par des preuves

- *La consommation de viande marinée, salée ou fumée* (comme cela peut être le cas pour le gibier) : on peut concevoir que toute viande soit potentiellement infectante et que son importance, en tant que source de contamination, varie en fonction des habitudes culinaires. L'efficacité du mode de préparation sur la destruction des kystes doit être vérifiée. La salaison et la fumaison industrielles sont probablement efficaces (Dubey, 2000), mais les procédures artisanales sont aléatoires. Leur efficacité dépend de la concentration en sel et de la température. La consommation de viande marinée, salée ou fumée est donc *a priori* à éviter.
- *La consommation de volaille*. Dans certains pays, *T. gondii* a fréquemment été isolé chez la volaille élevée en plein air. Le risque d'infection humaine n'est pas nul, mais n'est pas évalué en France.

4.3. Mesures relevant de la précaution mais dont l'efficacité formelle n'a pas été démontrée

- *La consommation de crudités en restauration hors foyer* : Il apparaît prudent de l'éviter car la prise des repas en dehors du domicile a été identifiée comme facteur de risque dans une étude (Baril, 1999). Il est en effet logique de penser que dans ces circonstances, il n'est pas possible de contrôler la façon dont les crudités sont lavées.
- *La consommation de fruits de mer* est parfois évoquée comme une source possible d'infection toxoplasmique. Plusieurs études montrent qu'il est possible de contaminer expérimentalement les mollusques par des oocystes de *T. gondii*. En conditions naturelles, cette contamination n'a jamais été prouvée, par opposition à *Cryptosporidium* et aucune infection humaine par *T. gondii* n'a été démontrée jusqu'à présent à partir des fruits de mer (Butt, 2004). Par précaution, il pourrait toutefois être recommandé d'éviter la consommation de mollusques crus.
- *La consommation de lait de chèvre cru* a été à l'origine de quelques cas de toxoplasmose. Il apparaît prudent de l'éviter.
- *La lutte contre les insectes*, potentiellement vecteurs passifs d'oocystes de *T. gondii* est une précaution d'hygiène aussi bien valable pour *T. gondii* que pour d'autres microbes.

4.4. Mesures devant faire l'objet d'une vigilance et d'une évaluation complémentaire

- *L'eau destinée à la consommation humaine*. Le rôle potentiel de l'eau comme source de contamination a clairement été démontré. Cependant, les données épidémiologiques manquent pour quantifier ce risque dans notre pays. Le risque potentiel existe pour des eaux peu ou pas traitées, et susceptibles d'être contaminées par des oocystes issus de chats ou de félinés sauvages. Des études appropriées doivent impérativement être entreprises pour mieux définir ce risque, et le cas échéant, des procédés de traitement appropriés de l'eau, ou des règles de prévention, devront être proposées.

4.5. Mesures éventuellement envisageables : immunisations / vaccinations

- *La vaccination systématique des animaux de boucherie*

A terme, cette éventualité reste possible compte tenu de l'efficacité des vaccins chez les moutons (cf. Question 32). Toutefois, le vaccin actuel est efficace pour la prévention des avortements des ovins mais ne garantit pas leur protection contre leur infection. Son efficacité sur d'autres animaux (bovins, porcs) reste à évaluer. Le coût de cette vaccination reste un facteur limitant son application systématique dans tous les élevages.

- *La vaccination systématique des chats*

A terme, cette éventualité reste envisageable avec des vaccins vivants atténués (cf. Question 32). En pratique, elle ne serait efficace que si elle est pratiquée chez de très jeunes chats et de façon systématique. Cependant, le coût de cette vaccination et surtout l'importance du nombre de chats libres ou errants, qui ne peuvent être atteints par la vaccination, rendent cette proposition peu réaliste.

- *La vaccination de femmes à risque*

Actuellement nous ne disposons pas de vaccin antitoxoplasmique humain (cf. Question 32).

- *Immunisation naturelle chez l'homme*

Il a pu être suggéré de préconiser la consommation de viande peu cuite aux enfants dans le but d'acquérir une toxoplasmose (considérée comme bénigne), et d'être ainsi immunisé contre une ré-infection ultérieure. Cette proposition soulève des problèmes médicaux et éthiques importants car, sous couvert d'une mesure d'incitation à un régime alimentaire particulier ; elle reviendrait à provoquer une parasitose chez l'individu pour le reste de sa vie, avec les risques cliniques que cela comporte en cas d'immunodépression. On ne dispose pas de traitement permettant d'éradiquer de l'organisme humain les parasites qui y auraient été introduits.

4.6. Mesures récusées

La proposition de traiter à titre prophylactique les femmes enceintes séronégatives par des médicaments anti-parasitaires est irrecevable compte tenu des effets secondaires et du manque d'information sur l'efficacité de ces médicaments.

5. **Mesures inefficaces et idées fausses**

Ne sont pas à risque :

- la consommation de poisson,
- les griffures du chat,
- la consommation de lait de vache et de fromages.

N'apportent pas de garantie supplémentaire :

- l'utilisation de l'eau vinaigrée pour le lavage des végétaux,
- l'utilisation de l'eau de Javel pour le nettoyage de la litière du chat,
- l'analyse des selles du chat ou de sa sérologie.

Références bibliographiques

- Anonyme. Recommandations pour la prévention de la séroconversion toxoplasmique chez les femmes enceintes. BEH. 1996;16:75.
- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez Ph, Tirard Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in Pregnancy: A case control study in France. Scand J Infect Dis. 1999;31:305-9.
- Binquet C. Evaluation des stratégies de dépistage et de prise en charge de la toxoplasmose congénitale. Thèse de Doctorat, Université de Dijon, 2003.
- Butt AA, Aldridge KE, Sanders CV. Infections related to the ingestion of seafood. Part II: parasitic infections and food safety. Lancet Infect Dis. 2004;4:294-300.
- Dubey JP. The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures. In: Ambroise-Thomas P, Petersen E (eds). Congenital Toxoplasmosis. Paris, France: Springer-Verlag; 2000:271-5.

Tableau 44 : Synthèse actualisée des recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte

Recommandations indispensables		Précisions
Hygiène personnelle	<p>Se laver les mains :</p> <ul style="list-style-type: none"> - surtout après avoir manipulé de la viande crue, des crudités souillées par de la terre ou avoir jardiné, - avant chaque repas. 	Brossage des ongles recommandé.
Hygiène domestique	<p>Porter des gants pour jardiner ou pour tout contact avec de la terre.</p> <p>Faire laver chaque jour, par une autre personne, le bac à litière du chat avec de l'eau bouillante, ou porter des gants.</p>	Faire particulièrement attention aux jeunes chats, surtout s'ils chassent, et aux chats errants.
Hygiène alimentaire	<p>Bien cuire tout type de viande (y compris la volaille et le gibier). En pratique, une viande bien cuite a un aspect extérieur doré, voire marron, avec un centre rose très clair, presque beige et ne laisse échapper aucun jus rosé.</p> <p>Lors de la préparation des repas, laver à grande eau les légumes et les plantes aromatiques, surtout s'ils sont terreux et consommés crus.</p> <p>Laver à grande eau les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail.</p>	<p>Une viande bien cuite correspond à une température à cœur comprise entre 68 et 72°C.</p> <p>Éviter la cuisson des viandes au four à micro-ondes.</p> <p>Précautions particulièrement renforcées pour les végétaux constamment souillés par de la terre et consommés crus; radis, salade, fraises, champignons.</p>
Recommandations complémentaires		
Congélation	<p>La congélation des denrées d'origine animale à des températures inférieures à -18°C (surgélation) permet la destruction des kystes, et peut être proposée comme recommandation complémentaire de prévention.</p>	Précisions
Repas en dehors du domicile	<p>Ne consommer de viande que bien cuite. Éviter les crudités. Préférer les légumes cuits.</p> <p>Autres recommandations (relevant de la précaution)</p>	
Aliments déconseillés	Lait de chèvre cru.	Risque exceptionnel mais avéré.
	Viande marinée, saumurée ou fumée.	Risque potentiel.
	Huîtres, moules et autres mollusques consommés crus.	Risque hypothétique à confirmer.

Question 35 : les recommandations actuelles de prévention de la toxoplasmose sont-elles connues et appliquées ? Sont-elles évaluées ?

Responsable de la question : M. Peyron

Co-rédacteurs : Mme Wallon

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mme Chêne

1. Connaissance des recommandations par les femmes enceintes

Parmi les quatre études françaises publiées sur ce sujet (Tableau 45), trois concluaient à un niveau de connaissance satisfaisant puisque 71 % à 96 % des participantes pouvaient citer deux modes de prévention de la toxoplasmose (Baril, 1999 ; Carme, 1994 ; Goulet, 1990), alors que cette proportion n'était que de 35 % dans la dernière enquête (Wallon, 1994). Les participantes non immunisées étaient mieux informées que les autres dans deux études (Baril, 1999 ; Carme, 1994) et aussi bien informées dans une (Wallon, 1994).

Ces différences entre l'étude lyonnaise (Wallon, 1994) et les 3 autres s'expliquent probablement par des différences de méthodologie portant sur :

- *Les circonstances de l'enquête et l'origine des participantes* : les femmes enceintes interrogées par Baril (1999) venaient de présenter une séroconversion ou étaient séronégatives. En revanche, dans les autres études, dont l'étude lyonnaise, le niveau de connaissance de femmes accouchées séronégatives était comparé à celui de femmes immunisées avant la grossesse qui, en principe, n'avaient pas reçu de rappel d'information sur la toxoplasmose.
 - La proportion de femmes d'origine étrangère était identique dans les études de Goulet (1990) et Wallon (1994), légèrement inférieure dans celle de Carme (1994) et non précisée dans la troisième.
 - Toutes les participantes interrogées par Carme (1994) provenaient de la même maternité : 60% d'entre elles avaient reçu une feuille d'information en début de grossesse ; il est donc possible que leur niveau d'information ait été meilleur que celui de la population générale de femmes enceintes séronégatives.
- *Le mode d'administration du questionnaire* : par téléphone dans un cas (Baril, 1999), en face à face dans les trois autres cas. Dans trois situations (Baril, 1999, Carme, 1994 ; Wallon, 1994), toutes les participantes étaient interrogées par le même enquêteur.
- *Le type de question* : selon les protocoles, les patientes étaient interrogées sur les modes de "contamination" ou les modes de "prévention". Cette différence dans la formulation des questions était susceptible d'induire des réponses différentes.

2. Application des recommandations par les femmes enceintes

Parmi 387 femmes non immunisées interrogées en post-partum en 1991 dans le Rhône, seules 17 % avaient appliqué les mesures de prévention de façon satisfaisante (Wallon, 1994). La qualité de la prévention n'était pas associée de façon significative avec l'âge des femmes, leur parité ou leur catégorie socio-professionnelle mais était associée à leur niveau de connaissance. La bonne connaissance des facteurs de contamination ne se traduisait cependant pas toujours par un comportement approprié. Les opinions sur la prévention de la toxoplasmose, recueillies par des questions ouvertes, ont révélé plusieurs attitudes inappropriées : sentiment de toute puissance ou de fatalité, sentiment d'invulnérabilité, confiance exagérée en l'existence d'un traitement efficace en cas de contamination fœtale.

Tableau 45 : Caractéristiques et résultats de 4 études publiées sur le niveau de connaissance des femmes enceintes sur la toxoplasmose

Premier auteur, année de publication	Goulet, 1990	Wallon, 1994	Carme, 1994	Baril, 1999
Année de l'étude	1986	1991	1993-1994	1995
Lieu de l'étude	15 maternités (région parisienne)	22 maternités (département du Rhône)	maternité du CHU d'Amiens	France (surtout Nord)
Effectif	2013 accouchées (740 séronégatives)	806 accouchées (389 séronégatives)	987 accouchées (376 séronégatives)	160 femmes enceintes : - 80 séroconversions - 80 témoins séronégatifs
Origine géographique	Métropole : 83 %	Métropole : 80 %	Métropole : 90 %	Non précisé
Mode de sélection	Tous les accouchements pendant un mois dans chaque maternité	Tous les accouchements pendant 7 jours dans chaque maternité	Un accouchement sur deux pendant un an	Témoin désigné pour chaque séro-conversion par le médecin qui a fait le diagnostic
Mode d'administration du questionnaire	Face à face Sages-femmes	Face à face Enquêteur unique	Face à face Enquêteur unique	Téléphone Enquêteur unique
Evènements mesurés	Connaissance Comportement	Connaissance Comportement	Connaissance	Connaissance
Connaissance séronégatives	Au moins 2 facteurs de risque 71 %	Au moins 2 facteurs de risque 51 %	Au moins 2 facteurs de risque 96 %	Au moins 2 facteurs de risque 96 %
séropositives	non précisé	50 %	60 % OR : 15 (10-23)	88 % (p = 0,04)

Abréviation : OR : Odds-ratio

3. Evaluation de l'efficacité des programmes d'éducation pour la santé

Pour être considérées comme efficaces, les recommandations de prévention primaire doivent aboutir à une diminution du risque de séroconversion grâce à l'application active des conseils prodigués.

3.1. Données de la littérature

Quatre études épidémiologiques ont été publiées sur l'efficacité d'un programme de prévention primaire de la toxoplasmose congénitale (Tableau 46).

Le seul essai randomisé a été réalisé au Canada (Carter, 1989). Il visait à mesurer l'effet sur le comportement de prévention d'un court programme d'information (10 minutes) donné en début de grossesse, à l'occasion de séances d'information (groupe expérimental) par comparaison à un groupe témoin. Les femmes qui participaient à l'expérience étaient interrogées par auto questionnaire avant et après l'intervention.

Les femmes qui avaient bénéficié de l'information spécifique sur la toxoplasmose déclaraient avoir pris plus de précautions vis à vis des chats et lors de la préparation de la viande de bœuf. En revanche, l'intervention n'a pas entraîné de modifications en matière d'hygiène personnelle. Le petit nombre de sujets disponibles (n = 285) n'a pas permis d'étudier l'impact de l'information sur l'incidence des séroconversions. Lors de l'interprétation des résultats, aucune distinction n'a pu être réalisée entre les femmes immunisées et celles qui ne l'étaient pas.

Les trois autres enquêtes ont rapporté l'effet d'un programme de prévention sur l'incidence des séroconversions (Conyn-van Spaendonck, 1989 ; Foulon, 1988 ; Roux, 1976). Aucune n'était randomisée ou ne comportait de groupe témoin. L'efficacité de recommandations écrites, données en début de grossesse, était étudiée en même temps que celle d'un programme de dépistage mis en place parallèlement. Les taux de séroconversion mesurés après l'introduction du programme de prévention ont été comparés à des estimations antérieures. Les trois études concluaient à une réduction significative de l'incidence des infections après introduction du programme : de 4,3 % à 1,6 % pour Roux (1976), de 0,5 % à 0,2 % pour Conyn-van Spaendonck (1989), et de 1,43 % à 0,53 % pour Foulon (1988).

Il est toutefois difficile d'imputer au seul programme l'évolution du taux de séroconversion au cours du temps :

- la comparaison avec des témoins historiques exposait aux limites habituelles des enquêtes "avant-après" : variation au cours du temps de l'épidémiologie de la toxoplasmose, modification du recrutement, des méthodes diagnostiques, et de la prise en charge des patientes.
- le suivi sérologique a pu induire une prise de conscience du risque de toxoplasmose chez les participantes et augmenter l'observance des recommandations données en parallèle. La réduction d'incidence mesurée est donc vraisemblablement plus importante dans ce contexte que si l'information avait été donnée seule.

Tableau 46 : Résultats des études publiées sur l'efficacité de programmes prénataux d'éducation sur la toxoplasmose

Premier auteur, année de publication	Carter, 1989	Roux, 1976	Conyn-van Spaendonck, 1989	Foulon, 1994
Date de l'étude	1989	1973-1974	1989	1979-1990
Pays	Canada	France (Paris)	Pays-Bas	Belgique (Bruxelles)
Randomisation	Par classe prénatale	Non	Non	Non
Témoins	Parallèles	Historiques	Comparaison avec résultats antérieurs et statistiques nationales	Historiques (1979-1982)
Nombre de sujets inclus	Groupe témoin : 163 sujets Groupe pilote : 122 sujets Nombre de sujets séronégatifs inconnu.	Groupe témoin : 2496 sujets séronégatifs Groupe pilote : 6269 sujets dont 1523 séronégatifs	128 000 femmes dont 15000 séronégatives	Groupe témoin : 2986 dont 1403 séronégatives Groupe pilote : 8300 dont 3605 séronégatives

Intervention	Court programme éducatif donné en début de grossesse (classes prénatales)	Dépistage sérologique anténatal. Si séronégative, recommandations écrites et suivi sérologique	Recommandations orales à tous les sujets au cours du premier trimestre ; dépistage et suivi sérologique	Recommandations écrites et orales au cours de la première consultation et des classes prénatales ; suivi sérologique.
Evènement mesuré	Changement de comportement mesuré par questionnaire avant et après l'intervention	Incidence des séroconversions en cours de grossesse	Incidence des séroconversions en cours de grossesse	Incidence des séroconversions en cours de grossesse
Résultats	Meilleure hygiène (chat) et cuisson de la viande dans le groupe avec intervention que dans le groupe témoin $p < 0,05$	Incidence plus basse dans le groupe avec intervention (1.6 %) que dans le groupe témoin (4.7 %) $p < 0,005$	Incidence inférieure (0,2 %) au chiffre attendu d'après les estimations antérieures (0,5 %) p : non indiqué	Incidence plus basse dans le groupe avec intervention (0,5 %) que dans le groupe témoin (1,4 %) $p = 0,01$

3.2. L'Etude prospective ERIS (Evaluation du Risque, Information, Sensibilisation)

Un essai randomisé (Etude ERIS) a été mis en place à Lyon en 1994 pour évaluer l'efficacité d'un programme prénatal d'éducation sur la toxoplasmose (Nguyen Hoang Hanh, 2004). Les objectifs étaient d'évaluer l'impact de ce programme sur l'incidence des séroconversions survenues chez des femmes enceintes, sur le niveau de connaissance, sur les attitudes et le comportement de prévention des participantes.

3.2.1. Recrutement des participantes

5023 femmes enceintes séronégatives ont été recrutées durant le premier trimestre de leur grossesse par l'intermédiaire de médecins généralistes ou de gynécologues obstétriciens exerçant dans les départements de l'Ain, de l'Ardèche, de la Drôme, de la Loire, du Rhône, de la Savoie, de la Haute-Savoie et d'une partie de la Saône-et-Loire. Les centres de recrutement ont été au préalable randomisés en deux groupes :

- un groupe « *intervention* », dans lequel les femmes recrutées ont reçu, en plus des conseils habituellement donnés aux femmes enceintes, un matériel éducatif comportant une information spécifique sur la toxoplasmose sous forme de matériel audiovisuel, composé d'un livret et d'une cassette audio.
- un groupe « *témoin* », dans lequel les femmes recrutées n'ont pas reçu d'information médicale particulière en dehors de celle qui leur était délivrée par leur médecin.

Au moment du recrutement, les femmes qui acceptaient de participer ont été interrogées sur leur connaissance concernant la toxoplasmose, leur comportement en matière de prévention et leurs facteurs de risque.

3.2.2. Résultats

Le nombre de séroconversions était trop faible dans les 2 groupes pour pouvoir juger de l'efficacité du programme d'éducation. L'étude des connaissances, attitudes et comportement a porté sur les 2790 participantes ayant rempli un questionnaire avant et après l'accouchement.

Les caractéristiques sociodémographiques des participantes ne présentaient pas de différence significative entre les deux groupes (avec ou sans intervention spécifique). A noter

que 55 % des participantes vivaient dans en zone urbaine, que 94 % étaient de nationalité française et que 34 % avaient un niveau d'éducation supérieur au baccalauréat.

- *A l'inclusion*

- *Connaissances*

Les connaissances pour lesquelles le pourcentage de réponses correctes était le plus élevé concernaient le risque fœtal d'une toxoplasmose maternelle contractée pendant la grossesse (97 %), le risque lié à la consommation de viande de bœuf saignante (92 %), de salade non lavée (90 %) et à la manipulation de la litière d'un chat (82 %).

Par ailleurs, 81 % des participantes savaient qu'il n'existait pas de vaccin contre la toxoplasmose, 73 % savaient que l'infection pouvait être prévenue par une bonne hygiène des mains.

En revanche, d'autres facteurs étaient moins bien connus : la prévention liée au lavage des mains après manipulation de viande crue n'était connue que par 55 %, et la moitié seulement des participantes savaient qu'une toxoplasmose maternelle pendant la grossesse ne représentait pas un risque pour la mère elle-même.

La meilleure connaissance du risque fœtal était retrouvée parmi les femmes ayant un niveau d'éducation supérieur au baccalauréat. La même tendance se retrouvait concernant le risque de contamination par l'alimentation et le rôle de l'hygiène.

- *Attitude*

Quatre-vingt six pour cent des femmes avaient une attitude globalement positive envers la prévention. En revanche, 42 % pensaient qu'un traitement efficace à la naissance pour le bébé serait disponible en cas d'infection fœtale ou préféraient ne pas penser à ce qui pourrait arriver à leur futur bébé. Vingt-neuf pour cent pensaient que seul le hasard serait responsable d'une maladie de leur enfant, 28 % pensaient être parfaitement capables de protéger leur enfant et 14 % refusaient tout conseil dans ce domaine. La perception de la maladie par les femmes enceintes et ses conséquences pour le fœtus était variable.

- *Comportements*

A l'inclusion, les comportements décrits ne différaient pas de façon significative entre les deux groupes. Une très large majorité des femmes déclaraient avoir lavé des légumes destinés à être mangés crus, et changé l'eau au moins une fois pendant ce lavage. Parmi les 97 % ayant consommé au moins une fois de la viande, 55 % avaient toujours consommé cet aliment bien cuit.

Les participantes ont déclaré se laver les mains après un contact avec la terre dans 88 % des cas, après manipulation de viande crue (63 %), de légumes crus non lavés (57 %), ou avant le repas (45 %). Trois quarts des femmes interrogées avaient pris moins de 5 repas à l'extérieur au cours des 2 derniers mois. Un quart des participantes possédait un chat dont un tiers avaient une litière, la moitié d'entre elles ne nettoyaient pas la caisse elles-mêmes.

- *A la fin de l'étude*

- *Connaissances*

Une meilleure connaissance des risques liés à la toxoplasmose, du rôle de l'alimentation et du rôle de l'hygiène dans la prévention a été observé parmi les participantes

- ayant bénéficié d'une information spécifique complémentaire,
- possédant une bonne connaissance de la maladie à l'inclusion dans l'étude,
- ayant un niveau d'éducation supérieur au baccalauréat ou ayant une profession intellectuelle ou intermédiaire.

- *Attitude*

A l'accouchement, 90 % des participantes avaient une attitude positive envers la prévention. Par rapport aux attitudes exprimées à l'inclusion, celles des participantes issues du groupe avec intervention s'étaient améliorées de manière significative : 52 % d'attitudes très positives vs 42 % à l'inclusion ($p < 10^{-4}$).

Pour l'ensemble des femmes incluses dans l'étude, une grande majorité des participantes était prête à changer de comportement pour la santé de leurs enfants. Trente-sept pour cent pensaient qu'il existait un traitement efficace à la naissance pour le bébé en cas d'infection et 39 % préféraient ne pas penser à ce qui pourrait arriver à leur futur bébé en cas de contamination. Près de 21 % des participantes pensaient que l'infection fœtale était due au hasard, 27 % pensaient être parfaitement capables de protéger leur enfant et 10 % refusaient tout conseil dans ce domaine. Par ailleurs, 8 % pensaient que leur enfant était parfaitement capable de se défendre contre toute infection.

○ *Comportements*

La comparaison entre les comportements de début et de fin de grossesse a mis en évidence une amélioration significative des pratiques concernant la consommation de viande saignante, le lavage des mains et les précautions vis-à-vis des chats (utilisation d'eau bouillante pour le nettoyage de la caisse). Cette amélioration n'était cependant pas liée au fait d'avoir reçu ou non une information spécifique.

L'étude ERIS a mis en évidence que le niveau de connaissance sur la toxoplasmose des femmes enceintes est lié au niveau d'étude et qu'il pouvait être amélioré par une information spécifique. Une augmentation des connaissances n'entraîne pas de modification significative du comportement. La perception de la maladie était variable, expliquant certainement l'absence de modification de comportement de certaines femmes malgré une bonne connaissance de la maladie. Il est donc urgent d'identifier d'autres déterminants d'un changement effectif de comportement et de vérifier l'effet d'une telle amélioration sur l'incidence des séroconversions. Le recueil de données supplémentaires par des psychologues ou anthropologues est nécessaire pour préciser les causes des attitudes défavorables et d'évaluer leur impact en terme de comportement ainsi que les moyens de les corriger par des messages adaptés.

Références bibliographiques

- Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez Ph, Tirard Fleury V, Carne B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in Pregnancy : A case control study in France. *Scand J Infect Dis.* 1999;31:305-9.
- Carne B, Lenne E, Tirard V, Hayette MP, Gondry JP. Etude épidémiologique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes à Amiens (Picardie). Nécessité d'une enquête nationale. *BEH.* 1994;38:173-4.
- Carter AO, Gelmon SB, Well GA, Toepelli AP. The effectiveness of a prenatal education program for the prevention of congenital toxoplasmosis. *Epidemiol Infect.* 1989;103:539-45.
- Conyn-van Spaendonck MAE. Prevention of congenital toxoplasmosis : experience in the Netherlands. *Int Ophthalmol.* 1989;13:403-6.
- Foulon W, Naessens A, Derde MP. Evaluation of new possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Am J Perinatol.* 1994;11:57-62.
- Foulon W, Naessens A, Lauwers S, De Meuter F, Amy JJ. Impact of primary prevention on the incidence of toxoplasmosis during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1988;72:363-6.
- Goulet V, Le Magny F, Iborra M. Enquête sur la connaissance des mesures préventives contre la toxoplasmose auprès de femmes venant d'accoucher. *BEH.* 1990;4:14-5.
- Nguyen Hoang Hanh DT. Evolution des connaissances et des comportements au cours d'un programme d'éducation prénatale pour la prévention primaire de la toxoplasmose congénitale chez les femmes enceintes séronégatives pour la toxoplasmose, région de Lyon, 1994-1995. Mémoire de Master Recherche « Epidémiologie et Biostatistique ». Bordeaux, France : Université Victor Segalen Bordeaux 2, 2004 (supervision : M. Wallon, G. Chêne).
- Roux C, Desmots G, Mulliez N, Gaulier M, Tufferaud G, Marmor D. Toxoplasmose et grossesse : Bilan de deux ans de prophylaxie de la toxoplasmose à la maternité de l'hôpital Saint-Antoine (1973-1974). *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1976;5:249-64.
- Wallon M, Mallaret MR, Mojon M, Peyron F. Toxoplasmose congénitale, évaluation de la politique de prévention. *Presse Med.* 1994;23:1467-70.

Question 36 : quelles sont les mesures de prévention de la toxoplasmose chez les patients immunodéprimés ?

Responsable de la question : M. Derouin
Co-rédacteurs : Mme Eliazewicz

Les modalités de prévention de la toxoplasmose chez les malades immunodéprimés dépendent à la fois de la nature et de l'intensité du déficit immunitaire et du statut du patient vis à vis de la toxoplasmose (préalablement infecté par *T. gondii* ou non).

Les patients les plus exposés au risque de toxoplasmose grave sont les sujets infectés par le VIH à un stade avancé de la maladie (SIDA avec un taux de CD4 < 100/mm³), les greffés de moelle allogénique et, à un degré moindre, les transplantés d'organe (cf. Question 1 et Question 7).

Ce risque est lié d'une part à la possibilité de dissémination du parasite à la suite d'une contamination par voie orale ou d'une transmission par un greffon contaminé, ou d'autre part à celui de réactivation d'un kyste formé à la suite d'une contamination antérieure à l'immunodépression.

En conséquence, nous distinguerons la *prévention de la contamination* chez les patients séronégatifs pour la toxoplasmose, de la *prévention des réactivations* chez les patients séropositifs pour la toxoplasmose.

1. Identification des patients à risque

Chez un patient immunodéprimé ou devant recevoir un traitement immunosuppresseur, la connaissance du statut sérologique vis à vis de *T. gondii* fait intégralement partie de la prévention, en permettant de savoir s'il a été (ou non) préalablement contaminé par *T. gondii*.

Le statut sérologique doit être attestée par des tests sensibles pour éviter un résultat faussement négatif ou faussement positif qui conduirait à une conduite de prévention inadaptée.

1.1. Sérologie négative

Un patient séronégatif est exposé au risque de contamination par ingestion de kystes ou d'oocystes. Chez les transplantés d'organe solide (cœur, cœur-poumon, foie, rein) s'y ajoute un risque de transmission de toxoplasmes avec le greffon si celui-ci provient d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose. Compte tenu de cette particularité de transmission, il est donc indispensable de connaître le statut sérologique du donneur pour la toxoplasmose. En France, cette recommandation fait l'objet d'un texte officiel sur les sérodiagnostics à réaliser chez tout donneur d'organe (cf. Question 31). Lorsque le donneur est séronégatif, la prévention primaire est suffisante. Lorsque le donneur est séropositif, une chimioprophylaxie est recommandée, comme pour la prévention des réactivations.

1.2. Sérologie positive

Quel que soit le titre, il existe un risque de réactivation des kystes antérieurement formés dans les tissus. Chez les patients infectés par le VIH, le risque est augmenté lorsque le titre des anticorps IgG est >150 UI/ml, justifiant l'application rigoureuse des mesures de prévention (Bélanger, 1999).

L'observation d'un titre élevé d'anticorps IgG et IgM doit faire suspecter une infection récemment acquise qui peut justifier d'un traitement lorsqu'il y a des signes cliniques associés.

2. Nature des mesures préventives

2.1. Prévention de la contamination

Les mesures de prévention de la contamination sont exactement les mêmes que celles qui sont préconisées chez la femme enceinte. Elles sont centrées sur des recommandations hygiéno-diététiques (cf. Question 33). Toutefois, leur efficacité sur l'incidence de la toxoplasmose n'a pas été évaluée chez les patients immunodéprimés.

Chez les patients infectés par le VIH, il est également recommandé d'effectuer une sérologie de toxoplasmose tous les ans pour rechercher une éventuelle séroconversion (Delfraissy, 2004).

2.2. Prévention des réactivations

Elle repose sur l'administration continue d'une chimioprophylaxie destinée à neutraliser toute réactivation kystique (aucun médicament n'étant capable d'éliminer les kystes) (cf. Question 3). Le cotrimoxazole est habituellement recommandé chez les patients infectés par le VIH ayant un taux de CD4 $<100/\text{mm}^3$ (Delfraissy, 2004 ; Kaplan 2002), les greffés de moelle allogénique (Anonyme, 2000) et les transplantés d'organe (Baden, 2003) ; l'association sulfadoxine + pyriméthamine (Fansidar) a également été proposée chez les greffés de moelle (Foot, 1994).

L'efficacité de la chimioprophylaxie sur l'incidence de la toxoplasmose cérébrale est démontrée chez les patients infectés par le VIH (Kaplan, 2002), et considérée comme probable chez les greffés de moelle et les transplantés cardiaques (Baden, 2003 ; Anonyme 2000 ; Foot, 1994) ; elle n'a pas été évaluée chez d'autres patients immunodéprimés.

La reconstitution immunitaire représente la prophylaxie la plus efficace de la toxoplasmose cérébrale, en permettant une remontée du nombre de lymphocytes CD4 au dessus du seuil à risque pour la toxoplasmose. Son efficacité est avérée par la forte diminution de l'incidence de la toxoplasmose cérébrale en France depuis l'introduction systématique des multi-thérapies anti-rétrovirale en 1996 (Agbrall, 2001) ; elle autorise l'interruption de la chimioprophylaxie lorsque le taux de CD4 est $>200/\text{mm}^3$ pendant au moins 3 mois (Moulinier, 2004 ; Delfraissy, 2004 ; Kaplan, 2002).

2.3. Durée d'application des mesures préventives

Elle dépend du niveau et de la durée de l'immunodépression car le risque de toxoplasmose cérébrale ou disséminée est limité aux périodes d'immunodépression profonde. Celles-ci sont transitoires chez les greffés et transplantés ; elles peuvent être prolongées ou intermittentes chez les patients infectés par le VIH.

Cependant, chez les patients séronégatifs pour la toxoplasmose, il est recommandé d'appliquer de façon permanente les mesures de prévention de la contamination pour limiter le risque d'acquisition d'une toxoplasmose et donc son risque ultérieur de réactivation en cas d'immunodépression profonde.

2.4. Synthèse des recommandations actuelles

Cf. Tableau 48.

Ces recommandations ne sont consensuelles et publiées sous l'égide d'organismes publics que pour les patients infectés par le VIH (Delfraissy, 2004 ; Kaplan, 2002) et pour les greffés de moelle allogénique (Anonyme, 2000). Elles reposent sur des études ponctuelles et sur la pratique clinique pour les transplantés cardiaques (Baden, 2003 ; Wreghitt, 1992). Pour les autres catégories de patients immunodéprimés à risque de toxoplasmose (transplantation rénale, hépatique, hémopathies malignes), il n'y a pas de recommandation consensuelle, bien qu'en pratique cette prophylaxie soit souvent appliquée par l'administration de cotrimoxazole pour la prévention de la pneumocystose.

Tableau 47 : Recommandations de prévention de la toxoplasmose chez patients infectés par le VIH, les greffés de moelle allogénique et les transplantés cardiaques

	Prévention de la contamination	Prévention des réactivations (chimioprophyxie)	Références
Patients infectés par le VIH			
Sérologie de toxoplasmose négative	OUI	NON	Defraissy, 2004 ; Kaplan, 2002 ; Moulinier, 2004.
Sérologie de toxoplasmose positive	NON	OUI si CD4 < 100/mm ³ . Médicament recommandé : cotrimoxazole*. Veiller à la bonne compliance si titre d'anticorps > 150/mm ³ . Possibilité de suspension si reconstitution immunitaire durable (> 200 CD4/mm ³ pendant plus de 3 mois.	
Grefe de moelle allogénique			
Sérologie de toxoplasmose négative	OUI	NON, sauf cas exceptionnel de risque de transmission par la moelle.	Anonyme, 2000 ; Foot, 1994.
Sérologie de toxoplasmose positive	NON	OUI . Médicament proposé : cotrimoxazole. Durée proposée: 6 mois post greffe. Prolongation ou reprise si immunodépression et/ou réaction de greffon contre hôte (GVH).	
Transplantation d'organe (cœur)			
Sérologie de toxoplasmose négative	OUI	OUI si donneur séropositif pour la toxoplasmose. Médicament : cotrimoxazole. Durée non définie.	Baden, 2003 ; Wreghitt, 1992.
Sérologie de toxoplasmose positive	NON	OUI	

* chez les femmes enceintes infectées par le VIH et séropositives pour la toxoplasmose, cette prophylaxie peut être administrée (Dormont, 1996). Aux Etats Unis, compte tenu de la faible incidence des cas de réactivation de toxoplasmose chez ces patientes, il est recommandé que toute prophylaxie contenant de la pyriméthamine soit différée jusqu'à l'accouchement (Kaplan, 2002).

Références bibliographiques

- Abgrall S, Rabaud C, Costagliola D; Clinical Epidemiology Group of the French Hospital Database on HIV. Incidence and risk factors for toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus-infected patients before and during the highly active antiretroviral therapy era. *Clin Infect Dis*. 2001 15;33:1747-55.
- Anonyme. Centers for Disease Control and Prevention; Infectious Disease Society of America; American Society of Blood and Marrow Transplantation. Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49:1-125, CE1-7.
- Baden LR, Katz JT, Franck L, Tsang S, Hall M, Rubin RH, Jarcho J. Successful toxoplasmosis prophylaxis after orthotopic cardiac transplantation with trimethoprim-sulfamethoxazole. *Transplantation*. 2003;75:339-43.
- Bélanger F, Derouin F, Grangeot-Keros L, Meyer. Incidence and risk factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1988-1995. *Clin Infect Dis*. 1999;28:575-581.
- Delfraissy JF (coordinateur). Prise en charge des personnes infectées par le VIH. Rapport 2004 Ed. Médecine Flammarion, Paris. 164pp..
- Dormont J (coordinateur). Prophylaxie des infections opportunistes chez la femme enceinte infectée par le VIH. *In* « Prise en charge des personnes infectées par le VIH ». Rapport 1996, 176-180.
- Foot AB, Garin YJ, Ribaud P, Devergie A, Derouin F, Gluckman E. Prophylaxis of toxoplasmosis infection with pyrimethamine/sulfadoxine (Fansidar) in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 1994;14:241-5.
- Kaplan JE, Masur H, Holmes KK; USPHS; Infectious Disease Society of America. Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons—2002. Recommendations of the U.S. Public Health Service and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep*. 2002;51:1-52
- Moulinier A, Moulouguet A. Manifestations neurologiques *In* : VIH, 6ème édition Douin éditeurs, Rueil-Malmaison, 2004, 635 pp.
- Wreghitt TG, Gray JJ, Pavel P, Balfour A, Fabbri A, Sharples LD, Wallwork J. Efficacy of pyrimethamine for the prevention of donor-acquired *Toxoplasma gondii* infection in heart and heart-lung transplant patients. *Transpl Int*. 1992;5:197-200.

Question 37 : quelles sont les mesures de prévention de la toxoplasmose en milieu professionnel ?

Responsable de la question : M. Derouin

Co-rédacteurs : Mme Tenailleau

Personnalités consultées et relecture extérieure : Mmes Collet, Lherm, Siruguet

1. Cadre réglementaire

Il nous semble important de rappeler le cadre réglementaire des mesures de prévention des risques microbiologiques en milieu professionnel en France; *T. gondii* fait partie des agents infectieux à prendre en compte, avec certaines particularités chez les femmes enceintes.

1.1. Evaluation des risques par le chef d'établissement et les règles de prévention

L'article L 230-2 du code du travail précise que le chef d'établissement, compte tenu de la nature des activités de l'établissement, doit *évaluer les risques* pour la sécurité et la santé des travailleurs. A la suite de cette évaluation et en tant que de besoin, les actions de prévention ainsi que les méthodes de travail et de production mises en œuvre par l'employeur doivent garantir un meilleur niveau de protection de la sécurité et de la santé des travailleurs.

L'article R231-62 précise les *conditions d'évaluation des risques* applicables au risque biologique, en indiquant qu'une attention toute particulière doit être portée sur les dangers que constituent les agents biologiques pathogènes susceptibles d'être présents dans l'organisme des patients ou de personnes décédées et chez les animaux vivants ou morts, dans les échantillons, les prélèvements et les déchets qui en proviennent.

Les articles R. 231-60 à 65-3 du code du travail fixent les *règles particulières de prévention* et de protection des travailleurs contre les risques résultant d'une exposition à des agents biologiques. *Les déchets*

L'arrêté du 4 novembre 2002 (JO du 13 décembre 2003) fixe les procédures de décontamination et de désinfection à mettre en œuvre pour la protection des travailleurs, notamment lors de l'élimination des déchets contaminés. Ces procédures concernent les locaux et les moyens de transport où les travailleurs sont susceptibles d'être en contact avec des agents biologiques pathogènes pouvant être présents chez des animaux vivants ou morts.

Il est important de noter que les articles R. 231-62-2, R231-63, R231-64 et R. 231-64-1 ne sont pas applicables lorsque l'activité, bien qu'elle puisse conduire à exposer les travailleurs, n'implique pas normalement l'exposition délibérée à un agent biologique et que l'évaluation visée à l'article R. 231-62 ne met pas en évidence de risque spécifique.

1.2. Classification des agents biologiques. Particularités de *T. gondii*

Les agents biologiques sont classés en quatre groupes en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent pour les travailleurs et la collectivité. *Toxoplasma gondii* est classé dans le groupe 2, : « *agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces* ».

L'article R. 231-62-2 précise : « *Lorsque les résultats de l'évaluation des risques révèlent l'existence d'un risque d'exposition au virus de la rubéole ou au toxoplasme, l'exposition des femmes qui se sont déclarées enceintes est interdite, sauf si la preuve existe que la salariée*

est suffisamment protégée contre ces agents par son état d'immunité. Le chef d'établissement prend, après avis du médecin du travail, les mesures nécessaires à la mise en œuvre de cette interdiction d'exposition ».

Ce cadre réglementaire très précis identifie donc le risque lié à *T. gondii* et indique des mesures très strictes chez les femmes enceintes, dans la mesure où les femmes enceintes non-immunisées ne doivent pas être affectées ou maintenues à des activités où l'évaluation des risques a identifié une exposition délibérée.

Si l'évaluation des risques ne met pas en évidence un risque spécifique : l'employeur requiert l'avis du médecin du travail sur le maintien ou non à son poste de la salariée enceinte, au titre de l'article R. 241-50 du code du travail et de la surveillance médicale particulière.

Le groupe de travail estime que ces mesures devraient également être appliquées aux patients immunodéprimés.

2. Prévention de la contamination par ingestion de parasites

L'ingestion d'oocystes ou de kystes de *T. gondii* est le principal mode de contamination chez l'homme, la contamination par ingestion de tachyzoïtes étant exceptionnelle (cf. Question 9).

Les professionnels exposés sont ceux qui peuvent être amenés à ingérer ces formes parasitaires dans le cadre de leur activité professionnelle (certaines professions de l'alimentation dont les cuisiniers) ou de façon accidentelle dans leur environnement professionnel par un contact avec la terre ou des chats potentiellement infectés (jardiniers, maraîchers, agriculteurs, vétérinaires, éleveurs, salariés d'animaleries, etc.).

La prévention consiste à appliquer strictement les mesures décrites dans la Question 33, et à ne pas ingérer des produits potentiellement contaminés (par exemple, s'abstenir de goûter les aliments crus ou peu cuits).

3. Prévention des autres modes de contamination

Les autres modes de contamination (inoculation accidentelle de parasites par piqûre ou par voie muqueuse) sont exceptionnels. Dans un cadre professionnel, ce risque reste limité à un petit nombre de professions médicales, paramédicales ou biologiques, vétérinaires, chercheurs, laborantins, ouvriers d'abattoirs ainsi que toutes les personnes exposées professionnellement à la manipulation de viandes ou d'animaux.

Pour ces personnels, la prévention consiste à respecter les mesures d'hygiène et de sécurité, telles qu'elles sont recommandées pour les risques microbiologiques de groupe 2 : port de gants, hygiène des mains, prévention des piqûres et accidents exposant au sang, hygiène des locaux.

La circulaire DGS/DH/98/249 précise les modalités de prévention de la transmission d'agents infectieux véhiculés par le sang ou les liquides biologiques lors des soins dans les établissements de santé (http://www.sante.gouv.fr/htm/pointsur/contamination/98_249t.htm)

4. Spécificités de la prévention dans certaines professions

4.1. Risques de contamination dans les laboratoires

Ils doivent être soulignés et justifient des mesures de prévention renforcées, surtout dans les laboratoires manipulant *T. gondii*, *in vitro* ou *in vivo*. Les contaminations font le plus fréquemment suite à la manipulation et ingestion accidentelle d'oocystes et à l'inoculation de parasites par piqûre ou par voie muqueuse (Herwaldt, 2001).

4.1.1. Locaux

L'arrêté du 13 août 1996 relatif aux « *mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques* »

pathogènes » précise qu'en ce qui concerne les parasites, seuls les stades du développement qui présentent un risque pour le travailleur doivent conduire à mettre en œuvre le niveau de confinement impliqué par la classification. En raison de la classification de *T. gondii* parmi les pathogènes du groupe 2, un niveau de confinement de type 2 est requis pour le laboratoire manipulant ce parasite (cf. Annexe V).

4.1.2. Personnels de laboratoire

En complément des mesures d'hygiène relevant des bonnes pratiques de laboratoire, certaines spécificités peuvent être précisées pour *T. gondii* :

- Le port d'un masque et de lunettes de protection est fortement recommandé.
- Appliquer sur le plan de travail une protection plastique ou en aluminium et ne travailler si possible qu'avec du matériel jetable qui sera incinéré ; le matériel non jetable devra être autoclavé.
- En cas de déversement accidentel d'un produit contenant des kystes ou des tachyzoïtes, une décontamination par les désinfectants usuels est efficace. Lorsqu'il s'agit d'oocystes, sur lesquels l'eau de javel est inefficace, un traitement par la chaleur est nécessaire : eau très chaude >60°C accompagnée de détergents et incinération des produits contaminés.

Rappelons que, conformément à l'article R231-62-2 du code du travail, la manipulation de *T. gondii* (sous quelque forme que ce soit) par des femmes enceintes séronégatives doit être *strictement proscrite* dans ces laboratoires. Cette mesure doit certainement être étendue aux patients immunodéprimés.

4.2. Risques de contamination pour les professionnels en contact avec les animaux potentiellement infectés par *T. gondii*

L'article R. 231-64 1 et 2 du code du travail et co-signé par les ministères de l'agriculture, du travail et de la santé régit la prévention des risques professionnels liés au contact avec des animaux ou des déchets animaux.

Les *professions de santé animale* exposent à un certain nombre de risques microbiologiques, devant faire l'objet d'une évaluation par l'employeur, assisté de son personnel, sous forme d'un document unique d'évaluation des risques professionnels. Pour les vétérinaires, ce document est consultable sur le site http://www.veterinaire.fr/documents-v2/onv_documentsM.htm.

En ce qui concerne la toxoplasmose, les études sérologiques de prévalence réalisées chez des étudiants et professionnels de la santé animale n'ont pas permis de suspecter un risque particulier, y compris chez les personnels en contact avec les chats (Anonyme, 1976 ; DiGiacomo, 1990 ; Sengbush, 1976 ; Shuhaiber, 2003).

Le groupe de travail estime que, pour les femmes enceintes séronégatives pour la toxoplasmose exerçant ces professions, le contact avec les jeunes chats doit être limité et s'accompagner de mesures de protection renforcées (port de gants et de masque) ; le contact avec les déjections des chats ou avec des produits d'avortement d'autres animaux doit être proscrit.

4.3. Risques de contamination pour les professionnels en contact avec la viande crue (personnels des abattoirs et du conditionnement alimentaire, bouchers)

Seule une étude cas-témoin chez 31 patients présentant une toxoplasmose récente (et 34 sujets séronégatifs témoins), identifie le contact professionnel avec de la viande comme un facteur de risque pour la toxoplasmose ($p=0,02$) (Paul, 1998). Ce résultat paraît surprenant car la viande crue ne contient que des kystes (contaminants uniquement par ingestion), et la présence de tachyzoïtes (ou de bradyzoïtes issus d'un kyste rompu) peut y être considérée comme exceptionnelle, éventuellement dans du sang ou sur des outils de travail.

Le groupe de travail estime que le risque lié à la manipulation de la viande crue est faible pour la toxoplasmose, mais justifie le strict respect des mesures d'hygiène préconisées dans la profession, en particulier le lavage fréquent des mains.

Références bibliographiques

- Anonyme. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among veterinary college staff and students, Iowa State University. Public Health Rep. 1976;91:526-32.
- Di Giacomo RF, Harris NV, Huber NL, Cooney MK. Animal exposures and antibodies to *Toxoplasma gondii* in a university population. Am J Epidemiol. 1990;131:729-33.
- Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. Clin Microbiol Rev. 2001;14:659-88.
- Paul M. Potential risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in cases with recently acquired toxoplasmosis. Przegl Epidemiol. 1998;52:447-54.
- Sengbusch HG, Sengbusch LA. *Toxoplasma* antibody prevalence in veterinary personnel and a selected population not exposed to cats. Am J Epidemiol. 1976;103:595-7.
- Shuhaiber S, Koren G, Boskovic R, Einarson TR, Soldin OP, Einarson A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among veterinary staff in Ontario, Canada (2002): implications for teratogenic risk. BMC Infect Dis. 2003;3:8.

Conclusions

L'objectif de ce rapport était d'analyser et d'actualiser les données scientifiques concernant *Toxoplasma gondii* et la toxoplasmose afin d'apporter les éléments scientifiques permettant aux autorités sanitaires d'identifier et promouvoir les actions destinées à améliorer la prévention primaire de la toxoplasmose chez l'homme et en particulier de la toxoplasmose congénitale.

Les points clés du rapport sont résumés ci-dessous, suivis des propositions du groupe de travail sur les principaux domaines d'investigation et de recherche à prioriser.

Points clés du rapport

1. Données épidémiologiques sur la toxoplasmose

1.1. Toxoplasmose humaine

La toxoplasmose est une parasitose très endémique en France. Sa prévalence a nettement diminué depuis les années 60, mais elle reste proche de 50%. A partir des données disponibles, le nombre de cas annuel de toxoplasmose dans la population générale a été estimé à près de 700 000 avec environ 100 000 cas symptomatiques. Le nombre d'infections acquises en cours de grossesse a été estimé à environ 2700 par an, le nombre de toxoplasmoses congénitales à 600 cas par an, dont 175 avec des séquelles (rétinohoroidites principalement). Chez les patients immunodéprimés (essentiellement au cours du SIDA), le nombre de cas de toxoplasmoses cérébrales ou oculaires est estimé à environ 200 par an.

1.2. Toxoplasmose animale

La toxoplasmose est une zoonose très ubiquitaire. Le chat (et quelques félidés), en tant qu'hôte définitif, joue un rôle majeur dans la dissémination du parasite dans l'environnement. Son rôle direct dans la contamination humaine reste cependant très limité dans la mesure où la période pendant laquelle le chat excrète des oocystes est très transitoire (1-3 semaines) et ne concerne, en principe, que les très jeunes animaux. Des mesures d'hygiène bien appliquées permettraient de réduire encore le faible risque potentiel que représente la possession d'un chat à son domicile.

Le niveau de contamination des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine reste un élément clé de la contamination humaine, dans la mesure où les kystes sont présents dans leur viande. On estime que l'ingestion de viande contaminée, insuffisamment cuite, est le facteur de risque prédominant.

La connaissance de la séroprévalence de la toxoplasmose chez le bétail et du degré de contamination de la viande sont donc des paramètres épidémiologiques essentiels dans une démarche de prévention individuelle ou collective. Dans plusieurs pays, cette prévalence est reconnue comme élevée chez le mouton, la chèvre et le porc et plus faible chez les bovins et les chevaux, mais les données françaises sont très parcellaires et peu représentatives des conditions actuelles d'élevage. Il est paradoxal que cette méconnaissance soit si grande dans notre pays alors que les outils d'investigation existent et sont maîtrisés par les laboratoires. De plus, l'étude de la séroprévalence chez les principaux animaux de boucherie impliqués dans la toxoplasmose humaine peut aussi être considérée comme un moyen de dépistage simple des animaux infectés et un pré-requis nécessaire à une évaluation quantitative de la charge parasitaire dans les viandes destinées à la consommation.

1.3. Contamination de l'eau et de l'environnement

Elle reste mal évaluée, en raison de la difficulté de mise en évidence des parasites dans l'eau ou dans le sol et d'un manque de techniques de détection appropriées. La contamination des oiseaux (dont les poulets) et des mammifères marins (probablement *via* la contamination des coquillages) en est un reflet indirect.

1.4. Apport de l'épidémiologie moléculaire

Le rapport met en évidence les progrès récents effectués sur la connaissance du parasite et son épidémiologie, grâce en particulier aux apports du génotypage parasitaire. En France, l'analyse des isolats de *T. gondii* a montré la prédominance d'un génotype parasitaire chez l'homme, mais aussi l'existence de souches atypiques, notamment en Guyane, responsables d'une pathologie plus sévère. Ces outils moléculaires doivent cependant encore être améliorés pour pouvoir être utilisés dans l'investigation d'une épidémie, l'identification de l'origine d'une contamination et l'appréhension des modalités de « circulation » des parasites. Cette amélioration repose sur la constitution d'une banque de souches, actuellement en cours par le Centre de Ressources Biologiques « *Toxoplasma gondii* », afin d'apprécier la biodiversité de *T. gondii* et d'identifier des marqueurs épidémiologiques pertinents.

2. **Contamination des aliments**

2.1. Contamination des matrices alimentaires (viandes, végétaux, eau)

Sur les différentes matrices alimentaires, un effort technologique considérable doit être fait pour la mise au point de techniques permettant la détection et la quantification des parasites et l'estimation de leur viabilité/infectiosité.

Plusieurs options sont possibles, dont celles basées sur la biologie moléculaire. Ces techniques se heurtent à la dispersion des parasites, leur faible quantité dans les aliments et l'impossibilité de cultiver facilement le parasite à partir d'un échantillon alimentaire (pas d'enrichissement préalable possible comme en bactériologie).

Dans l'attente de cette évolution technologique, l'inoculation à la souris ou au chat reste l'examen de référence et est utilisé pour démontrer la présence de parasites infectieux dans la viande. Or, tout comme pour la séroprévalence chez l'animal, il n'y a aucune donnée disponible en France, alors que cette technique est pratiquée en routine par de nombreux laboratoires. Ce déficit de connaissance sur la contamination des aliments est un handicap majeur à l'évaluation du risque alimentaire pour la toxoplasmose dans notre pays.

Sur les végétaux et dans l'eau, la rareté des parasites impose le développement de nouvelles techniques d'identification, dont la PCR quantitative, permettant la mise en évidence d'ADN parasitaire (voire de l'ARN pour évaluer la viabilité).

Dans ces différents domaines de recherche, l'évolution vers des techniques normalisées, si possible compatibles avec les techniques utilisées pour d'autres parasites, bactéries et virus est très souhaitable.

L'amélioration des connaissances sur la séroprévalence parasitaire chez l'animal, la contamination des aliments (viandes, eau, végétaux) est considérée par le groupe de travail comme une priorité d'investigation et de recherche sur la toxoplasmose en France (voir proposition de travail N°1).

2.2. Appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose

L'objectif d'une démarche d'appréciation quantitative de risque serait de décrire l'impact de la consommation d'aliments potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale. L'élaboration d'un tel modèle permettrait de mieux comprendre le processus de contamination et ses points critiques, de mettre l'accent sur des programmes de recherche à prioriser (par une analyse de sensibilité) et d'évaluer l'impact de différentes mesures de gestion (vaccination des cheptels, information des femmes enceintes), sur l'incidence annuelle attendue de la toxoplasmose congénitale.

Une meilleure connaissance de la contamination des matrices alimentaires est non seulement un préalable indispensable à une meilleure estimation de la part respective des différents types d'aliments dans la contamination humaine, mais aussi un pré-requis à la possibilité d'entreprendre une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose.

La réalisation d'une appréciation quantitative du risque nécessite d'évaluer, d'une part l'infectiosité de la souche prédominante chez l'homme (génotype II) sous ses différentes formes parasitaires et dans des modèles expérimentaux pertinents, et d'autre part l'impact des pratiques de préparation des aliments au cours de la chaîne de fabrication et chez le consommateur.

Lorsque le modèle d'appréciation quantitative aura pu être validé par la confrontation à des données de terrain, le modèle pourra alors servir à l'évaluation de l'efficacité sanitaire attendue de différentes mesures de prévention.

Enfin une investigation approfondie sur les pratiques de préparation des aliments pourrait servir non seulement l'objectif d'appréciation du risque alimentaire pour la toxoplasmose mais aussi pour d'autres micro-organismes sensibles aux conditions de préparation (cuisson), tels que les STEC (Shiga Toxin *E. coli*), les campylobacters, etc.

*Le groupe de travail estime que cette voie de recherche, difficile car multifactorielle, doit être approfondie en interface avec d'autres groupes de travail portant sur la microbiologie alimentaire et par l'apport de données fondamentales sur la résistance de *T. gondii* aux procédés de traitement ou de conservation des aliments. Un relevé des éléments nécessaires à la mise en place d'une AQR fonctionnelle est détaillé dans la proposition de travail N°2.*

3. Prévention de la toxoplasmose humaine

Centrée sur la prévention de contamination chez la femme enceinte, elle est destinée à prévenir du risque de toxoplasmose congénitale ; elle repose avant tout sur des mesures hygiéno-diététiques.

Chez les patients immunodéprimés, la prévention de la réactivation des formes latentes de toxoplasmose relève quant à elle de la chimioprophylaxie et/ou de la reconstitution d'une immunité protectrice.

A partir des données biologiques et des connaissances sur la survie des parasites dans l'environnement et la contamination des matrices alimentaires, des recommandations de prévention de la contamination humaine ont été définies par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France en 1996.

Les données récentes de la biologie et l'épidémiologie ont conduit le groupe de travail à actualiser certaines de ces recommandations et adjoindre des pistes de réflexions sur des risques jusqu'alors négligés.

Le groupe de travail estime que ces recommandations de prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte doivent être reformulées, validées et promues par les autorités sanitaires.

A l'heure actuelle, ces recommandations sont « ciblées » sur la prévention de la toxoplasmose congénitale en raison de sa fréquence et de sa gravité. L'étendre à toutes les personnes séronégatives pour la toxoplasmose dans le but de prévenir les toxoplasmoses oculaires primitives (dont l'incidence pourrait être sous-évaluée) ou les risques ultérieurs de toxoplasmose cérébrale en cas de survenue d'immunodépression relève d'une évaluation médico-socio-économique qui dépasse le cadre du groupe de travail de l'AFSSA. Cette évaluation serait complexe et devrait intégrer le fait que l'extension des mesures de prévention à l'ensemble de la population pourrait, en dehors des contraintes que cela représente, conduire à augmenter le nombre de femmes séronégatives exposées alors au risque de primo-infection en cours de grossesse.

3.1. Impact des recommandations de prévention

La démarche qui suit naturellement l'émission de recommandations est celle de leur évaluation. Sur ce point, il apparaît très nettement qu'en France (mais aussi dans d'autres pays) cet impact est mal évalué.

En France, ces difficultés d'évaluation sont liées à plusieurs facteurs:

- le fait qu'il n'y ait pas de recensement exhaustif des cas de toxoplasmose congénitale en France (pas de déclaration obligatoire).
- l'absence de structure chargée spécifiquement de centraliser les données biologiques et épidémiologiques sur la toxoplasmose.
- la diffusion insuffisante des recommandations et son absence d'accompagnement (consultation spécialisée ou consultation de conseil).

Or, là encore, il est paradoxal que cette mesure d'impact ne soit pas mieux réalisée car les moyens permettant cette évaluation existent en France, notamment du fait des cadres réglementaires de dépistage et de suivi sérologique des femmes enceintes et de la bonne maîtrise des outils sérologiques de diagnostic (également encadrés par des obligations de la nomenclature des actes de biologie médicale).

Le maintien de ces outils d'analyse apparaît indispensable, mais les conditions d'application et de recueil des informations obtenues devraient être remaniées pour en faire des outils d'analyse épidémiologique et de veille sanitaire vraiment opérationnels.

Le groupe de travail estime qu'un effort particulier doit être fait au niveau national sur le recensement des cas de toxoplasmose congénitale avec une exploitation optimale de l'ensemble des outils de relevés existant.

Le groupe estime qu'une évaluation de l'impact de la prévention primaire chez la femme enceinte est indispensable, dans un cadre collaboratif entre les structures de recherche, de diagnostic et d'évaluation en Santé Publique. Un schéma d'application opérationnel est exposée dans la proposition de travail n°3.

3.2. Options de prévention vaccinales et thérapeutiques

L'option vaccinale chez l'homme et chez l'animal a été abordée dans une question spécifique. Autant cette option relève encore de la recherche et pose plusieurs problèmes d'évaluation chez l'homme, autant la vaccination du cheptel permettant la production d'animaux « *Toxo free* » apparaît être une voie de recherche prometteuse.

Quant à la vaccination du chat et des félinés en tant qu'hôtes définitifs, elle devrait, pour être efficace, être réalisée à large échelle chez les tout-jeunes animaux avant que ne survienne la contamination naturelle. Elle n'apparaît donc pas très réaliste à l'heure actuelle.

L'option thérapeutique ou chimioprophylactique a montré son efficacité dans le traitement et la prévention des toxoplasmoses chez les malades immunodéprimés, mais elle n'apparaît pas envisageable en prévention primaire de la population générale ou immunodéprimée.

3.3. Autres options de prévention

Le groupe de travail a également examiné l'efficacité des procédés de préparation et de conservation des aliments sur les formes parasitaires libres (oocystes) ou sur les kystes contenus dans les aliments. Sur le plan scientifique, cette option de prévention reste tout à fait envisageable du fait de l'efficacité de la surgélation et de l'ionisation sur les kystes tissulaires, mais elle nécessite d'être mieux évaluée sur les procédés de traitement ou de conservation effectivement appliqués aux aliments, dans un cadre commercial et chez le consommateur.

Enfin, l'option consistant à protéger les élevages de la contamination par des oocystes de *T. gondii* reste à privilégier en proscrivant, autant que faire se peut, la présence des chats dans les élevages.

Propositions

Dans chaque question du rapport, il a été fait état du niveau des connaissances en France et l'étranger, mais aussi des déficits de connaissances qui justifieraient des initiatives d'organisation, de communication ou de recherche (fondamentale et appliquée).

Le groupe de travail a pris comme option de faire une synthèse des principales recommandations de recherche sous forme d'un tableau (Tableau 48), se rapportant à chacune des sections du rapport, en précisant très succinctement, pour chacune d'entre elles, la nature de l'action à inciter (recherche, information). Ce tableau également émet quelques suggestions d'organisation pouvant mener à la bonne réalisation de ces actions.

En complément, le groupe a souhaité individualiser trois axes de travail considérés comme prioritaires pour une meilleure évaluation des risques et de l'impact des mesures de prévention. Ces trois propositions sont rédigées de façon plus détaillée suivant un canevas assez proche de celui qui est proposé dans les projets de recherche. Il nous a semblé important d'adopter une option très structurée, de façon à fournir aux gestionnaires de santé des éléments scientifiques pouvant aider à organiser l'amélioration des options de gestion.

Tableau 48 : Synthèse des recommandations du groupe de travail, classée en fonction des sections du rapport et par type : Recherche (R), Recueil d'information (I), Organisation (O), Diffusion d'information (D), Surveillance (S).

Section/question	Points devant faire l'objet d'une recommandation	Proposition* des moyens de réalisation des mesures recommandées
SECTION A : <i>Toxoplasma gondii</i>		
SECTION B Toxoplasme humaine et animale	Validation de l'efficacité d'un traitement ante et post natal (R).	Etude multicentrique.
SECTION C : Physiopathologie de la toxoplasme	Meilleure connaissance des génotypes infectant l'homme et l'animal (R, I, O). Identification de marqueurs pouvant être utilisés en épidémiologie descriptive (R). Caractérisation de la réponse immunitaire protectrice (R). Co-infection virus/toxoplasmes (R).	Utilisation du Centre de Ressource Biologiques. Création d'un Centre National de Référence « Toxoplasme ».
SECTION D : Epidémiologie humaine	Recensement des cas de toxoplasme congénitale (I, S).	Création d'un Centre National de Référence. Déclaration Obligatoire des toxoplasmoses congénitales.
SECTION E : Epidémiologie animale	Enquêtes de surveillance : données de séroprévalence chez les animaux destinés à la consommation humaine (R, I, S). Isolement de souches avec génotypage (R, I, S). Séroprévalence chez le chat (S). Séroprévalence dans faune sauvage.	cf. <u>Proposition 1</u> Séroprévalence par test d'agglutination modifiée. Isolement de souches par bio-essai. Plan d'échantillonnage dans les élevages.
SECTION F : Epidémiologie environnementale et alimentaire	Enquêtes de surveillance : détection des kystes dans les denrées alimentaires et détection des oocystes dans l'eau et sur les végétaux (R, I, O, S).	cf. <u>Proposition 1</u> Evaluation de la contamination des viandes de boucherie (sérologie). Détection dans la viande par bio-essai et PCR quantitative. Mise au point de technique de détection dans l'eau (PCR et procédé de séparation immuno-magnétique avec détection par immunofluorescence). Plan d'échantillonnage à prévoir sur les données de consommation. Quantification de la charge parasitaire dans les aliments. Mise au point de la détection des oocystes sur les végétaux et le sol (PCR, RT-PCR)

Section/question	Points devant faire l'objet d'une recommandation	Proposition* des moyens de réalisation des mesures recommandées
Section G : Isolement et identification	Normalisation des techniques de détection dans les denrées alimentaires (I, O, S). Détection de la viabilité des kystes et des oocystes de <i>T. gondii</i> (R, I, O, S).	<u>cf. Proposition 1</u> Normalisation de l'échantillonnage pour la détection dans les denrées alimentaires. Mise au point de technique de détection dans l'eau (PCR et procédé de séparation immuno-magnétique avec détection par immunofluorescence). Mise au point de la RT-PCR quantitative (évaluation de la viabilité). <u>Cf. Proposition 2</u>
SECTION H : Résistance et sensibilité de <i>T. gondii</i>	Information sur le comportement des différentes formes de <i>T. gondii</i> vis-à-vis des températures dans les matrices alimentaires et dans l'eau. Récupération d'information sur le comportement des différentes formes infectantes de <i>T. gondii</i> vis-à-vis des procédés de conservation des denrées d'origine animale. Informations sur la résistance des kystes et oocystes aux étapes de nettoyage et désinfection pratiquées en agro-alimentaires.	Etude spécifique avec essais sur matrice alimentaire (animale et végétale). Etude de la résistance des oocystes à l'ozone et autres agents physiques. Etude spécifique de comportement sur des surfaces.
SECTION I : Dose/réponse. Analyse quantitative du risque	Etudes expérimentales : investigations sur dose-réponses, répartition dans les tissus, performances des outils (R). Enquêtes de terrain : enquêtes d'épidémiologie descriptives chez l'animal (I) Enquêtes de contamination des produits végétaux (I). Enquêtes de consommation et de comportement alimentaire (I). Mise en évidence facteurs de risque alimentaires et estimation du risque attribuable pour la validation du modèle (I, O). Modélisation par une approche stochastique (probabiliste).	<u>cf. Proposition 2</u> Mise en place d'un projet de recherche multidisciplinaire. Objectif du projet : Quantifier le risque de toxoplasme congénitale vis à vis de la contamination des aliments, validation du modèle d'appréciation quantitative du risque et d'évaluation de l'efficacité attendue de différentes mesures préventives sur l'incidence annuelle de la toxoplasme congénitale.
SECTION J : Réglementation	Recensement des cas de toxoplasme congénitale (I, S). Position des autorités sanitaires sur les mesures de prévention primaire de la toxoplasme chez la femme enceinte.	Déclaration Obligatoire des toxoplasmes congénitales. Rédaction d'un texte officiel par les autorités sanitaires sur les mesures de prévention primaire de la toxoplasme chez la femme enceinte.
SECTION K : Mesure de prévention	Poursuite des recherches vaccinales chez l'animal (R). Actualisation et amélioration de la diffusion de l'information sur la prévention primaire et son observance (D). Promotion des actions d'évaluation d'impact.	Préciser l'intérêt d'un vaccin chez l'homme (étude coût/efficacité) ; soutenir la recherche sur ce thème. <u>cf. Proposition 3</u>

* Les propositions 1, 2 et 3 identifiées dans la colonne de droite font l'objet d'un exposé détaillé dans les pages suivantes.

1. PROPOSITION 1 : évaluation de la contamination des denrées alimentaires et de l'eau par *Toxoplasma gondii*

Responsable de la proposition : Mme Villena
Co-rédacteurs : Mme Dardé
Personnalités consultées: M. Aubert, M. Dumètre

1.1. Contexte

La présence de *T. gondii* dans les denrées alimentaires ou l'eau repose sur des arguments indirects (épidémies de toxoplasmose d'origine alimentaire et hydrique) et directs (par les études de prévalence chez les animaux de boucherie et par la mise en évidence du parasite dans les aliments ou l'eau). Il est admis que la consommation de viande insuffisamment cuite est le principal facteur de risque d'infection pendant la grossesse. En l'absence de mesures législatives et de texte réglementaire portant sur la détection de *T. gondii* dans les denrées alimentaires, il existe à l'heure actuelle peu de données disponibles concernant la présence de *T. gondii* dans l'eau ou les aliments (cf. Question 22 et Question 23).

1.2. Objectif

Le principal objectif serait d'évaluer le niveau de contamination par *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau, afin d'estimer la part respective des types d'aliments dans l'infection humaine et d'entreprendre une appréciation quantitative du risque de toxoplasmose lié à l'alimentation.

1.3. Propositions d'études

L'évaluation de la présence de *T. gondii* dans les denrées alimentaires et l'eau comprend la recherche de kystes dans les denrées alimentaires d'origine animale et d'oocystes dans les denrées alimentaires d'origine végétale et dans l'eau.

Nous aborderons chaque proposition en répondant à deux niveaux d'objectifs : objectifs techniques (avec proposition d'une méthodologie de détection dans les différentes matrices) et un objectif d'organisation de la surveillance du niveau de contamination.

En l'absence de méthode normalisée pour la recherche dans les viandes, les méthodes utilisées pour la détection des kystes dérivent directement de celles utilisées pour le diagnostic parasitologique (cf. Question 2 et Question 5). Celles utilisables pour la détection des oocystes dans l'eau ou les denrées alimentaires d'origine végétale découlent des mêmes principes (observation microscopique, bio-essai et biologie moléculaire) mais avec des adaptations. Elles sont souvent couplées à des techniques de concentration ou d'enrichissement préalable de l'échantillon. Pour l'eau, peu de méthodes sont décrites à l'heure actuelle. Toutes ces techniques, y compris la sérologie, devraient faire l'objet au préalable d'une étude de performance sur les différentes matrices alimentaires et espèces animales.

1.4. Recherche de *T. gondii* dans les denrées alimentaires d'origine animale

1.4.1. Objectifs techniques

Dans les denrées d'origine animale, la recherche des kystes parasites doit être précédée par une digestion enzymatique afin d'augmenter la sensibilité de détection.

Dans un souci de normalisation, il semble souhaitable d'analyser une quantité constante de viande (10g au minimum).

Les échantillons doivent être homogénéisés dans 10 ml (pour 1 g d'échantillon) d'une solution de trypsine à 2.5% (dilution en PBS), puis incubés pendant 1h à 37°C. Après cette incubation, le broyat est filtré au travers d'une fine gaze (éliminant les plus gros débris); le filtrat est ensuite centrifugé (1000g pendant 15mn) avec obtention finale d'un culot sur lequel

est réalisée la détection de *T. gondii*. Un protocole reposant sur la digestion par la pepsine semble supérieur à celui par la trypsine (Sharma, 1981; Dubey 1998). (cf. Question 24). Sur les échantillons ainsi traités, plusieurs méthodes de détection du parasite peuvent être proposées :

a) Le bio-essai

Chez la souris : le culot obtenu après traitement peut être inoculé par voie intrapéritonéale à des souris. Il est souhaitable d'inoculer au minimum 3 souris. Une sérologie de la toxoplasmose peut être réalisée chez les souris entre 4 et 6 semaines après l'inoculation. Les souris présentant des anticorps antitoxoplasmiques sont euthanasiées et l'objectivation de kystes intra-cérébraux confirme la présence de *T. gondii* dans la denrée analysée. La sensibilité de détection est estimée à 1 kyste pour 100g de viande de porc (Rothe, 1985).

Chez le chat : le produit à analyser est donné à ingérer à un chat séronégatif pour la toxoplasmose. La présence du parasite dans la viande est authentifiée par l'émission d'oocystes dans ses fèces. L'avantage de ce bio-essai réside dans une meilleure sensibilité de détection, liée à la possibilité d'analyser une plus grande quantité de viande, jusqu'à 500g selon Dubey (1993). Le principal inconvénient repose sur la lourdeur d'exécution de ce test qui ne peut donc être réalisé en routine.

b) la PCR appliquée directement aux échantillons de viande ou aux plats cuisinés

Un effort de normalisation des techniques devrait porter sur :

- le volume de viande analysé : extraction d'ADN sur 1 g de viande non traitée ou sur une partie du culot de digestion de 10 à 100 g de viande.
- les méthodes d'extraction d'ADN : extraction par phénol chloroforme et/ou lyse des parasites par la protéinase K.
- les cibles utilisées et les protocoles d'amplification (amplification du gène SAG1, SAG2, B1) selon des protocoles variables (nombre de cycles, température d'hybridation).

En conditions expérimentales, la sensibilité de détection rapportée (Warnekulasuriya, 1998) est évaluée à 5×10^3 parasites/g (amplification du gène SAG1). Les techniques de RT-PCR seront à développer afin d'estimer la viabilité des parasites ainsi identifiés.

c) la culture cellulaire pourrait être envisagée à condition que la détection des parasites soit effectuée en PCR afin d'augmenter la sensibilité de détection. Cependant cette technique semble lourde et chère pour être développée dans cette application.

La méthode la plus sensible pour déterminer la viabilité et l'infectiosité de *T. gondii* semble être le bio-essai. Une quantification de la charge parasitaire paraît souhaitable et pourrait être réalisée par PCR quantitative. Ces méthodes devraient être développées et normalisées.

1.4.2. Propositions d'organisation

Les viandes de porc et de mouton paraissent plus incriminées comme source de contamination humaine que celle du bœuf, bien que les risques réels liés à la viande bovine soient mal appréhendés.

D'après les données du rapport AFSSA sur « alimentation animale et sécurité sanitaire des aliments » publié en juillet 2000 (AFSSA 2000), le cheptel français compte 10,2 M de têtes d'ovins et 1,1 M de têtes de caprins (dont 800 000 chèvres). Ces cheptels ovins et caprins ont fourni globalement 116 000 tonnes de viande, en considérant que c'est essentiellement la viande d'agneau de moins de 6 mois qui est destinée à la consommation. Pour les bovins, le cheptel français compte environ 20,2 M de têtes avec une estimation de 4,1M de vaches nourrices ou « vaches à viande ». Ce cheptel a fourni globalement 1,38 M de tonnes de viande de gros bovins et 235 000 tonnes de viande de veaux. Le cheptel de porcs représente environ 15,3 M de têtes qui a permis de produire 2 M de tonnes de viande de porc.

Ces valeurs donnent une idée de l'importance de la tâche à accomplir pour dépister la contamination du cheptel par *T. gondii*.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de mesures collectives de surveillance ou de contrôle de la toxoplasmose dans les troupeaux. Une proposition d'évaluation de la contamination des viandes de boucherie et de la volaille pourrait comprendre :

- une ou des enquêtes épidémiologiques descriptives menées sur une ou plusieurs espèces, sur le territoire national ou sur des sites représentatifs permettraient dans un premier temps d'évaluer la contamination toxoplasmique, de mettre en évidence des facteurs de risques différents selon le mode d'élevage et de mesurer la prévalence réelle.
- une première approche peut être proposée par une étude sérologique chez le mouton, le bœuf et le porc, sur un échantillonnage national, représentatif des différents types d'élevage. La technique recommandée est l'agglutination directe de haute sensibilité (ADHS) (cf. Question 5). La séroprévalence attendue peut être estimée à >10% pour les bovins, >30% chez les ovins; chez le porc on attend une séroprévalence >30% dans les élevages traditionnels ou fermiers mais seulement de 1% dans les élevages confinés intensifs. La stratégie d'échantillonnage peut être à deux degrés, à savoir l'exploitation et les animaux, ou à un degré si le prélèvement doit se faire à l'abattoir avant l'abattage.
- les résultats des études sérologiques permettraient de sélectionner les animaux devant faire l'objet d'une étude parasitologique. Sur les carcasses des animaux séropositifs, une inoculation à l'animal (fragment de 100 grammes de chair) pourrait être réalisée afin de permettre une quantification du nombre de parasites présents dans les échantillons.
- sur un sous-échantillon représentatif, cet examen pourrait être complété par le génotypage parasitaire des isolats, ce qui permettrait de mieux connaître les génotypes qui circulent dans les élevages.
- en complément de ces études chez les animaux de boucherie, une étude "pilote" chez les poulets fermiers s'avère indispensable car plusieurs études, en Europe, Amérique et Asie montrent que la prévalence de la toxoplasmose peut être élevée chez ces animaux (jusqu'à 60%), justifiant totalement une évaluation du risque potentiel que peut représenter la consommation de poulet en France (pour information, la production totale de viande de poulets s'élève à 1,23 M). Le risque n'a pas été évalué pour les poulets en élevage industriel en batterie, mais il est probablement très faible. Cette étude devrait associer la sérologie et la recherche parasitologique par bio-essai et, dans la mesure du possible, être complétée par le génotypage parasitaire des isolats. De plus, cette étude parasitologique chez le poulet est un excellent moyen de connaître la contamination du sol par des oocystes et la circulation des souches de toxoplasmes dans notre pays.

Enfin, des études identiques (sérologies et isolement de souches avec génotypage) sur la faune sauvage pourraient être proposées de façon à élargir la connaissance épidémiologique sur la toxoplasmose et individualiser les viandes potentiellement incriminées dans la contamination humaine. Des études portant sur les gibiers en Guyane devraient être menées du fait de la présence de souches particulièrement virulentes sur ce territoire.

1.4.3. Moyens de réalisation

Plusieurs laboratoires de parasitologie français ont, dès maintenant, les compétences techniques et l'infrastructure pour traiter ces prélèvements. Les plans d'échantillonnage pourraient être élaborés en collaboration avec la DGAL et l'AFSSA.

Pour les données sur la faune sauvage, un partenariat entre le laboratoire de Parasitologie du CHU de Reims, le Laboratoire Vétérinaire Départemental de l'Aube, l'AFSSA Nancy et l'ONCFS est en cours. D'autres enquêtes similaires pourraient être réalisées sur le territoire national. Pour les données sur le gibier de Guyane, une étude est en cours avec le laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Cayenne (EA3593), en collaboration avec celui de Limoges (EA3174) dans le cadre d'un contrat de plan Etat-Région Antilles-Guyane.

1.5. Recherche de *T. gondii* dans les denrées alimentaires d'origine végétale

1.5.1. Objectifs techniques

Sur les végétaux, il n'existe aucune méthode spécifique pour détecter les oocystes de *T. gondii*. Les techniques à développer pourraient s'inspirer des celles décrites pour la détection de *Cyclospora cayentanensis* (Anonymous, 1997, Bier, 1991) ou des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* sur les végétaux (Ortega, 1997 ; Robertson, 2000 ; 2001a et b ; Monge, 1996).

1.5.2. Proposition d'organisation et moyens de réalisation

Une estimation de la part réelle des végétaux dans l'infection humaine semble difficile à mener à l'heure actuelle en raison de l'absence de méthodologie fiable pour mettre en évidence et quantifier la contamination des végétaux. Certains laboratoires de parasitologie français pourraient développer les compétences techniques et l'infrastructure pour traiter ces prélèvements.

1.6. Recherche de *T. gondii* dans l'eau

1.6.1. Objectifs techniques

La recherche de *T. gondii* dans l'eau se heurte à plusieurs difficultés : le petit nombre d'oocystes probablement présent dans l'environnement du fait de leur dilution, la confusion possible avec les oocystes d'*Hammondia*, la résistance de la paroi des oocystes, et le manque de techniques standardisées ou de réactifs adaptés à *T. gondii*.

En s'inspirant des méthodes de détection utilisées pour d'autres protozoaires (Quintero-Betancourt, 2002) et des connaissances sur l'épidémiologie et la biologie des toxoplasmes (Dumètre, 2003 ; Dubey, 2004), certains facteurs peuvent orienter la conduite du prélèvement et les techniques à mettre en œuvre :

a) Le prélèvement :

- les oocystes dans l'eau sont plus vraisemblablement dans les parties profondes en raison de leur densité (1,104-1,140) (Dubey, 1970b).
- en raison de la persistance des oocystes et de la possibilité pour les chats d'être infectés tout au long de l'année, il n'y a probablement pas de relation avec la saison. Cependant, le lessivage des sols après de fortes pluies pourrait accentuer la contamination des eaux et des sols (Bowie, 1997, Miller, 2002).
- l'existence de situations épizootiques ou enzootiques peut fournir des indications sur les eaux contaminées telles que les mares ou les ruisseaux autour des fermes.
- la détection des oocystes dans l'eau de mer peut poser un problème en raison de leur nombre probablement faible dans cet environnement, même si les mollusques peuvent les concentrer dans leurs tissus (Lindsay, 2001 ; Arkush, 2003).
- dans tous les cas, les prélèvements doivent être faits rapidement après la suspicion de cas de toxoplasmose humaine ou animale, les oocystes pouvant disparaître de la source de contamination (Teutsch, 1979 ; Stagno, 1980 ; Isaac-Renton, 1998).
- en raison d'une répartition probablement très hétérogène des oocystes dans l'eau, un volume d'eau important doit être prélevé (100 litres d'eau) et acheminé rapidement au laboratoire pour traitement.

b) La filtration :

Des techniques d'enrichissement (filtration, flottation) doivent être effectuées en préalable à la détection des oocystes²⁶.

²⁶ Puisque la taille des oocystes de *T. gondii* (10-13 µm) est proche de celle des kystes de *Giardia* (7-12 µm) ou des oocystes de *Cyclospora* (8-10 µm); les filtres de porosité 1-8 µm utilisés pour la détection de ces agents (Shepherd, 1996 ; Oda, 2000 ; Sturbaum, 1998) pourraient être utilisés : membranes d'acétate de cellulose pour de faibles volumes, capsules de filtration utilisant une membrane de polyethersulfonate de porosité 1-µm pour des volumes plus importants (jusqu'à 500 Litres). Ces systèmes divers de filtration ont été introduits dans les procédures standard de détection des protozoaires dans le cadre de la surveillance des eaux (Anonymous, 1999 ; USEPA, 1999 ; norme AFNOR NF T 90-455). La filtration est suivie d'une récupération des parasites par utilisation de tampons d'éluion contenant 0.01 à 1% de détergents. Puisque les oocystes de *T.*

c) La purification :

Le développement d'anticorps monoclonaux appropriés dirigés contre les composants de la paroi des oocystes pourrait permettre le développement d'une technique d'immunoséparation magnétique appliquée en préalable à la détection des toxoplasmes, afin d'assurer leur concentration dans les échantillons environnementaux. Cette stratégie est déjà employée pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* dans l'eau. Son développement est en cours pour *Toxoplasma gondii* (Dumètre, 2005).

d) La détection :

- l'immunofluorescence associée à l'IMS (IMS-IFA) pourrait améliorer la détection au microscope en utilisant des anticorps monoclonaux appropriés dirigés contre les composants de la paroi des oocystes.
- le bio-essai permet la détection d'oocystes viables dans les échantillons environnementaux, (Isaac Renton, 1998).
- la biologie moléculaire peut être proposée bien qu'elle ne permette pas de distinguer la présence d'oocystes viables ou non dans les échantillons. Il n'y a pas à l'heure actuelle, de technique de PCR standardisée²⁷.

Pour estimer la viabilité des oocystes, des méthodes de RT-PCR pourraient être proposés mais, à l'heure actuelle, elles ne sont pas standardisées.

1.6.2. Propositions d'organisation

Dans l'eau, les épidémies supposées d'origine hydrique n'ont jusqu'à présent jamais permis de retrouver des oocystes de *T. gondii* (soit par absence de recherche, soit parce que cette recherche n'a été effectuée que tardivement après la constatation de l'épidémie). En s'inspirant des données du « rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp. » publié par l'AFSSA en septembre 2002 (AFSSA, 2002), une étude centrée sur l'estimation de la contamination des ressources pourrait être proposée. Une première étape pourrait consister à rechercher et quantifier des oocystes de *T. gondii* dans l'eau de surface, avec un plan d'échantillonnage permettant une estimation du niveau de contamination de la ressource. Les eaux dans lesquelles la présence de cryptosporidies est reconnue pourraient être étudiées et le niveau de contamination de la ressource par ces 2 parasites pourrait être évalué en même temps (même type de recueil de prélèvement).

Ces analyses pourraient alors être effectuées au titre du contrôle sanitaire ou au titre de l'auto surveillance ou par application de l'article 13-2 du décret 2001-1220 (notamment lorsque l'eau présente des signes de dégradation).

Un échantillonnage mensuel est la fréquence minimale nécessaire pour autoriser une évaluation de la distribution de la contamination au cours de l'année et intégrer les fluctuations saisonnières (prélèvements plus fréquents en cas de fortes pluies entraînant le lessivage des sols). A partir des résultats obtenus et des informations recueillies sur l'environnement du captage, des contrôles pourraient être effectués sur les installations de production et de distribution d'eau.

gondii demeurent infectieux dans 1% Tween-80 ou 1% SDS dans l'eau pendant 24 heures (Dubey, 1970a), ils peuvent être élués avec ces tampons usuels. La dissolution des membranes d'acétate de cellulose dans de l'acétone 100% est une alternative à ces procédés d'éluion (Aldom, 1995). Cependant, elle ne paraît pas appropriée à des études d'infectiosité car la dissolution réduit la viabilité des protozoaires (Carreno, 2001).

²⁷ . Deux approches techniques ont été proposées pour extraire l'ADN des oocystes: l'une est de réaliser le dékystement in vitro suivi de l'extraction de l'ADN des sporozoïtes; l'autre consiste à détruire la paroi des oocystes par différents procédés avant l'extraction d'ADN (rupture des oocystes par congélation/décongélation ou par écrasement sur des billes de verre suivie d'une longue digestion par la protéinase K). Des études expérimentales récentes ont tenté d'optimiser la détection par PCR d'oocystes dans l'eau avec différentes cibles d'amplification étudiées (gène B1 ou ssRNA) (Schwab, 2003 ; Kourenti, 2004 ; Villena, 2004). Les seuils de détection varient suivant que la détection est réalisée sur des surcharges réalisées sur les culots d'eau filtrée (seuil théorique de détection de 0.1 oocyste pour Kourenti, 2004) ou sur des surcharges préalables à la filtration des eaux (détection allant de 10 à 1000 oocystes par litre d'eau filtrée selon la nature des eaux étudiées selon Villena, 2004). La présence fréquente d'inhibiteurs de la PCR dans les matrices environnementales est une limite à l'utilisation de cette technique de détection, cependant des protocoles utilisant la sérum albumine bovine ont été proposés pour éliminer une partie de ces inhibiteurs (Rochelle, 1997 ; Villena, 2004).

Une expérience pilote menée dans la région Champagne-Ardenne a permis de détecter la présence d'ADN toxoplasmique sans mise en évidence du parasite par bio-essai (Villena, 2004). L'évaluation de la contamination de la ressource par *T. gondii* est réalisée conjointement à celle de *Cryptosporidium* et *Giardia* ; ces recherches sont menées en collaboration avec les DRASS et DDASS de la région.

Des actions soutenues par les pouvoirs publics pourraient être menées à plus large échelle afin d'estimer la part réelle de la contamination environnementale par les oocystes de *T. gondii*. Ces recherches restent encore dans le domaine de l'investigation.

1.7. Recherche de *T. gondii* dans les autres aliments

1.7.1. Plats cuisinés ou viande à l'étal

En complément des analyses proposées sur les viandes (cf. paragraphe 1.4 ci-dessus), des analyses pourraient être envisagées sur des échantillons de plats cuisinés ou de viande à l'étal prélevés au hasard de la chaîne alimentaire, avec un plan d'échantillonnage prenant en compte les données issues des études de consommation.

1.7.2. Coquillages

Les coquillages filtrent de grandes quantités d'eau et peuvent concentrer les oocystes de *T. gondii* éventuellement présents dans l'environnement.

La possibilité de contamination toxoplasmique par consommation de coquillages crus est évoquée par l'existence de cas de toxoplasmoses chez les mammifères marins (Dubey, 2003 ; Miller, 2002) et par la possibilité d'infecter expérimentalement des huîtres (Lindsay, 2001) ou des moules (Arkush, 2003) immergées dans l'eau de mer. Cependant, elle n'a pas été démontrée dans des échantillons naturels ou commercialisés.

Une méthodologie comparable à celle utilisée pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium* dans les coquillages (Graczyk, 1999 ; Fayer, 1999) pourrait être mise en œuvre. Elle pourrait se baser sur une technique de concentration par immunoséparation magnétique suivie de méthodes de détection utilisant (bio-essai, PCR, RT-PCR).

La recherche sur les coquillages reste encore du domaine de l'épidémiologie. La recherche couplée des oocystes de *Cryptosporidium* et de *T. gondii* pourrait ainsi être proposée en privilégiant une recherche sur différents types de sites (estuaires, bassins d'élevage, etc.), notamment en fonction du risque de contamination par des eaux de ruissellement (risque accru en cas de forte pluviométrie).

Références bibliographiques

- AFSSA. Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium parvum*. 2002;185 pp.
- AFSSA. Alimentation animale et sécurité sanitaire des aliments. 2000;177 pp.
- Aldom JE, Chagla AH. Recovery of *Cryptosporidium* oocysts from water by a membrane filter dissolution method, Lett Appl Microb. 1995;20:186-7.
- Anonymous. *Cyclospora cayetanensis* protocol: concentration and preparation of oocysts from produce for the polymerase chain reaction (PCR) and microscopy. [WWW document]. URL 1997 www.cfsan.fda.gov/~mow/cyclmet.html.
- Anonymous. Standard Operating Protocol, 2000, for the Monitoring of *Cryptosporidium* oocysts in Treated Water Supplies to Satisfy Water Supply (Water Quality) (Amendment). Regulations 1999; SI No. 1524.
- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckeroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Int J Parasitol. 2003;33:1087-97.
- Bier JW. Isolation of parasites on fruits and vegetables. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1991;22:144-5.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. Lancet. 1997;350:173-7.
- Carreno RA, Pokorny NJ, Weir SC, Lee H, Trevors JT. Decrease in *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in vitro by using the membrane filter dissolution for recovering oocysts from water samples. Appl Environ Microb. 2000;167:3309-13.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 1970a;56:447-56.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. J Exper Med. 1970b;132:636-62.
- Dubey JP, Thulliez P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res. 1993;54:270-3.

- Dubey JP, Zarnke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OC. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet Parasitol.* 2003;30:275-96.
- Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Vet Parasitol.* 1998;74:75-7.
- Dubey JP. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol.* 2004;126:57-72.
- Dumètre A, Dardé ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiol Rev.* 2003;27:651-61.
- Dumètre A, Dardé ML. Immunomagnetic separation of *Toxoplasma gondii* oocysts using a monoclonal antibody directed against the oocyst wall. *J Microbiol Meth.* 2005;61:209-17.
- Fayer R, Lewis EJ, Trout JM, Graczyk TK, Jenkins MC, Higgins J, Xiao L, Lal AA. *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. *Emerg Infect Dis.* 1999;5:706-10.
- Graczyk TK, Fayer R, Lewis EJ, Trout JM, Farley CA. *Cryptosporidium* oocysts in Bent mussels (*Ischadium recurvum*) in the Chesapeake Bay. *Parasitol Res.* 1999;85:518-21.
- Isaac-Renton J, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, Shokeir MO, Dubey JP. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. *Appl Environ Microb.* 1998;64:2278-80.
- Kourenti C, Karanis P. Development of a sensitive polymerase chain reaction method for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. *Water Sci Technol.* 2004;50:287-91.
- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J Eukaryot Microbiol.* 2001; Suppl,197S-198S.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int J Parasitol.* 2002;32:997-1006.
- Monge R, Arias ML. Presencia de microorganismos patógenos en hortalizas de consumo crudo en Costa Rica. *Arch Latinoam Nutr.* 1996;46:292-4.
- Oda T, Sakagami M, Ito H, Yano H, Rai SK, Kawabata M, Uga S. Size selective continuous flow filtration method for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Wat Res.* 2000;34:4477-81.
- Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, Miller NJ, Cabrera L, Taquiri C, Sterling CR. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57:683-6.
- Quintero-Betancourt W, Peele ER, Rose JB. *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis*: a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. *J Microbiol Meth.* 2002;49:209-24.
- Rochelle PA, De Leon R, Stewart MH, Wolfe RL. Comparison of primers and optimisation of PCR conditions for detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water. *Appl Environ Microb.* 1997;63:106-14.
- Robertson LJ, Gjerde B. Isolation and enumeration of *Giardia* cysts, *Cryptosporidium* oocysts, and *Ascaris* eggs from fruits and vegetables. *J Food Prot.* 2000;63:775-8.
- Robertson LJ, Gjerde B. Occurrence of parasites in fruits and vegetables in Norway. *J Food Prot.* 2001a;64:1793-98.
- Robertson LJ, Gjerde B. Factors affecting recovery efficiency in isolation of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from vegetables for standard method development. *J Food Prot.* 2001b;64:1799-805.
- Rothe J, McDonald PJ, Johnson AM. Detection of *Toxoplasma* cysts and oocysts in an urban environment in a developed country. *Pathology.* 1985;17:497-499.
- Sharma SP, Dubey JP. Quantitative survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites in pepsin and in trypsin solutions. *Am J Vet Res.* 1981;42:128-30.
- Shepherd KM, Wyn-Jones AP. An evaluation of methods for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. *Appl Environ Microb.* 1996;62:1317-22.
- Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. *Pediatrics.* 1980;65:706-11.
- Sturbaum GD, Ortega YR, Gilman RH, Sterling CR, Cabrera L, Klein DA. Detection of *Cyclospora cayetanensis* in wastewater. *Appl Environ Microb.* 1998;64:2284-86.
- Teutsch SM, Juranek DD, Sulzer A, Dubey JP, Sikes RK. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *New Engl J Med.* 1979;300:695-9.
- USEPA. Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration / IMS / FA United States Office of Water Environmental Protection 4603 April-2001 Agency EPA-821-R-01-025.
- Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferte H, Ingland M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl Environ Microb.* 2004;70:4035-9.

2. PROPOSITION 2 : vers la mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose

Rédacteurs de la proposition : Mme Thébault, M. Derouin, M. Volatier
--

2.1. Contexte

Dès 1999, la *Commission du Codex Alimentarius* recommande que l'évaluation des risques microbiologiques repose sur une estimation quantitative. Ces principes sont depuis constamment réaffirmés par cette instance.

Cette méthodologie d'évaluation des risques sanitaires est de plus en plus mise en oeuvre dans les instances communautaires et internationales, mais également dans certaines institutions nationales.

La forte prévalence de la toxoplasmose en France chez l'homme et le fait que le principal mode de contamination soit alimentaire justifie totalement la conduite d'une appréciation quantitative du risque de toxoplasmose lié à l'alimentation.

Les Question 29 et Question 30 de ce rapport ont bien montré la complexité de cette analyse et le manque de données dans plusieurs composantes du modèle.

La proposition détaillée ci-dessous en reprend les points essentiels en suggérant des approches techniques et méthodologiques réalisables à court ou moyen terme.

2.2. Objectifs

Le principal objectif d'une appréciation quantitative du risque (AQR) pour la toxoplasmose serait l'évaluation de l'impact de la consommation d'aliments (ou de certains aliments) potentiellement contaminés sur l'incidence de la toxoplasmose chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale.

Les objectifs secondaires seraient :

- l'évaluation du retentissement de mesures visant à réduire la contamination des animaux de boucherie;
- l'évaluation du retentissement de la pratique de congélation ;
- l'évaluation théorique de l'impact des recommandations individuelles concernant la consommation de viande, de végétaux crus et sur la cuisson ou la congélation de la viande.

2.3. Propositions d'études

Elles sont identifiées par rapport aux déficits de connaissances relevés dans l'analyse de la faisabilité d'une AQR pour *T. gondii* (Question 29 et Question 30).

Elles viennent en complément des propositions sur l'évaluation de la contamination des denrées alimentaires et de l'eau par *T. gondii*. (cf. Proposition 1).

2.3.1. Etudes expérimentales

- *Définition d'une relation dose-réponse pour les souches de génotype II*

Les souches les plus expérimentées à ce jour sont de génotype III, alors que le génotype II est prédominant chez l'homme.

L'évaluation des relations dose-réponse devrait être conduite avec des oocystes et des bradyzoïtes de plusieurs souches de génotype II, sur au moins trois espèces animales (souris, rats, et porc si possible), voire moutons ou bovins dans un deuxième temps. Ces études devraient porter un soin particulier à une estimation précise de l'infectiosité des faibles doses d'oocystes (0-1000) afin d'estimer au mieux les paramètres de la relation.

Pour les bradyzoïtes, les résultats présentés dans la Question 29 sont globalement satisfaisants, mais les dose-réponses établies pour le génotype II chez la souris devraient être étudiées sur d'autres espèces animales, afin de mieux évaluer la variabilité inter-espèce, en vue d'une éventuelle extrapolation à l'homme.

En complément, une étude de la susceptibilité des animaux immunodéprimés pourrait être faite pour estimer les paramètres de la relation dose-réponse en cas de déficit immunitaire.

- *Evaluation de la sensibilité et du rendement des techniques de recherche de parasite dans les aliments*

Cette proposition complète l'évaluation de la contamination des denrées alimentaires et de l'eau par *T. gondii* (cf. Proposition 1) par une approche expérimentale comparative des techniques actuellement disponibles : inoculation à l'animal, PCR « conventionnelle » et quantitative, RT-PCR.

Cette évaluation devrait conduire à définir la sensibilité et le rendement des différentes techniques sur différentes matrices alimentaires, et d'en évaluer le coût-bénéfice, en préalable à la proposition d'une technique normalisée.

Ces travaux pourraient être menés dans un cadre collaboratif entre plusieurs laboratoires de parasitologie déjà expérimentés dans ce domaine.

- *Répartition des parasites dans les échantillons*

La distribution de la contamination parasitaire dans les aliments (notamment en fonction de la pièce de viande) devrait être évaluée de façon à pouvoir mieux estimer le risque lié à la consommation d'une portion. Une approche expérimentale peut être envisagée par une étude d'échantillons de même poids prélevés au hasard dans une pièce comestible de viande issue d'un animal séropositif pour la toxoplasmose. La répétition de cette expérimentation permettrait d'estimer la variabilité de la contamination entre animaux séropositifs d'une même espèce.

Le nombre d'animaux à examiner pour estimer la fréquence de contamination d'une pièce de viande donnée chez un animal présentant une sérologie positive dépendra de la fréquence trouvée sur les premiers échantillons et du niveau de précision souhaitée. Les échantillons pour estimer cette fréquence devraient être issus d'une contamination naturelle.

- *Abattement en fonction du mode de cuisson, de préparation ou de conservation des aliments*

Des données expérimentales sont disponibles sur l'effet de la température : elles seraient à compléter en fonction des modes de cuisson habituellement pratiqués par les consommateurs.

Sur la viande, une collaboration avec l'ADIV²⁸ serait à encourager pour préciser les températures atteintes dans les différentes parties d'une portion en fonction du mode de cuisson et l'effet sur l'infectiosité des parasites.

Sur les autres aliments et sur la viande, des données complémentaires sont à acquérir sur les différents procédés de conservation, de traitement ou de conservation des aliments.

Une évaluation plus approfondie des effets de la salaison et des différents types d'irradiation sur les kystes et les oocystes est également indispensable.

2.3.2. Etudes de consommation

Pour mener l'appréciation quantitative de risque, il faut pouvoir quantifier le comportement des consommateurs d'aliments potentiel à risque, de façon statistiquement représentative pour l'ensemble de la population, mais aussi pour les populations à risque, telles que les femmes enceintes ou les femmes en âge de procréer.

Deux types d'informations sont à obtenir :

- d'une part, il faut disposer d'une mesure de la variabilité entre individus des consommations habituelles des aliments concernés : différents types de viandes, certains fruits et légumes consommés crus tels que les salades, et l'eau. Si une information existe à l'heure actuelle à travers les études d'épidémiologie nutritionnelle représentatives au niveau national, il reste à les compléter par des compléments d'information sur les consommations des femmes enceintes.

²⁸ ADIV : Centre Technique Français de la Viande

- d'autre part, il faut disposer d'informations sur les modes de consommation de ces aliments, notamment l'utilisation préalable de la congélation et sur les modes de cuisson. Sur ce point, les données sur la part relative des viandes congelées mises sur le marché n'est pas une information forcément facile à acquérir, car la viande peut être vendue après décongélation.

Un important travail méthodologique préalable est nécessaire. Même si des questionnaires succincts tels que celui utilisé par le Réseau national de santé publique (InVS) en 1995 ont montré leur efficacité pour mettre en évidence des risques accrus d'infection, ils n'ont pas été validés pour pouvoir être mis en relation avec des critères objectifs de cuisson. Il faudrait donc développer et valider un questionnaire dans ce domaine et en tester la reproductibilité, avant de pouvoir envisager une enquête de terrain.

2.3.3. Etudes cliniques

Elles s'intègrent dans la Proposition 3 portant sur « l'évaluation des mesures de prévention ». L'objectif serait de mieux préciser l'estimation du risque de survenue des manifestations cliniques de toxoplasmose chez un enfant contaminé *in utero*. La valeur retenue à ce jour à partir d'une étude française récente incluant un suivi prolongé des enfants contaminés (29%) (Wallon, 2004) serait à renforcer par d'autres études de cohortes. D'autres types de données seraient intéressantes à acquérir afin de valider un modèle d'appréciation quantitative du risque, notamment l'identification de la part respective des différents aliments dans l'infection humaine. La recherche de facteurs de risque dans le cadre d'études épidémiologiques pourrait être élargie aux produits végétaux et à l'eau de consommation.

2.3.4. Efficacité attendue de mesures de prévention

Différentes mesures de prévention ont été envisagées ou évoquées dans ce rapport. A l'échelle des élevages, il peut s'agir de vaccination, de dépistage, ou de précautions vis à vis de la présence de chats. A l'échelle des consommateurs et particulièrement des femmes enceintes, il peut s'agir de campagnes de d'information sur les risques et les modes de contamination.

Comme cela a été rappelé dans la Question 30, la mise en perspective de différentes mesures de prévention sur l'incidence de la toxoplasmose peut se faire selon deux approches : l'une visant un niveau à atteindre pour diminuer le risque, l'autre visant à comparer l'effet attendu de différentes stratégies. La première approche doit aboutir à des propositions réalistes en terme de modalités dans un temps donné, avec contrôle de l'efficacité pour valider le modèle. L'autre approche consiste à évaluer l'impact attendu de différentes mesures de gestion auprès des éleveurs et/ou des campagnes de sensibilisation auprès des femmes enceintes (cf. Proposition 3).

2.4. Méthodologie d'appréciation quantitative du risque

Les objectifs spécifiques sont :

- quantifier le risque de toxoplasmose congénitale en fonction de la contamination de certains aliments,
- prioriser les programmes de recherche permettant d'améliorer la précision du modèle,
- valider le modèle sur des données épidémiologiques afin d'estimer l'efficacité attendue de différentes mesures préventives sur l'incidence annuelle de la toxoplasmose congénitale.

La *première étape* sera de déterminer si l'appréciation quantitative du risque devra être appliquée d'emblée à toutes les viandes ou se limiter à celles qui ont été déterminées comme prioritaires dans la Question 30, à savoir le porc, le mouton ou le bœuf. La même question se pose d'inclure ou non les aliments d'origine végétale. De façon symétrique, il faut aussi déterminer si l'évaluation doit tenir compte du génotype parasitaire ou non.

A *priori* il conviendrait de garder au minimum les 3 espèces animales considérées comme les plus contaminées et/ou consommées et si possible ne garder que les données relatives aux infections par le génotype II, majoritaire chez l'homme.

La *seconde étape* de travail sera de vérifier le modèle conceptuel présenté dans la Question 30, au vu de toutes les données disponibles et d'analyser plus finement la cohérence du découpage en recherchant d'éventuelles corrélations entre les compartiments.

La *troisième étape* du travail serait l'acquisition de données quantitatives à tous les niveaux du module à partir de données bibliographiques. Lorsque des manques de connaissances seront identifiés, une consultation d'experts pourrait donner des éléments pour approcher les distributions possibles de valeurs (et modéliser l'incertitude). Si cette approche n'aboutit pas, il faudra alors soit attendre l'acquisition de nouvelles données, soit émettre des hypothèses et des scénarios possibles, soit se contenter d'approches partielles du modèle.

A partir de la *quatrième étape*, une première analyse de sensibilité pourra être réalisée, mettant en évidence les principaux points critiques des manques de connaissances, en vue d'améliorer la précision du modèle. Si les données le permettent, une première estimation de l'incidence annuelle des toxoplasmoses congénitales ayant pour origine une contamination par un aliment donné, pourra être tentée.

Au vu de résultats d'enquêtes épidémiologiques et de l'incidence estimée par enquête, le modèle pourra être validé ou au contraire nécessiter un réajustement. Si le modèle le nécessite, une nouvelle validation devra être réalisée sur de nouvelles données. Si après confrontation à des données de terrain, le modèle donne des résultats considérés comme valides, on pourrait alors comparer différentes stratégies de prévention.

2.5. Conditions de réalisation

Les compétences techniques pour la réalisation des propositions listées ci-dessus existent en France et peuvent être mobilisées dans un cadre collaboratif et multidisciplinaire pour que les objectifs identifiés dans cette proposition soient réalisés à court ou moyen terme.

Références bibliographiques

Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, Peyron F. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004;113:1567-72.

3. PROPOSITION 3 : renforcement et évaluation de la prévention primaire de la toxoplasmose chez la femme enceinte

Rédacteurs de la proposition : M. Peyron, Mme Goulet, M. Thulliez

3.1. Contexte

A l'inverse de la plupart des autres pays, la France a instauré depuis de nombreuses années des mesures de dépistage et de prévention de la toxoplasmose pendant la grossesse. L'impact de ces mesures sur la réduction de l'incidence de la maladie n'a pas été évalué du fait de difficultés techniques.

3.2. Objectifs

Le groupe de travail considère comme prioritaire d'associer :

- une actualisation et une reformulation des recommandations de prévention de la toxoplasmose,
- une campagne d'information auprès des femmes enceintes avec diffusion de ces recommandations actualisées,
- une évaluation de l'efficacité de cette campagne d'information.

3.3. Propositions d'actualisation et reformulation des mesures de prévention

Les principaux facteurs de risque de la maladie sont actuellement connus et sont résumés dans la Question 13 : ils recourent les conseils publiés dans le BEH de 1996, approuvés par le conseil Supérieur de l'Hygiène Publique de France et qui s'appuyaient sur une étude cas témoins effectuée en France en 1995 (Baril 1999) :

- *bien cuire la viande (bœuf, mouton, porc, cheval), c'est-à-dire une cuisson d'au moins 65°C dans toute l'épaisseur de la viande. Eviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée (comme cela peut être le cas pour le gibier).*
- *lors de la préparation des repas : laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques, surtout s'ils sont terreux et consommés crus. Laver soigneusement les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail. Se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue et avant de passer à table. Une bonne hygiène des mains et des ustensiles de cuisine est importante pendant la grossesse pour éviter la transmission de la toxoplasmose.*
- *éviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments de chat (comme les bacs des litières, la terre) et porter chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets.*
- *éviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après les activités de jardinage même si elles sont protégées par des gants.*

Une revue récente des données bibliographiques a montré que ces recommandations étaient toujours valables, mais que certaines pouvaient être reformulées pour être plus explicites (cf. Question 34). De cette liste, seule la désinfection de la litière des chats avec de l'eau de javel a été supprimée car l'inefficacité de cette mesure a été démontrée.

L'évaluation de la diffusion et de l'acceptabilité de ces recommandations n'a jamais été faite auprès du public et des professionnels de santé ; un travail français récent a montré que malgré un bon niveau de connaissance, l'observance de mesures préventives était parfois faible (cf. Question 35).

Une étude qualitative auprès d'un échantillon de femmes séronégatives apparaît donc indispensable pour identifier les raisons de la non observance des recommandations préconisées et adapter les messages de prévention.

3.4. Propositions de programme d'information des femmes enceintes

Pour diminuer l'incidence des séroconversions chez la femme enceinte, la meilleure prévention est la prévention primaire. Cette prévention est actuellement insuffisante en France puisque environ 3000 femmes enceintes se contaminent chaque année. Un programme d'information doit être impérativement établi avec l'aide de professionnels de la communication.

Faisant suite à l'actualisation des recommandations, ce programme aura les objectifs suivants:

- définir la meilleure façon de diffuser l'information,
- réduire l'hétérogénéité existante entre des messages délivrés d'un centre à l'autre,
- améliorer l'observance de ces recommandations,
- tenir compte des recommandations qui concernent d'autres infections (listeriose, salmonellose, etc.).

Pour une efficacité optimale, la diffusion de l'information devrait être faite :

- auprès des acteurs de santé et les structures médicales concernés par la prise en charge les femmes enceintes : gynécologues, généralistes, sages-femmes, biologistes,
- auprès des de tous les médias pouvant être consultés par les femmes enceintes : presse féminine, éditeurs de livres, éditeurs de sites internet, etc.,
- dans les documents remis aux femmes enceintes lors du suivi de leur grossesse (carnet de la CPAM).

3.5. Propositions d'évaluation du programme d'information des femmes enceintes

L'évaluation de l'impact des mesures préventives de la toxoplasmose nécessite au préalable de connaître de façon précise son incidence chez la femme enceinte. En France, le calcul de l'incidence des séroconversions est, en théorie, facilité par la pratique du dépistage et du suivi sérologique systématique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes. En pratique, l'exploitation épidémiologique des données de surveillance sérologique reste très difficile, d'une part parce que la qualité du suivi des femmes est variable, et d'autre part parce que les données issues des laboratoires ne sont pas centralisées. Les interprétations des sérologies ne sont pas standardisées et les critères diagnostiques des séroconversions ne sont pas homogènes. Ces limites rendent difficile le recueil précis et l'interprétation, à un niveau national, des séroconversions survenant en cours de grossesse. La réduction du nombre de séroconversions est néanmoins la façon la plus pertinente d'évaluer un programme de prévention. Une autre approche, plus indirecte, consisterait à évaluer la diminution de l'incidence de l'infection congénitale, en mesurant la réduction du nombre de diagnostics anténataux positifs et/ou le nombre de cas diagnostiqués après la naissance. Bien que moins précis, ces indicateurs peuvent être envisagés pour évaluer l'efficacité d'une politique de prévention si un relevé des séroconversions s'avère trop lourd à organiser.

Quelle que soit la solution choisie, pour démontrer son efficacité, le programme devrait être appliqué dans une zone géographique circonscrite, avec une comparaison de l'incidence des séroconversions dans cette zone à celle d'une autre zone géographique témoin sans programme d'intervention. Dans un contexte de diminution de l'incidence de cette infection (44% de séroprévalence en 2003 contre 56% en 1995) une réduction ne pourra être attribuée à un programme de prévention qu'avec la comparaison avec d'une population témoin.

3.5.1. Indicateurs pertinents pour évaluer l'efficacité du programme

- *Réduction du nombre de séroconversions chez les femmes enceintes*

Population étudiée

La taille de la population à étudier dépend du nombre minimum de séroconversions observées pour pouvoir juger de l'impact des mesures de prévention. On peut envisager la mise en place d'études nationales ou régionales.

L'intérêt d'une étude nationale serait d'avoir la totalité des séroconversions. Toutefois une telle étude serait lourde et nécessiterait des moyens importants.

Une étude régionale impliquant, dans un premier temps, deux régions pilotes, représentant si possible deux biotopes différents, et non contiguës afin d'éviter des biais dus à l'environnement serait plus simple à entreprendre. La durée de l'étude devra être d'un an au minimum afin d'intégrer les variations saisonnières.

Relevé des séroconversions

Ce travail nécessite un recueil précis des données sérologiques des laboratoires hospitaliers, mais également des laboratoires privés. Afin d'homogénéiser les résultats, un groupe d'experts devra valider les infections pergravidiques et les classer en « certaines » ou « probables ». Afin d'éviter tout biais de recrutement il conviendra d'atteindre l'exhaustivité des cas durant la période de l'étude. Pour cela, il paraît indispensable d'analyser et de croiser plusieurs sources de données :

- recensement des cas par les laboratoires privés et hospitaliers (CHU et hôpitaux généraux), nécessitant une information préalable afin que l'étude ne soit pas vécue comme un « contrôle »,
- recensement des cas par les médecins généralistes et les obstétriciens,
- recensement des cas d'interruption de grossesses pour toxoplasmose par les centres d'orthogénie,
- recensement des cas diagnostiqués par les centres de diagnostic anténatal.

- *Réduction du nombre des diagnostics anténataux positifs*

Au plan logistique une telle étude est plus facilement réalisable. Le diagnostic anténatal de la toxoplasmose étant soumis à agrément, il est réalisé dans des centres identifiés qui rapportent leur activité à une autorité de tutelle. Toutefois, au plan technique, cette proposition est moins précise que la précédente dans la mesure où seulement 29% des séroconversions maternelles aboutissent à une infection fœtale, et que les indications d'amniocentèse varient en fonction des centres pour les contaminations maternelles de début et de fin de grossesse. De plus, les différences de sensibilité des techniques utilisées seront à prendre en considération. Évaluer l'efficacité d'un programme de prévention à partir de la réduction du nombre de diagnostics anténataux obligerait à une extrapolation des résultats.

- *Réduction du nombre des cas d'infections congénitales diagnostiquées après la naissance*

La réduction de l'incidence des cas de toxoplasmoses congénitales serait un bon estimateur de l'efficacité d'un programme de prévention puisqu'il en est l'objectif final. Il nécessite une liste exhaustive des centres où ce diagnostic, non soumis à agrément, est réalisé. Tous les enfants, issus des mères participant à l'étude et non immunisées, bénéficieraient d'un test diagnostique à la naissance. Toutefois, en cas de bilan périnatal négatif, une toxoplasmose congénitale ne pourra être formellement écartée qu'après négativation des sérologies avant l'âge de 1 an. Cette proposition impliquerait donc, en plus de la période de l'étude, un suivi d'une année pour la majorité des cas.

3.5.2. Faisabilité de l'évaluation du programme

Des 3 propositions énoncées, la première est la plus précise mais celle qui nécessite le plus de moyens à mettre en œuvre. Elle a le mérite par rapport aux 2 autres de ne pas être biaisée par les interruptions volontaires de grossesse en cas de séroconversion du premier trimestre. Elle nécessite la mise en place d'une étude avec un comité scientifique interdisciplinaire composé de parasitologues, d'obstétriciens, d'épidémiologistes et de représentants institutionnels en charge de la promotion de la santé publique au niveau national (Direction Générale de la Santé : DGS, l'Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé : INPES). Elle implique également un plan de communication pour présenter l'étude afin d'obtenir la participation de la totalité des acteurs (biologistes de laboratoires polyvalents et de parasitologie, médecins généralistes et spécialistes) et la présence d'Attachés de Recherche Clinique (ARC) pour le recueil d'informations.

3.5.3. Résultats attendus

La réduction significative de l'estimateur choisi permettra de valider les recommandations et leur mode de diffusion. Ce programme pourra être par la suite appliqué à l'échelle nationale. Il permettra à la France d'avoir une attitude cohérente en matière de prévention de la toxoplasmose associant dépistage systématique et programme officiel de prévention primaire.

Annexes

Annexe I : Détail sur la méthode d'analyse des paramètres de la relation dose-réponse

L'approche « classique » de Haas par le calcul du maximum de vraisemblance

Estimation du paramètre r par la méthode du maximum de vraisemblance

L'idée générale est de trouver une valeur de r qui maximise la probabilité d'observation de ce qui a été observée, ce qu'on appelle la vraisemblance. Pour chaque quantité relative la probabilité d'une observation donnée suit une loi Binomiale de paramètres (n,p) , n est le nombre d'animaux utilisés et p la probabilité d'être infecté pour une quantité relative donnée. Cette probabilité est liée à une loi exponentielle, fonction de la quantité relative et d'un paramètre constant r . On choisit pour l'estimation du paramètre recherché la valeur qui rend maximum la vraisemblance, c'est à dire la probabilité d'observer toutes les observations obtenues (pour les différents niveaux de quantité relative) en fonction du paramètre r . Le plus souvent on calcule la Log vraisemblance des observations. Le calcul peut être fait en recherchant la valeur qui annule la dérivée de la fonction précédente ou en recherchant la valeur qui minimise la déviance (et qui se calcule à partir de la log vraisemblance) en utilisant la fonction SOLVER d'Excel (Haas,1999).

Afin de calculer l'intervalle de confiance à 95%, on estime que la différence entre la déviance pour un paramètre R quelconque et la déviance obtenue après ajustement ne doit pas dépasser la valeur d'un χ^2 pour un intervalle de confiance de 5% et pour 1 degré de liberté (nombre de paramètres). La valeur de χ^2 obtenue est alors de 3,841.

L'approche par « Bootstrap paramétrique »

La méthode générale a été décrite par Haas (Haas 1999) et globalement reprise par le programme écrit en R sur le logiciel R (© The R core Team, 2001) pour décrire l'incertitude du paramètre r pour la dose-réponse de type exponentiel de *Cryptosporidium* (Pouillot 2004). Le paramètre r est estimé à partir de la log vraisemblance comme précédemment. On obtient donc pour chaque niveau de quantité relative les paramètres d'une loi Binomiale (n,p) . On va simuler les observations que l'on aurait pu obtenir à partir de cette loi. On obtient de nouvelles valeurs d'observations sur lesquelles on calcule de nouveau la vraisemblance et, de ce fait, de nouvelles valeurs de r . Les valeurs obtenues de r pour les différentes simulations servent à bâtir une distribution, décrivant l'incertitude sur V dont on déduit les quantiles 2,5% et 97,5% , donnant les bornes de l'intervalle de crédibilité à 5%.

L'approche par MCMC (Monte Carlo Markov Chain)

Cette approche est issue du raisonnement bayésien. On a une connaissance *a priori* des valeurs possibles du paramètre recherché, ce qu'on appelle une distribution *a priori*. L'observation fournit des données qui vont modifier ou affiner nos connaissances sur ces valeurs possibles, ce qu'on appelle une distribution *a posteriori*, à l'aide du théorème de Bayes. En bayésien on calcule la probabilité d'une observation conditionnellement au paramètre recherché, ici r . La distribution *a posteriori* se déduit de cette probabilité conditionnelle et de la distribution *a priori*. Le calcul de la distribution *a posteriori* par le théorème de Bayes comporte une intégrale (il faut considérer toutes les valeurs possibles de V), dont la solution analytique est souvent trop complexe à résoudre (Gilks, 1996). Les méthodes MCMC permettent de s'affranchir de ce calcul analytique. Les simulations de Monte-Carlo permettent de faire un tirage aléatoire dans une distribution de probabilité (par exemple la distribution *a priori*). A partir des n résultats de ce tirage (état t), que l'on nomme $r(t)$ on va effectuer un nouveau tirage (état $t+1$) qui ne dépend que de l'état t et on va obtenir $r(t+1)$. C'est ce qu'on appelle une chaîne de Markov. Entre l'état $r(t)$ et $r(t+1)$ il faut définir un noyau de transition (qui définit quelles sont les nouvelles valeurs qui pourront être gardées dans la distribution $t+1$). Différents algorithmes de calculs permettent la transition d'un état (t) vers un état $(t+1)$ tel que la chaîne converge vers la distribution *a posteriori* recherchée. La

chaîne de Markov, au bout d'un certain nombre de simulations, ne dépend plus de $r(0)$, c'est à dire la valeur initiale de r . On dit que la chaîne converge vers un unique état stationnaire ou invariant. Un certain nombre de contrôles permettent de vérifier qu'on a atteint cet état stationnaire. La distribution des valeurs de X correspondant à cet état stationnaire correspond à la distribution *a posteriori* recherchée. Ceci est permis par le choix d'un algorithme de calcul approprié pour le noyau de transition. L'échantillonneur de Gibbs est un algorithme plus efficient que l'algorithme de Metropolis-Hasting (Gilks, 1996 ; Vose 2000). L'algorithme avec échantillonneur de Gibbs est celui utilisé dans le logiciel WINBUGS, entre autre. La distribution *a priori* a été choisie de façon non informative. L'approche MCMC est aussi plus facile à mettre en œuvre pour des approches multiparamétriques. La distribution *a priori* a été choisie de façon non informative, car on pouvait considérer qu'on ne disposait pas d'information *a priori* sur la valeur du paramètre r . Les limites de l'approche MCMC, qui est aussi celle des approches bayésiennes en général, incitent cependant à vérifier l'effet de différentes distributions *a priori* sur le résultat final. Le diagnostic de la convergence pose encore des difficultés, mais l'utilisation des méthodes MCMC se généralisent et montrent de plus en plus que les résultats obtenus sont fiables, notamment en épidémiologie (Elliot, 2001 ; Gilks, 1996). Les spécifications pour cette approche MCMC étaient les suivantes : r suit une loi gamma peu informative, les observations suivent une loi binomiale de paramètre (N, p_i) et $p(i)$ suit une relation exponentielle fonction de la dose et du paramètre r .

Annexe II : Modèles expérimentaux utilisables pour l'étude de la relation dose-réponse

1- Etudes expérimentales avec des oocystes

SOURIS ET RAT

SOUUCHE VEG (type III)

Etude 1 : Dubey JP. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. J Parasitol. 1996;82:951-6

- **Rats** (Dubey 1996). Souche VEG (type III). Inoculation par voie orale

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces (date moy)	Nb. infection chronique	
10 ⁶	5	5	3 (7,3)	2	0
10 ⁵	5	5	0	5**	0
10 ⁴	5	5	0	5**	0
10 ³	5	5	0	5**	0
10 ²	5	5	0	5**	0
10	5	5	0	5**	0
1	5	3	0	3**	2
<1	5	0	0	0	5

*avec preuve parasitologique ou ** sérologique

- **Souris**. Souche VEG (type III). Inoculation par voie orale

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces (date moy)	Nb. infection chronique	
10 ⁶	5	5	5 (3-13)	0	0
10 ⁵	5	5	5 (3-13)	0	0
10 ⁴	5	5	5 (3-13)	0	0
10 ³	5	5	5 (3-13)	0	0
10 ²	5	5	5 (3-13)	0	0
10	5	5	2 (12-15)	3 ?**	0
1	5	4	1 (12-15)	2 ?**	1
<1	5	0	0	0	0

* avec preuve parasitologique, ** pas de précision

Etude 2 : Dubey JP, Speer CA, Shen SK, Kwok OC, Blixt JA. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. J Parasitol. 1997;83:870-82.

- **Souris** Souche VEG (type III). Inoculation par voie orale

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces (date moy)	Nb. infection chronique	
10 ⁷	5	5	5 (3,6)	0	0
10 ⁶	5	5	5 (4,8)	0	0
10 ⁵	5	5	5 (5,4)	0	0
10 ⁴	5	5	5 (7,4)	0	0
10 ³	5	5	5 (10,2)	0	0
10 ²	5	5	5 (11,6)	0	0
10	5	5	2 (12)	3	0
1	5	4	1 (15)	3 ?**	1

*avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants, ** pas de précision

AUTRES SOUCHES

- **Souris.**

Dubey JP, Frenkel JK. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. J Parasitol. 1973;59:505-12.

Ne sont reportés que les résultats faisant suite à une infection par voie orale

Souche M 7741 (type III)

Etude 1

Inoculum*	Nb inoculé	Infectées**			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces (date moy)	Nb. infection chronique	
10 ⁴	4	4	4 (8)	0	0
10 ³	4	4	4 (18)	0	0
10 ²	4	2	2 (12)	2	0
10	4	0	0	0	4
1	4	0	0	0	4

*Inoculum indiqué en Minimum infecting dose , ** avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Souche M 7741 (type III)

Etude 2 (même protocole que étude 1)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces (date moy)	Nb. infection chronique	
10 ⁵	6	6	6 (5,2)	0	0
10 ⁴	6	6	6 (7,5)	0	0
10 ³	6	6	6 (8)	0	0
10 ²	6	6	6 (12)	0	0
10	6	5	4 (17)	1	1
1	6	1	1 (14)	4	1

avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

PORC

SOUCHE VEG (Type III)

Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OC, Ashford DA, Thulliez P. Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. J Parasitol. 1996;82:438-43.

Inoculation par voie orale

Etude 1

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces ** (date moy)	Nb. infection chronique	
10	8	8	0	8	0
1	8	7	0	7	0
<1	8	2	0	2	6

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

**Animaux euthanasiés entre J7 (1 porc) et J98

Etude 2 (même protocole que étude 1)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces ** (date moy)	Nb. infection chronique	Nb non infectés*
10	6	5	0	5	1
1	6	6	0	6	0
<1	6	2	0	2	4
Non infecté	6	0	0	0	6

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

**Animaux euthanasiés entre J69 et J99

Aucun signe clinique observé

SOUCHE GT-1 (Type I)

Dubey JP, Murrell KD, Fayer R. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs fed oocysts. Am J Vet Res. 1984;45:1941-3.

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb deces ** (date moy)	Nb. infection chronique	Nb non infectés*
10 000	4	4	0	4	0
1000	2	2	0	2	0
100	2	2	0	2	0

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique

**Animaux euthanasiés entre J38 et J171

D'autres études isolées ont été faites avec un seul inoculum :

- 100% d'infection pour 5 porcs infectés par 100 000 oocystes (Dubey, Murrell 1986)
- 100% d'infection pour 11 porcs infectés par 1000 oocystes (Dubey and Urban 1990, Dubey 1988)

MOUTON, BŒUF ET VEAU

Très peu d'études réalisées et le plus souvent avec un seul inoculum.

Souche GT1 (Génotype I) (Dubey 1983, Dubey, Thulliez 1993)

Veaux et vaches

- inoculum de 100 000 oocystes. 16 veaux et 6 vaches. :
Vaches : 4 positifs sur 6 examinés
- souche GT1, inoculum 10 000 oocystes, 4 boeufs. Trois positifs, par bio-essai, sur les 4 examinés.

Souche M3 (Génotype II) (Esteban-Redondo 1998, 1999)

1ère étude (1998): Moutons

3 doses : 100 000, 10 000, 1 000 oocystes, infection per os, 4 moutons par groupe

100% infection (sérologie, PCR)

2ème étude: 10 moutons et 10 veaux.

Inoculum de 1000 ou 100 000 oocystes, souche M3, 5 animaux par dose

Moutons : 100% infection aux deux doses

Veaux : pas d'infection à 1000 ou 100 000 oocystes (PCR)

2- Etudes expérimentales avec des bradyzoïtes

Note importante : le kyste est la forme parasitaire contenue dans la viande ; il contient au moins 100 bradyzoïtes (jusqu'à 1000 ou plus). La plupart des études ont été faites sur des bradyzoïtes extraits de kystes, ce qui est plus rigoureux pour la modélisation de la relation dose-effet..

Bradyzoïtes purifiés administrés per os

Etudes faites chez la souris.

Dubey JP. Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. J Eukaryot Microbiol. 1997;44:592-602.

Souche VEG (Type III)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb décès (date moy)	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	10	10	10 (9-13)	0	0
10 ⁵	10	10	6 (9-12, 71)	4	0
10 ⁴	10	10	3 (11-13)	7	0
10 ³	10	10	2 (65-103)	8	0
10 ²	10	9	0	9	1
10	10	2	0	2	8
1	10	0	0	0	10

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Souche ME 49 (Type II)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb décès (date moy)	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	10	10	0	10	0
10 ⁵	10	10	0	10	0
10 ⁴	10	10	0	10	0
10 ³	10	7	0	7	3
10 ²	10	3	0	3	7
10	10	0	0	0	10
1	10	0	0	0	10

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Dubey JP. Comparative infectivity of *Toxoplasma gondii* bradyzoites in rats and mice. J. Parasitol. 1998, 84 : 1279-1282.

Souche VEG (Type III)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb décès	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	5	5	5	0	0
10 ⁴	5	5	3	2	0
10 ³	5	5	0	5	0
10 ²	5	5	0	5	0
10	5	5	0	5	0
1	5	1	0	1	4
<1	5	0	0	0	5

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Souche GT-1 (Type I)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb. décès	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	5	5	5 (7)	0	
10 ⁵	5	5	5 (7-10)	0	0
10 ⁴	5	5	5 (10-12)	0	0
10 ³	5	5	5 (12-16)	0	0
10 ²	5	3	3 (13-21)	0	2
10	5	1	1 (17)	0	4
1	5	0	0	0	5
<1	5	0	0	0	5

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Etudes faites chez le rat :

Dubey JP. Comparative infectivity of *Toxoplasma gondii* bradyzoites in rats and mice. J. Parasitol. 1998, 84 : 1279-1282.

Souche VEG (Type III)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb décès	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	5	5	0	5	0
10 ⁴	5	5	0	5	0
10 ³	5	5	0	5	0
10 ²	5	4	0	4	1
10	5	0	0	0	5
1	5	1	0	1	4
0	5	0	0	0	5

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Souche GT-1 (Type I)

Inoculum	Nb inoculé	Infectées*			Non infectés
		Nb. Infecté	Nb décès	Nb. infection chronique	Nb non infectés
10 ⁵	5	5	0	5	0
10 ⁵	5	5	0	5	0
10 ⁴	5	4	0	4	1
10 ³	5	2	0	2	3
10 ²	5	1	0	1	4
10	5	0	0	0	5
1	5	0	0	0	5
0	5	0	0	0	5

* avec preuve parasitologique + contrôle sérologique sur les survivants

Annexe III : Données de consommation en eaux, viandes, fruits et légumes susceptibles d'héberger le parasite *Toxoplasma gondii*

Objectifs

Ce document fait suite à une demande du groupe de travail « *Toxoplasma gondii* » de l'AFSSA. Il a pour objet de présenter les données de consommation quantitative d'aliments identifiés comme pouvant héberger le parasite « *Toxoplasma gondii* », en vue de réaliser une évaluation quantitative des risques.

Matériel et méthodes

Exploitation des données de l'enquête INCA

La sélection des aliments pour lesquels les données de consommation sont présentées a été réalisée en collaboration avec le Président du groupe de travail, par rapport au risque de contamination par *Toxoplasma gondii*. Les aliments retenus sont : l'eau de boisson (dont l'eau du robinet), les viandes consommées crues ainsi que les viandes consommées cuites mais pouvant présenter un défaut de cuisson (dont les charcuteries de porc) et les fruits et légumes en contact avec la terre et consommés crus. Les groupes d'aliments utilisés dans le cadre de cette étude sont détaillés en annexe 1.

Les données de consommation ont été calculées à partir des résultats de l'enquête INCA. Cette enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires a permis de relever les consommations d'un large échantillon de la population française : 1985 personnes de 15 ans et plus, auxquelles s'ajoutent 1018 enfants ou adolescents. La stratification (par région et taille d'agglomération) et la méthode des quotas (d'après l'âge, le sexe, la profession et la catégorie socio-professionnelle) ont permis de garantir la représentativité nationale de l'échantillon. Le relevé des consommations s'est déroulé sur une période de 11 mois au moyen de carnets de consommation de 7 jours consécutifs. A noter que 511 adultes « sous-déclarants » ont été exclus de l'échantillon initial des adultes, afin d'écartier le biais lié à la sous-évaluation de leurs consommations alimentaires.

Les données de l'enquête INCA permettent de distinguer certains aliments par rapport à leur état de cuisson (cru/cuit), avec précision, parfois, du mode de cuisson. Toutefois, il reste impossible de connaître le degré de cuisson (bleu, saignant, à point, ...) des aliments consommés.

Les classes d'âge considérées sont les 3-14 ans, 15-25 ans, 26-45 ans, 46-60 ans et les plus de 60 ans, de façon à tenir compte de comportements, et de consommations, alimentaires liés à l'âge, comme certaines études le montrent pour les fruits et légumes.

Revue des travaux déjà réalisés sur les données du panel SECODIP

Etant donné que certains des aliments considérés sont relativement peu fréquemment consommés, il apparaît nécessaire de compléter les données de consommations sur une semaine par des données recueillies sur une durée plus longue, de façon à mieux estimer les consommations extrêmes. Dans ce contexte, les données d'achat des panels SECODIP peuvent être informatives.

Les données d'achat du panel SECODIP sont recueillies auprès des ménages pendant au moins 36 semaines dans l'année. Les consommations sont estimées en considérant que tout ce qui est acheté par le ménage est réparti et consommé de façon égale entre chaque membre du ménage. La restauration hors foyer et l'autoconsommation ne sont toutefois pas pris en compte.

Les données potentiellement disponibles par une exploitation des données de SECODIP sont inventoriées de façon à estimer la faisabilité d'une analyse quantitative de risque. Ces pistes sont illustrées par une revue des travaux déjà réalisés par l'OCA sur les groupes d'aliments considérés dans la présente étude.

Résultats

Les résultats présentés précisent les moyennes, les écarts type et les principaux percentiles des fréquences de consommation des groupes d'aliments identifiés (en nombre d'actes de consommation sur la semaine), ainsi que des quantités moyennes ingérées à chacun de ces actes (en gramme).

Les distributions des fréquences de consommations des différents groupes d'aliments sont également représentées. Seuls les consommateurs effectifs des groupes considérés sont pris en compte dans ces distributions.

Pour l'eau de boisson, les moyennes, écarts-type et distribution des quantités consommées (en ml/j) sont présentés. En effet, dans le cas de l'eau de boisson, les fréquences de consommation sont peu informatives comparées aux quantités consommées.

Les taux de non-consommateurs sur la semaine sont également présentés, pour information. Lorsque ceux-ci sont élevés, il conviendra de croiser les données issues de l'enquête INCA avec les données d'achats du SECODIP de façon à éviter une sous-estimation des consommateurs d'aliments rarement consommés.

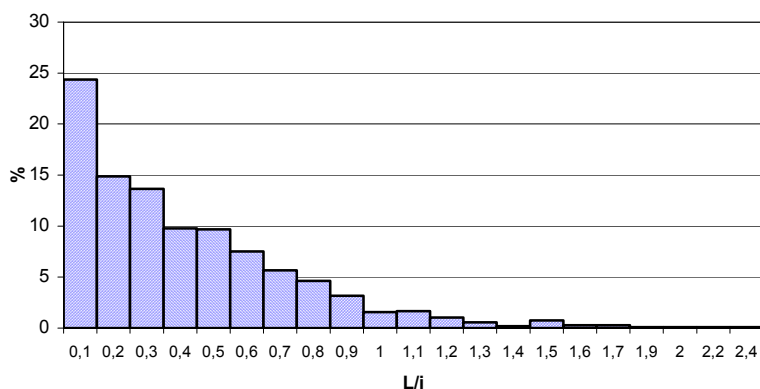
Données de consommation issues de l'enquête INCA (1998-99)

L'eau de boisson

Quantité moyenne de consommation d'eau de boisson (en ml/j)

	Taux de consommateurs (%)	Moyenne (ml/j)	Ecart-type	Médiane	25 ^{ème} perc.	75 ^{ème} perc.	95 ^{ème} perc.
3-14 ans (n=1016)							
Eau de boisson totale	93,8 %	499,6	354,5	445,7	279,3	650,0	1142,9
Dont eau du robinet	69,9 %	252,8	307,3	117,9	0,0	423,6	857,1
15-25 ans (n=273)							
Eau de boisson totale	97,4 %	558,4	373,1	512,9	300,0	750,0	1285,7
Dont eau du robinet	76,9 %	281,3	331,9	171,4	21,4	457,1	885,7
26-45 ans (n=590)							
Eau de boisson totale	96,3 %	528,8	354,5	465,0	302,9	694,3	1178,6
Dont eau du robinet	74,4 %	276,2	329,1	154,3	0,0	417,1	917,1
46-60 ans (n=303)							
Eau de boisson totale	93,4 %	522,2	370,9	470,0	268,6	688,6	1221,4
Dont eau du robinet	69,3 %	264,6	331,6	107,1	0,0	457,1	942,9
> 60 ans (n=307)							
Eau de boisson totale	96,4 %	537,4	380,2	471,4	304,0	665,7	1262,9
Dont eau du robinet	71,3 %	247,1	332,1	102,6	0,0	392,9	841,4

Distribution des quantités de consommation d'eau du robinet chez les plus de 15 ans (Seuls consommateurs)



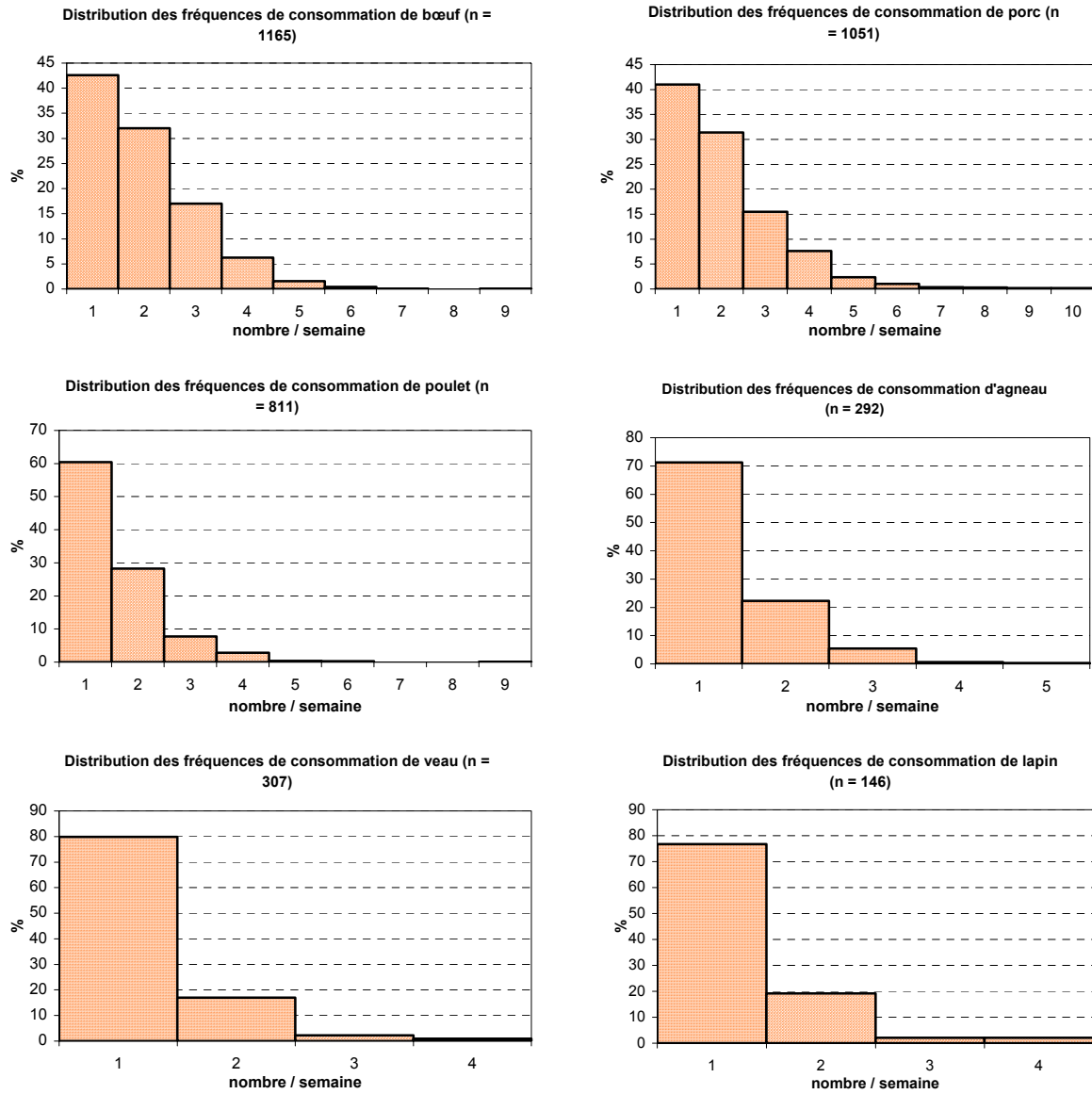
Les viandes

Fréquence de consommation de viandes (en nb d'actes de conso/semaine)

	Taux de consommateurs (%)	Moyenne (nombre/semaine)	Ecart-type	Médiane	25 ^{ème} perc.	75 ^{ème} perc.	95 ^{ème} perc.
3-14 ans (n=1016)							
Bœuf	79,1 %	1,56	1,28	1,00	1,00	2,00	4,00
<i>dont consommé cru</i>	0,04 %	0,004	0,063	0,00	0,00	0,00	0,00
Porc	70,7 %	1,43	1,36	1,00	0,00	2,00	4,00
<i>dont charcuterie</i>	44,0 %	0,65	0,88	0,00	0,00	1,00	2,00
Poulet	55,2 %	0,85	0,95	1,00	0,00	1,00	3,00
Agneau	15,0 %	0,17	0,45	0,00	0,00	0,00	1,00
Veau	24,3 %	0,30	0,59	0,00	0,00	0,00	2,00
Lapin	13,2 %	0,17	0,48	0,00	0,00	0,00	1,00
Cheval	2,2 %	0,03	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00
15-25 ans (n=273)							
Bœuf	78,7 %	1,61	1,30	1,00	1,00	2,00	4,00
<i>dont consommé cru</i>	0,7 %	0,007	0,085	0,00	0,00	0,00	0,00
Porc	64,5 %	1,27	1,36	1,00	0,00	2,00	4,00
<i>dont charcuterie</i>	39,9 %	0,63	0,96	0,00	0,00	1,00	3,00
Poulet	59,3 %	1,02	1,17	1,00	0,00	2,00	3,00
Agneau	20,9 %	0,29	0,64	0,00	0,00	0,00	2,00
Veau	19,8 %	0,25	0,58	0,00	0,00	0,00	1,00
Lapin	12,1 %	0,17	0,52	0,00	0,00	0,00	1,00
Cheval	2,9 %	0,03	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
26-45 ans (n=590)							
Bœuf	77,5 %	1,46	1,17	1,00	1,00	2,00	4,00
<i>dont consommé cru</i>	0,2 %	0,002	0,041	0,00	0,00	0,00	0,00
Porc	72,7 %	1,52	1,43	1,00	0,00	2,00	4,00
<i>dont charcuterie</i>	45,8 %	0,71	0,98	0,00	0,00	1,00	3,00
Poulet	53,0 %	0,83	0,99	1,00	0,00	1,00	3,00
Agneau	19,8 %	0,27	0,62	0,00	0,00	0,00	2,00
Veau	20,5 %	0,25	0,56	0,00	0,00	0,00	1,00
Lapin	10,2 %	0,13	0,40	0,00	0,00	0,00	1,00
Cheval	2,7 %	0,04	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00

	Taux de consommateurs (%)	Moyenne (nombre/semaine)	Ecart-type	Médiane	25 ^{ème} perc.	75 ^{ème} perc.	95 ^{ème} perc.
46-60 ans (n=303)							
Bœuf	79,5 %	1,53	1,24	1,00	1,00	2,00	4,00
<i>dont consommé cru</i>	0,0 %	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00
Porc	73,9 %	1,55	1,48	1,00	0,00	2,00	4,00
<i>dont charcuterie</i>	49,5 %	0,80	1,09	0,00	0,00	1,00	3,00
Poulet	54,1 %	0,84	1,00	1,00	0,00	1,00	3,00
Agneau	17,8 %	0,25	0,63	0,00	0,00	0,00	2,00
Veau	21,8 %	0,26	0,54	0,00	0,00	0,00	1,00
Lapin	8,2 %	0,11	0,45	0,00	0,00	0,00	1,00
Cheval	1,3 %	0,02	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00
> 60 ans (n=307)							
Bœuf	82,1 %	1,62	1,26	1,00	1,00	2,00	4,00
<i>dont consommé cru</i>	0,0 %	0,000	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00
Porc	72,3 %	1,52	1,48	1,00	0,00	2,00	4,00
<i>dont charcuterie</i>	44,0 %	0,71	1,04	0,00	0,00	1,00	3,00
Poulet	56,0 %	0,79	0,85	1,00	0,00	1,00	2,00
Agneau	20,8 %	0,27	0,59	0,00	0,00	0,00	1,00
Veau	21,5 %	0,28	0,58	0,00	0,00	0,00	2,00
Lapin	9,1 %	0,11	0,39	0,00	0,00	0,00	1,00
Cheval	2,6 %	0,03	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00

Distribution des fréquences de consommation de viandes chez les plus de 15 ans (Seuls consommateurs)



Compte tenu de la faiblesse de l'effectif de consommateurs de viande de cheval dans l'enquête INCA, la distribution des fréquences de consommation est peu informative et n'est pas présentée dans ce document.

Taille de portion moyenne (et écart-type) de consommation de viande (en g/portion)

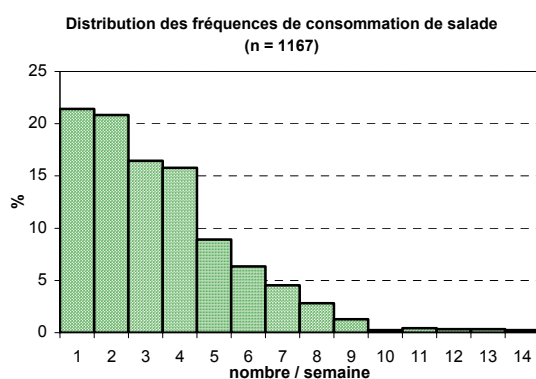
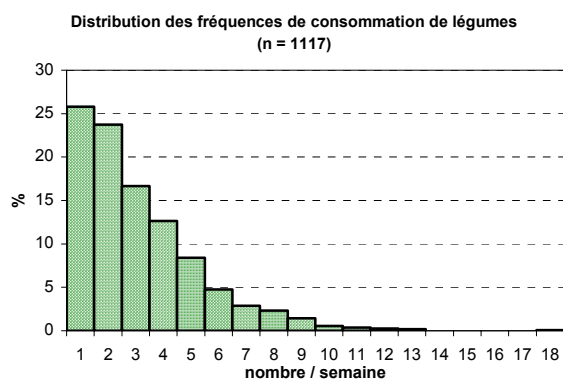
	Moyenne (g/acte de consommation)	Ecart- type	Médiane	25^{ème} perc.	75^{ème} perc.	95^{ème} perc.
3-14 ans						
Bœuf	112,2	49,3	105,0	80,0	130,0	200,0
<i>dont consommé cru</i>	84,1	33,4	91,0	64,3	104,0	117,0
Porc	91,3	44,1	83,3	62,5	113,3	151,7
<i>dont charcuterie</i>	78,9	47,9	70,0	50,0	100,0	150,0
Poulet	124,8	72,2	95,0	80,0	155,0	285,0
Agneau	122,1	125,2	80,0	80,0	130,0	240,0
Veau	97,8	46,3	100,8	80,0	117,3	156,0
Lapin	126,2	67,1	100,0	80,0	180,0	280,0
Cheval	115,0	25,8	130,0	80,0	130,0	165,0
15-25 ans						
Bœuf	140,9	48,1	130,0	113,3	165,0	208,0
<i>dont consommé cru</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Porc	122,3	58,5	120,0	80,0	146,7	215,0
<i>dont charcuterie</i>	101,4	62,8	92,1	50,0	140,0	210,0
Poulet	173,6	110,4	153,0	95,0	210,0	400,0
Agneau	118,6	42,4	130,0	105,0	130,0	200,0
Veau	109,4	31,6	105,0	81,3	130,0	160,0
Lapin	193,9	115,2	180,0	110,5	205,0	540,0
Cheval	135,6	48,0	130,0	105,0	130,0	200,0
26-45 ans						
Bœuf	145,1	48,9	130,0	116,7	165,0	208,0
<i>dont consommé cru</i>	119,9	68,1	122,8	74,8	165,0	200,0
Porc	119,6	57,2	113,3	80,0	140,0	215,0
<i>dont charcuterie</i>	96,2	57,5	85,0	50,0	140,0	200,0
Poulet	191,7	113,8	175,0	105,0	210,0	400,0
Agneau	152,0	93,0	130,0	92,5	165,0	400,0
Veau	128,9	45,2	130,0	104,0	140,0	215,0
Lapin	185,1	87,2	180,0	116,5	270,0	280,0
Cheval	159,0	38,1	147,5	130,0	200,0	200,0
46-60 ans						
Bœuf	134,0	49,2	130,0	105,0	145,0	200,0
<i>dont consommé cru</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Porc	117,6	53,1	112,8	80,0	140,0	212,5
<i>dont charcuterie</i>	97,7	53,9	77,5	60,0	140,0	200,0
Poulet	184,3	109,7	160,0	95,0	210,0	400,0
Agneau	136,8	64,1	130,0	130,0	147,5	200,0
Veau	126,2	39,4	130,0	104,0	140,0	200,0
Lapin	187,1	92,3	180,0	180,0	209,0	400,0
Cheval	142,7	31,3	130,0	130,0	147,5	200,0
> 60 ans						
Bœuf	126,5	39,9	130,0	91,3	138,3	200,0
<i>dont consommé cru</i>	40,0	nd	nd	nd	nd	nd
Porc	102,1	47,3	100,0	74,0	130,0	165,0
<i>dont charcuterie</i>	74,5	40,0	70,0	41,7	100,0	150,0
Poulet	181,0	95,3	175,0	113,3	210,0	400,0
Agneau	122,4	48,0	130,0	80,0	130,0	210,0
Veau	118,0	35,1	130,0	80,0	140,0	165,0
Lapin	151,9	56,8	175,0	100,0	180,0	230,0
Cheval	95,0	22,4	80,0	80,0	105,0	130,0

Les fruits et légumes

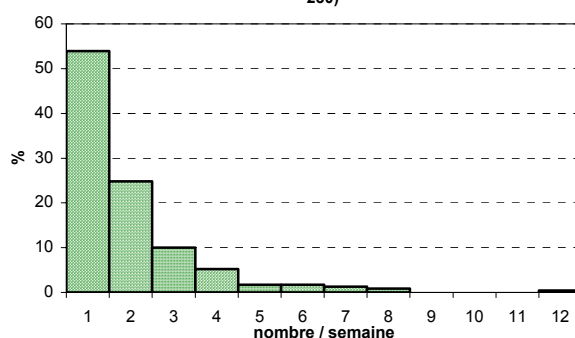
Fréquence de consommation de légumes crus, salades et fruits (baies principalement) (en nb d'actes de conso/semaine)

	Taux de consommateurs (%)	Moyenne (nombre/semaine)	Ecart-type	Médiane	25 ^{ème} perc.	75 ^{ème} perc.	95 ^{ème} perc.
3-14 ans (n=1016)							
Légumes crus	65,8 %	1,63	0,05	1,0	0,0	2,0	5,0
Salades	70,5 %	2,12	0,07	2,0	0,0	3,0	7,0
Fruits (baies)	14,1 %	0,23	0,01	0,0	0,0	0,0	1,0
15-25 ans (n=273)							
Légumes crus	76,6 %	2,48	0,15	2,0	1,0	4,0	7,0
Salades	70,7 %	2,36	0,14	2,0	0,0	4,0	7,0
Fruits (baies)	7,7 %	0,10	0,01	0,0	0,0	0,0	1,0
26-45 ans (n=590)							
Légumes crus	75,8 %	2,22	0,09	2,0	1,0	3,0	7,0
Salades	65,4 %	1,97	0,08	1,0	0,0	3,0	6,0
Fruits (baies)	6,3 %	0,09	0,00	0,0	0,0	0,0	1,0
46-60 ans (n=303)							
Légumes crus	75,6 %	2,16	0,12	2,0	1,0	3,0	6,0
Salades	66,3 %	2,07	0,12	1,0	0,0	3,0	7,0
Fruits (baies)	4,9 %	0,06	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0
> 60 ans (n=307)							
Légumes crus	78,2 %	2,14	0,12	2,0	1,0	3,0	7,0
Salades	68,4 %	2,00	0,11	1,0	0,0	3,0	6,0
Fruits (baies)	5,9 %	0,08	0,00	0,0	0,0	0,0	1,0

Distribution des fréquences de consommation de fruits et légumes chez les plus de 15 ans (Seuls consommateurs)



Distribution des fréquences de consommation de fruits (n = 230)



Taille de portion moyenne (\pm écart-type) de consommation de légumes crus, salades et fruits (baies) (en g/acte de consommation)

	Moyenne (g/acte de consommation)	Ecart- type	Médiane	25 ^{ème} perc.	75 ^{ème} perc.	95 ^{ème} perc.
3-14 ans						
Légumes crus	76,3	44,2	70,0	50,0	100,0	150,0
Salades	29,4	15,9	26,0	20,0	40,0	60,0
Fruits (baies)	159,0	149,2	150,0	100,0	200,0	300,0
15-25 ans						
Légumes crus	87,6	42,6	84,2	62,5	102,1	150,0
Salades	10,1	18,1	40,0	30,0	50,0	60,0
Fruits (baies)	158,5	75,7	175,0	100,0	200,0	300,0
26-45 ans						
Légumes crus	91,8	42,6	93,8	62,5	112,7	166,0
Salades	41,1	14,5	40,0	32,5	50,0	60,0
Fruits (baies)	168,9	100,1	150,0	100,	200,0	300,0
46-60 ans						
Légumes crus	87,1	39,6	83,8	58,3	100,0	150,0
Salades	41,0	15,6	40,0	31,3	50,0	61,4
Fruits (baies)	170,7	100,9	183,8	100,0	200,0	300,0
> 60 ans						
Légumes crus	92,2	43,3	93,7	58,8	120,0	163,1
Salades	40,2	17,8	40,0	30,0	48,4	70,0
Fruits (baies)	174,1	108,1	150,0	100,0	200,0	300,0

Données d'achats issues du panel SECODIP

Plusieurs marchés du panel SECODIP de l'année 2002 pourraient être exploités pour estimer les consommations des groupes d'aliments susceptibles d'être contaminés par le parasite. Les données SECODIP permettent par ailleurs de distinguer les produits frais et les produits surgelés (abattement de la contamination pour les produits surgelés) dans la contamination totale de l'aliment considéré et d'apporter des indications sur le mode d'élevage en précisant les labels de qualité (ex : label rouge, agriculture biologique, fermier, etc.) de certains marchés (cf. annexe 2).

En revanche, elles ne permettent pas de savoir si les aliments sont consommés crus ou cuits (excepté dans le cas où les produits sont vendus cuits).

Les résultats possibles sont illustrés, ci-après, par la présentation de travaux antérieurs effectués sur les données d'achats de panels SECODIP (pour différentes années).

Travaux sur les viandes

Quantité moyenne de viande d'agneau et de mouton achetée en 1997 (en g/j/personne)

	Ensemble des individus		Taux de consommateurs (%)	Seuls consommateurs	
	Quantité moyenne achetée	Ecart-type		Quantité moyenne achetée	Ecart-type
Mouton, agneau à rôtir, à griller, à poêler	3,54	5,73	65,44 %	5,4	6,33
Mouton, agneau à braiser, à bouillir	0,56	1,6	26,07 %	2,16	2,52
Mouton, agneau autres viandes	0,90	6,71	7,96 %	11,36	21,13
Total	5,01	9,62	69,4 %	7,21	10,84

Source : Panel SECODIP 1997 (Dufour, 2001 a)

Quantité moyenne de viande de bœuf achetée en 1997 (en g/j/personne)

	Ensemble des individus		Taux de consommateurs (%)	Seuls consommateurs	
	Quantité moyenne achetée	Ecart-type		Quantité moyenne achetée	Ecart-type
Bœuf à rôtir, à griller, à poêler	9,71	10,79	91,7 %	10,59	10,84
Bœuf à braiser, à bouillir	4,26	6,9	74,0 %	5,76	7,46
Autre viande de bœuf	1,08	11,65	8,9 %	12,23	37,38
Viande hachée de bœuf pré-emballée	2,44	4,31	61,3 %	3,98	4,92
Viande hachée de bœuf en vrac	0,99	2,57	37,5 %	2,64	3,64
Viandes hachées de bœuf surgelée	2,29	5,06	43,3 %	5,27	6,58
Viandes de bœuf surgelée	0,09	1,23	2,3 %	3,66	7,14
Total	20,86	-	-	-	-

Source : Panel SECODIP 1997 (Dufour, 2001b)

Quantité moyenne de viande de poulet achetée en 1998 (en g/j/personne)

	Ensemble des individus		Taux de consommateurs (%)	Seuls consommateurs	
	Quantité moyenne achetée	Ecart-type		Quantité moyenne achetée	Ecart-type
Poulet entier cru	6,67	9,60	68,5 %	9,74	10,23
Poulet entier cuit	0,91	3,44	26,7 %	3,40	5,98
Poulet entier fumé	0,25	1,11	9,4 %	2,66	2,60
Morceaux de poulet cru	4,17	6,50	75,9 %	5,50	6,96
Morceaux de poulet cuit	0,10	0,81	6,9 %	1,44	2,76
Morceaux de poulet pané	0,03	0,23	3,5 %	0,87	0,87
Morceaux de poulets crus ou cuits	0,09	0,74	6,9 %	1,28	2,55
Total Poulet non surgelé	12,22	12,90	90,4 %	5,68	7,08
Poulets surgelés	0,23	1,32	7,3 %	3,18	3,79

D'après Panel SECODIP 1998 (Dufour, 2001d et Dufour, 2003)

**Répartition des achats de viande de poulet cru, entier ou en morceaux, selon la présence d'un label
(en g/j/personne)**

	Ensemble des individus		Part des différents labels dans le total des achats
	Quantité moyenne achetée	Ecart-type	
Poulet entier cru			
Label rouge	4,73	7,66	71,0 %
Autre label	0,10	1,08	1,5 %
Fermier	0,007	0,164	0,1 %
Certifié	0,04	0,41	0,6 %
Sans label	1,78	4,54	26,8 %
Total Poulet entier cru	6,67	9,60	100,0 %
Morceaux de poulet crus			
Label rouge	0,50	2,47	12,1 %
Autre label	0,23	1,05	5,6 %
Fermier	0		0 %
Certifié	0,03	0,31	0,7 %
Sans label	3,41	5,74	81,6 %
Total Morceaux de poulet crus	4,17	6,50	100,0 %

D'après Panel SECODIP 1998 (Dufour, 2001c)

Exemples de données sur les salades :

Estimation de la consommation annuelle et individuelle de salades (en g/j/personne)

	Ensemble des individus		Taux de consommateurs	95ème percentile
	Quantité moyenne achetée	Ecart-type		
Salades en sachets	0,75	2,84	36,5 %	3,74
Salades fraîches	8,61	13,45	88,9 %	30,66
Mâche fraîche	0,15	0,46	28,7 %	0,84
Pissenlit frais	0,01	0,11	1,8 %	0
Cresson frais	0,03	0,13	6,9 %	0,17
Total	9,55	13,88	93,4 %	32,34

D'après Panel SECODIP 1998 (Dufour, 2001c)

On peut remarquer que, lorsque les groupes d'aliments sont comparables, les résultats obtenus à partir des panels SECODIP sont relativement cohérents avec les résultats trouvés à partir de l'enquête INCA (même ordre de grandeur des quantités consommées par jour). On observe toutefois, dans le cas des ovins (agneau), une augmentation importante du taux de consommateurs lorsque l'on considère une durée d'observation plus longue (69,4 % sur 36 semaines versus 15 à 21 % sur 1 semaine).

Annexe IV : Modes de cuisson des viandes en France - Premier bilan des données disponibles

Les études spécifiques sur les comportements alimentaires comme facteurs de risque de la toxoplasmose en France

- **Résultats de l'étude Baril, 1996**

Les principaux facteurs de risque alimentaires statistiquement significatifs étaient :

- « Consommation de viande de bœuf mal cuite » (OR=5,3)
- « Consommation de viande de mouton mal cuite » (OR=4,7)
- « Consommation de viande mal cuite hors du domicile » (OR=4,1)
- « consommation de crudités hors du domicile » (OR=3,6).

Ces catégories de réponses ont été construites à partir de questions plus détaillées.

Les prévalences de ces habitudes chez les cas et les témoins figurent dans le tableau 1 suivant.

Tableau 1. Fréquences de comportements à risque toxoplasmose

	En %	
	Cas (n=80)	Témoins (n=80)
Viande de bœuf mal cuite	55,0	18,8
Viande de mouton mal cuite	37,5	11,3
Viande mal cuite hors du domicile	43,8	16,3
Crudités hors du domicile	48,8	22,5

Les principales études nationales représentatives sur les comportements alimentaires en France

Le Baromètre Nutrition de l'InPES

Lors de sa deuxième et dernière édition en 2002, il a été administré par téléphone à un échantillon national représentatif de 3153 personnes de 12 ans et plus. La durée de l'interview est de l'ordre d'une demi-heure. Le questionnaire porte sur les comportements alimentaires et sur les consommations de la veille du jour d'enquête. Il n'y a pas de question sur les modes de cuisson en dehors du type de matière grasse ajoutée.

L'étude Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires

La question posée sur les modes de cuisson de la viande était la suivante :

«B23. Quand vous consommez de la viande rouge, la mangez-vous le plus souvent ... »
(en %, une seule réponse possible)

1. Crue 0,8
2. Bleue 10,9
3. Saignante 35,2
4. A point 36,8
5. Très cuite 13,8
6. Ne sait pas 2,6
- Ensemble..... 100,0

Cette question ne permet pas de distinguer selon les différents types de viande (agneau, bœuf...) ni d'estimer les fréquences relatives des différents modes de cuisson. On ne demande que ce qui est pratiqué « le plus souvent » et non les pratiques rares ou occasionnelles.

Il est possible d'étudier la variabilité de ce comportement selon les groupes socio-démographiques. A noter qu'il n'y a cependant que 32 femmes enceintes dans l'étude. La fréquence de consommation des viandes peu ou pas cuites (jusqu'à « saignante »), à savoir 47%, est du même ordre de grandeur que celle constatée sur la population des « cas » de l'étude InVS présentée ci-dessus. Les « cas » de cette étude apparaîtraient donc comme n'ayant pas modifié leur comportement de consommation lors de leur grossesse. La prévalence plus faible de consommation de viande peu cuite chez les témoins pourrait être interprétée comme l'application de recommandations de pratiques plus prudentes. Il s'agit là d'hypothèses qui doivent être vérifiées par l'utilisation de la même batterie de questions pour un échantillon représentatif de la population générale et pour un échantillon si possible aléatoire de femmes enceintes.

L'étude pilote INCA-2 2004-2005

Cette étude a porté sur les consommations et les comportements alimentaires, d'octobre à décembre 2004 auprès d'un échantillon aléatoire de 150 adultes et 150 enfants de 3 ans et plus dans trois régions : agglomération lilloise, département de l'Indre et Loire et agglomération d'Aix-Marseille et Salon de Provence. Les premiers résultats disponibles en janvier 2005 ont permis d'initier l'étude en vraie grandeur (INCA2). Celle-ci a débuté en novembre 2005 pour une durée d'un an et concerne un échantillon de 3800 adultes et 1700 enfants de 3 ans et plus.

Il existe une question sur les habitudes de consommation d'aliments d'origine animale crus. En raison de la difficulté à préciser ce que représente une viande « pas assez cuite », aucune question sur le degré de cuisson n'a été posée.

B52. Vous arrive-t-il de consommer les aliments ci-dessous sans les faire cuire, y compris en grignotage par exemple lors de la préparation d'un plat ?

	Parfois	Jamais	Cuit ou cru, vous n'en consommez jamais	Vous ne savez pas
Lardons fumés (en grignotant) 1 2 3 4
Lardons fumés (dans des pâtes, en salade...)	... 1 2 3 4
Saucisses en sachet (Francfort...)	... 1 2 3 4
Viande de bœuf (steak tartare, carpaccio).	... 1 2 3 4
Viande de cheval (steak tartare) 1 2 3 4
Viande de porc 1 2 3 4
Viande de volaille 1 2 3 4
Poisson (sushi...)	... 1 2 3 4
Œufs (mayonnaise, mousse au chocolat...)	... 1 2 3 4
.....	... 1 2 3 4

Les résultats l'étude INCA2 seront disponibles au second semestre 2007.

Autres études sur les comportements alimentaires des Français

Il existe plusieurs études de nature plutôt sociologique sur les comportements alimentaires des Français. On peut signaler notamment l'étude « Comportements Alimentaires des Français » du Crédoc qui existe depuis 1988. Elle porte sur environ 1500 ménages. Principalement financée par des souscripteurs privés, son questionnaire n'est pas public. Des extraits sont publiés selon les opportunités et demandes des souscripteurs.

Annexe V : Mesures et définitions des niveaux de confinement minimum à mettre en oeuvre dans les laboratoires de recherche, de développement et d'enseignement où sont utilisés des agents biologiques pathogènes des groupes 2, 3 ou 4 (annexe de l'arrêté du 13 août 1996)

MESURES DE CONFINEMENT	NIVEAUX DE CONFINEMENT		
	2	3	4
a) conception du laboratoire			
1. Signalisation du laboratoire (pictogramme "danger biologique").	Oui	Oui	Oui
2. Laboratoire séparé des autres locaux au moins par porte.	Oui	Oui	Oui
3. Accès au laboratoire <i>via</i> un sas.	Non	Optionnel (oui si pression négative)	Oui
4. Accès réglementé et verrouillable. Accès possible pour les seuls travailleurs autorisés.	Oui	Oui	Oui, par un sas
5. Possibilité de fermer hermétiquement le lieu de travail pour permettre la désinfection (fumigation).	Optionnel	Oui	Oui
6. Filtration de l'air extrait du lieu de travail (filtre HEPA) avec évacuation de l'air extérieur.	Non	Oui	Oui, double filtre HEPA
7. Filtration de l'air entrant dans le lieu de travail.	Non	Optionnel	Oui
8. Présence d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants.	Non	Oui	Oui
9. Moyen de communication avec l'extérieur.	Non	Optionnel	Oui
10. Maintien d'une pression négative dans le laboratoire par rapport aux zones voisines.	Non	Oui (1)	Oui
11. Système d'alarme pour détecter tout changement inacceptable de la pression de l'air.	Non	Oui, si mise en dépression	Oui
12. Approvisionnement en énergie électrique de secours.	Non	Optionnel	Oui
13. Système de ventilation de secours.	Non	Non	Oui
b) Aménagements internes			
1. Poste de sécurité microbiologique.	Oui (2)	Oui (2)	Oui, type III ou autre moyen équivalent
2. Vêtement de protection.	Oui	Vêtements de protection adaptés et surbottes	Change complet avant l'entrée et la sortie du laboratoire
3. Aménagements pour le rangement des vêtements de protection dans le laboratoire ou l'unité.	Oui	Oui	Oui
4. Douche pour la décontamination des travailleurs.	Non	Optionnel	Oui
5. Lavage des mains : lavabos dont les robinets peuvent être manoeuvrés sans utiliser les mains.	Oui (3)	Oui	Oui

6. Résistance des surfaces à l'eau, nettoyage aisé sans endroits inaccessibles au nettoyage.	Oui (sols)	Oui (sols, murs et plafonds)	Oui (murs, plafonds et sols, résistants aux agents chimiques de nettoyage)
7. Surface des paillasse imperméable à l'eau, résistante aux acides, alcalis, solvants et désinfectants.	Oui	Oui	Oui
8. Lutte efficace contre les vecteurs, par exemple rongeurs et insectes.	Oui	Oui	Oui
9. Présence d'un autoclave.	Oui, facilement accessible et si possible dans le bâtiment	Oui, dans le laboratoire, double entrée, ou à proximité immédiate (4)	Oui, dans le laboratoire, double entrée
10. Présence dans le laboratoire d'un équipement de base spécifique (matériel marqué)	Non	Oui	Oui
c) Pratiques opératoires			
1. Stockage des agents biologiques en lieu sûr	Oui	Oui	Oui, accès protégé
2. Manipulation des matières infectées et de tout animal contaminé dans un système approprié de confinement (5).	Optionnel	Oui	Oui
3. Utilisation de conteneurs spécifiques pour aiguilles contaminées, objets piquants ou tranchants souillés .	Oui	Oui	Oui
4. Minimisation de la formation d'aérosols.	Oui	Oui	Oui
5. Contrôle de la dissémination des aérosols formés.	Minimiser	Empêcher	Empêcher
6. Gants.	Optionnel	Oui	Oui
7. Inactivation du matériel contaminé et des déchets.	Oui	Oui	Oui
8. Sortie du laboratoire après décontamination des équipements susceptibles d'être contaminés (centrifugeuses, PSM..).	Oui	Oui	Oui
9. Inactivation des effluents des éviers et des douches.	Non	Oui	Oui

Oui : exigence.

Non : pas d'exigence.

Optionnel : doit être décidé, au cas par cas, sur la base de l'évaluation des risques, à la suite de laquelle ces mesures devront-ou non - être appliquées.

(1) Ou moyens alternatifs de confinement évalués donnant des conditions de sécurité biologique équivalente.

(2) Ou autres moyens appropriés protégeant, en tout état de cause, le travailleur contre la diffusion d'aérosols produits en quantité significative.

(3) Pour les nouvelles installations

(4) Avec des procédures appropriées évaluées, permettant le transfert vers un autoclave extérieur au laboratoire, conférant la même protection et contrôlées dans leur déroulement.

(5) Lorsque des animaux de laboratoire sont délibérément contaminés par un ou plusieurs agents pathogènes, ils doivent être manipulés ou hébergés dans des locaux répondant aux conditions et niveaux de confinement requis du fait de la classification du ou des agents pathogènes utilisés.

Imprimerie Bialec – Nancy
Février 2006- 2000 exemplaires
ISBN N°