



HAL
open science

**L'approche une seule Santé (One Health) appliquée aux
parasites zoonotiques transmis par les aliments :
l'exemple de *Trichinella* spp. et *Toxoplasma gondii* en
Europe**

Radu Blaga

► **To cite this version:**

Radu Blaga. L'approche une seule Santé (One Health) appliquée aux parasites zoonotiques transmis par les aliments : l'exemple de *Trichinella* spp. et *Toxoplasma gondii* en Europe. Sciences du Vivant [q-bio]. Université paris Est, 2021. tel-04537731

HAL Id: tel-04537731

<https://hal.science/tel-04537731>

Submitted on 18 Apr 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DE
L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

**L'approche une seule Santé (*One Health*) appliquée aux
parasites zoonotiques transmis par les aliments : l'exemple
de *Trichinella* spp. et *Toxoplasma gondii* en Europe**

Université Paris-Est Créteil

Par

Radu BLAGA

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Soutenu le 7 Juillet 2021

Jury composé de :

Pr. Marie-Laure Dardé, Prof. Université de Limoges, rapporteur

Pr. Françoise Chartier-Botterel, Prof. Université Paris-Est Créteil, rapporteur

Pr. Lionel Zenner, Prof. VetAgroSup, Lyon, rapporteur

Dr. Sandrine Cojean, Maitre de Conférences, Paris-Saclay, examinateur

Dr. Fabienne Misguich, Maitre de Conférences, UVSQ, examinateur

Dr. Gina Zanella, Unité EPI, Laboratoire de santé animale, Anses, examinateur

Prof. Henri-Jean Boulouis, Prof. ENVA, examinateur

Dr. Pascal Boireau, Laboratoire de santé animale, Anses, invité

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail dans des délais (presque) impossible.

Merci aux :

Pr. Marie-Laure Dardé, rapporteur

Pr. Françoise Chartier-Botterel, rapporteur

Pr. Lionel Zenner, rapporteur

Dr. Sandrine Cojean, examinateur

Dr. Fabienne Misguich, examinateur

Dr. Gina Zanella, examinateur

Pr. Henri-Jean Boulouis, examinateur

Dr. Pascal Boireau, invité

Nombreuses sont les personnes qui m'ont accompagné au cours de ces années de recherche et d'enseignement, et qui ont façonné et participé aux projets scientifiques que j'ai pu aborder.

Dans le désordre, je tenais tout particulièrement à remercier :

- ❖ les collègues de l'Anses : Benoit, Anne, Corinne
- ❖ les collègues de l'UMR BIPAR dans leur ensemble (avec des mentions pour Danielle, Evelyne, Catherine, Annie, Isabelle, Nadia, Aurélie (x2), Sophie, Viviane, Gregory, Danny, Myriam, Amandine)
- ❖ les collègues de Reims : Isabelle, Régine, Dominique, Sandy
- ❖ ma super power Toxo team : Amandine, Myriam, Annie, Catherine, Sandra, Delphine, Filip
- ❖ les étudiants qui par leurs questions ont su stimuler ma curiosité scientifique : Céline, Anaëlle, Pauline, Aurélie, Sarah...
- ❖ mes premiers thésards : Vitomir, Filip
- ❖ mes collègues de l'ENVA pour leur accueil, leur confiance et leur collaboration (mention spéciale : MERCI !) : Delphine, Fanny, Caroline, Eve, Veronica, René, Jacques, Bruno
- ❖ ma famille : Ana pour son infinie patience, amour et croyance (tu esti ajutorul meu *pour toujours*), Sofita scufita, Iliuta puiuta, Ioachimas iepuras, Anisia steluta, Mariuca ingerasa, mes parents Lucia et Gheorghe et mes beaux-parents Victoria et Sorin

et enfin, je tiens absolument à remercier très chaleureusement le Dr. Pascal BOIREAU. Pascal, vous m'avez donné le goût du travail bien fait et surtout le goût du questionnement scientifique (« il faut poser toujours les bonnes questions ! »). Durant les (presque) cinq années passées à l'AFSSA sous votre direction, j'ai pu m'épanouir et commencer ma vie de chercheur.

Table des matières

1. Curriculum Vitae.....	5
1.1. Etat civil	5
1.2. Cursus professionnel	5
1.3. Titres et diplômes.....	5
1.4. Distinctions/prix	6
• Young Scientist Award, 2008, European Federation of Parasitologists	6
• Student Research Award, 2007, International Commission on Trichinellosis	6
1.5. Appartenance à des sociétés savantes.....	6
1.6. Bourses à l'étranger	6
1.7. Activités de recherche	6
1.7.1. Thèmes de recherche	6
1.7.2. Collaborations	7
1.7.3. Financements	7
1.7.4. Encadrements.....	8
1.7.5. Production scientifique	10
1.8. Activités d'enseignement	20
1.9. Autres activités et responsabilités scientifiques et administratives	21
1.9.1. Activités d'expertise	21
1.9.2. Organisation de congrès ou de réunions de travail	22
1.9.3. Responsabilités.....	22
1.9.4. Jury	22
2. Avant-propos.....	23
3. Contexte général des recherches sur les parasites zoonotiques transmis par les aliments et l'approche une seule santé (One Health).....	24
3.1. Parasites zoonotiques transmis par les aliments : <i>Trichinella</i> spp. et <i>Toxoplasma gondii</i> ...	24
3.2. Le concept et l'approche une seule Santé (<i>One Health</i>)	33
4. Variabilité génétique et spatio-temporelle au sein du genre <i>Trichinella</i> : étude dans une zone a forte endémicité.....	35
4.1. Epidémiologie de la trichinellose humaine en Roumanie	36
4.1.1.	40
4.1.2.....	40
4.2. Epidémiologie de l'infection à <i>Trichinella</i> chez les animaux en Roumanie.....	42
4.2.1. L'infection à <i>Trichinella</i> chez le porc, le sanglier et l'ours en Roumanie.....	42
4.2.2. L'infection à <i>Trichinella</i> chez le cheval en Roumanie	45

4.2.3.	L'infection à <i>Trichinella</i> dans la faune sauvage et l'identification des espèces de <i>Trichinella</i> sévissant en Roumanie	47
4.2.4.	Comparaison de l'incidence de la trichinellose humaine et la prévalence de l'infection à <i>Trichinella</i> chez les animaux en Roumanie.....	50
5.	Coopération médico-vétérinaire et prévalence de la toxoplasmose animale en France	54
5.1.	Surveillance de la contamination des viandes destinées à la consommation humaine	56
5.1.1.	Contamination de la viande bovine par <i>Toxoplasma gondii</i>	56
5.1.2.	Contamination de la viande porcine par <i>Toxoplasma gondii</i>	63
5.1.3.	Etude du portage de <i>Toxoplasma gondii</i> dans les viandes d'origine chevaline importées par le poste d'inspection frontalière de Roissy	66
5.2.	Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de la présence de <i>T. gondii</i> chez les principaux animaux de production.....	70
5.2.1.	Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de la présence de <i>T. gondii</i> chez les porcs.....	70
5.2.2.	Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de la présence de <i>T. gondii</i> chez les chevaux	77
6.	Projets de recherche	82
6.1.	Distribution et résistance anatomique de <i>Toxoplasma gondii</i> : du porc à la viande transformée.....	83
6.2.	Mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose	87
6.3.	Identifier la source de contamination des porcs par <i>T. gondii</i>	89
6.4.	<i>Toxoplasma gondii</i> , un marqueur de biosécurité idéal.....	90
7.	Conclusion générale	91
8.	Bibliographie.....	92

1. Curriculum Vitae

1.1. Etat civil

Né le 09 septembre 1976

Marié, 5 enfants (2004, 2007, 2009, 2012, 2015)

Grade : Maître de conférences de l'enseignement supérieur classe normale – date d'entrée au Ministère de l'Agriculture : 01/09/2011

Enseignant-chercheur, CNECA 8 (Pathologie clinique animale)

Poste occupé : Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Discipline : Parasitologie-Mycologie, Maladies parasitaires et fongiques

ENSEIGNEMENT :

Parasitologie-Mycologie, Maladies parasitaires et fongiques

Bâtiment Camille Guérin, bureau 335,

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort

radu.blaga@vet-alfort.fr

Tel : + 33 (0)1 43 96 72 15 Fax : + 33 (0)1 43 96 71 39

RECHERCHE :

UMR BIPAR ENVA-ANSES-INRAE, Laboratoire de santé animale, Equipe Parasites zoonotiques transmis par les aliments « Paralim », Responsable du Groupe « Toxoplasma »

14 rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort

1.2. Cursus professionnel

- Depuis Septembre 2011 : **Maître de Conférences** titulaire à Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Parasitologie, Mycologie, Maladies Parasitaires et Fongiques, Dermatologie ; UMR BIPAR ENVA-ANSES-INRAE
- Mars 2010 - Août 2011 : **Maître de Conférences** contractuel à Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Parasitologie, Mycologie, Maladies Parasitaires et Fongiques, Dermatologie ; UMR BIPAR ENVA-ANSES-INRAE
- Août 2008 - Février 2010 : **Enseignant-chercheur** contractuel à l'Université des Sciences Agricoles et Médecine Vétérinaire de Cluj-Napoca, Unité de Parasitologie et Maladies Parasitaires
- Novembre 2002 - Janvier 2004 : **Ingénieur d'étude**, Laboratoire d'Hématologie, Unité d'Anatomie pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (Pr. F. Crespeau)
- Avril - Octobre 2002 : **Vétérinaire**, assurant la recoupe des prélèvements biologiques reçus par le laboratoire d'Anatomie pathologique « Mialot-Lagadic » SARL, Maisons-Alfort, France

1.3. Titres et diplômes

- Depuis Octobre 2017 : **Résident** du Collège européen de parasitologie vétérinaire - programme de préparation « alternative »
- Mars 2007 : **Doctorat d'Université : Diplôme de Docteur en Interactions hôtes-parasites** de l'Université Paris 12, France, mention « *très honorable avec les félicitations du jury* » ; **Diplôme de Docteur** de l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire Cluj-Napoca, Roumanie. Pr Vasile Cozma, USAMV, Cluj-Napoca, Roumanie (co-Directeur de thèse) ; Dr Pascal Boireau, AFSSA, Maisons-Alfort, (co-Directeur de thèse) **Thèse en cotutelle France-Roumanie**
- Mars 2005 : **Certificat d'Habilitation à l'Expérimentation Animale** niveau 1 de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

- Juillet 2002 : **Diplôme d'Etudes Approfondies** « Interactions hôtes parasites, biodiversité, mécanismes effecteurs » de Paris 12, France ; mention « *bien* »
- Février 2002 : **Diplôme de Docteur Vétérinaire** de l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire de Cluj-Napoca, Roumanie ; « *major de promotion* »
- Juillet 1999 : **Diplôme de Pédagogie** (nécessaire pour le personnel enseignant) de l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire de Cluj-Napoca, Roumanie
- Avril 1996 : **Diplôme d'interprète** anglais-roumain du Lycée Théorique « Gheorghe SINCAI » de Cluj-Napoca
- Juillet 1995 : **Diplôme de baccalauréat** du Lycée Théorique « Gheorghe SINCAI » de Cluj-Napoca, Roumanie (moyenne générale 9,40/10)

1.4. Distinctions/prix

- Young Scientist Award, 2008, European Federation of Parasitologists
- Student Research Award, 2007, International Commission on Trichinellosis

1.5. Appartenance à des sociétés savantes

- Depuis 2010 : Membre de la Société Française de Parasitologie
- Depuis 2008 : Membre de la Commission de Médecine Comparée de l'Académie Roumaine
- Depuis 2008 : Membre de la Commission Internationale pour la Trichinellose
- Depuis 2007 : Membre de l'Association Roumaine de Parasitologie

1.6. Bourses à l'étranger

- 2004-2007 : **Contrat doctoral de l'AFSSA** pour la Thèse Universitaire au sein de l'UMR-BIPAR, équipe « Parasites zoonotiques transmis par les aliments »
- 2000-2001 : **Bourse de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF)** : Etudes vétérinaires à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France
- 2000 : **Bourse communautaire ERASMUS** : Etudes vétérinaires à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Lisbonne, Portugal

1.7. Activités de recherche

1.7.1. Thèmes de recherche

- **Depuis mars 2010** : « Détection et caractérisation de *Toxoplasma gondii* dans les populations animales en France » Responsable du Groupe « Toxoplasma » au sein de l'équipe Parasites zoonotiques transmis par les aliments, UMR BIPAR ENVA ANSES INRAE, Laboratoire de santé animale
- **Post-doctorat (2007-2008)** : « Epidémiologie de la toxoplasmose chez les petits ruminants dans la région Nord-Ouest de Roumanie » Pr Vasile COZMA : USAMV, Cluj-Napoca, Roumanie
- **Thèse de doctorat d'université (cotutelle France-Roumanie) (2002-2007)** : « Variabilité génétique et spatio-temporelle au sein du genre *Trichinella* : étude dans une zone à forte endémicité » Spécialité Parasitologie (Interactions Hôtes-Parasite). Paris XII. 2007:343p. Jury de thèse : Pr Stéphane BRETAGNE : Université Paris XII, Créteil, Président ; Dr Jacques CABARET : INRA, Tours, Rapporteur ; Pr Jean DUPOUY-CAMET : Université Paris V, Paris, Rapporteur ; Dr Stefan NICOLAE : ANSVSSA, Bucarest, Roumanie, Examineur ; Pr Liu MINGYUAN : Jilin University, Changchun, China, Examineur ; Pr Vasile COZMA : USAMV, Cluj-Napoca, Roumanie, Directeur de thèse ; Dr Pascal Boireau : UMR BIPAR, Maisons-Alfort, Directeur de thèse

- **Diplôme d'études approfondies (2002)** : « Caractérisation d'une protéase à sérine chimérique chez *Trichinella* ; fonction et antigénicité » DEA Biologie, Génétique et Immunologie des Infections Parasitaires. Université Paris XII.
- **Thèse de doctorat vétérinaire (2002)** : « Étude de la dynamique des anticorps et l'influence de la dose administrée aux souris OF1 infestées expérimentalement avec *Trichinella spiralis* » Thèse de doctorat vétérinaire. USAMV, Cluj- Napoca

1.7.2. Collaborations

- **Walter Basso**, Institut für Parasitologie, Zurich, Suisse ; Influence de l'infection à *T. gondii* chez le porc ; depuis 2015
- **Gereon Schares**, Friedrich-Loeffler Institute, Allemagne ; Détection et circulation des parasites transmis par les aliments (*Toxoplasma*) ; depuis 2013
- **Joke van der Giessen** et **Marieke Opsteegh**, RIVM, Pays-Bas ; Détection et circulation des parasites transmis par les aliments (*Toxoplasma*) ; depuis 2013
- **Willy Dabin**, Réseau National des échouages (RNE), Pelagis, Université de la Rochelle, France ; Détection de *T. gondii* chez les mammifères marins échoués en France, depuis 2011
- **Adriana Titilincu**, USAMV, Cluj-Napoca, Roumanie ; Circulation de *Toxoplasma gondii* dans les populations animales en Roumanie ; depuis 2010
- **Isabelle Villena**, Université Reims Champagne Ardenne, France ; Circulation de *Toxoplasma gondii* dans les populations animales et réduction de la prévalence chez l'homme ; depuis 2010
- **Fu BaoQuan**, Lanzhou Veterinary Institute, Chine ; Développement et application du test de diagnostic immunologique des cestodes larvaires chez le mouton ; depuis 2009
- **Benjamin Rosenthal**, USDA, ARS, Animal Parasitic Diseases Laboratory, USA ; Collaboration dans le domaine des parasites transmis par les aliments (*Trichinella*, *Toxoplasma*) ; depuis 2008
- **Liu MingYuan**, Institut des Zoonoses, Université de Jilin, Chine ; Collaboration dans le domaine de *Trichinella* : Identification des gènes spécifiques d'espèces impliqués dans la virulence ; depuis 2006

1.7.3. Financements

Au plan national :

- Société Centrale Canine (2021-2022) : Rôle de *Neospora caninum* lors de troubles de la reproduction chez la chienne : investigation sero-épidémiologique et facteurs de risque ; budget total 16 800 euros (**coordinateur : ENVA, Radu BLAGA**, partenaire ENVT)
- France Agri Mer FAM-AAP-2016 (2018-2021) : Etude du tropisme et de la persistance de *T. gondii* : de la carcasse de porc au saucisson sec Coordinateur Bastien FREMAUX, Institut du Porc (IFIP) **Partenaire ENVA (Radu BLAGA)** ; budget 51 706 euros et URCA
- Adiagene (2016) : Evaluation des méthodes de détection de *T. gondii* dans les matières fécales de chat ; 12 096 euros (**coordinateur : Radu BLAGA**)
- Campus France (programme Hubert Curien : Germaine de Staël 2015-2016) : Infection dynamics and tissue distribution of *T. gondii* in pigs; 2500 euros/an (**Coordinateur Radu BLAGA**)
- Campus France (programme Hubert Curien : Pavle Savic, 2013-2014) : Plan de surveillance de l'infection à *T. gondii* chez le porc en France et Serbie ; Demi-bourse de thèse (en cotutelle) pour Vitomir Djokic; 18 000 euros (**Coordinateur Radu BLAGA** et Pascal Boireau)
- Ministère de l'Agriculture, Direction générale de l'Alimentation (2013) : Plan de surveillance de l'infection à *T. gondii* chez le porc en France ; 35 000 euros (**Coordinateur Radu BLAGA**, Partenaire URCA)
- OSEO BPI France (2012-2015) : Développement d'un vaccin contre la toxoplasmose chez le chat ; 67 000 euros (**Coordinateur Radu BLAGA**)

Au plan européen :

- EFSA (2021-2024) Provision of support to EFSA and to ECDC in the production of the EU One Health Zoonoses report and in related zoonoses online interactive data visualisation dashboards and zoonoses story maps OC/EFSA/BIOCONTAM/2020/03 Coordinateur IZSAM, Italy, Anses partener; Budget total 5 parteners: 2 M€/ budget Anses 270 K€; **Expert Anses *Toxoplasma* Radu BLAGA**
- One Health European Joint Projects (2020-2022) European Consortium Toxosources : « *Toxoplasma gondii* sources quantified » EJP One Health support: JRP, priority topic ET2.2. (20 partners; Total cost: 3 M€ ; Anses Budget total costs: 269 967,50 euros). Coordinateur Pikka Jokalainen (SSI, DK), **Anses Partener (Radu BLAGA : WP2-Task 2 leader, WP4-Task 3 leader)**
- One Health European Joint Projects (2019-2022) Financial support of a 3 years PhD student; project « Study of the tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: from pork carcass to sausage and dry ham, a quantitative risk assessment » ToxSauQMRA (total cost: 136 250 euros) Coordinator ANSES (**Radu BLAGA** and Pascal BOIREAU)
- Cystinet Network (2014), Short Term Scientific Mission « Investigation of *Taenia saginata* and *Taenia solium* presence in Romania » ; 3000 euros (**Coordinator Radu BLAGA**)
- European Food Safety Authority (2013-2015) European Consortium ; project « Relationship between seroprevalence in the main livestock species and presence of *Toxoplasma gondii* in meat » GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01 (12 partners; Total cost: 779 K€/EnvA total costs: 93.500 euros). Coordinator Joke van der Giessen (RIVM), **Partner ENVA (Radu BLAGA : WP6 leader, WP7 leader)**

1.7.4. Encadrements

Post-doctorats :

- Vitomir DJOKIC (2016) : Evaluation des méthodes de détection de *T. gondii* dans les matières fécales de chat ; **financement** privé, Adigene ; **Valorisation** : 1 article, 1 Communication orale
- Maryna GALAT (2013) : Evaluation des méthodes sérologiques et mise au point d'un plan d'échantillonnage comparatif entre la France et l'Ukraine concernant le portage de *Toxoplasma gondii* des populations animales ; **financement** Campus France ; **Valorisation** : 2 communications orales

Thèses d'université :

- Lea Lovric : Prevalence and risk factors for toxoplasmosis in pigs in Croatia (à **soutenir avant Décembre 2023**) Encadrement : Thèse en co-encadrement entre la France (**Radu BLAGA (30%)** et Delphine Le Roux (30%)) et la Croatie (Pr. Zivicnjak, 40%) ; **Financement** : Bourse Erasmus, Ministère Croate de l'Enseignement ; **Valorisation** : minimum 2 articles en vue, 1 sur les porcs, 1 sur la faune sauvage
- Filip DAMEK : Study of the tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: from pork carcass to sausage and dry ham, a quantitative risk assessment (à **soutenir avant Novembre 2022**) **Encadrement: Radu BLAGA (90%)** avec l'aide de Pascal Boireau (10%) pour la partie administrative (UPEC); **Financement:** One Health European Joint Projects (2019-2022) ToxSauQMRA **Coordinateur Radu BLAGA; Valorisation:** 2 articles en cours de préparation ; 5 communications affichées
- Vitomir DJOKIC : Prevalence and risk factors for toxoplasmosis in pigs and characterization of natural evolution of infection in a pig model (**soutenu le 16.03.2016**) **Encadrement : Radu BLAGA (85%)** avec l'aide de Pascal Boireau (15%) pour la partie administrative (UPEC); **Financement:** Campus France Demi-bourse de thèse **Coordinateur Radu BLAGA; Valorisation:** 5 articles (comité de lecture int'l) ; 1 article (comité de lecture natl) ; 1 article destiné aux professionnels ; communications orales : 12 ; communications affichées : 7
- Nedisan Maria, Université des Sciences Agricoles et Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine Vétérinaire, Cluj-Napoca, doctorante, **encadrement pour le stage de 2 mois** (janvier – février 2019)

au sein de l'UMR BIPAR : Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in backyard birds from Romania (MAT – Modified Agglutination Test) (Directeur de thèse : Vasile COZMA) Valorisation : 1 article (comité de lecture int'l)

- Adriana Jarca, Université des Sciences Agricoles et Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine Vétérinaire, Cluj-Napoca, doctorante, **encadrement pour le stage de 3 mois** (juin – août 2006) au sein de l'UMR BIPAR : Diagnostic des infestations de *Trichinella* ; Identification moléculaire des espèces de *Trichinella* spp. (Directeur de thèse : Vasile COZMA)
- Silvia Antoniu, Université des Sciences Agronomique et Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine Vétérinaire, Bucarest, doctorante, **encadrement pour le stage de 3 mois** (juillet – août 2004) au sein de l'UMR BIPAR : Immunocriblage des banques d'ADNc de *T. nativa* (Directeur de thèse Ioan DIDA)

Master 2 Recherche :

- Sandra VUILLERMET (2020), « Tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: a study on pigs and ticks » ADP Master, Wageningen University, Pays-Bas ; **Valorisation** : communications orales : 2
- Céline SAKONDA (2015), « Relation entre sérologie et présence de kystes de *Toxoplasma gondii* dans la viande de cheval et comparaison des techniques de détection » Master Domaine Sciences Technologies Santé, Mention Sciences de la Vie et de la Santé, Spécialité Zoonoses et environnement (Université de Limoges)
- Anne-Claire LE CORRE (2013), « Etude de la variabilité génétique des souches de *Toxoplasma gondii* de la faune sauvage et domestique de France » Master de Biologie moléculaire et cellulaire, spécialité microbiologie, parcours Parasitologie – Mycologie (UPMC) ; **Valorisation** : communications orales : 1 ; communications affichées : 1
- Myriam THOMAS, « Distribution de *Toxoplasma gondii* dans des tissus ovins naturellement et expérimentalement infectés » (2010) ; Master Sciences technologies santé, mention Biologie-santé, Spécialité : Interactions Hôtes - Agents Infectieux (Université de Versailles) **Valorisation** : 1 article soumis (comité de lecture int'l)

Thèse de doctorat vétérinaire (USAMV Cluj-Napoca, Roumanie) :

Directeur :

- Liliana ILUT (2009) ; Titre de la thèse : Identification des microsatellites au sein du genre *Trichinella* et utilisation pour l'analyse des isolats **Valorisation** : 1 article (comité de lecture natl) ; communications orales : 1 ; communications affichées : 2
- Ana CIUPA (2009) ; Titre de la thèse : Optimisation de la méthode d'identification biomoléculaire des larves de *Trichinella* spp.
- Laura PARLAPAN (2009) ; Titre de la thèse : Variabilité génétique au sein du genre *Trichinella* suivant l'analyse de l'ADN mitochondrial
- Ciprian STEI (2008) ; Titre de la thèse : Investigations sur la prévalence de l'infestation à *Trichinella* chez les porcs de SC Agroflip S.A. Bontida

Thèse de doctorat vétérinaire (ENVA, France) :

Directeur :

- Anne-Claire LE CORRE (2012) « Etude des infections parasitaires à *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis* spp. et *Trichinella* spp. chez les mammifères marins »
- Camille TAVOILLOT (2012) « Prévalence de la toxoplasmose féline en France : comparaisons de deux échantillons de chats provenant de deux régions de France »

Institut Universitaire de Technologie (stage de 2ème année)

- Anaëlle DA SILVA (2021) : Distribution anatomique de *T. gondii* dans la viande de porc ; IUT de Créteil-Vitry, UPEC ; Département de Génie Biologique Option Analyses Biologiques et Biochimiques
- Aurélie CANTIE (2016) : Comparaison de différentes techniques de détection de *T. gondii* ; IUT de Créteil-Vitry, UPEC ; Département de Génie Biologique Option Analyses Biologiques et Biochimiques
- Pauline PAQUET (2015) : Relation entre différentes techniques de détection de *T. gondii* dans la viande chevaline ; IUT de Créteil-Vitry, UPEC ; Département de Génie Biologique Option Analyses Biologiques et Biochimiques

Licence

- Céline TRAN (2018) : Etude de la présence de *T. gondii* dans la viande de cheval. Licence Sciences de la Vie et de la Terre – Parcours Biologie Santé UPEC
- Sarah ALI (2015) : Corrélation entre méthode directe et indirecte dans la détection de kystes tissulaire de *T. gondii* chez le cheval. L3 Chimie Biologie UPEC

Formation de Technicien de Laboratoire

- Elodie Picouzza (2017) Digestion artificielle pour la détection de l'infection à *T. gondii* dans une matrice carnée. Centre de Réadaptation Professionnelle de Beauvoir, Evry
- Emmanuel Tassain (2015) Comparaison de techniques de digestion artificielle sur une matrice carnée. Centre de Réadaptation Professionnelle de Beauvoir, Evry
- Bruno Nazical (2012) Diagnostic sérologique de l'infection à *T. gondii* dans une matrice carnée. Centre de Réadaptation Professionnelle de Beauvoir, Evry

1.7.5. Production scientifique

Les articles scientifiques

34 publications dans des revues internationales à comité de lecture

Premier auteur : 10

Dernier auteur : 2 (dont 1 article soumis)

15 publications dans des revues nationales à comité de lecture

5 publications destinés aux professionnels

Citations : 862 (depuis 2016 : 592) ; Index h : 18 (depuis 2016 : 15) (selon Google Scholar)

Participation à des congrès internationaux et nationaux

60 communications dans des congrès internationaux

24 communications orales

38 communications affichées

11 communications dans des congrès nationaux

8 communications orales

3 communications affichées

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

À comité de lecture international

1. Trap C, Fu B, Le Guerhier F, Liu M, Le Rhun D, Romand T, Perret C, **Blaga R**, Boireau P. Cloning and analysis of a cDNA encoding a putative serine protease comprising two trypsin-like domains of *Trichinella spiralis*. *Parasitol Res*. 2006 Mar;98(4):288-94.
2. **Blaga R**, Durand B, Antoniu S, Gherman C, Cretu CM, Cozma V, Boireau P. A dramatic increase in the incidence of human trichinellosis in Romania over the past 25 years: impact of political changes and regional food habits. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 May;76(5):983-6.
3. **Blaga R**, Gherman C, Seucom D, Cozma V, Boireau P. First identification of *Trichinella* sp. in golden jackal (*Canis aureus*) in Romania. *J Wildl Dis*. 2008 Apr;44(2):457-9.
4. **Blaga R**, Cretu CM, Gherman C, Draghici A, Pozio E, Noeckler K, Kapel CM, Dida I, Cozma V, Boireau P. *Trichinella* spp. infection in horses of Romania: Serological and parasitological survey. *Vet Parasitol*. 2009 Feb 23;159(3-4):285-9.
5. **Blaga R**, Durand B, Stoichici A, Gherman C, Stefan N, Cozma V, Boireau P. Animal *Trichinella* infection in Romania: Geographical heterogeneity for the last 8 years. *Vet Parasitol*. 2009 Feb 23;159(3-4):290-294.
6. **Blaga R**, Gherman C, Cozma V, Zocevic A, Pozio E, Boireau P. *Trichinella* species circulating among wild and domestic animals in Romania. *Vet Parasitol*. 2009 Feb 23;159(3-4):218-221.
7. Fu BQ, Liu MY, Yao CY, Li WH, Li YG, Wang YH, Wu XP, Zhang DL, Cai XP, **Blaga R**, Boireau P. Species identification of *Trichinella* isolates from China. *Vet Parasitol*. 2009 Feb 23;159(3-4):214-7.
8. **Blaga R**, Fu B, Le Rhun D, Le Naour E, Heckman A, Zocevic A, Liu M, Boireau P. Use of mitochondrial RNA genes for the differentiation of four *Trichinella* species by multiplex PCR amplification.. *J Helminthol*. 2009 Jun;83(2):121-8.
9. Zocevic A, Mace P, Vallee I, **Blaga R**, Liu M, Lacour SA, Boireau P. Identification of *Trichinella spiralis* early antigens at the pre-adult and adult stages. *Parasitology*. 2011 Apr;138(4):463-71..
10. Villena I, Durand B, Aubert D, **Blaga R**, Geers R, Thomas M, Perret C, Alliot A, Escotte-Binet S, Thébault A, Boireau P, Halos L. New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Vet Parasitol*. 2012 Feb 10;183(3-4):203-8.
11. Bai X, Wu X, Wang X, Guan Z, Gao F, Yu J, Yu L, Tang B, Liu X, Song Y, Wang X, **Radu B**, Boireau P, Wang F, Liu M. Regulation of cytokine expression in murine macrophages stimulated by excretory/secretory products from *Trichinella spiralis* in vitro. *Mol Cell Biochem*. 2012 Jan;360(1-2):79-88.
12. Bai X, Wu X, Wang X, Liu X, Song Y, Gao F, Miao Y, Yu L, Tang B, Wang X, **Radu B**, Vallee I, Boireau P, Wang F, Zhao Y, Liu M. Inhibition of mammalian muscle differentiation by excretory secretory products of muscle larvae of *Trichinella spiralis* in vitro. *Parasitol Res*. 2012 Jun;110(6):2481-90.
13. Gómez-Morales MA, Ludovisi A, Amati M, **Blaga R**, Zivojinovic M, Ribicich M, Pozio E. A distinctive Western blot pattern to recognize *Trichinella* infections in humans and pigs. *Int J Parasitol*. 2012 Oct;42(11):1017-23.
14. Li WH, Jia WZ, Qu ZG, Xie ZZ, Luo JX, Yin H, Sun XL, **Blaga R**, Fu BQ. Molecular characterization of *Taenia multiceps* isolates from Gansu Province, China by sequencing of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1. *Korean J Parasitol*. 2013 Apr;51(2):197-201
15. Wu XP, Liu XL, Wang XL, **Blaga R**, Fu BQ, Liu P, Bai X, Wang ZJ, Rosenthal BM, Shi HN, Sandrine L, Vallee I, Boireau P, Wang F, Zhou XN, Zhao Y, Liu MY. Unique antigenic gene expression at different developmental stages of *Trichinella pseudospiralis*. *Vet Parasitol*. 2013 May 20;194(2-4):198-201

16. Fu BQ, Li WH, Gai WY, Yao JX, Qu ZG, Xie ZZ, Wang YH, Zhang DL, **Blaga R**. Detection of anti-Trichinella antibodies in serum of experimentally-infected swine by immunochromatographic strip. *Vet Parasitol*. 2013 May 20;194(2-4):125-7
17. Liu P, Wu XP, Bai X, Wang XL, Yu L, Rosenthal B, **Blaga R**, Lacour S, Vallee I, Boireau P, Gherman C, Oltean M, Zhou XN, Wang F, Zhao Y, Liu MY. Screening of early antigen genes of adult-stage *Trichinella spiralis* using pig serum from different stages of early infection. *Vet Parasitol*. 2013 May 20;194(2-4):222-5.
18. Paștiu AI, Györke A, **Blaga R**, Mircean V, Rosenthal BM, Cozma V. In Romania, exposure to *Toxoplasma gondii* occurs twice as often in swine raised for familial consumption as in hunted wild boar, but occurs rarely, if ever, among fattening pigs raised in confinement. *Parasitol Res*. 2013 Jun;112(6):2403-7.
19. Djokic V, **Blaga R**, Rinaldi L, Le Roux D, Ducry T, Maurelli MP, Perret C, Djurkovic Djakovic O, Cringoli G, Boireau P. Mini-FLOTAC for counting *Toxoplasma gondii* oocysts from cat feces--comparison with cell counting plates. *Exp Parasitol*. 2014 Dec;147:67-71.
20. Davoust B, Mediannikov O, Roqueplo C, Perret C, Demoncheaux JP, Sambou M, Guillot J, **Blaga R**. [Serological survey of animal toxoplasmosis in Senegal]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2015 Feb;108(1):73-7.
21. Cong W, Meng QF, **Blaga R**, Villena I, Zhu XQ, Qian AD. *Toxoplasma gondii*, *Dirofilaria immitis*, feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukemia virus (FeLV) infections in stray and pet cats (*Felis catus*) in northwest China: co-infections and risk factors. *Parasitol Res*. 2016 Jan;115(1):217-23.
22. Djokic V, **Blaga R**, Aubert D, Durand B, Perret C, Geers R, Ducry T, Vallee I, Djurkovic Djakovic O, Mzabi A, Villena I, Boireau P. *Toxoplasma gondii* infection in pork produced in France. *Parasitology*. 2016 Apr;143(5):557-67 (**equally first author**)
23. Baneth G, Thamsborg SM, Otranto D, Guillot J, **Blaga R**, Deplazes P, Solano-Gallego L. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. *J Comp Pathol*. 2016 Jul;155(1 Suppl 1):S54-74.
24. Djokic V, Fablet C, **Blaga R**, Rose N, Perret C, Djurkovic-Djakovic O, Boireau P, Durand B. Factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in confined farrow-to-finish pig herds in western France: an exploratory study in 60 herds. *Parasit Vectors*. 2016 Aug 24;9:466 (**equally first author**)
25. Roqueplo C, **Blaga R**, Jean-Lou M, Vallee I, Davoust B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in hunted wild boars (*Sus scrofa*) from southeastern France. *Folia Parasitol (Praha)*. 2017 Jan 25;64.
26. Limon G, Beauvais W, Dadios N, Villena I, Cockle C, **Blaga R**, Guitian J. Cross-Sectional Study of *Toxoplasma gondii* Infection in Pig Farms in England. *Foodborne Pathog Dis*. 2017 Feb 10. doi: 10.1089/fpd.2016.2197. [Epub ahead of print]
27. Basso W, Grimm F, Ruetten M, Djokic V, **Blaga R**, Sidler X, Deplazes P. Experimental *Toxoplasma gondii* infections in pigs: Humoral immune response, estimation of specific IgG avidity and the challenges of reproducing vertical transmission in sows. *Vet Parasitol*. 2017 Mar 15;236:76-85.
28. Klun I, Uzelac A, Villena I, Mercier A, Bobić B, Nikolić A, Rajnpreht I, Opsteegh M, Aubert D, **Blaga R**, van der Giessen J, Djurković-Djaković O. The first isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from horses in Serbia. *Parasit Vectors*. 2017 Apr 4;10(1):167.
29. Bărburaș D, Györke A, **Blaga R**, Bărburaș R, Kalmár Z, Vișan S, Mircean V, Blaizot A, Cozma V. *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Romania: what is the importance for public health? *Parasitol Res*. 2019 Sep;118(9):2695-2703. (**equally first author**)
30. Le Roux D, Djokic V, Morisse S, Chauvin C, Doré V, Lagrée AC, Voisin D, Villain Y, Grasset-Chevillot A, Boursin F, Su C, Perrot S, Vallée I, Seche E, **Blaga R**. Evaluation of immunogenicity and protection of the Mic1-3 knockout *Toxoplasma gondii* live attenuated strain in the feline host. *Vaccine*. 2020 Feb 5;38(6):1457-1466.
31. **Blaga R**, Aubert D, Thébault A, Perret C, Geers R, Thomas M, Alliot A, Djokic V, Ortis N, Halos L, Durand B, Mercier A, Villena I, Boireau P. *Toxoplasma gondii* in beef consumed in France: regional variation in seroprevalence and parasite isolation. *Parasite*. 2019;26:77.

32. Fais T, Giadinis N, Papadopoulos E, Brellou G, Theodoridis A, **Blaga R**, Roux DL, Bitchava D, Ntemka A, Boscus C, Tsakmakidis I. Pathogens. Effect of *Toxoplasma gondii* on Ram Sperm Quality After Experimental Infection. 2020 Nov 30;9(12):1004.
33. Nedişan ME, Györke A, Ştefănuţ CL, Kalmár Z, Friss Z, **Blaga R**, Blaizot A, Toma-Naic A, Mircean V, Schares G, Djurković-Djaković O, Klun I, Villena I, Cozma V. Experimental infection with *Toxoplasma gondii* in broiler chickens (*Gallus domesticus*): seroconversion, tissue cyst distribution, and prophylaxis. Parasitol Res. 2021 Feb;120(2):593-603.
34. Beck T, Grochow T, Schares G, **Blaga R**, Le Roux B, Bangoura B, Dauschies S, A. Fietz. Burden and regional distribution of *Toxoplasma gondii* cysts in the brain of COBB 500 broiler chickens following chronic infection with 76K strain. Vet Parasitol 2021 Jun 11;296
35. M. Thomas, D. Aubert, S. Escotte, B. Durand, C. Robert, R. Geers, A. Alliot, G. Belbis, I. Villena, **R. Blaga**. Anatomical distribution of *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected lambs; submitted to Parasite

À comité de lecture national

1. Titilincu A., **Blaga R**, Halos L, Mircean V, Boireau P, Cozma V., 2008. Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in sheep by ELISA and MAT. *Scientia Parasitologica* 2: 15-20.
2. Iovu A., Titilincu A., Mircean V., **Blaga R.**, Bejan A., Cozma V., 2008. Serosurvey of *Toxoplasma gondii* in sheep for human consumption in two slaughter-house. *Bul. UASVM Vet. Med.* 65(2): 40-43.
3. Iovu A., Titilincu A., Mircean V., **Blaga R**, Cozma V., 2008. Preliminary results concerning the *Toxoplasma gondii* infection in swine. *Scientia Parasitologica* 9(2): 15-20.
4. Iovu A., Titilincu A., Mircean V., **Blaga R.**, Voinescu V., Cozma V., 2009. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in indoor pigs from centre and north-western of Romania. *Bul. UASVM Vet. Med.* 66(2): 103-107.
5. **Radu BLAGA**, Călin BRATU, Liliana ILUT, Vasile COZMA Use of Nuclear Microsatellites in Genetic Variability Assessment of *Trichinella* Isolates; Bulletin USAMV Veterinary Medicine 66(2)/2009, pag.89-94
6. Li Yongguang, Li Wenhui, Li Hang, Gai Wenyan, Wang Hongsheng, Yao Juxia, Wang Yanhua, Zhang Delin, Jia Wanzhong, **Radu Blaga**, Fu Baoquan. Cloning and prokaryotic expression of thioredoxin peroxidase gene fragment of *Taenia multiceps*. Chinese Veterinary Science, 2009, 39(3):251-256.
7. WU Xiuping, GAO Lifang, ZHANG Ling, FU Baoquan, WANG Xuelin, **R. Blaga**, YANG Zhidong, DENG Hongkuan, YU Shenye, P. Boireau, LIU Ming-yuan. Construction and screening of the cDNA expression library for muscle larvae of *Trichinella pseudospiralis*. Chinese Journal of Zoonoses, 2009, 24(9):807-810
8. Oltean M., Gherman C., **Blaga R.**, Pozio E., Cozma V., 2009. *Trichinella britovi* newborn larvae obtained in vitro, *Scientia Parasitologica* 1-2: 94-96.
9. LI Wen-Hui¹, WANG Jian-Kui, GAI Wen-Yan, YAO Ju-Xia, QU Zi-Gang, JIA Wan-Zhong, LUO Jian-Xun, **Radu BLAGA**, Fu Bao-Quan. Construction and primary analysis of cDNA expression library of *Coenurus cerebralis* of *Taenia multiceps*. Acta Parasitology and Medical Entomology Sinica, 2011, 18 (3) : 139-146. (in Chinese)
10. LI Wen-hui, GAI Wen-yan, YAO Ju-xia, QU Zi-gang, JIA Wan-zhong, LUO Jian-xun, **Radu BLAGA**, Fu Bao-quan. Variation analysis of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit I gene

- fragment of *Taenia multiceps* isolates from Gansu. Chinese Journal of Veterinary Science, 2011, 31 (5) : 663-667. (in Chinese)
11. LI Wen-hui, GAI Wen-yan, YAO Ju-xia, QU Zi-gang, JIA Wan-zhong, LUO Jian-xun, **Radu BLAGA**, Fu Bao-quan. Cloning and prokaryotic expression of Tm16 and Tm18 antigen genes from *Taenia multiceps*. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2011, 33 (1) : 76-79. (in Chinese)
 12. LI Yong-Guang, LI Wen-Hui, GAI Wen-Yan, YAO Ju-xia, QU Zi-gang, JIA Wan-zhong, **Radu Blaga**, FU Bao-quan. Cloning and sequence analysis of thioredoxin peroxidase gene of *Taenia multiceps*. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Disease, 2011, 29 (1) : 67-70. (in Chinese)
 13. LI Wen-hui¹, GAI Wen-yan, YAO Ju-xia, QU Zi-gang, JIA Wan-zhong, LUO Jian-xun, **RADU BLAGA**, Fu Bao-quan. Comparison and analysis of COI gene partial sequences of *Taenia multiceps* isolates from Gansu. Acta Parasitology and Medical Entomology Sinica, 2010, 17 (3) : 129-134. (in Chinese)
 14. **R.Blaga**, D.Aubert, A.Thébault, C.Perret, R.Geers, M.Thomas, A.Alliot, V.Djokic, T.Ducry, N.Ortis, L.Halos, B.Durand, C.Danan, I.Villena, P.Boireau Étude de la contamination par *Toxoplasma gondii* des viandes ovines, bovines et porcines – résultats des plans de surveillance pour les années 2007, 2009 et 2013 Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation Juin 2015 n° 69 : 15-19
 15. I.Villena et **R.Blaga** Coopération medico-vétérinaire et réduction de l'incidence de la toxoplasmose en France Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France — 2018 - Tome 171 - N°2, pp. 87-91

Articles destinés aux professionnels

1. P. BOIREAU, S. LACOUR, I. VALLÉE, **R. BLAGA**, J. GUILLOT La trichinellose, Bulletin des GTV, hors-série 2011 : 87-90
2. P. BOIREAU, C. PERRET, B. POLACK, M. THOMAS, D. AUBERT, **R. BLAGA**, I. VILLENA *Toxoplasma* et la toxoplasmose Bulletin des GTV, hors-série 2011 : 91-94
3. B.Polack et **R.Blaga** Les traitements antiparasitaires chez les bovins Le Point Vétérinaire / Juillet-août 2014 / N° 347 : 44-48
4. B.Polack et **R.Blaga** Traitements antiparasitaires pour bovins Le Point Vétérinaire / hors-série 2014 : Actualités en thérapeutique des bovins : 114-117
5. **R. Blaga**, D.Aubert, C.Perret, R.Geers, V.Djokic, I.Villena, E.Gilot-Fromont, A.Mercier, P.Boireau Animaux réservoirs de *Toxoplasma gondii* : état des lieux en France Revue Francophone des laboratoires, Décembre 2015 - N°477, Dossier Animaux réservoirs de pathogènes pour l'homme (2) : 35-52

PARTICIPATION A DES CONGRES SCIENTIFIQUES

Présentations orales

1. **Parasitic Zoonoses Symposium: Importance of the laboratory diagnosis in parasitic diseases. 12 May, Bucharest, Romania.** C.Gherman , R.Blaga, V.Coza, A.Mihalca, P.Boireau: "The incidence of *Trichinella spp.* infestation in wildlife carnivores from Romania"
2. **Nematode Parasites Symposium : genetic diversity, virulence genes, diagnosis and control method 26th November, 2004, Maisons-Alfort, France.** Blaga R., Le Guerhier F., Cozma V., Le

- Rhun D., Le Naour E., Boireau P. : “ Molecular identification of *Trichinella pseudospiralis* by amplification of the Large Subunit ribosomal mitochondrial RNA gene”
3. **XIth International Congress Of Parasitology, 6-11 august 2006, Glasgow, UK.** R. Blaga, B.Fu, F. Le Guerhier, D. Le Rhun, E. Le Naour, A. Glemarec, V. Cozma and P. Boireau : « Molecular identification of the four European *Trichinella* species by amplification of the Small and Large Subunit Ribosomal mitochondrial RNA genes”
 4. **XIIth International Conference on Trichinellosis, 25th-30th September, 2007 Plitvice Lakes, Croatia.** R.Blaga “Temporal and genetic variability within *Trichinella* genus: study case of Romania”
 5. **National Conference of Romanian Society of Parasitology, 8-10 November, 2007, Constanta, Romania.** R. Blaga, C.Gherman, V.Cozma, B.Durand and P.Boireau “Heterogenitatea trichinelozei si a infestatiei cu *Trichinella* in Romania”
 6. **Xth European Multicolloquium of Parasitology 23-29 August 2008, Paris, France.** R.Blaga: „Geographical variability within *Trichinella* genus: study case of a high endemic area”
 7. **National Conference of Parasitology, 5-8 November, 2008, Cluj-Napoca, Romania.** R. Blaga, A.Titulincu, D.Onac, C.Stei, C.Gherman and V.Cozma “Regional *Trichinella* infection foci in Romania: a permanent threat to human health”
 8. **Xth Conference of the Chinese Society of Veterinary Parasitology, 1-6 August 2009, Lanzhou, RP China.** R. Blaga, C.Gherman, V.Cozma, B.Durand and P.Boireau “Trichinellosis in Romania: a history of food-habits”
 9. **National Congress of the French Society of Parasitology, 18-20 May, 2011, Strasbourg, France.** C.Perret Duménil, L.Halos, D.Aubert, R.Geers, R.Blaga, M.Thomas,A.Alliot B.Durand, P.Boireau, I.Villena Evaluation de la prevalence de *Toxoplasma gondii* dans les viandes bovines consommées en France : plan de surveillance 2009
 10. **XIIIth International Conference on Trichinellosis, 1-6 August, 2011, Changchun, RP China.** Blaga Radu, Ilut Liliana, Palfy Zoltan, Gherman Calin, Boireau Pascal and Rosenthal Benjamin “Differences in the prevalence of *Trichinella* sp. in domesticated and wild boar influence the public-health consequences of insensitivity of diagnosis by trichinelloscopy: a census survey in an endemic region of Romania”
 11. **Capara, COST Action FA0805, 3rd WGs and MC Meeting, 09-12. November, 2011, Limassol, Chyprus** R. Blaga, D. Aubert, R. Geers, C. Perret, M. Thomas, A. Alliot, B.Durand, B.Polack, O. Djurkovic-Djakovic, V. Djokic, P. Boireau, I. Villena “Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats in France”
 12. **XIth European Multicolloquium of Parasitology 25-29 July, 2012, Cluj-Napoca, Romania** J. Colin de Verdière, A.Alliot, C.Perret, M.Thomas, D.Aubert, I.Villena, S.A.Lacour, P.Boireau, C. Richomme and R.Blaga “Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the Mediterranean island of Corsica”
 13. **1st International meeting Apicomplexa in farm Animals, 25-28 October, 2012 Lisbon, Portugal** R. Blaga, L. Halos, C. Perret, D. Aubert, M. Thomas, A. Alliot, R. Geers, A.Thebault, P. Boireau, I. Villena “Serosurveillance of *Toxoplasma gondii* infection in sheep, bovine and goats of France”
 14. **National Congress of the French Society of Parasitology, 15-17 May, 2013, Dijon, France.** A.C. Le Corre, S.Hassani, W. Dabin, R. Popescu-Mirceni, C. Perret, M. Thomas, D.Aubert, I.Villena, P. Macé and R.Blaga “*Toxoplasma gondii* and *Trichinella* spp. infections in marine mammals”
 15. **2nd International meeting Apicomplexa in farm Animals, 31 October -3 November 2013, Kusadasi, Turkey** J.van der Giessen, Radu Blaga, I. Villena, M.Opsteegh “Bovine toxoplasmosis: fact or fiction?”
 16. **European Buiatrics Forum EBF2013, 27-29 November 2013, Marseille, France** R. Blaga, C. Perret, D. Aubert, M. Thomas, A. Alliot, R. Geers, A.Thebault, P.Boireau, I. Villena “*Toxoplasma gondii* infection in bovines: is it true?”
 17. **XIIIth International Congress Of Parasitology, 10-15 August 2014, Mexico City, Mexico**

- Djokic V., **Blaga R.**, Rinaldi L., Le Roux D., Perret D., Ducry T., Maurelli MP., Djurkovic Djakovic O., Cringoli G., Boireau P. “Comparasion of *Toxoplasma gondii* oocysts counting by Mini FLOTAC and Kovalslide”
 - **R.Blaga**, C.Perret Duménil, D.Aubert, T.Ducry R.Geers, M.Thomas, V.Djokic, I.Villena, P.Boireau “*Toxoplasma gondii* contamination of imported horse meat “
18. **National Congress of the French Society of Parasitology, 21-23 May, 2014, Reims, France.** V.Djokic, C.Perret Duménil, D.Aubert, R.Geers, T.Ducry, B.Durand, P.Boireau, I.Villena, **R.Blaga** « EVALUATION DE LA PREVALENCE DE *TOXOPASMA GONDII* DANS LES VIANDES PORCINES PRODUITES EN FRANCE : PLAN DE SURVEILLANCE 2013 »
 19. **11th International Coccidiosis Conference, 26-30 September 2014, Dresden, Germany** V.Djokic, C.Perret Duménil, D.Aubert, R.Geers, T.Ducry, B.Durand, P.Boireau, I.Villena, **R.Blaga** “*Toxoplasma gondii* infection in pig population of France”
 20. **CYSTINET WG/MC meeting, 12-13 May, 2015, Rome, Italy R. Blaga**, C. Cretu, T. Banu, C. Costache, C. Nemet, R. Bahnea, P. Mihailescu and C. Gherman “Investigation of *Taenia saginata* and *Taenia solium* presence in Romania”
 21. **3rd International meeting Apicomplexa in farm Animals, 30 June – 3 July 2015, Edinburgh, UK,**
 - G. Schares, M. Opsteegh, M. Maas, M. Georgiev, G. Limon, J. Guitian, P. Maksimov, F.J. Conraths, D. Aubert, A. Balea, B. Bangoura, **R. Blaga**, A. Burrells, V. Djokic, O. Djurkovic-Djakovic, I. Klun, F. Katzer, A. Györke, E. Pozio, F. Spano, I. Villena, J. van der Giessen “Results of an extended literature review - The relationship between on farm risk factors and *Toxoplasma gondii* infection in farm animals”
 - M. Opsteegh, M. Maas, G. Schares, D. Aubert, B. Bangoura, **R. Blaga**, A. Burrells, F.J. Conraths, V. Djokic, O. Djurkovic-Djakovic, S. van den End, M. Georgiev, J. Guitian, A. Györke, I. Klun, F. Katzer, G. Limon, E. Pozio, F. Spano, I. Villena, J. van der Giessen “Anatomical distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts and correlation between direct and indirect detection methods in the main livestock species.”
 - V.Djokic, G. Limon, D.Aubert, C.Perret Duménil, R.Geers, T.Ducry, B.Durand, P.Boireau, I.Villena, J. Guitian, M. Georgiev, J.Dominguez, J. van der Giessen, **R.Blaga** “*Toxoplasma gondii* infection in pigs: correlation between direct and indirect detection methods and on farm risk factors”
 22. **XIVth International Conference on Trichinellosis, 14th-18th September, 2015 Berlin, Germany.** **R.Blaga**, C.Gherman, B.Durand, P.Boireau and C.Cretu “Romania and trichinellosis: a never ending story”
 23. **EURO-Food Borne Parasites WG/MC meeting, 26-27 October, 2015, Zagreb, Croatia** I. Vallée, **R. Blaga**, F. Boué, M. Gay, B. Polack, G. Umhang, H. Yera “Current status of France regarding foodborne zoonotic parasites”
 24. **XXIX Congress SolPa (Italian Society of Parasitology) and EVPC (European Veterinary Parasitology College) Conference, 21-24 June 2016 Bari, Italy** W. Basso, X. Sidler, M. Ruetten, V. Djokic, R. Blaga and P. Deplazes “Experimental *Toxoplasma gondii* infections in pigs and vertical transmission”
 25. **XIIth European Multicollouquium of Parasitology 20-24 July, 2016, Turku, Finland**
 - **R.Blaga**, V.Djokic, D.Aubert, D. Le Roux, C.Perret Duménil, R.Geers, T.Ducry, B.Durand, I.Villena, P.Boireau, J. van der Giessen “Relationship between direct and indirect detection methods of *Toxoplasma gondii* in naturally infected pigs”
 - V.Djokic, C.Fablet, **R.Blaga**, N.Rose, C.Perret, O.Djurkovic-Djakovic, P.Boireau and B.Durand “An exploratory study of factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in 60 confined farrow-to-finish pig herds in Western France”
 26. **Joint EURO-Food Borne Parasites and CYSTINET Meeting, 26-28 September, 2016, Ljubljana, Slovenia** J. van der Giessen, G. Schares, **R. Blaga** and M. Opsteegh on behalf of the EFSA consortium “*Toxoplasma gondii* in the main livestock species in Europe”

27. **Congres comun de la Société française de Parasitologie et la Société française de mycologie médicale, 29-31.03.2017, R. Blaga**, D. Aubert, A. Thébault, C.Perret, R. Geers, M.Thomas, A. Alliot, V. Djokic, T. Ducry, N. Ortis, L. Halos, B. Durand, C. Danan, I. Villena, P. Boireau « Étude de la contamination par *Toxoplasma gondii* des viandes ovines, bovines et porcines – résultats des plans de surveillance pour les années 2007, 2009 et 2013 »
28. **XVth International Conference on Trichinellosis, 26th-30th August, 2019 Clu-Napoca,Romania. R.Blaga**, C.Gherman, B.Durand, P.Boireau and C.Cretu “A historical perspective of trichinellosis in Romania : the beginning of the end ?”

Communications affichées

XIth International Congress of Parasitology, 6-11 august 2006 Glasgow, UK

1. **R.Blaga**, B.Durand, V.Coзма and P.Boireau: “The emergence of trichinellosis in Romania: a history of food habits”
2. **R.Blaga**, B.Durand, S.Antoniou, A.Stoichici, C.Gherman, N.Stefan, V.Coзма and P.Boireau “Trichinellosis and *Trichinella* infection in wildlife and domestic animals in Romania”
3. P. Boireau, P. Macé, C. Lelong , I. Vallée, **R. Blaga**, M. Varady , P. Dubinsky , O. Huin : “Automation of the reading and recognition of *Trichinella* sp after digestion test”
4. Bahuon C, **Blaga R**, Glemarec A, Vallee I, Deville S, Le Rhun D, Le Guerhier F, Noeckler K, Serrano F, Boireau P : “ Evaluation of a 24kDa Glutathione S-Transferase (GST24) of *Trichinella spiralis* for diagnosis, vaccine development and characterisation”

XXIst International Conference World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 19-23 August 2007, Gent, Belgium,

1. **Blaga R.**, Durand B., Stoichici A., Antoniu S., Gherman C., Stefan N., Cozma V., **Boireau P.** Heterogeneity of human trichinellosis and animal *Trichinella* infection in Romania: a geographical paradox due to ancestral food habits and political changes. Poster Session I group 4 « Miscellaneous », N°364. Proceedings p314 and Power Point presentation slides.
2. **Blaga R.**, Gherman C., Cozma, **Glemarec A**, Pozio E, **Boireau P.** Molecular identification of *Trichinella* species circulating among wild and domestic animals in Romania. Poster Session I group 4 « Miscellaneous », N°365. Proceedings p314 and Power Point presentation slides.
3. Bahuon Céline, **Blaga Radu**, Fu BaoQuan, Lorena Chiumiento, Liu MingYuan, Le Rhun Danielle, Glemarec Audrey, Boireau Pascal. **Isolation, biochemical analysis and localization of a 24kDa Glutathione S-Transferase from *Trichinella*.** Poster Session I group 4 « Miscellaneous », N°366. Proceedings p315 and Power Point presentation slides.
4. Fu Baoquan, Li Wenhui, Li Hang, Li Yongguang, Gai Wenyan, Gou Huitian, Wang Yanhua, Zhang Deling, Dou Lanqing, Liu MingYuan, **Blaga Radu**, Boireau Pascal. Species identification of *Trichinella* isolates from China. Poster Session I group 4 « Miscellaneous », N°367. Proceedings p315.
5. **Blaga Radu**, Carmen M. Cretu, Calin Gherman, Edoardo Pozio, Karsten Nöeckler, Christian M.O. Kapel, Vasile Cozma, Pascal Boireau. *Trichinella* sp. infection in horses of Romania: serological survey and parasitological examination. Poster Session II group 11 « Helminth infections of horses », N°506. Proceedings p385 and Power Point presentation slides.

XIIth International Conference on Trichinellosis, 25th-30th September, 2007, Plitvice Lakes, Croatia,

1. **Radu Blaga**, Benoit Durand, Silvia Antoniu, Calin Gherman, Carmen M. Cretu, Vasile Cozma and Pascal Boireau “A dramatic increase in the incidence of human trichinellosis in Romania over the past 25 years”
2. **R.Blaga**, B.Durand, V.Cozman and P.Boireau: “The emergence of trichinellosis in Romania: a history of food habits”

National Conference of Parasitology, 8-10 November, 2007, Constanta, Romania

1. Radu Blaga, Calin Gherman, Vasile Cozma, Audrey Glemarec, Edoardo Pozio, Pascal Boireau :
"Molecular identification of *Trichinella* species of Romania"

Xth European Multicolloquium of Parasitology 23-29 August 2008, Paris, France

1. R. Blaga, A. Gudea, M. Cote, C. Stei, V. Cozma and P. Boireau "Muscle distribution of domestic *Trichinella* larvae in natural infected pigs"

XIth International Congress Of Parasitology, 15-20 August 2010, Melbourne, Australia,

1. **R. Blaga**, L. Ilut, B. Iftimia, Z. Coroiu, M. Moisescu-Goia, P. Boireau, B. Rosenthal "Impact on Rural Public Health of *Trichinella* derived from poorly managed swine farms"
2. **R. Blaga**, L. Ilut, B. Fu, M. Liu, P. Boireau, B. Rosenthal "Use of Nuclear Microsatellites in Genetic Variability Assessment of *Trichinella* Isolates"

IVth International Congress on Congenital Toxoplasmosis, 28-30 Octobre, 2010, Marseille, France,

1. **R. Blaga**, C. Perret, D. Aubert, M. Thomas, A. Alliot, R. Geers, A. Thebault, P. Boireau, I. Villena "Toxoplasma gondii infection in bovine population of France"
2. M. Thomas, **R. Blaga**, E. Dupuis, R. Geers, A. Alliot, I. Villena, D. Aubert "Toxoplasma gondii distribution in tissues of naturally and experimentally infected lambs"

XXIIIrd International Conference World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 19-23 August 2011, Buenos-Aires, Argentina,

1. L. Halos, **R. Blaga**, C. Perret, D. Aubert, M. Thomas, A. Alliot, R. Geers, A. Thebault, J. Guillot, P. Boireau, I. Villena "Toxoplasma gondii infection in bovine meat consumed in France"
2. M. Thomas, **R. Blaga**, E. Dupuis, R. Geers, A. Alliot, J. Guillot, I. Villena, D. Aubert "Toxoplasma gondii distribution in tissues of naturally and experimentally infected lambs in France"

IV International Giardia and Cryptosporidium Conference, 31 January – 3 February 2012 Wellington, New Zealand,

1. Bermúdez-Cruz R, Thomas M, Alliot A, Sandoval-Cabrera A, Bahuon C, Polack B, Boireau P, **Blaga R**, Guillot J, Sprong H and Ortega-Pierres G. "Giardia mixed infections in dogs from kennels and veterinarian clinics in France"

61st International conference of the WDA and the 10th biennial conference of the EWDA 22-27 July 2012, Lyon, France,

- C. Richomme, A. Kodjo, C. Perret, **R. Blaga**, N. Madani, JM Boucher, G. Umhang, G. Guedon and F. Boué "Aquatic rodents: which zoonotic threat?"

XIth European Multicolloquium of Parasitology 25-29 July, 2012, Cluj-Napoca, Romania,

1. M. Rakotoharinome, H. Andriamanivo, **R. Blaga**, C. Perret, S.A. Lacour, A. Grasset-Chevillot, P. Mace, M. Thomas, I. Villena, D. Aubert, P. Boireau and V. Porphyre "Toxoplasmosis and trichinellosis: an epidemiological survey of pig population in Madagascar"
2. **BLAGA R.**, MEDIANNIKOV O., PERRET C., THOMAS M., DEMONCHEAUX J.-P., TINE R., DIARRA M., SCANDOLA P., VALLEE I., GUILLOT J., VILLENA I., AUBERT D. and DAVOUST B. "Serological survey of animal toxoplasmosis in Dakar and in Sine-Saloum (Senegal) "
3. M.V. Galat, N.M. Soroka, V.F. Galat, T.O. Subotenko and **R. Blaga** " Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs in Ukraine"

National Congress of the French Society of Parasitology, 15-17 May, 2013, Dijon, France.

1. **BLAGA R.**, DJOKIC V., MEDIANNIKOV O., PERRET C., DUCRY T., DEMONCHEAUX J.-P., TINE R., DIARRA M., SCANDOLA P., VILLENA I., AUBERT D. and DAVOUST B. "Serological survey of canine neosporosis in France and Senegal"

Joint ISP BAVP EVPC Conference, 12-13th June 2014, Dublin, Ireland

4. **R. Blaga**, D. Aubert, C. Perret, R. Geers, M. Thomas, V. Djokic, T. Ducry, A. Alliot, L. Halos, A. Thebault, B. Durand, P. Boireau, I. Villena "National surveys of *Toxoplasma gondii* infection in sheep, bovine and pigs of France"

XIIIth International Congress Of Parasitology, 10-15 August, Mexico City, Mexico

1. **R. Blaga**, C. Perret, V. Djokic, P. Macé, S. Melnichuk, M. Galat "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pigs on the territory of Ukraine"

National Congress of the French Society of Parasitology, 21-23 May, 2014, Reims, France.

R. Blaga, C. Perret Duménil, D. Aubert, T. Ducry, R. Geers, M. Thomas, I. Villena P. Boireau « ETUDE DU PORTAGE DE *TOXOPLASMA GONDII* DANS LES VIANDES D'ORIGINE CHEVALINE IMPORTEES EN France »

3rd International meeting Apicomplexa in farm Animals, 30 June – 3 July 2015, Edinburgh, UK,

1. O. Djurković-Djaković, V. Djokić, I. Klun, C. Perret Duménil, D. Aubert, I. Rajnpreht, A. Uzelac, M. Fresnel, M. Opsteegh, P. Boireau, J. van der Giessen, I. Villena, **R. Blaga** "*Toxoplasma gondii* infection in horses: correlation between serological status and parasitological findings in meat"

Fifth European Dirofilaria and Angiostrongylus Days (FIEDAD), 11-13 July 2016, Wien, Austria

1. **R. Blaga**, V. Daniel-Lesnard, B. Polack, S. Beurlet, C. Martin, J. Guillot "A skin nodule due to *Dirofilaria repens* in a Tosa dog in Ile de France"
2. B. Bedel, **R. Blaga**, V. Gouni, V. Chetboul, G. Benchekroun, S. Blot, P. Verwaerde, B. Polack "A ten-year retrospective study of angiostrongylosis at Alfort Veterinary School, Ile de France"

XXVIth International Conference World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 04-08 September 2017, Kuala Lumpur, Malaysia

1. **Blaga R.**, Daniel-Lesnard, V., Beurlet, S., Labat, A., Martin, C., Guillot, J., Polack, B., 2017. Dynamics of the survival of *Dirofilaria repens* microfilariae in a dog in Ile-de-France.

4th International meeting Apicomplexa in farm Animals, 11-14 October 2017, Madrid, Spain

1. Lagrée, A., Hassani, S., Dabin, W., Popescu-Mirceni, R., Djokic, V., Thomas, M., Dhermain, F., **Blaga, R.**, *Toxoplasma gondii* infections in stranded marine mammals in France and Romania.
2. Le Roux, D., Djokic, V., Morisse, S., Voisin, D., Chauvin, C., Doré, V., Lagrée, A., Grasset-Chevillot, A., Boursin, F., Perrot, S., Vallée, I., Seche, E., **Blaga, R.**, Immune response induced by the Mic1-3 Knockout *Toxoplasma gondii* vaccine strain in the parasite definitive feline host

22nd Annual Conference of European Society of Domestic Animal, 27-29 September 2018, Cordoba, Spain

1. T. Fais, N. Giadinis, E. Papadopoulos, **R. Blaga**, G. Brellou, A. Theodoridis, D. Bitchava, A. Ntemka, D. Le Roux, V. Djokic and I. Tsakmakidis Effect of *Toxoplasma gondii* on ram semen fertilizing capacity after experimental infection

5th International meeting Apicomplexa in farm Animals, 2-4 October 2019, Berlin, Germany

1. Le Roux D., Djokic V., Morisse S., Voisin D., Chauvin C., Dore V., Lagrée A.C., Grasset-Chevillot A., Boursin F., Perrot S., Vallée I., Sèche E. and **Blaga R.** - Immune response induced by the Mic1-3 Knockout *Toxoplasma gondii* vaccine strain in the parasite definitive feline host.

The One Health EJP Annual Scientific Meeting, 27-29 May 2020, Prague, Czech Republic

1. Dámek, F., Fremaux, B., Aubert, D., Opsteegh, M., Vuillermet, S., Jokelainen, P., van der Giessen, J., Boireau, P., Villena, I., **Blaga, R.** - Tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: from pork carcass to sausage and dry ham, a quantitative risk assessment.

The One Health EJP Annual Scientific Meeting, 9-11 June 2021, Copenhagen, Denmark

1. Dámek, F., Fremaux, B., Aubert, D., Opsteegh, M., Thoumire, S., Vuillermet, S., Jokelainen, P., van der Giessen, J., Boireau, P., Villena, I., **Blaga, R.** - Tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: from pork carcass to dry sausage.
2. Dámek, F., Waap, H., Opsteegh, M., Jokelainen, P., Le Roux, D., Deksné, G., Deng, H., Schares, G., Swart, A., Lundén, A., Álvarez-García, G., Betson, M., Davidson, R., Györke, A., Stokman, S., Antolová, D., Hurníková, Z., Wisselink, H.J., Sroka, J., Klevar, S., van Spronsen, R., **Blaga, R.** – *Toxoplasma gondii* prevalence in animals in Europe: systematic review

28th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 19-22 July 2021, Dublin, Ireland

1. Dámek, F., Fremaux, B., Aubert, D., Opsteegh, M., Thoumire, S., Vuillermet, S., Jokelainen, P., van der Giessen, J., Boireau, P., Villena, I., **Blaga, R.** - Tropism and persistence of *Toxoplasma gondii*: from pork carcass to dry sausage.
2. Dámek, F., Waap, H., Opsteegh, M., Jokelainen, P., Le Roux, D., Deksné, G., Deng, H., Schares, G., Swart, A., Lundén, A., Álvarez-García, G., Betson, M., Davidson, R., Györke, A., Stokman, S., Antolová, D., Hurníková, Z., Wisselink, H.J., Sroka, J., Klevar, S., van Spronsen, R., **Blaga, R.** – *Toxoplasma gondii* prevalence in animals in Europe: systematic review

1.8. Activités d'enseignement

Enseignement au sein de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Mon unité de rattachement, « Parasitologie, Mycologie, Maladies Parasitaires et Fongiques », comprend 4 enseignants-chercheurs (1 Professeur + 3 Maîtres de Conférences). Elle appartient au Département de Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP), moi-même étant rattaché au Département des Productions Animales et Santé Publique (DPASP).

Depuis mon arrivé au sein de l'unité de rattachement, 2^{ème} semestre de l'année universitaire 2009/2010, j'ai participé à l'enseignement pratique et dirigé des diverses unités d'enseignement (UE) qui font appel à la « Parasitologie », soit en formation sous l'encadrement de mes collaborateurs enseignants-chercheurs, soit en autonomie. J'ai participé à la réalisation du quart de la charge d'enseignement, avec chaque année, une rotation des cours enseignés avec les autres enseignants du Service de Parasitologie-Mycologie. L'ensemble de la discipline est ainsi traité par chaque enseignant. Ainsi, j'ai été responsable de l'Unité d'Enseignement de « Biologie Parasitaire » (S5), au cours de l'année 2010/2011, de l'Unité d'Enseignement « Protozoologie » (S8), au cours de l'année 2011/2012, de l'Unité d'Enseignement « Helminthologie » (S10), au cours de l'année 2012/2013, de l'Unité d'Enseignement « Acarologie-Entomologie-Mycologie » (S8), au cours de l'année 2013/2014 et ainsi de suite jusqu'à présent. Dans ce cadre, j'ai réalisé les cours magistraux, participé aux séances de TD/TP et assuré l'élaboration, la surveillance et la correction des examens. J'ai participé à plusieurs demies journées (4 matinées/semestre) de clinique de Pathologie du bétail (pour les étudiants de 4^{ème} année), en co-encadrement avec les collaborateurs de l'Unité de Pathologie médicale du Bétail. Ce travail correspond la mise en place d'une activité de clinique de parasitologie « grands animaux ». Dans le

cadre de mon implication dans le Département des Productions Animales et Santé Publique (DPASP), et plus particulièrement dans le cadre de l'Optionnel pour les étudiants de 5^{ème} année : Semaine Bovins Viande Extensifs (responsable B.Grimard), j'ai participé à des visites d'élevages chaque année (3 jours). Ces activités sont en lien avec le Centre d'application de l'ENVA à Champignelles (Yonne) et portent sur la Gestion du parasitisme en élevage de brouillards, accompagné de démonstrations pratiques des coproscopies.

Enseignement en dehors de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Enseignement universitaire non-vétérinaire

A partir de l'année 2010/2011 et pour 3 ans, j'ai participé à l'enseignement théorique de Master de niveau M1 (MS BIO 807 Agents infectieux et non-conventionnels) de l'UE de Sciences de l'Université de Versailles Saint Quentin (responsables F. Misguich et D. Sitterlin). J'ai réalisé un cours intitulé « Parasitoses et mycoses des animaux de rente : importances économique et sanitaire » (2h).

Depuis l'année universitaire 2012/2013, je suis impliqué dans l'enseignement théorique de Master niveau M2 « Master 2 Recherche Agents Infectieux : Interactions Avec Leurs Hôtes Et L'environnement (A2i) » de l'Université de Versailles Saint Quentin. J'ai réalisé un cours intitulé « Circulation de *Toxoplasma gondii* dans les populations animales ».

Enseignement post-universitaire non-vétérinaire

Depuis l'année universitaire 2010/2011, j'organise et participe à l'enseignement théorique et pratique de Parasitologie au Centre de Réadaptation Professionnel de Beauvoir (Évry), filière « Techniciens de laboratoire ». Préparation et animation de 12 h de cours et 16 h de TD pour des stagiaires (n=20) en réadaptation professionnelle ; Matières enseignées : Biologie parasitaire, Acaro-entomologie, Protozoologie, Helminthologie et Santé publique vétérinaire.

1.9. Autres activités et responsabilités scientifiques et administratives

1.9.1. Activités d'expertise

- Depuis avril 2021 : expert de la part de l'ANSES sur *Toxoplasma gondii* dans le consortium **ANSES-ISS-IZSvE** mandaté par l'**EFSA** pour l'écriture du rapport annuel sur les agents zoonotiques
- Depuis juin 2018 : vice-président du **comité d'éthique en recherche clinique (Comerc)** de l'ENVA. En tant qu'expert, j'évalue des saisines de projets de recherche, rend des rapports, en assistant à une réunion mensuelle.
- 2016 : ANSES, **Groupe de travail** : « Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire » : intervention en tant que représentant du LNR Parasites zoonotiques transmis par les aliments (thématique *Toxoplasma*), 14 octobre 2016, Maisons-Alfort, France
- 2016 : **Commission Nationale de l'Expérimentation Animale (CNEA)** : intervention en tant qu'expert sur la toxoplasmose, 18 Mai 2016, Paris, France
- 2012 : **EFSA, Working Group "Meat Inspection in Bovines"** Oral presentation + discussion "Toxoplasma detection in food : the French experience with ovine and bovine meat", 4th December 2012, Parma, Italy

- Depuis 2008 : Expert invité du module **TRICHINET** du réseau d'excellence en santé animale MED-VET-NET financé au titre de la priorité thématique « Qualité et sûreté alimentaire » du sixième programme-cadre européen (6^{ème} PCRD)

1.9.2. Organisation de congrès ou de réunions de travail

- La réunion bi-annuelle du « Cost action 833 : Mange and myiasis in Livestock », Cluj-Napoca, Roumanie 2-3 septembre 1999.
- Le symposium « Nematode Parasites Symposium : genetic diversity, virulence genes, diagnosis and control method » 26 Novembre, 2004, Maisons-Alfort, France
- La 12^{ème} Conférence Internationale de la Trichinellose, 25-30 Septembre 2007, National Park Plitvice Lakes, Croatia
- La 17^{ème} Conférence Nationale de Parasitologie avec participation Internationale de l'Association Roumaine de Parasitologie, 5-8 Novembre, 2008, Cluj-Napoca, Romania
- La réunion de travail des deux équipes dans le cadre du projet bilatéral Roumanie-France « Enquête comparative de la prévalence de *Toxoplasma gondii* dans la viande ovine en France et en Roumanie », 15-16 Septembre 2009
- La réunion de travail des deux équipes dans le cadre du projet bilatéral Roumanie-Chine « Le typage moléculaire et la variation génétique de *Trichinella* spp.», 26-27 Octobre 2009
- La 13^{ème} Conférence Internationale de la Trichinellose, 1-6 Août 2011, Changchun, RP Chine
- Le 11^{ème} Multicolloque Européen de Parasitologie, 25-29 Juillet, 2012 Cluj-Napoca, Roumanie
- La 15^{ème} Conférence Internationale de la Trichinellose, 26-30 août, 2019, Cluj-Napoca, Roumanie

1.9.3. Responsabilités

- Depuis juin 2018 : vice-président du **comité d'éthique en recherche clinique (Comerc)** de l'ENVA.
- Depuis octobre 2013 : membre élu au **conseil scientifique de l'ENVA**, comme membre titulaire (2013-2017) puis membre suppléant (2017-2021)
- Depuis mai 2012 : membre élu au **conseil des enseignants de l'ENVA** avec comme suppléante Dr. Eve LALOY.

1.9.4. Jury

- Depuis 2018 : membre du jury du **Diplôme Inter-Ecole de « Phytothérapie »** et co-organisateur avec Dr. Sebastien PERROT de cette formation à l'ENVA en 2020.
- Novembre 2017 : membre du jury de **thèse universitaire** de Mr Djamel TAHIR « Moustiques et dirofilariose : mise au point et utilisation d'outils innovants pour la détection et la surveillance », Ecole doctorale Sciences de la vie et de la santé, Université d'Aix-Marseille

2. Avant-propos

"Where there's a will, there's a way"

Albert EINSTEIN, Handwritten note, Imperial Hotel Tokyo, 1922

Au cours de ma scolarité à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Cluj-Napoca, Roumanie et plus tard à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, j'ai très vite décidé d'orienter mon parcours professionnel vers l'enseignement et la recherche dans une école vétérinaire. La perspective d'une grande diversité d'activités et la possibilité de collaborer avec d'autres acteurs de la Santé animale ou publique ont été les principales motivations de ce choix. La Parasitologie est une discipline qui me passionne depuis le début de mes études vétérinaires, une discipline associant santé publique à l'alimentation, zoonoses aux maladies émergentes ou productions animales. C'est pour cette raison que mon sujet de thèse de doctorat vétérinaire a porté sur une maladie parasitaire, tout comme mon DEA, ma thèse universitaire et mon post-doctorat. Mes activités de recherche m'ont conduit à m'intéresser aux problématiques liées à l'émergence de maladies parasitaires zoonotiques transmis par les aliments en développant une approche une seule Santé, soit sur *Trichinella* spp. en Roumanie soit sur *Toxoplasma gondii* en France et Europe. Ces activités m'ont permis d'acquérir la maîtrise de techniques innovantes en biologie, de prendre part activement à la mise en œuvre de programmes de surveillance en matière de santé animale, avec une répercussion immédiate dans le secteur de la production animale et de la Santé publique.

Le présent mémoire, rédigé en vue de l'obtention l'habilitation à diriger des recherches et soumis à l'analyse du jury se veut être une copie fidèle des activités de recherches menées pendant ma carrière professionnelle. Après avoir introduit le contexte général des recherches dans le domaine des parasites transmis par les aliments et le concept d'une seule Santé (One Health), approche que j'ai initiée depuis le début de ma thèse universitaire et me conforte pleinement dans mes choix scientifiques, je vais exposer certains résultats de mes recherches. Ces dernières s'articulent autour de deux axes thématiques que j'ai développés. Ayant débuté par l'étude de la **variabilité génétique et spatio-temporelle au sein du genre *Trichinella*** dans le cadre de ma thèse d'université, je développerai cet axe en premier. Dans un second temps, j'exposerai le deuxième axe, visant à étudier la **prévalence de la toxoplasmose animale en France**, que je développe actuellement de par mon activité d'enseignant-chercheur à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, et membre de l'équipe Paralim de l'UMR BIPAR. Les résultats du premier et deuxième axe seront illustrés par les articles publiés au cours de mes années de recherche.

3. Contexte général des recherches sur les parasites zoonotiques transmis par les aliments et l'approche une seule santé (One Health)

Les zoonoses sont définies comme des maladies infectieuses qui peuvent être transmises naturellement entre l'Homme et les animaux vertébrés (sauvages ou domestiques) et inversement (OMS, 1956). Bien que la gravité des zoonoses varie, leur impact global est indiscutable. La Banque mondiale estime que seulement six épidémies de zoonoses survenues entre 1997 et 2009 ont entraîné une perte économique mondiale de 80 milliards de dollars (Gebreyes et al., 2014). Ce coût élevé est dû aux frais médicaux, à la perte de productivité individuelle et aux restrictions des échanges et des déplacements pendant les épidémies. Malgré les améliorations apportées à la gestion et au traitement des zoonoses, les maladies causées par les agents zoonotiques continuent d'être signalées dans le monde. Dans une revue de littérature, Cleaveland et al. (2001) ont recensé 1 415 espèces d'agents infectieux connus comme étant pathogènes pour l'homme, dont 217 virus et prions, 538 bactéries et rickettsies, 307 champignons, 66 protozoaires et 287 helminthes. Parmi ceux-ci, 868 (61%) ont été classés comme étant zoonotiques et 175 espèces pathogènes ont été considérées comme étant associées à des maladies émergentes. Parmi ce groupe de 175 pathogènes émergents, 45 (26%) étaient d'origine parasitaire. Au sein de ce groupe, les maladies causées par des parasites d'origine alimentaire sont souvent qualifiées de maladies négligées et, du point de vue de la sécurité alimentaire, les parasites n'ont pas reçu le même niveau d'attention que d'autres dangers telles que les dangers biologiques et chimiques d'origine alimentaire. Néanmoins, ils sont à l'origine d'une morbidité élevée chez l'homme. Les infections peuvent avoir une évolution chronique, grave et parfois fatale, et entraîner des difficultés considérables en termes de sécurité alimentaire ou un impact négatif sur la qualité de vie. Par exemple le Groupe de référence en épidémiologie des maladies d'origine alimentaire (FERG) de l'OMS a évalué la charge mondiale de la trématodose humaine d'origine alimentaire avec des données pour l'année 2005 et a estimé que 56,2 millions de personnes ont été infectées par des trématodes d'origine alimentaire ; 7,8 millions avec des séquelles graves et 7 158 décès dans le monde (Fürst et al., 2012).

3.1. Parasites zoonotiques transmis par les aliments : *Trichinella* spp. et *Toxoplasma gondii*

Les parasites d'origine alimentaire peuvent être transmis par l'ingestion d'aliments frais ou transformés qui ont été contaminés par les stades de transmission (spores, kystes, oocystes, stades

larvaires et enkystés) via l'environnement, les animaux (souvent à partir de leurs fèces) ou les personnes (souvent en raison d'une hygiène insuffisante). Les parasites d'origine alimentaire peuvent également être transmis par la consommation de viande et d'abats crus, mal cuits ou mal traités provenant d'animaux domestiques, de gibier sauvage et de poissons contenant des stades tissulaires infectieux (Slifko et al., 2000). Bien que le parasite ne se réplique pas en dehors d'un hôte vivant, les techniques de transformation alimentaire couramment utilisées peuvent amplifier artificiellement la quantité d'aliments contaminés qui parvient au consommateur, augmentant ainsi le nombre de cas humains (par exemple, saucisses fabriquées à partir de viandes d'origine différente).

La viande est un terme générique pour désigner le tissu musculaire des animaux de rente (bovin, porcin, ovin etc) et par extension celui du gibier. Le terme chair est réservé à l'ensemble de la musculature des poissons, crustacés et par extension des reptiles ou batraciens. Il existe deux types de parasites transmis par ingestion de tissu musculaire : les protozoaires et les helminthes. Ces parasitoses ont toutes, comme point commun, le lien direct entre une habitude alimentaire particulière (la consommation de la musculature /chair crue ou peu cuite) et sont responsables d'anadémies souvent circonscrites géographiquement. Les procédés de conservation de viande sous vide, la découpe des viandes peut cependant complexifier cette vision et entraîne l'existence de cas multicentriques ayant cependant une même origine. La prophylaxie de ces parasitoses conduit à « éduquer » et informer le consommateur des risques générés dans une région géographique donnée par la consommation de viande ou chair de poisson peu cuites. Ces mesures étant insuffisantes, un dépistage systématique à l'abattoir ou des procédures de sauvegarde comme la congélation doivent être appliquées.

Récemment, un comité, conjoint d'experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a réalisé un classement multi-critériées des parasites transmis par les aliments avec comme objectif de classer les parasites au niveau mondial et en fonction de leur impact sur le commerce international et leur impact socio-économique (figure 1) (FAO/WHO, 2014). Les critères, pris en compte pour cette classification, ont été (a) le nombre de cas de maladies d'origine alimentaire dans le monde (clinique) (b) la répartition mondiale (nombre de régions) (c) la gravité de la morbidité aiguë (d) la gravité de la morbidité chronique (e) la fraction de la maladie qui est chronique (%) (f) le ratio de létalité (%) (g) la probabilité d'une contamination humaine augmentée (%) (h) la pertinence de ce parasite/aliment pour le commerce international (i) l'ampleur de l'impact sur les communautés économiquement vulnérables (j) la qualité des preuves disponibles pour ce parasite.

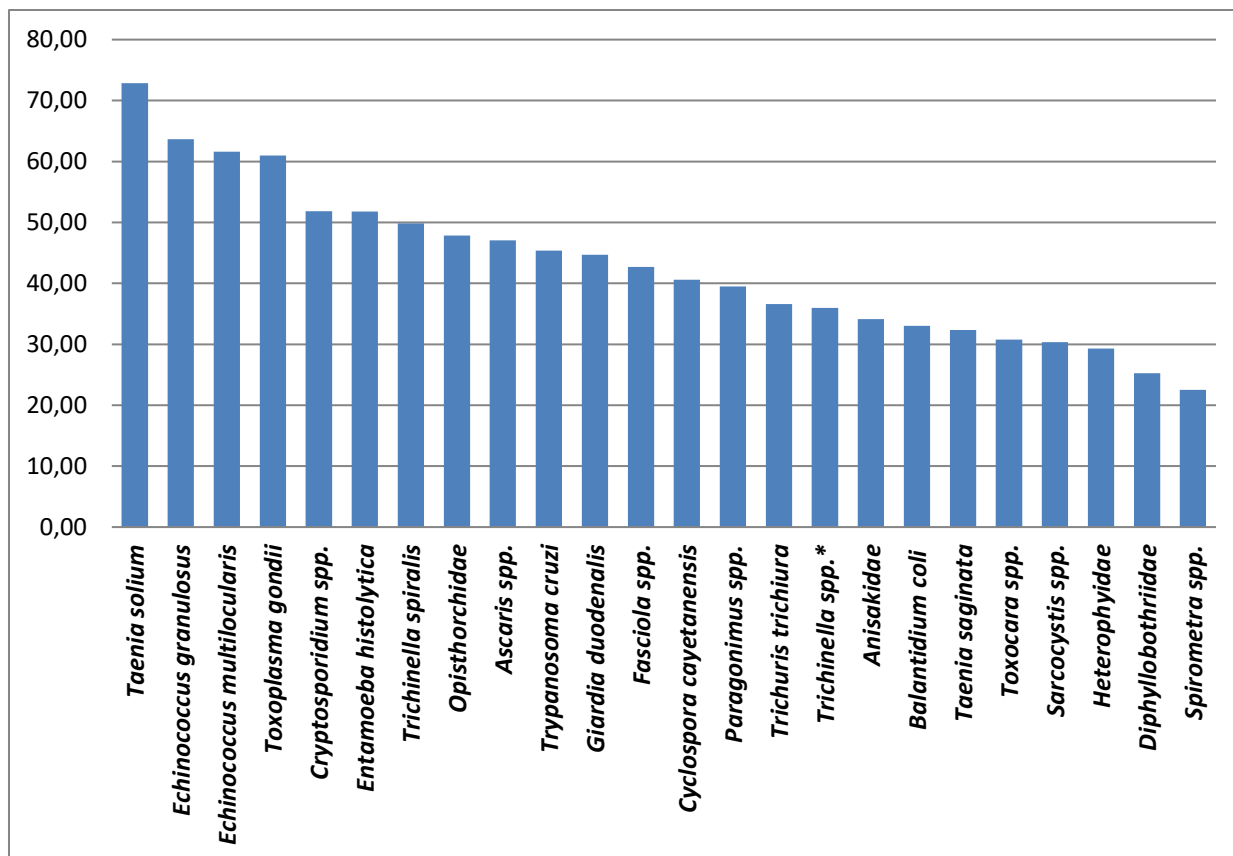


Figure 1 : Classement mondial des parasites d'origine alimentaire, réalisé à l'aide d'une analyse multi-critériée permettant d'évaluer les parasites et pondérer les scores des parasites en fonction de l'importance relative des critères d'évaluation convenus par les experts (FAO/WHO, 2014).

Selon cette analyse, les deux parasites qui ont fait l'objet de mes recherches, *Toxoplasma gondii* et *Trichinella spp.*, occupent des places prioritaires, respectivement, les 4^{ème} et 7^{ème} places, au niveau mondial, selon les critères et la méthodologie pris en compte par les experts. De plus, dans une récente analyse réalisée à l'échelle européenne, avec les mêmes critères et méthodologie utilisés par les experts de FAO/WHO, *Toxoplasma gondii* et *Trichinella spp.*, occupent toujours des places prioritaires, respectivement, les 2^{ème} et 3^{ème} places (Bouwknegt et al., 2018). Toutes ces analyses et résultats, obtenus *à posteriori* par rapport au début de mon activité de recherche, me conforte aujourd'hui pleinement dans le choix de travailler sur ces deux parasites zoonotiques transmis par les aliments. Par la suite, je présenterai succinctement les maladies induites par ces deux parasites : la trichinellose et la toxoplasmose.

La trichinellose est une zoonose due à la consommation de viande crue ou peu cuite d'animaux (mammifères essentiellement) infestés par des larves encapsulées du nématode *Trichinella*. Cette zoonose est de répartition mondiale et est très directement liée à des habitudes culinaires et

alimentaires. La trichinellose humaine est une maladie régulièrement émergente/ré-émergente dans différentes parties du monde (Dupouy-Camet, 2000; Murrell and Pozio, 2000; Pozio, 2001) avec une estimation à 11 millions de personnes contaminées sur les différents continents (Dupouy-Camet, 2000).

Chez l'homme, la maladie présente des signes cliniques frustrés ou peu spécifiques en début d'infestation. Une entérite avec des douleurs intestinales plus ou moins intenses surviennent dans les 48 heures suivant la consommation de viande contaminée. Puis après une phase de décroissance des signes, un nouveau tableau clinique apparaît, caractérisé par le tryptique : myalgie, hyperthermie et œdème de la face. L'invasion du diaphragme et des muscles intercostaux peut entraîner une dyspnée. La phase de convalescence suit 5 à 6 semaines après l'infestation. On parle de trichinellose chronique pour décrire ces manifestations douloureuses après un délai de plusieurs mois après infestation. Concernant le parasite, *Trichinella* est un nématode parasite singulier puisque c'est le seul à être pluricellulaire et à avoir un développement intracellulaire strict chez l'animal, dans la cellule musculaire (Figure 2). *Trichinella* spp. infeste virtuellement tous les ordres des mammifères, étant, avec *Toxoplasma gondii*, les parasites les plus répandus sur la planète. Plus de 150 espèces de mammifères et d'oiseaux présents dans les zones climatiques les plus diverses entretiennent le cycle biologique. La très grande distribution géographique du parasite est en relation avec l'adaptation de certaines espèces à des conditions extrêmes (températures inférieures à -10°C pour *T. nativa* et températures supérieures à 40°C pour *T. nelsoni*) et à son absence de développement dans le milieu extérieur. Douze espèces/génotypes ont été décrits dans le genre *Trichinella* selon leur distribution géographique, leurs propriétés biologiques, leur morphologie et différents marqueurs génétiques. Les infections humaines sont principalement provoquées par *T. spiralis*, puis *T. nativa* et *T. britovi* (Capo and Despommier, 1996; Moorhead et al., 1999). Les porcs domestiques demeurent la principale source de transmission du parasite à l'homme au niveau mondial mais le véritable réservoir semble être représenté par les carnivores sauvages. La prévalence de la trichinellose porcine est très inégale d'un continent à un autre. La prévalence est particulièrement élevée en Europe de l'Est, en Asie, en Asie du Sud Est et au Mexique.

Le diagnostic clinique n'est possible que chez l'homme où un tableau clinique assez typique est observé pendant la seule phase d'état. Cependant les signes cliniques comme les myalgies et la fièvre sont assez proches de ceux induits par une grippe, une dermatomyosite ou certaines parasitoses comme la distomatose (Dupouy-Camet et al., 2002). Le diagnostic chez l'homme demeure délicat dans les régions à faible endémicité et requiert un interrogatoire précis du malade, des examens complémentaires et si possible le suivi d'anticorps spécifiques. La trichinellose animale est diagnostiquée par un test parasitologique direct (trichinoscopie ou digestion artificielle) et lors d'enquête épidémiologique par une sérologie (ELISA, IFI, Immunoempreinte) (Boireau et al., 1997;

Gamble, 1998; Perret et al., 1997). Les animaux infestés ne présentent pas de signe clinique ; seuls les examens de laboratoire pourront attester de l'infection par *Trichinella*. Les tests indirects ne sont pas validés actuellement pour la surveillance des animaux.

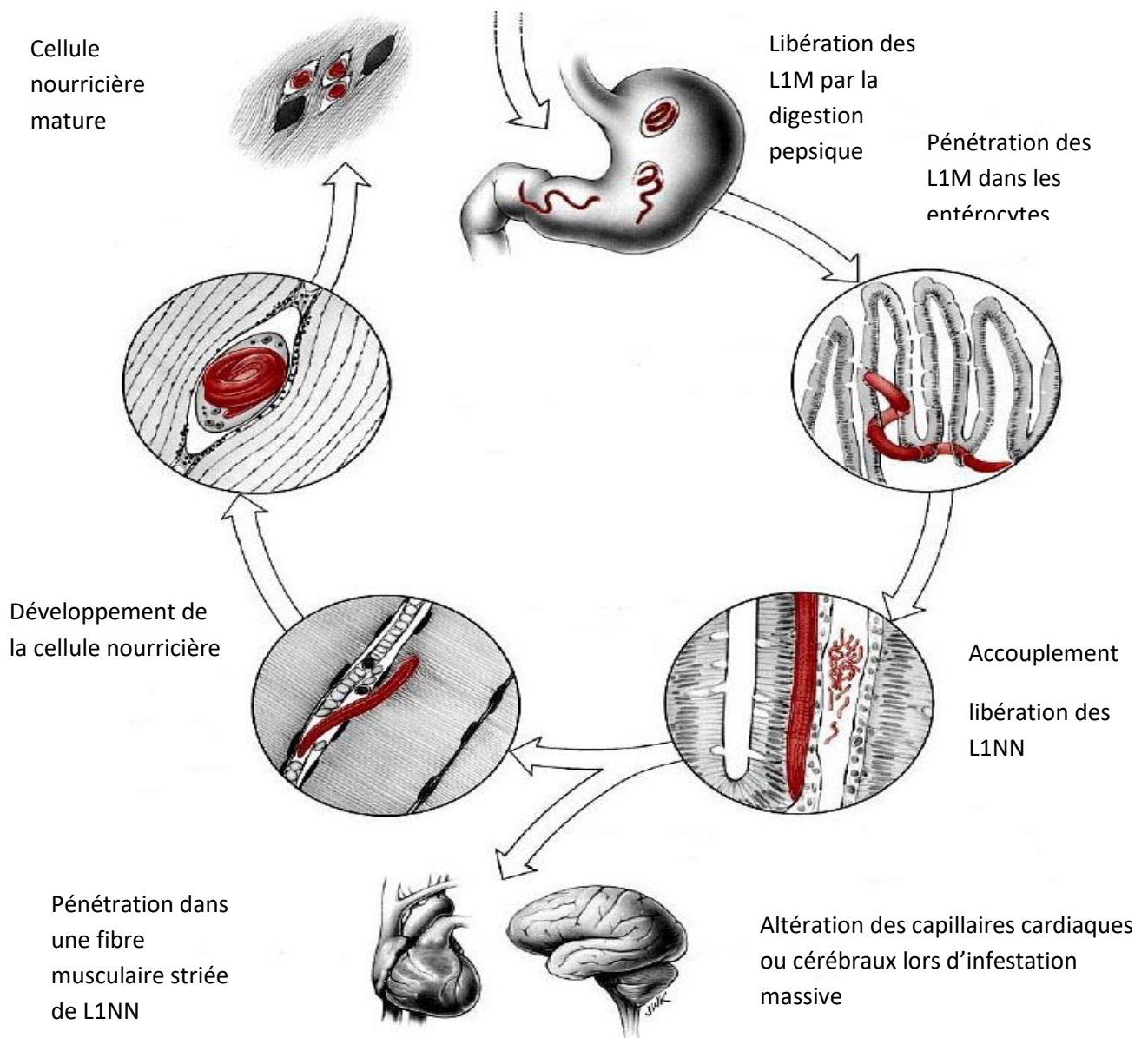


Figure 2: Cycle parasitaire de *Trichinella spiralis* (Despommier et al., 2000)

La trichinellose peut être évitée en faisant cuire à cœur la viande à 60°C pendant 1 minute et à 63°C quelques secondes. Cependant certains animaux sauvages comme les ours, les rats laveurs ont des substances musculaires prévenant la formation de cristaux lors de l'hibernation et assurent une plus grande survie des larves contenues dans un muscle lors de la congélation. Des études précises montrant la décroissance parasitaire suite à la congélation ont été faites chez le porc mais ne peuvent être extrapolées à d'autres espèces animales. Par ailleurs les espèces *T. nativa* et *T. britovi* présentent une plus grande résistance naturelle à la congélation. La salaison et le fumage inactivent *Trichinella* seulement si la teneur en eau libre est inférieure à 0,92% (Gamble et al., 2000). La cuisson par micro-ondes n'est pas efficace à 100% puisque dans les grandes pièces de viande, les points froids subsistent inévitablement (Capo and Despommier, 1996). L'irradiation est une méthode autorisée pour l'inactivation de *Trichinella*. Le procédé demeure coûteux et est peu accepté par les consommateurs européens actuellement. Le contrôle parasitologique à l'abattoir, par la méthode de digestion pepsique, est le seul test officiel existant actuellement. Il vise à prévenir la maladie clinique chez l'homme. La digestion en pool est la méthode reconnue en Europe aujourd'hui chez le porc, le cheval, les animaux de chasse.

La toxoplasmose est une infection largement distribuée à travers le monde, étant une des zoonoses parasitaires les plus fréquentes, puisqu'on considère qu'un tiers de la population humaine mondiale serait infectée (Tenter *et al.* 2000). Elle est due à un protozoaire, *Toxoplasma gondii*, découvert sous sa forme tachyzoïte dans les tissus d'un rongeur (*Ctenodactylus gondii*), en Tunisie, par Nicolle et Manceaux en 1908 et simultanément au Brésil chez un lapin de laboratoire par Splendore. Elle affecte pratiquement tous les vertébrés à sang chaud (homéothermes), mammifères et oiseaux, virtuellement sur tous les continents. L'infection humaine se fait principalement par voie orale, soit par l'ingestion d'oocystes excrétés par voie fécale par les chats et autres félinés sauvages et devenus extrêmement résistants dans l'environnement, soit par l'ingestion de kystes tissulaires qui peuvent être présents dans une grande variété de produits carnés (Figure 3). Les niveaux de prévalence chez l'Homme sont très variables selon les pays et les régions au sein d'un même pays. La France a des niveaux de séroprévalence parmi les plus élevés en Europe (autour de 40 %), comparables à ceux de l'Allemagne, l'Italie, la Belgique et la Suisse, et très supérieurs à ceux du Royaume-Uni (moins de 10 %) ou des pays de l'Europe du Nord (entre 15 et 30 %) selon les enquêtes (Tenter *et al.* 2000 ; Berger *et al.* 2007). Chez l'Homme, la primo-infection est généralement asymptomatique chez l'individu immunocompétent et induit une immunité protectrice. Cependant, une réinfection avec un génotype atypique est possible et peut induire une toxoplasmose symptomatique pouvant être très virulente voire létale même chez l'immunocompétent. Les femmes enceintes séronégatives pour la toxoplasmose sont exposées au risque de contamination en cours de grossesse (risque de transmission

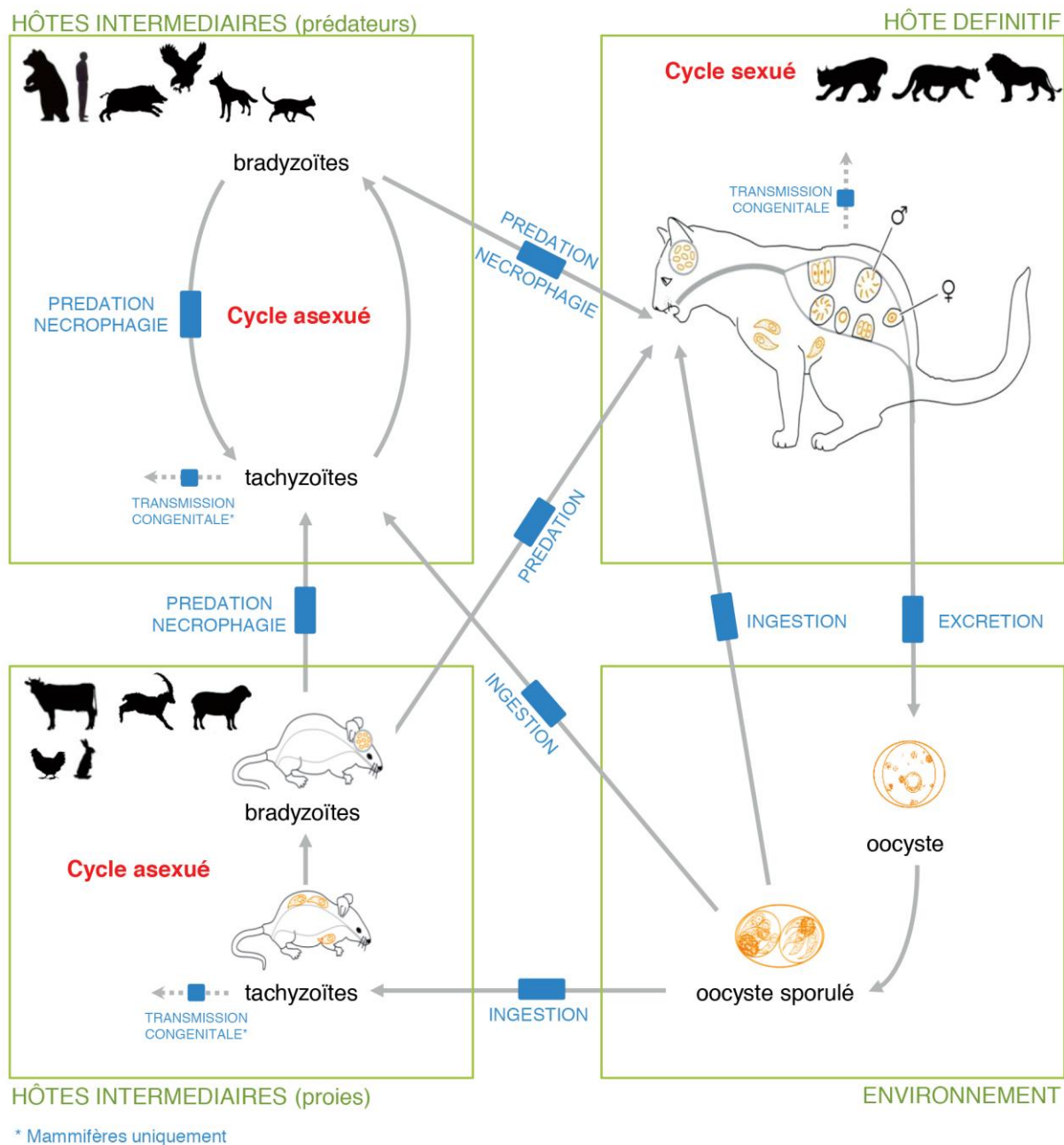


Figure 3 : Schéma du cycle biologique de *Toxoplasma gondii* (d'après Mercier, 2010)

foetale variable selon le terme au moment de l'infection maternelle : 29 % en moyenne sur l'ensemble de la grossesse) (Dunn *et al.* 1999). Contractée en tout début de grossesse, une infection toxoplasmique peut entraîner une mort *in utero*, puis la sévérité des complications diminue au cours de la grossesse. Les formes graves se caractérisent par des lésions cérébrales (hydrocéphalie le plus souvent, microcéphalie etc.), des formes généralisées (atteinte hépatique, cardiaque ou pulmonaire). Les atteintes oculaires (microphthalmie, chorioretinite) peuvent survenir quelle que soit la date de

transmission pendant la grossesse. Le potentiel évolutif de la maladie est imprévisible, et surtout lié à la survenue de chorioretinites parfois tardives qui peuvent entraîner une cécité (Wallon *et al.* 2004).

En France, la séroprévalence globale est en diminution régulière depuis 30 ans (Bellalli *et al.*, 2013 ; Tourdjman *et al.*, 2015) : autour de 82 % dans les années 1960, elle était de 44 % en 2003 et n'est plus que de 31,3% en 2016. Il existe de grandes variations régionales et la diminution de la prévalence peut s'expliquer par les changements de mode de vie (hygiène, alimentation) et les conditions d'élevage ayant permis de limiter l'exposition de la population (Berger *et al.* 2008). Chez les femmes de 30 ans, l'incidence est passée de 7,5/1000 (1980) à 2,4/1000 (2010) et pourrait être seulement de 1,6/1000 en 2020, ces données ayant été estimées par modélisation (Nogareda *et al.* 2014). La toxoplasmose congénitale pouvant être grave, la France a instauré un programme de prévention depuis 1978, période où l'incidence était élevée. Les résultats de cette surveillance montrent que le nombre de toxoplasmoses congénitales est constant, autour de 250 cas par an, ce qui représente une incidence de 0,3 pour 1000 naissances vivantes en France. L'importance de l'infection humaine a été récemment réévaluée en incluant l'impact direct en santé humaine (pathologies et morbidité associées à l'infection par *Toxoplasma*) et l'impact indirect (coût de la surveillance de la femme enceinte, obligatoire en France pour toute femme enceinte non immunisée vis-à-vis de la toxoplasmose - sérologies mensuelles et dépistage prénatal en cas de séroconversion per-gravidique). Ceci a conduit à considérer *T. gondii* comme un agent majeur de zoonose au même titre que d'autres agents pathogènes transmis par les aliments (Havelaar *et al.* 2007). Elle constitue notamment la seconde cause de mortalité d'origine alimentaire après les salmonelloses aux Etats-Unis (Batz *et al.* 2012). Le parasite (*Toxoplasma gondii*) n'est pas spécifique d'un hôte intermédiaire et une très grande variété d'animaux peut être infectée. Néanmoins les viandes d'origines ovine, bovine et porcine sont les plus souvent en cause dans la contamination humaine. Afin de mieux comprendre l'épidémiologie de l'infection humaine en France, l'estimation de la prévalence du parasite dans les viandes destinées à la consommation humaine est fondamentale. La part dévolue à la contamination par les oocystes est beaucoup plus difficile à évaluer par manque de méthodes de diagnostic normalisées et donc avec des données seulement parcellaires sur les denrées (végétaux, mollusques, eaux).

Suivant le contexte clinique, le diagnostic biologique de la toxoplasmose repose sur l'isolement du parasite ou de l'ADN parasitaire (méthodes directes) et/ou sur la mise en évidence des anticorps spécifiques (méthodes indirectes). Concernant les méthodes directes, l'inoculation à la souris demeure aujourd'hui encore une technique de référence pour isoler les toxoplasmes viables. Après inoculation des prélèvements pathologiques, les souris développent une infection, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, qui sera détectée 3 à 4 semaines post-inoculation par la mise en évidence d'une synthèse d'anticorps et confirmée par la présence de kystes dans leur cerveau.

Concernant la PCR, 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.). Cependant cette technique comporte un certain nombre de difficultés techniques et de limites, liées notamment à la séquence ciblée : 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 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. 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. L'agglutination directe haute sensibilité (ADHS) est la technique la plus couramment utilisée dans les laboratoires de références, tandis que 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.

Les mesures prophylactiques conseillées chez les femmes enceintes et les immunodéprimés séronégatifs pour la toxoplasmose sont de bien cuire tout type de viande (y compris la volaille et le gibier), cuisson à 65°C dans toute l'épaisseur ; d'éviter la consommation de viande grillée ou marinée (ou fumée) ; de se laver les mains : surtout après avoir manipulé de la viande crue, des crudités souillées par de la terre ou après avoir jardiné ; avant chaque repas ; après contact avec les chats ; de porter des gants pour jardiner ou pour tout contact avec de la terre ; de faire laver chaque jour, par une autre personne, le bac à litière du chat avec de l'eau à plus de 70°C, ou porter des gants ; lors de la préparation des repas, laver à grande eau les légumes et les plantes aromatiques, surtout s'ils sont terreux et consommés crus ; de laver à grande eau les ustensiles de cuisine ainsi que les plans de travail. Des mesures complémentaires suivantes sont recommandées : congeler les denrées d'origine animale à des températures inférieures à -18°C (surgélation) ou à - 12°C pendant 3 jours ; lors des repas en dehors du domicile, ne consommer de la viande que bien cuite ; éviter les crudités et préférer les légumes cuits.

3.2. Le concept et l'approche une seule Santé (*One Health*)

Une seule Santé (*One Health*) est un concept et une approche, de plus en plus populaire, utilisée pour répondre aux problèmes de santé complexes. Le concept une seule santé (*One Health*) reconnaît que la santé humaine est intimement liée à la santé des animaux et de l'environnement. Pour résoudre des problèmes régionaux et mondiaux tels que les zoonoses d'origine alimentaire (FBZ), la résistance antimicrobienne (AMR) et les pathologies infectieuses émergentes (ET), une collaboration transdisciplinaire entre tous les domaines de la santé est nécessaire, tout comme un dialogue actif entre les scientifiques et les gouvernements.

Pour illustrer l'interaction fine « environnement-animal-homme » un exemple récent, présenté lors de la séance de l'Académie Vétérinaire du 18 octobre 2018 (Boireau, 2018) est celui de l'introduction du diclofenac® en Asie du Sud Est chez les ruminants. Cette molécule anti-inflammatoire non stéroïdienne a été utilisée lors de boiteries chez les ruminants limitant leur utilisation dans la traction de charges. Il s'avère que les résidus de cette molécule dans les muscles et viscères sont hautement toxiques pour les vautours. Par conséquent, en un peu plus d'une décennie d'utilisation du diclofenac® (1993-2007), la population de vautours en Inde a été réduite de 97% (Oaks et al., 2004). Les vautours n'assurant plus leur fonction de fossoyeurs (DeVault et al., 2016), d'autres charognards, les carnivores, et en premier lieu les chiens errants, ont pris la relève. L'abondance de nourriture a entraîné un développement important de cette population animale. Le nombre de chiens errants a cru de cinq millions en Inde entre 1992 et 2006 avec plus de 38 millions de morsures chez l'homme (notamment chez les enfants). Une infection rabique toutes les 1000 morsures est transmise dans cette région du monde où la pratique de la vaccination des carnivores domestiques n'est pas généralisée. Le coût économique résultant dépasse 34 milliards USD (Markandya et al., 2008). Il est important de souligner que le chien devenant errant a un comportement « dénaturé » et devient vecteur de nombreuses maladies transmissibles. Dans d'autres parties du monde comme les pays du Maghreb, c'est le vecteur de parasitoses importantes (Echinococcose, Leishmaniose) et de la rage.

Les origines du concept une seule santé (*One Health*) remontent à 1855, lorsque Rudolf Virchow a fondé la pathologie comparée, qui peut être considérée comme l'origine du concept une seule santé (*One Health*). En même temps, Louis Pasteur l'a parfaitement appliquée. À son époque, il n'existait pas deux mondes différents, une santé humaine et une santé animale et environnementale. L'analyse des maladies du vin et de l'étude de la fermentation faites par Louis Pasteur permet à Joseph Lister, chirurgien, d'appliquer la théorie des germes de la putréfaction à ses propres complications post-opératoires (gangrène, infections, septicémie). En appliquant une eau phéniquée sur les plaies de ses patients et les outils utilisés, J. Lister réduit grandement les infections post-opératoires. L'agent phéniqué utilisé venait de la propre lecture de J. Lister d'ouvrages rapportant que le phénol détruisait

des agents infectieux chez les animaux. Dans cette grande avancée de l'asepsie, ce sont bien des observations et recherches dans l'environnement et chez l'animal qui ont pu faire émerger des mesures de prévention de maladies infectieuses chez l'homme (Boireau, 2018). Sur cette base, Calvin W. Schwabe s'est battu au vingtième siècle contre le cloisonnement dans la recherche médicale, en utilisant le terme « une seule médecine ». Le terme « *One Health* » a ensuite été popularisé en 2004 par la Wildlife Conservation Society lors d'une conférence à New York (Cook et al., 2004), et son utilisation n'a cessé d'évoluer depuis lors, en favorisant le renouveau de la médecine comparative (Figure 4) (Brown et al., 2020).

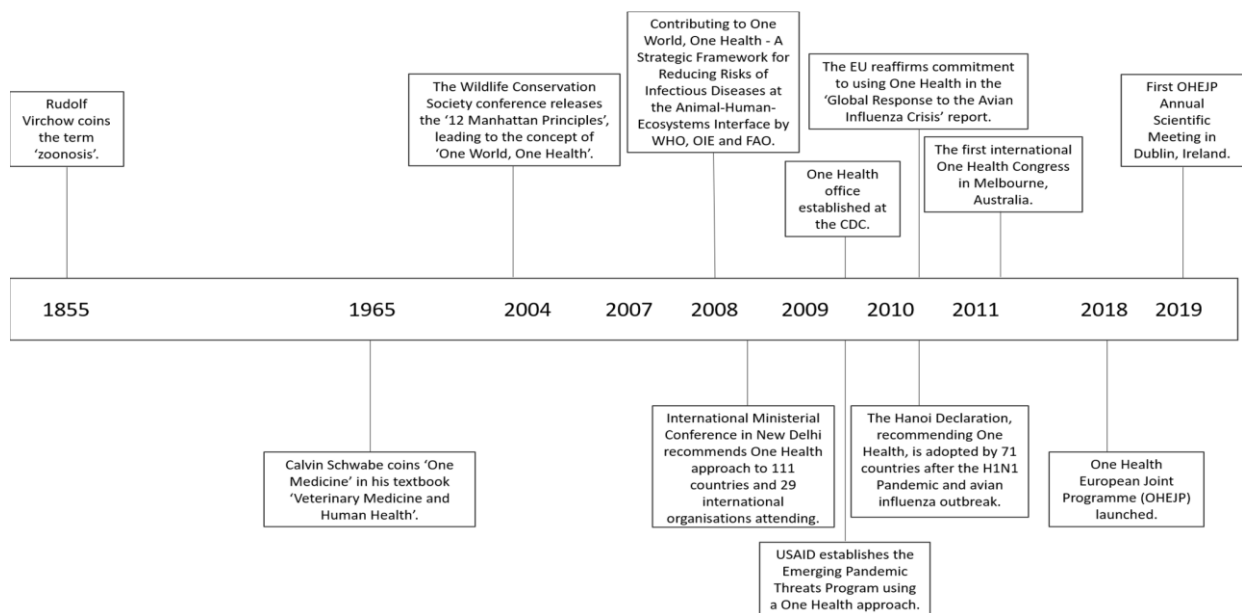


Figure 4 : Chronologie des principales étapes de l'approche *One Health* depuis 1855. Les grandes organisations adoptent l'approche *One Health* de plus en plus à partir de 2004 (Brown et al., 2020)

Les travaux primordiaux de Rudolph Virchow sur *Trichinella*, un nématode parasite transmis par la viande de porc aux hommes, la même année (1855) qui donna le nom de zoonoses aux infections transmises de l'animal à l'homme (Brown, 2003), est un exemple illustrant l'importance de lier médecine vétérinaire et médecine humaine pour lutter contre les maladies infectieuses. Concernant *Toxoplasma gondii*, son installation chez le chat, en tant qu'hôte définitif, représentant un compagnon cher à l'Homme, avec qui il partage des moments susceptibles d'être à l'origine d'une contamination, il s'agit d'un exemple supplémentaire pour un abord global (med+vet) de cette maladie.

4. Variabilité génétique et spatio-temporelle au sein du genre

Trichinella : étude dans une zone à forte endémicité

L'objectif général de l'ensemble des recherches présentées dans ce chapitre correspond à une partie du **travail de ma thèse d'université**, réalisée entre 2002 et 2007, en cotutelle entre la Roumanie (USAMV Cluj-Napoca) et la France (UMR BIPAR). Il s'agit de la lutte contre les trichinelloses animales en Europe. En France, les dernières grandes épidémies de trichinellose affectant plusieurs centaines de personnes provenaient de l'importation de chevaux d'un pays d'Europe de l'Est. Dans ce contexte, l'objectif spécifique du travail a concerné l'analyse de l'épidémiologie animale et humaine de la trichinellose ainsi que la diversité des génomes de *Trichinella* dans cette région européenne à forte prévalence, et notamment en Roumanie. Plusieurs études complémentaires ont été menées : des analyses rétrospectives des résultats d'analyses officielles des contrôles porcins joints à la description du nombre de cas cliniques de trichinellose; des enquêtes de terrain utilisant la surveillance de différentes espèces animales cibles (cheval, porcs notamment) ainsi que l'identification des différentes espèces de *Trichinella* circulant dans les faunes sauvage et domestique en Roumanie.

Pendant cette période, j'ai pu bénéficier d'un **contrat doctoral AFSSA** (2004-2007), étant également impliqué dans le **projet européen TRICHIPORSE** (2001-2005) (PCRD V, Contrat QLRT-2000-01156, coordinateur Pascal BOIREAU, mon directeur de thèse). J'ai également **encadré** Adriana Jarca (USAMV Cluj-Napoca ; directeur de thèse Vasile COZMA) et Silvia Antoniu (USAMV Bucarest, directeur de thèse Ioan DIDA) dans leur travail de thèse, pour des stages de 3 mois au sein de l'UMR BIPAR. Au cours de cette période, j'ai **collaboré** avec le Pr. Liu MingYuan, Institut des Zoonoses, Université de Jilin, Chine et j'ai initié une collaboration avec Dr. Fu BaoQuan, Lanzhou Veterinary Institute, Chine.

La **valorisation** de mes travaux de recherches au cours de ma thèse d'université s'est faite par la publication de 6 articles en premier auteur, 4 présentations orales et 7 communications affichées dans des congrès internationaux. Les résultats ont été aussi **récompensés** par des prix : Student Research Award, 2007 accordé par International Commission on Trichinellosis et Young Scientist Award, 2008 accordé par European Federation of Parasitologists.

4.1. Epidémiologie de la trichinellose humaine en Roumanie

La Roumanie est située dans le sud-est de l'Europe Centrale, partie intégrante de l'Europe de l'Est et de la presqu'île Balkanique. Les Carpates, dont les alpes de Transylvanie en font partie, traversent la Roumanie sous forme d'un arc du nord au sud-ouest, établissant une barrière naturelle entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie. La Roumanie actuelle a longtemps été divisée entre l'empire Austro-hongrois, incluant la Transylvanie, et l'empire Ottoman incluant la Valachie et la Moldavie (Figure 5). Ces deux dernières régions ont pris le nom de la Roumanie en 1859, état indépendant qui a inclus la Transylvanie à partir du 1918.

L'existence de la barrière, presque imprenable, des Carpates, représentant la frontière entre les deux empires, a permis une évolution historique et sociale différente des populations de part et d'autre de la montagne. La Roumanie a été imprégnée avec des populations d'origine allemandes (Sachs et Svabs) à partir du 12^{ème} siècle, et aujourd'hui la population de la Transylvanie représente un mélange de roumains (59%), hongrois (25%) et allemands (9,5%). En dépit d'une très longue période de cohabitation, les trois populations ont préservé leur identité culturelle et nationale, principalement due à la ségrégation sociale existant avec les allemands et les hongrois comme populations dominantes. La Valachie et la Moldavie, en dépit d'une vassalité envers l'empire Ottoman depuis le 15^{ème} siècle et jusqu'en 1877, n'ont jamais été colonisées, la population roumaine étant beaucoup plus homogène (figure 5). Ces prémisses historiques ont joué un rôle important dans l'apparition des premiers cas de trichinellose humaine compte tenu des habitudes culinaires contrastés et par la suite pour la détection des premiers cas d'infection à *Trichinella* chez les animaux.

Le mélange de trois populations d'origines diverses, a généré l'existence de plusieurs habitudes alimentaires en Roumanie, spécifiquement celles en lien avec la consommation de viande : les populations d'origine allemande sont réputées pour leur préférence à manger de la viande de porc peu cuite (Gould, 1945), les hongrois mangent la viande bien cuite (Ballagi, 1913), alors que les Roumains mangent principalement des légumes et d'autres produits non-carnés, la consommation de la viande étant réduite (inférieure à 2kg/année/habitant de la compagnie) (Felix,1869; Stoica, 1891; Cazacu,1999). De ce fait, une différence significative a toujours été présente entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie en ce qui concerne le nombre de cas de trichinellose. Ainsi la première étude épidémiologique couvrant chaque département de la Roumanie réalisée pour les années 1963-1968 (Lupascu et al., 1970), montre que 60% (n=43) des épidémies sont enregistrées en Transylvanie (figure 6), avec une décroissance progressive et linéaire de l'incidence de la trichinellose dans les départements de la Transylvanie vers les départements du sud-est (tableau 1).

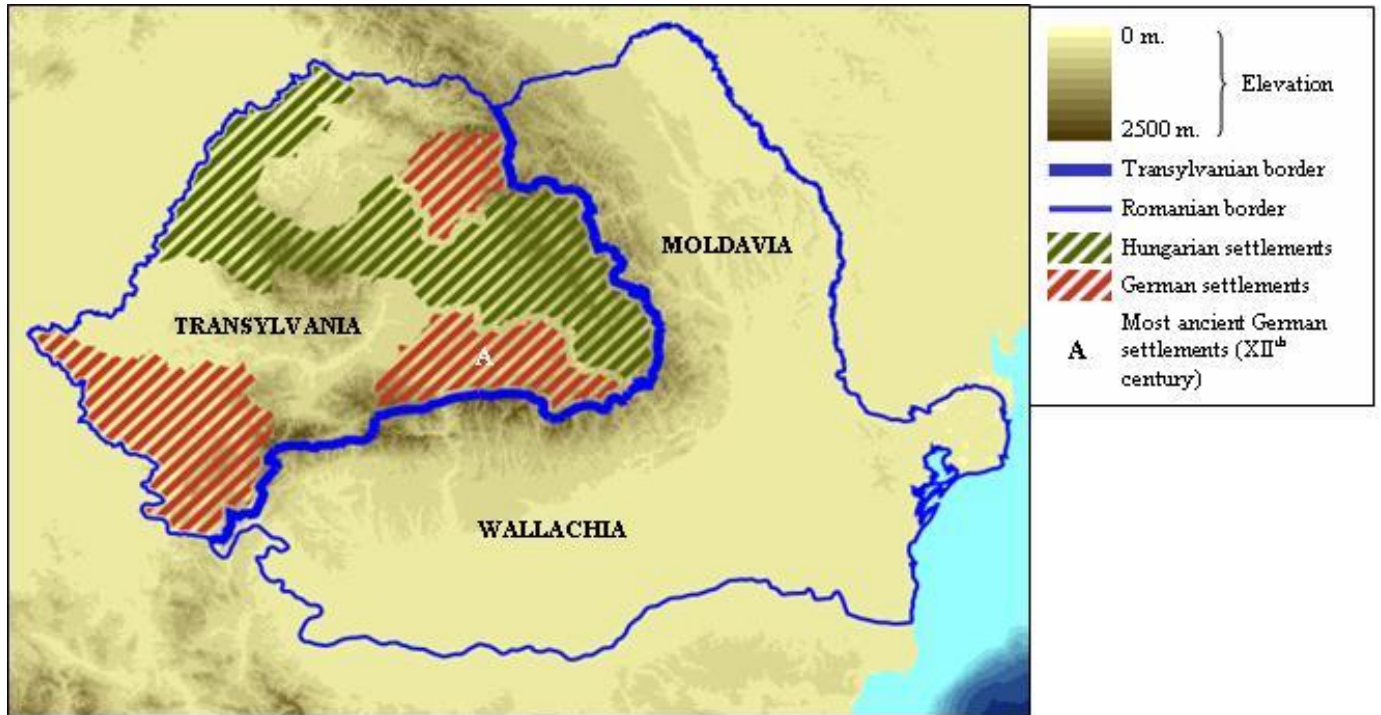


Figure 5 : Carte physique de la Roumanie présentant la répartition géographique des colonies allemandes et hongroises au 19^{ème} siècle

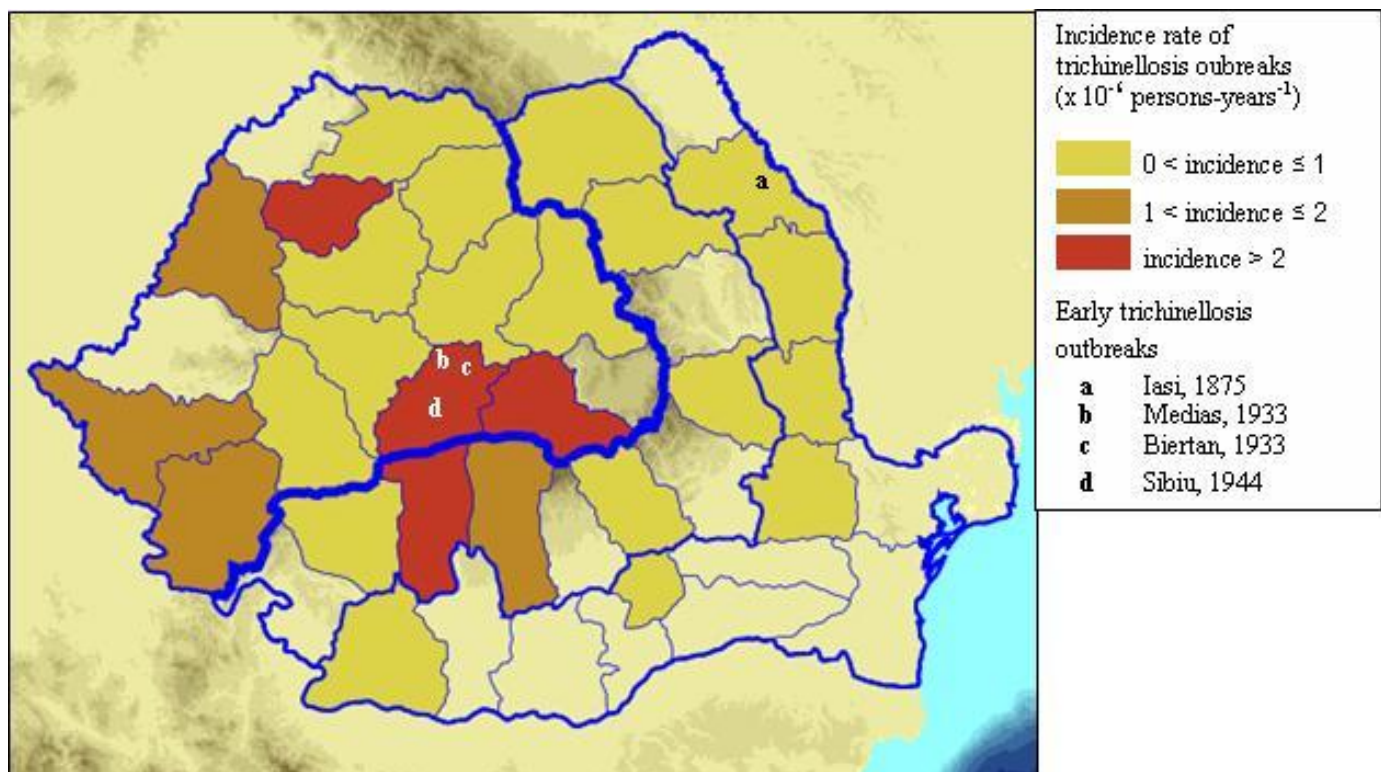


Figure 6 : Localisation des épidémies de trichinellose signalées jusqu'en 1945 et d'incidence de trichinellose dans les comtés de Roumanie entre 1963 et 1968

Région	Population à risque ^a	Anadémies	Incidence ^b	Risque relatif
Transylvanie	39,700,902	43	1.08	5,31
Comtés limitrophes	30,809,184	20	0.65	3,18
Province du Sud-Est	44,108,892	9	0.20	1 ^c

^a Nombre de personnes/an

^b Nombre d'anadémies pour 10⁶ personnes/an. Test du Khi-deux: Khi-deux=25.73 (df=1), p=4 10⁻⁷

^c référence

Tableau 1 : Incidence relative du nombre de cas de trichinellose en Roumanie pour la période 1963-1968.

Les données historiques montrent aussi une forte influence socio-culturelle, liée à des habitudes particulières d'alimentation, dans la découverte de la trichinellose en Roumanie. En effet, les quatre premières épidémies de trichinellose répertoriées jusqu'au 1945, ont été signalées dans des familles à dominante germanique ou situées dans des régions à forte présence allemande (Sibiu, Medias en Transylvanie).

Une analyse de la situation plus récente de la trichinellose en Roumanie a été réalisée dans notre étude au cours des 25 dernières années (1980-2004), avec une comparaison entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie. Deux périodes distinctes ont été analysées : 1980-1989 et 1990-2004, avant et après la chute du régime communiste en Roumanie. Pour cette période, 28,293 cas de trichinellose humaine ont été rapportés, correspondant à une incidence moyenne de 51 cas par million par an. Les cas positifs de trichinellose, rapportés à l'Institut National de Statistique Médicale, ont été diagnostiqués suites aux signes cliniques (fièvre, œdème faciale ou periorbital et myalgie), une anamnèse (consommation des viandes non-contrôlées, modalités de cuisson) et des tests biologiques (éosinophilie, leucocytose, niveau élevée des enzymes musculaire dans le sérum). Les tests confirmatoires sérologiques ou histologiques n'ont pas été réalisés de manière courante à cause de leur coût prohibitif. De ce fait, une surestimation du nombre des cas de trichinellose est possible, mais il reste tout de même sensiblement élevé, particulièrement lorsqu'il est comparé à celui des autres pays (Cuperlovic et al., 2005). Si une telle surestimation existait, à défaut de preuve contraire on peut supposer qu'elle est sensiblement égale dans le temps et l'espace, signifiant que les différences observées restent valides.

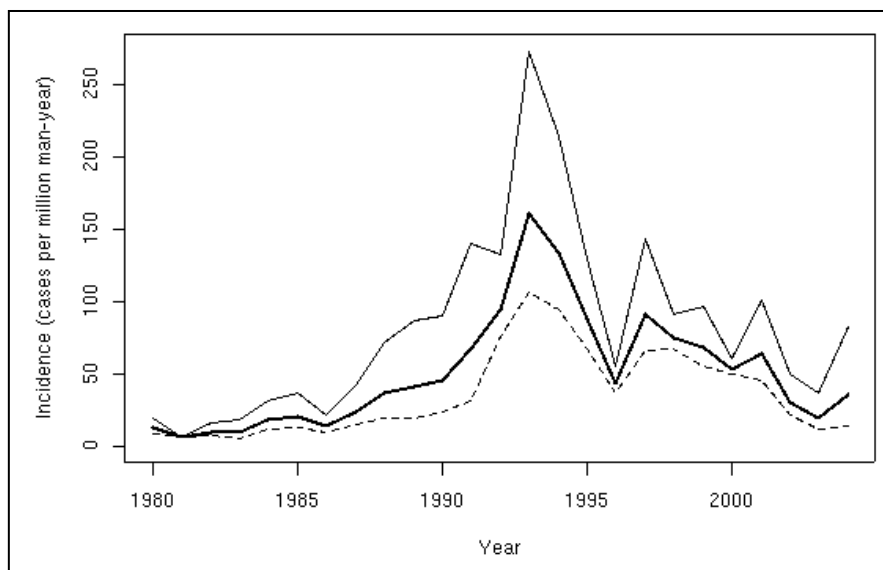
Une nette augmentation de l'incidence moyenne de la trichinellose pour la période 1990-2004 (71.8 cas par million par an) vs 1980-1989 (19.6 cas par million par an) a été démontrée. De même, une plus forte prévalence en Transylvanie (82.2 cas par million par an) vs le reste de la Roumanie (35.7 cas par million par an) a été observée (Figure 7 ; tableau 2). Pour expliquer ces variations significatives

aussi bien temporelles que géographiques mises en évidence pendant la période d'étude, quatre explications sont possibles : (i) il existe une forte variation dans la circulation du parasite au sein des animaux domestiques et sauvages ; en Roumanie cette population animale est représentée par le cheptel porcin, car 95% des cas de trichinellose humaines proviennent de la consommation de viande de porc (Cironeanu, 2002) ; (ii) des variations dans l'efficacité du contrôle sanitaire-vétérinaire des produits d'origine animale existent : seul le test trichinoscopique est largement utilisé; (iii) une variation dans le niveau de la consommation de la viande ainsi que dans les habitudes alimentaires existent et enfin (iv) la proportion des cas positifs déclarés peut varier.

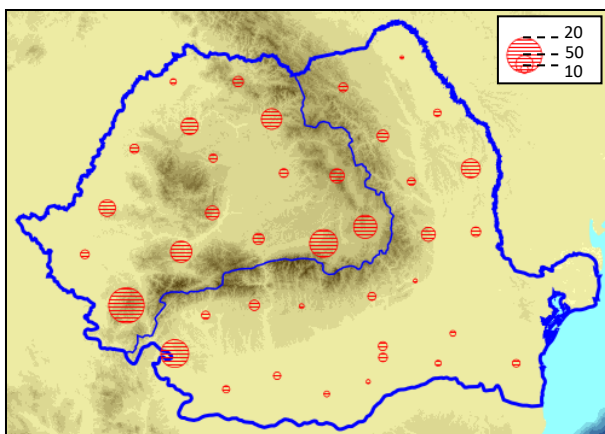
Chacun de ces quatre points peut expliquer partiellement la croissance significative de l'incidence de la trichinellose humaine entre les périodes 1980-1989 et 1990-2004. La circulation de *Trichinella* dans le cheptel porcin semble avoir augmenté de façon considérable à la fin du régime communiste (Cironeanu, 2002), générant une dispersion de l'infestation dans le pays, avec la fermeture des grands complexes d'exploitation après le changement du régime (Olteanu, 1997). L'augmentation du niveau de contamination des produits d'origine porcine est une résultante expliquant les cas humains. Le changement politique et économique en début des années 1990 a entraîné un bouleversement dans l'activité sanitaire-vétérinaire, entraînant une baisse de l'efficacité de ces contrôles. La consommation de viande a augmenté considérablement, en début des années 1990, car la « carte mensuelle » restreignant cette consommation a disparu avec les nouveaux changements. Une situation similaire a été déjà signalée en Chine avec une corrélation entre l'augmentation de la consommation de viande et le nombre des cas de trichinellose (Liu and Boireau, 2002). Une sous-déclaration du nombre des cas de trichinellose existait probablement avant 1990, car l'existence de ces cas représentait une « honte » pour les autorités médicales locales qui préféraient l'ignorer ou rapporter des chiffres plus modestes (Cironeanu et Ispas, 2002 ; Cristea, 1998). En dépit de ce dernier point la croissance de l'incidence de la trichinellose de 1980-1989 à 1990-2004 reste significative.

En analysant les causes possibles des variations géographiques notables entre la Transylvanie et le reste des départements de la Roumanie au regard de l'incidence de la trichinellose, trois des quatre causes, mentionnées ci-dessus, peuvent être exclues. Les données épidémiologiques pour 1997-2004 concernant l'infection à *Trichinella* chez les porcs familiaux et hors-sol montrent une prévalence de l'infection de 2 à 8 fois inférieure en Transylvanie par rapport au reste de la Roumanie. Le réseau national médical et sanitaire-vétérinaire dispose des mêmes structures dans tous les départements, employant des cadres médicaux et vétérinaires ayant un niveau de connaissance comparable de la trichinellose ou de l'infection à *Trichinella*. L'explication d'une différence significative pour cette variation géographique de l'incidence de la trichinellose réside dans les traditions culinaires des populations d'origine allemandes présentes en Transylvanie, comme cela a déjà été démontré pour les périodes antérieures (1868-1945 ; 1963-1968). Les lieux d'implantation de ces populations

d'origine germanique en Transylvanie correspondent aux régions avec une forte incidence pour la trichinellose. Ces régions obtenues suite à l'analyse de regroupements statistiques pour la période 1980-1989 et 1990-2004 sont : Caras-Severin et Hunedoara dans l'ouest de la Roumanie, et Brasov et Covasna dans le centre de la Roumanie. Cette différence significative, entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie, reste valable tout au long de ces deux périodes, représentant une preuve solide de l'importance majeure jouée par les habitudes alimentaires dans la variation géographique. Ces mêmes habitudes alimentaires ont contribué à la découverte de la trichinellose en Roumanie et plus récemment à sa forte émergence bénéficiant des changements politiques et économiques au début des années 1990.



1980-1989



1990-2004

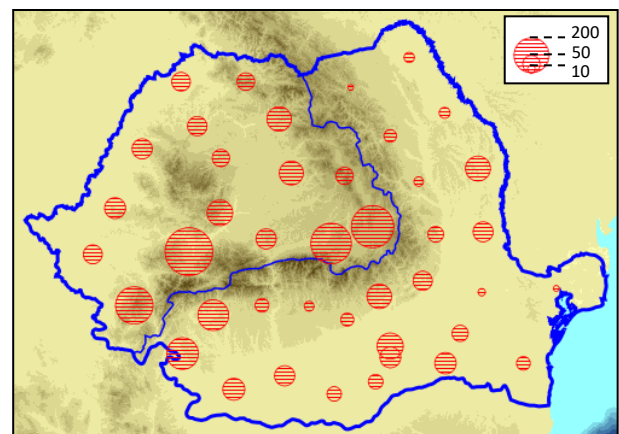


Figure 7 : Incidence de la trichinellose humaine en Roumanie pour la période 1980-2004. **Haut**: Incidence annuelle de la trichinellose (ligne fine : la Transylvanie ; ligne pointillée: autres régions ; ligne foncée : toute la Roumanie) **Bas**: Taux d'incidence cumulée des cas de trichinellose en Roumanie pour deux périodes : 1980-1989 et 1990-2004 (cas pour 1million d'habitants/an). La ligne fine bleue représente la bordure Est de la Transylvanie.

Localisation	Périodes	Cas	Population	Incidence* (95% CI [†])
Transylvanie	1980-1989	2.610	73.836.943	35,3 (34,0–36,7)
	1990-2004	12.381	108.549.279	114,1 (112,1–116,1)
	Période totale	14.991	182.386.222	82,2 (80,9–83,5)
Autres Comtés	1980-1989	1.735	148.012.596	11,7 (11,2–12,3)
	1990-2004	11.567	224.883.050	51,4 (50,5–52,4)
	Période totale	13.302	372.895.646	35,7 (35,1–36,3)
Totalité du pays	1980-1989	4.345	221.849.539	19,6 (19,0–20,2)
	1990-2004	23.948	333.432.329	71,8 (70,9–72,7)
	Période totale	28.293	555.281.868	51,0 (50,4–51,6)

* Cas pour 10⁶ personnes par an [†] CI: Intervalle de confiance

Tableau 2 : Incidence cumulée de la trichinellose en Roumanie pour la période 1980–1989 et 1990–2004.

VALORISATION :

- **Blaga R, Durand B, Antoniu S, Gherman C, Cretu CM, Cozma V, Boireau P.** A dramatic increase in the incidence of human trichinellosis in Romania over the past 25 years: impact of political changes and regional food habits. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 May;76(5):983-6.

4.2. Epidémiologie de l'infection à *Trichinella* chez les animaux en Roumanie

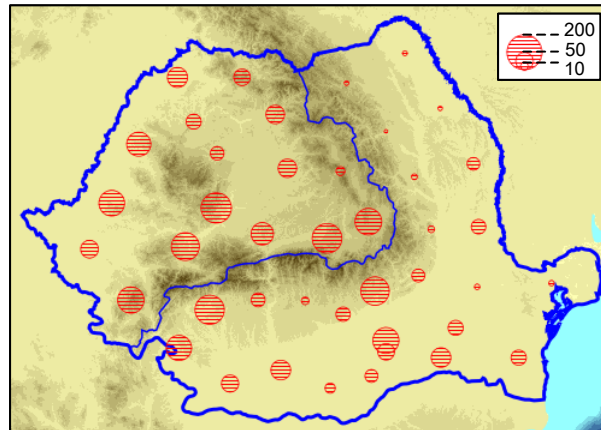
Le premier cas de trichinellose animale a été identifié chez un porc le 27 Décembre 1868, dans le sud-est de la Roumanie. Ce n'est qu'en 1913 avec l'ouverture de l'abattoir de Bucarest qu'un examen trichinoscopique a été mis en place, après plusieurs tentatives en vain. Ce test consiste à réaliser une détection systématique de l'infection à *Trichinella* chez le porc dans différentes régions de la Roumanie. Ces essais avaient été réalisés pour de courtes périodes (1865-1866, 1868-1869, 1874 - 1875).

Plusieurs études ont été menées pour avoir une image plus fidèle de la situation épidémiologique actuelle de l'infection à *Trichinella* chez les animaux en Roumanie. Dans un premier temps, les données épidémiologiques de l'Institut de Diagnostic et Santé Animale (IDSA) ont été collectées. L'IDSA a pour mission de centraliser ces données pour l'espèce porcine, le sanglier et l'ours. Une enquête terrain a ensuite été menée en parallèle pour l'espèce chevaline et pour sept autres espèces d'animaux sauvages.

4.2.1. L'infection à *Trichinella* chez le porc, le sanglier et l'ours en Roumanie

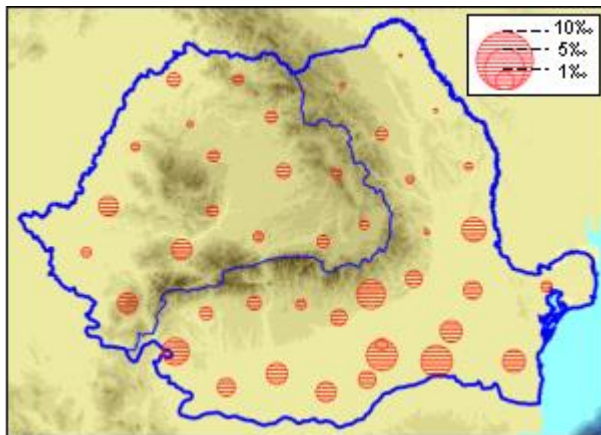
L'analyse des données épidémiologiques de l'IDSA couvre la période 1997-2004 (figure 8). L'existence de deux systèmes d'élevage porcin en Roumanie est mise en évidence. L'élevage de porcs familiaux ou plein air (1-2 porcs/foyer) demeure une composante importante du paysage agricole roumain. Ces porcs sont élevés pour la consommation locale et sont sacrifiés à l'intérieur même de la « ferme » par des procédés traditionnels (dans peu de cas, les porcs familiaux sont sacrifiés dans un abattoir proche). En revanche, le porc hors-sol, originaire des grandes fermes de type « industriel » est sacrifié uniquement dans un abattoir. Tous les porcs familiaux ou hors-sol sacrifiés dans un abattoir sont systématiquement contrôlés par trichinoscopie. Les résultats de ces tests sont collectés de façon exhaustive. Au contraire, les porcs familiaux ou le gibier sont analysés à la demande par trichinoscopie. Un manque d'information pour les petits propriétaires est à l'origine d'une non prise en compte du risque sanitaire et de la quasi absence de contrôle pour ces porcs fermiers. Il est à souligner également que le test trichinoscopique est très généralisé en Roumanie mais il demeure 2-3 fois moins sensible que le test de digestion artificielle (Beck et al., 2005; Forbes et al., 2003). La méthode de digestion artificielle est la méthode officielle de diagnostic de la trichinellose animale au sein de l'Union Européenne (Gamble et al., 2000; Webster et al., 2006). Elle devra être généralisée en Roumanie prochainement. Les données épidémiologiques représentent des analyses trichinelloscopiques pour un département et une certaine période/année. Pour ces raisons les analyses

Trichinellose humaine :

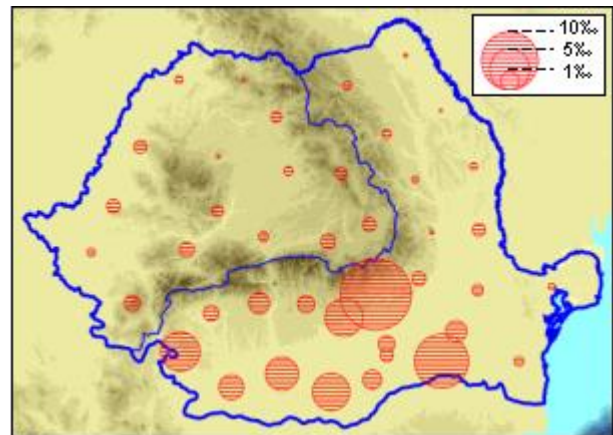


Infection à *Trichinella* :

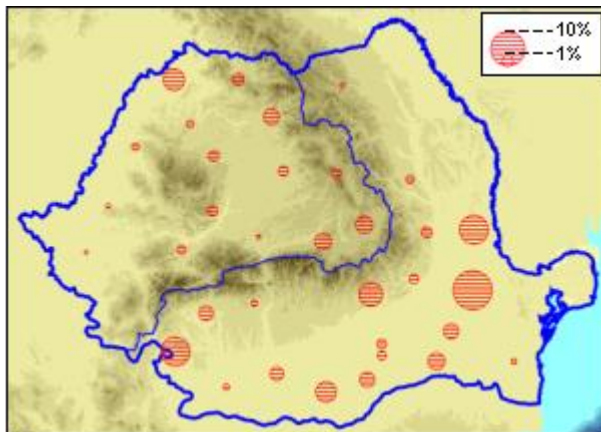
Porcs abattus à domicile



Porcs abattus à l'abattoir



Sanglier



Ours

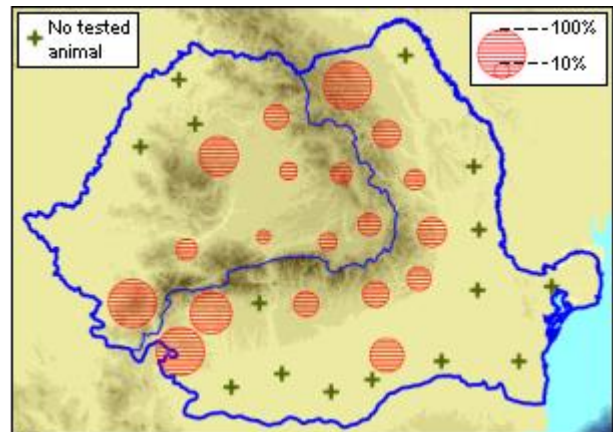


Figure 8 : Taux d'incidence de la trichinellose et de la prévalence de l'infection à *Trichinella* dans les départements roumains chez les porcs domestiques (abattus à domicile et à l'abattoir) et chez les animaux sauvages (sangliers et ours), 1997–2004. Ligne bleue fine: frontière avec la Transylvanie

par regroupement géographique présentent une importance dans la mesure où les animaux analysés sont élevés ou chassés (pour le gibier) dans le même département. Cette hypothèse est *a priori* valable pour les porcs familiaux ou le gibier. Pour les porcs hors-sol, cette hypothèse pourrait être atténuée du fait des circuits commerciaux étendus pouvant dépasser la surface d'un département. En Roumanie, ces circuits sont, cependant, quasiment inexistantes. Chaque grand complexe d'élevage détient son propre abattoir. Le biais géographique a donc été considéré comme négligeable.

La prévalence de l'infection à *Trichinella* chez le gibier est de l'ordre de 10% pour l'ours et de 10‰ pour le sanglier. La circulation du parasite est donc très importante dans la faune sauvage. La différence marquante entre les deux espèces trouve une explication dans les habitudes alimentaires différentes de deux espèces (le sanglier est un omnivore avec une dominante végétarienne tandis que l'ours est un omnivore avec une préférence pour le régime carné) ainsi que par leur espérance de vie (l'espérance de vie d'un sanglier est de 13 ans tandis que celle d'un ours est de 30 ans). La prévalence de l'infection à *Trichinella* chez le porc (les deux populations confondues) est de l'ordre de 8 cas pour 10,000 animaux testés. Comme pour la trichinellose humaine, une différence géographique peut être observée entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie, avec une prévalence nettement inférieure en Transylvanie. Cette situation est valable pour les deux types de population de porcs (les résultats sont plus accentués pour les porcs hors-sol) avec un ratio de la prévalence de l'infection à *Trichinella*, Transylvanie vs le reste de la Roumanie, de 0.56 pour les porcs familiaux et de 0.13 pour les porcs hors-sol.

Cette différence géographique peut s'expliquer par un examen trichinoscopique moins efficace en Transylvanie, mais comme déjà mentionné ci-dessus, aucun argument ne soutient cette hypothèse. L'explication de cette situation paradoxale doit être cherchée dans le bouleversement de l'industrie du porc initié par le changement politique de 1989-1990, avec un passage rapide des grandes fermes, qui appartenaient à l'état, à un système entièrement privé avec des fermes familiales. Pendant la période 1965-1979, l'épidémiologie réalisée dans 115 grandes fermes d'état (3-8 millions de carcasses contrôlées par an) n'a révélé aucun cas d'infection à *Trichinella*, ces fermes sont déclarées indemnes de *Trichinella* (Cironeanu, 1981). La majorité de ces fermes étaient situées dans le sud de la Roumanie, très peu en Transylvanie, pour des raisons climatiques et l'abondance locale de la nourriture spécifique principalement. A partir du 1982, plusieurs facteurs ont contribué à l'augmentation exponentielle du nombre de cas de trichinellose porcine : l'utilisation dans la nourriture de restes d'abattoir non-stérilisés, des fréquents phénomènes de cannibalisme générés par le manque de nourriture et, enfin la dégradation des conditions d'hygiène avec l'apparition des rats (Cironeanu et Ispas, 2002). Ainsi vers la fin des années 1980, 95% des porcs ayant une infection à *Trichinella* provenait d'une grande ferme d'état (Olteanu, 2001). Par la suite, en début des années

1990, avec les changements politiques et le passage de la propriété collective à la propriété individuelle, les grandes fermes d'état ont commencé à vendre leur cheptel, dispersant ainsi l'infection à *Trichinella* dans les régions avoisinantes. L'étude réalisée en 1992, montre que 40% des cas de trichinellose porcine provenaient d'exploitations (Olteanu, 1996 ; Cironeanu et Ispas, 2002). Or la majorité des grandes fermes d'état étaient situées dans le sud de la Roumanie. On peut supposer que l'infection à *Trichinella* chez le porc a été principalement diffusée dans cette région là, pouvant expliquer les différences géographiques entre la Transylvanie et le reste de la Roumanie concernant la prévalence de l'infection pour les porcs familiaux et les porcs hors-sol.

Au début du XXe siècle, le seul abattoir autorisé à sacrifier les porcs était celui de Bucarest, où arrivaient des porcs de l'ensemble de la Roumanie. L'incidence de la trichinellose animale dans le seul abattoir de Bucarest peut ainsi nous donner une idée de l'étendue de la trichinellose animale dans l'ensemble du pays : pour la période 1913-1952, parmi les 4 312 184 porcs sacrifiés, 3 443 ont été trouvés positifs, ce qui représente une prévalence de 0,077% (Cironeanu, 1970). Pour la période suivante, 1956-1967 quand d'autres abattoirs en Roumanie ont été autorisés à sacrifier des porcs, la prévalence nationale de la trichinellose est descendue à 0,048% (Cironeanu, 1970) ; entre 1967 et 1982, peu de données sont disponibles ou fiables, certains auteurs (Cironeanu, 2002) parlent d'une incidence de 0,05% sur l'ensemble du territoire roumain.

La comparaison de ces données avec celles obtenues pour une période plus récente (1997-2004) nous révèle que d'une manière générale la présence du parasite dans le cheptel porcin au niveau national est restée en dessous de 0,1%, avec peu de variations notables.

4.2.2. L'infection à *Trichinella* chez le cheval en Roumanie

La très grande majorité (95%) des cas de trichinellose humaine en Roumanie est provoquée par de la viande de porc (Cironeanu et Ispas, 2002). Jusqu'à présent, aucun cas de trichinellose humaine n'a été rapporté ayant comme origine la consommation de viande de cheval. Cependant, trois grandes épidémies de trichinellose, en France et Italie, ont impliqué des chevaux originaires d'un pays de l'Europe de l'est non-identifié. La Roumanie demeure un pays potentiel fournisseur de chevaux présentant une infection à *Trichinella*, compte tenu de sa prévalence très élevée dans la faune sauvage. Une enquête sérologique a été menée sur le terrain entre 2001-2002 pour aboutir à la collecte de 5992 sérums de chevaux (figure 9). Ces sérums ont été analysés par ELISA et Western Blot. L'analyse, dans un premier temps (2001) des 3000 sérums par l'ISS à Rome (Laboratoire Communautaire de référence Parasites) par ELISA en employant trois antigènes différents (un extrait total d'antigène, un antigène d'excrétion/sécrétion : E/S et le bêta tyvelose) s'est révélée négative. Dans une seconde analyse (2002) que nous avons coordonnée, un ELISA-E/S a révélé 17 sérums de chevaux positifs pour 2992 (0,56%)

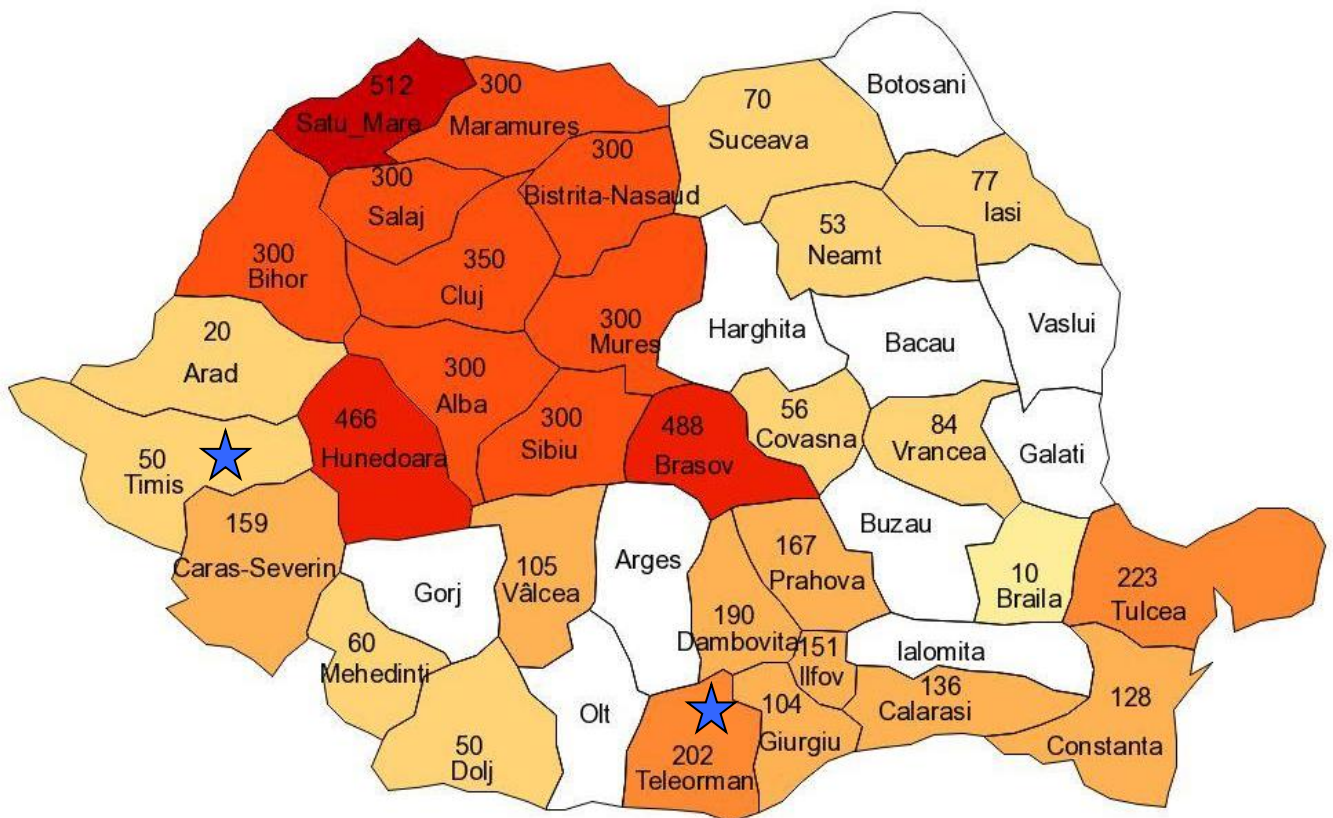


Figure 9 : Nombre d'échantillons de sérum de cheval collectés en Roumanie, par département, entre 2001 et 2002. Les deux étoiles bleues représentent les abattoirs de chevaux d'Alexandrie (département de Teleorman) et de Timisoara (département de Timis) où 25.838 échantillons ont été analysés par digestion artificielle entre 2001- 2004.

sérums testés. Des résultats similaires (0,5% sur 2370 sérums) ont été obtenus par Diaconu et al. (1994) employant un kit de diagnostic ELISA (Elitrich, Pasteur, Roumanie). Dans une autre étude, à partir de 433 chevaux originaires de Roumanie et abattus en Italie, Pozio et al. (2002), utilisant un test ELISA-ES, 6 sérums (1.4%) ont été trouvés positifs. Dans d'autres travaux menés par Sofronic-Milosavljevic et al. (2001), où un test ELISA-ES a été utilisé sur 5267 sérums, la proportion de chevaux positifs est beaucoup plus élevée (5,9%). Ces différences suggèrent le manque de spécificité des antigènes utilisés (Pozio et al., 2002c). Parmi les 17 sérums positifs identifiés en Roumanie, seulement 8 ont été confirmés par un ELISA-ES réalisé par le BfR à Berlin. Ces différences de résultats entre les laboratoires pour les mêmes échantillons de sérums ont été déjà remarquées par d'autres auteurs (Sofronic-Milosavljevic et al., 2001) et indiquent un manque de répétabilité du test ELISA utilisé pour le cheval. Ces différences soulignent la nécessité de standardiser les méthodes sérologiques pour une utilisation dans les zones endémiques. Quant à l'utilisation du Western Blot, un seul sérum sur 17 s'est révélé positif. Le cheval en cause a été examiné par le test de digestion artificielle après abattage. Aucune larve de *Trichinella* n'a été retrouvée, dans plusieurs sites musculaires de prédilection (langue, muscle

de la bouche, masséters, piliers), montrant la limite des tests sérologiques dans la détection de l'infection à *Trichinella* chez le cheval.

En Roumanie, la consommation de viande chevaline est limitée aux périodes de grandes famines (guerres, mouvements sociaux et politiques ou calamités naturelles). En revanche la tradition d'éleveurs de chevaux n'est pas moins présente en Roumanie avec une connotation économique élevée dans un pays où 50% de la population est rurale. La majorité des chevaux actuellement vendus pour leur viande est soit exportés en Europe de l'Ouest (Italie, France, Belgique) soit abattue dans un des deux abattoirs agréés par l'UE pour des exportation vers la Belgique. Jusqu'à 2001, date de l'ouverture du premier abattoir spécialisé dans la viande de cheval, les chevaux étaient exportés vivant dans des pays tels que l'Italie ou la France, le test de digestion artificielle se réalisant sur place. Pour la période 2001-2004, 25.838 chevaux ont été abattus dans les abattoirs d'Alexandria et Timisoara ; seul le test trichinoscopique a été utilisé au départ, conformément à la loi sanitaire-vétérinaire roumaine (Loi nr 215/27.05. 2004). Lors de l'enquête que nous avons effectuée, le test de digestion artificielle a été mis en place dans ces abattoirs. Aucun cas positifs n'a été détecté pendant la période d'étude, confirmant ainsi les estimations précédentes de l'ordre de moins de 0,001% (Boireau et al., 2000). La découverte de chevaux positifs en Roumanie (4/11 en 1993 ; Cironeanu et Ispas, 2002), ou originaires de Roumanie (2 en 1997, 2001, en Italie ; (Pozio et al., 1997c; Pozio and Zarlenga, 2005)) au regard des 25.838 chevaux négatifs analysés doit être interprétée dans son contexte. Cette analyse confirme la faible prévalence de l'infection à *Trichinella* chez le cheval en Roumanie, malgré les quelques cas identifiés ainsi que les limites des tests de diagnostic sérologiques pour l'espèce chevaline (niveau élevé de faux positifs) dans une zone de très forte endémie de trichinellose.

4.2.3. L'infection à *Trichinella* dans la faune sauvage et l'identification des espèces de *Trichinella* sévissant en Roumanie

Dans les années 1960, Lupascu et al. (1970) réalisent les premières identifications de l'infection à *Trichinella* chez 12 espèces d'animaux sauvages et montrent que la prévalence la plus élevée était identifiée chez le loup (*Canis lupus*) 38,53%, le chat sauvage (*Felis silvestris*), 23,08% et le renard roux (*Vulpes vulpes*) 22%. L'analyse réalisée par Nesterov et al. (1991) couvrant une période de 20 ans, montre que la prévalence de l'infection à *Trichinella* chez les animaux sauvages a baissé, mais les mêmes espèces se retrouvent avec la plus haute prévalence : le loup avec 30,5%, le chat sauvage avec 21,5% et le renard roux avec 15,8%. Notre étude, qui porte sur un nombre relativement limité d'exemplaires (n=140), souligne des prévalences avec des taux inférieurs (sauf pour le loup en tant que

super carnivore) par rapport aux analyses précédentes de l'infection à *Trichinella* dans la faune sauvage : loup 31,4%, chat sauvage 14,3% et renard roux 7%. Ces taux sont relativement élevés par rapport aux pays limitrophes à l'exception des pays de l'ex-Yougoslavie où la trichinellose est endémique dans la faune sauvage. En Hongrie, la trichinellose animale est peu décrite avec un taux de prévalence de 3% chez le renard (Sreter et al., 2003). La prévalence élevée de l'infection à *Trichinella* dans la faune sauvage en Roumanie est confirmée par notre enquête. Elle représente un risque important et constant pour une introgression dans le cycle domestique, spécialement là où les élevages plein air sont développés.

Une analyse des espèces de *Trichinella* présentes en Roumanie nous a permis de retracer les principaux cycles, avec leur éventuelle mixité (figure 10). En effet nous avons mis en évidence la détection de *T. britovi*, espèce emblématique pour le cycle sauvage dans les zones tempérées, dans un nombre limité d'isolats provenant des animaux domestiques (n=2). De même *T. spiralis*, espèce retrouvée le plus souvent dans le cycle domestique, a été isolée chez les animaux sauvages (n=3), ce qui suggère fortement une transmission bilatérale entre les deux cycles. Ces échanges ne sont cependant pas majoritaires. Les animaux domestiques retrouvés avec une infestation à *T. britovi* ont été un chien gardien d'un troupeau des moutons dans une région montagneuse et un porc élevé en plein air dans le Delta du Danube. Les animaux sauvages infestés avec *T. spiralis* étaient représentés par un ours, un renard et deux sangliers. Le loup ou le lynx sont infectés par la seule espèce *T. britovi* compte tenu de leur habitudes alimentaires strictement carnivores.

Un exemple de transmission d'espèces entre les deux cycles de *Trichinella* sévissant en Roumanie est représenté par la population d'ours de certains départements du centre du pays (Brasov, Covasna). Ces animaux ont pris l'habitude de se nourrir à partir des décharges ménagères des villes et villages. Ils s'exposent ainsi aux sources potentielles de *T. spiralis* (Aves Foundation, <http://www.ursusarctos.ro/garbage/raport.htm>).

Certains auteurs ont décrit l'existence de deux autres espèces européennes en Roumanie : *T. nativa* et *T. pseudospiralis* (Olteanu, 1996 ; (Cuperlovic et al., 2005). L'espèce *T. nativa*, a été décrite en Roumanie chez les animaux domestique et sauvages dès 1986 (Olteanu, 1986) ; la morphologie de la capsule et des larves représentait cependant les seuls critères objectifs d'identification. L'isolation en souris et l'identification n'ont pas été possible. *T. pseudospiralis* a été formellement rapportée par Garkavi en 1972. Plusieurs notes font mention de larves de *Trichinella* « libres » dans la musculature des oiseaux : (Rausch et al., 1956; Zimmermann and Hubbard, 1969). De même, Olteanu a présenté une note en 1986 avec une observation de larves musculaires libres de *Trichinella* chez un *Corvus frugilegus* lors d'une analyse trichinoscopique réalisée en 1962. Aucune autre information supplémentaire (analyse morphologique des larves, passage chez la souris) n'a cependant été rapportée pour ce cas.

Les résultats de notre étude montrent l'identification de deux espèces de *Trichinella* (*T. spiralis* et *T. britovi*) en Roumanie, confortant les rares analyses biomoléculaires effectuées sur des isolats d'origine roumaine (Pozio, 2001a; Pozio and Zarlenga, 2005). *T. nativa* n'est probablement pas présente en Roumanie, puisque l'isotherme de -4°C en janvier semble être limitant pour cette espèce. En revanche, la présence de *T. pseudospiralis* n'est pas à exclure. L'identification de cette espèce dans plusieurs pays européens le démontre bien : Italie (Pozio et al., 1999a), France (Ranque et al., 2000), Finlande (Oivanen et al., 2002), Suède (Pozio et al., 2004a), Lituanie (Malakauskas et al., 2006), Allemagne (Nockler et al., 2006), et Georgie (Pozio and Zarlenga, 2005). L'analyse menée dans une région cible (Delta du Danube) n'a cependant pas permis son isolement, le nombre de prélèvements examinés (n=186) restant encore limité.

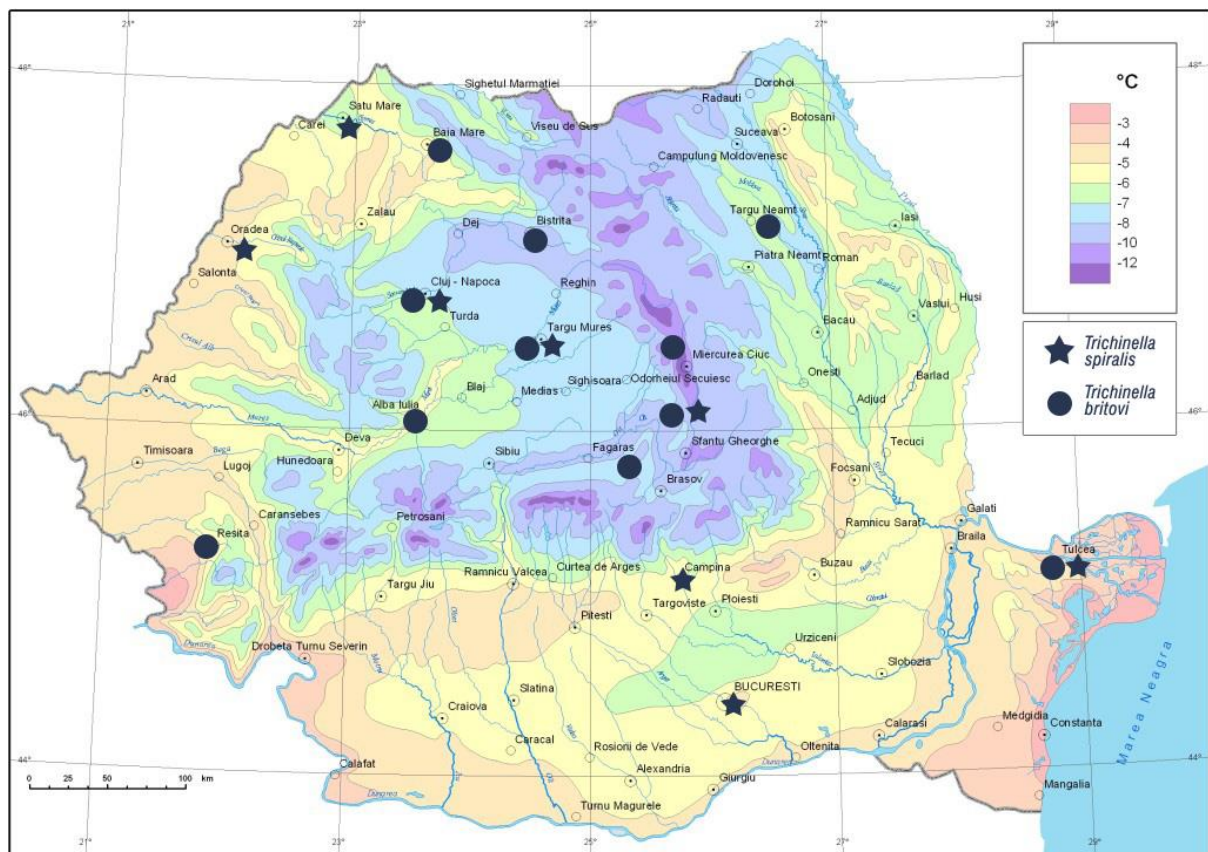


Figure 10 : Distribution des prélèvements des animaux infectés par *Trichinella* en Roumanie. Le gradient de température moyen est indiqué soulignant les régions de montagnes et de plaines. La température de janvier a été prise comme référence. Deux espèces de trichine ont été identifiées. (carte réalisée avec l'aide de l'Institut National de Météorologie et Hydrologie)

En résumé la situation retrouvée en Roumanie est similaire à celle des autres pays d'Europe Centrale et de l'Est (Cuperlovic et al., 2005; Pozio, 2001a) ou des états baltiques (Malakauskas et al., 2006). Pour l'instant peu de pays ont rapporté l'identification, sur leur territoire, des quatre espèces de *Trichinella* existantes en Europe à l'exception de la Finlande, la Lituanie, la Suède et la Russie (Pozio et Zarlenga, 2005; (Malakauskas et al., 2006). Il existe en Roumanie deux espèces identifiées chez plusieurs espèces hôtes sauvages ou domestiques : *T. spiralis* et *T. britovi*. La détection de l'espèce non-encapsulée de *T. pseudospiralis* en Roumanie, pays où la méthode officielle de détection de l'infestation à *Trichinella* reste la trichinoscopie poserait un sérieux problème de santé publique, puisque le trichinoscope ne permet pas détecter les larves de cette espèce.

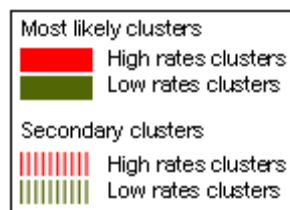
4.2.4. Comparaison de l'incidence de la trichinellose humaine et la prévalence de l'infection à *Trichinella* chez les animaux en Roumanie

Etant en possession des données épidémiologiques détaillées par départements, par année et par espèce, une comparaison entre la trichinellose humaine et les infections à *Trichinella* chez les animaux était intéressante. Celle-ci a été réalisée pour la période 1997-2004 et a révélé un paradoxe géographique (figure 11) : si l'incidence de la trichinellose est deux fois plus élevée en Transylvanie que dans le reste de la Roumanie, la prévalence de l'infection à *Trichinella* chez les porcs familiaux est deux fois inférieure en Transylvanie et huit fois inférieure pour les porcs hors-sol. Ce résultat est confirmé par l'analyse des regroupements géographiques effectués. La comparaison des regroupements humains et animaux ne révèle aucune similarité. De plus, la superposition est très limitée entre les régions à forte incidence en trichinellose humaine et les régions à forte prévalence en infection à *Trichinella* chez le porc. La situation est d'autant plus compliquée que l'étude de Cironeanu et Ispas (2002) montre que 95% des cas de trichinellose humaine proviennent de la consommation de viande de porc.

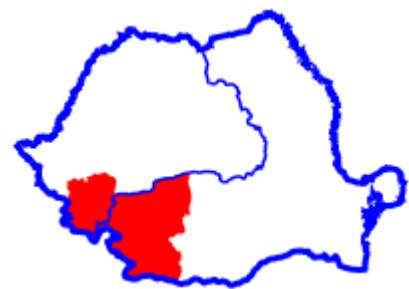
Dans cette analyse, il a été supposé que les animaux testés localement étaient consommés dans le même département, ce qui généralement est valable pour les porcs familiaux ou le gibier mais ne l'est pas forcément pour les porcs hors-sol soumis à un marché national. Les comparaisons effectuées suggèrent que la viande et son niveau d'infestation avec le parasite ne représentent pas forcément le déterminant principal de la variation géographique de l'incidence de la trichinellose. D'autres facteurs peuvent être incriminés comme les habitudes alimentaires mais également l'ampleur et l'efficacité du contrôle trichinoscopique. Le pourcentage des porcs familiaux soumis à l'examen

trichinoscopique est nettement inférieur en Transylvanie par rapport au reste du pays ce qui peut expliquer une incidence de la trichinellose plus élevée dans cette région. Les données épidémiologiques ont tendance à confirmer cette hypothèse, en particulier dans une zone réputée pour son endémicité : la vallée du Jiu en Transylvanie (département de Hunedoara). Cette zone (dominante minière de l'économie) est emblématique pour l'émergence dramatique de la trichinellose accompagnant les changements politiques du début des années 1990. Les populations rurales, qui peuplent le bassin de Jiu dans son ensemble, ont essayé de concilier leurs besoins économiques avec l'état industrialisé de la vallée en élevant des porcs familiaux. Par conséquent, les porcs familiaux ont été élevés dans des conditions d'hygiène déplorable, en plein air avec un accès aux décharges communales. Les populations locales ont eu un faible accès à l'éducation pendant cette période de trouble et ont ignoré le risque posé par la trichinellose. L'examen trichinoscopique a été très peu utilisé. Ainsi, Cristea (1998) montre que toutes les épidémies de trichinellose dans le bassin de Jiu sont dues à la viande de porc non-soumise au contrôle sanitaire-vétérinaire pour la période 1990-1997. Lors de cette comparaison, un résultat a été révélé : une région dans le nord-est de la Roumanie (la Moldavie) présente une faible incidence de la trichinellose humaine et une faible prévalence de l'infection à *Trichinella* chez le porc familial, le porc hors-sol et le sanglier. Une forte influence de la religion dans la vie sociale des habitats, avec de nombreux carêmes et abstinences de produits carnés, peut partiellement expliquer ce résultat. Des investigations épidémiologiques plus approfondies sont toutefois nécessaires.

Trichinellose humaine



Ours



Porcs abattus à domicile



Porcs abattus à l'abattoir



Sanglier



Figure 11 : Régions avec un nombre élevé et faible de cas de Trichinellose (humaine) et d'infection à *Trichinella* chez les porcs domestiques (abattus à domicile et à l'abattoir) et chez les animaux sauvages (sangliers et ours), Roumanie, 1997–2004. Ligne fine bleu : frontière de la Transylvanie

En conclusion, avec une incidence de 55,1 cas de trichinellose par million de personnes par an pour les 8 dernières années et une prévalence de 8 cas d'infection à *Trichinella* pour 10 000 porcs testés, 10 cas pour 1000 sangliers testés et 10 cas pour 100 ours testés, la Roumanie reste le pays avec la plus forte infestation à *Trichinella* au monde. La comparaison géographique de l'incidence de la trichinellose humaine avec la prévalence de l'infection à *Trichinella* chez les animaux suggère fortement l'influence d'habitudes alimentaires contrastées des populations locales sans exclure toutefois des manquements graves dans les contrôles sanitaires. L'importance des habitudes alimentaires dans l'émergence de la trichinellose humaine a été déjà démontrée en Amérique Centrale et du sud dans les pays où les habitudes culinaires d'origines espagnoles et allemandes sont présentes (Argentine, Chili ou Mexico), alors qu'au Brésil, où les habitudes culinaires d'origine portugaise sont dominantes, la trichinellose humaine est sporadique.

VALORISATION

- **Blaga R**, Gherman C, Seucom D, Cozma V, Boireau P. First identification of *Trichinella* sp. in golden jackal (*Canis aureus*) in Romania. *J Wildl Dis.* 2008 Apr;44(2):457-9.
- **Blaga R**, Cretu CM, Gherman C, Draghici A, Pozio E, Noeckler K, Kapel CM, Dida I, Cozma V, Boireau P. *Trichinella* spp. infection in horses of Romania: Serological and parasitological survey. *Vet Parasitol.* 2009 Feb 23;159(3-4):285-9.
- **Blaga R**, Durand B, Stoichici A, Gherman C, Stefan N, Cozma V, Boireau P. Animal *Trichinella* infection in Romania: Geographical heterogeneity for the last 8 years. *Vet Parasitol.* 2009 Feb 23;159(3-4):290-294.
- **Blaga R**, Gherman C, Cozma V, Zocevic A, Pozio E, Boireau P. *Trichinella* species circulating among wild and domestic animals in Romania. *Vet Parasitol.* 2009 Feb 23;159(3-4):218-221.

*L'approche une seule Santé ne peut se faire que par une étroite collaboration entre le monde médical, vétérinaire et celui des décisionnaires (administrations, ministères, etc.), afin d'améliorer la santé publique et nécessite une compréhension approfondie des mécanismes qui les gouvernent. Travailler sur un parasite transmis par la viande, *Trichinella* spp., m'a permis d'acquérir, dans ce domaine (une seule Santé), une certaine expérience, qui a pu être mise à profit pour un autre parasite transmis par la viande (et autres aliments : végétaux et eau). En effet, à la suite de mon recrutement au sein de l'UMR BIPAR, mes recherches se sont focalisées sur *Toxoplasma gondii*. Ces travaux sont détaillés dans le chapitre suivant.*

5. Coopération médico-vétérinaire et prévalence de la toxoplasmose animale en France

*Suite à mon recrutement en tant qu'enseignant-chercheur au sein de l'ENVA et du laboratoire de Santé Animale de l'ANSES, et plus particulièrement à l'UMR BIPAR en mars 2010, j'ai pu continuer l'approche une seule Santé appliquée aux parasites zoonotiques transmis par les aliments, et plus spécifiquement sur *Toxoplasma gondii*. De ce fait, cette partie de mémoire est dédiée aux résultats obtenus depuis, en tant que **responsable de la thématique Toxoplasma**, au sein de l'équipe Parasites zoonotiques transmis par les aliments (Paralim) appartenant à l'UMR BIPAR. L'objectif général de mes recherches pendant cette période est d'estimer le niveau de contamination des viandes pour mieux comprendre l'épidémiologie humaine et ainsi contribuer à la réduction de la contamination humaine par des mesures de prévention.*

*Durant cette période, j'ai initié et/ou participé à six **projets** nationaux et cinq européens, en tant que coordinateur (7) ou partenaire avec des fonctions de responsabilité (WP/task leader) (2). J'ai participé à l'**encadrement** de quatre stages de Master 2 Recherche, un stage de thèse d'université (Maria NEDISAN, 2 mois, 2019) et une thèse d'université (Vitomir DJOKIC, 2013-2016 ; 85%). J'encadre actuellement une autre thèse d'université (Filip DAMEK, 90%), avec Pascal BOIREAU pour la partie administrative UPEC (10%), sur un projet One Health EJP (coordinateur Radu BLAGA). Cette thèse a débuté en 2019. Les **collaborations** entreprises pendant cette période sont celles qui m'ont permis de me retrouver dans plusieurs consortiums européens, tout en maintenant les connexions avec la Chine (Liu MingYuan, Fu BaoQuan) et les Etats Unis (Benjamin Rosenthal).*

*Concernant la **valorisation**, mes recherches ont fait l'objet de 18 articles (dont 4 en premier auteur ; 1 en dernier auteur) dans des revues internationales à comité de lecture ; 2 articles dans des revues nationales à comité de lecture ; 5 articles destinés aux professionnels ; 14 communications orales à des congrès internationaux et 4 dans des congrès nationaux ; 19 communications affichées dans des congrès internationaux.*

Un groupe de travail multidisciplinaire constitué au sein de l'Agence française de sécurité des aliments (Afssa, devenue Anses) en 2005, a effectué un état des lieux des connaissances sur la toxoplasmose en France et à l'étranger (rapport Afssa, décembre 2005). Le manque de données disponibles concernant la présence de *T. gondii* dans les aliments et l'absence de système de surveillance des denrées alimentaires en France ont été mis en évidence. Aucune enquête n'a été réalisée en France à grande échelle chez l'animal depuis plus de dix ans. C'est ainsi qu'en 2007, 2009 et 2013, la Direction générale de l'alimentation (DGAI), du ministère de l'Agriculture a successivement financé des plans de surveillance de la contamination par *T. gondii* des viandes ovines, bovines et porcines consommées en France. Ces trois types de viandes occupent les premières places en termes de consommation humaine et risques liés à la toxoplasmose : le porc (34,7 kg/an), le bœuf (26,2 kg/an), et les petits ruminants (3,9 kg/an). L'objectif principal de ces plans de surveillance était de mieux comprendre l'épidémiologie de l'infection humaine en France en estimant la prévalence du parasite dans les viandes destinées à la consommation humaine. Ces plans ont été réalisés grâce à une étroite coopération entre l'équipe de vétérinaires du Laboratoire National de Référence Parasites zoonotiques transmis par les aliments (Anses, Maisons-Alfort) dirigé par moi-même et le Centre National de Référence de la Toxoplasmose (Reims) dirigé par le Pr. Isabelle Villena.

Toujours dans le cadre de cette collaboration et en lien avec les plans de surveillance précédemment cités, une seconde étude a été réalisée sur le risque lié à la consommation de viande chevaline crue issue de chevaux importés. Cette pratique a été récemment décrite. Ainsi, une alerte sur la consommation de viande de cheval a été donnée en 2012 par le CNR suite au recensement de trois cas graves dont un mortel de toxoplasmose liés à la consommation de viandes importées d'Amérique du Sud. (Pomares *et al.*, 2011). Cette alerte nous a permis d'initier des recherches effectuées au Laboratoire National de Référence Parasites zoonotiques transmis par les aliments, (Anses, Maisons Alfort) en collaboration avec le CNR. Un plan de contrôle de viandes chevalines importées a été mis en place (mené en 2012-2013 au poste d'inspection frontalier d'Orly), ainsi que la rédaction d'une lettre d'information par l'InVS à la DGS (le 5 mars 2013).

Enfin, une dernière étude a été initiée dans le cadre de cette coopération médico-vétérinaire. Elle a été réalisée dans un cadre plus large, au sein d'un consortium européen. Cette association d'instituts de recherche, pilotée par le RIVM des Pays-Bas (Joke van der Giessen), a répondu à un appel à projet de la part de l'Agence Européenne de Sécurité Sanitaires des Aliments (EFSA) sur la relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de l'infection à *Toxoplasma gondii* chez les animaux et leur possibilité de transmission chez l'humain.

5.1. Surveillance de la contamination des viandes destinées à la consommation humaine

5.1.1. Contamination de la viande bovine par *Toxoplasma gondii*

Suite à une étude précédente et en utilisant un plan d'échantillonnage basé sur les données de production de viande ovine et des tests innovants pour la détection d'anticorps et l'isolement des parasites (Halos et al., 2010), la présente étude, menée selon les mêmes principes d'échantillonnage et de dépistage, visait à étudier la séroprévalence nationale de *T. gondii* dans la viande bovine consommée en France. La séroprévalence calculée doit, de ce fait, être considérée comme la valeur la plus représentative de l'infection à *T. gondii* dans la viande bovine en France, quelle que soit la provenance des animaux (abattus en France ou importés). Actuellement, la France est l'un des plus grands producteurs de viande bovine en Europe, mais l'importation de 300 000 tonnes par an reste nécessaire (Chatellier, 2017). Il était initialement prévu de collecter un large panel d'échantillons issus d'importation. Cependant, des échantillons provenant de certains pays exportateurs comme l'Espagne et le Brésil n'ont pu être recueillis. Les importations de l'Espagne et du Brésil représentent, respectivement, 7,5% et 0,8% des importations totales. Le niveau d'échantillonnage reste toutefois acceptable puisqu'il représente 90,7% des importations totales. La séroprévalence globale de *T. gondii* dans les carcasses de bovins était de 17,38% (Chatellier, 2017 ; Dubey, 1986 ; Dubey et Thulliez, 1993) avec un titre-seuil de 6. Ce résultat est conforme aux résultats obtenus précédemment en France (Gilot-Fromont et al., 2009 ; Rozette et al., 2005), dans d'autres pays européens (Espagne : 18,6% (Almeria et al., 2018), Estonie 18,62% (Jokelainen et al., 2017)), ou ailleurs dans le monde (Sénégal : 13%, (Davoust et al., 2015)), avec la même technique et en testant un nombre élevé d'échantillons (>1000). Cependant, la séroprévalence chez les bovins est très variable dans le monde, allant de 0% à 92% (Dubey et al., 2010). Cette variation est due à un grand nombre de facteurs, tels que le climat, la gestion du troupeau, la population de chats, la procédure d'échantillonnage ou les outils de diagnostic (Gilot-Fromont et al., 2009, Klun et al., 2006 ; Olsen et al., 2019). Par conséquent, afin de limiter un biais dans la comparaison d'études, nous avons utilisé la technique MAT dont sa supériorité par rapport aux autres techniques a déjà été démontrée (test de Sabin-Feldman, agglutination au latex, hémagglutination indirecte) pour le dépistage sérologique des bovins (Dubey et al., 1985). Le choix d'un seuil bas (titre 6) était justifié dans notre cas par (a) notre objectif : isoler les parasites viables de *T. gondii*, en considérant à l'époque, que les parasites viables devaient être présents principalement chez les animaux séropositifs; (b) chez les bovins, on peut trouver généralement des titres très bas, mais dans notre cas, le titre le plus élevé était de 400, la plupart des animaux (559/598) ayant un titre inférieur à 50 ; et (c) la décision de travailler sur le fluide musculaire (cardiaque/diaphragme), représentant une matrice d'anticorps à faible concentration par rapport au sérum. Par conséquent,

notre titre correspond à un titre plus élevé dans le sang/les sérums. Un rapport de 10 fois entre les deux matrices a été suggérée dans une étude comparant le jus de viande et le sérum pour la détection de *Trichinella* (Nockler et al., 2005).

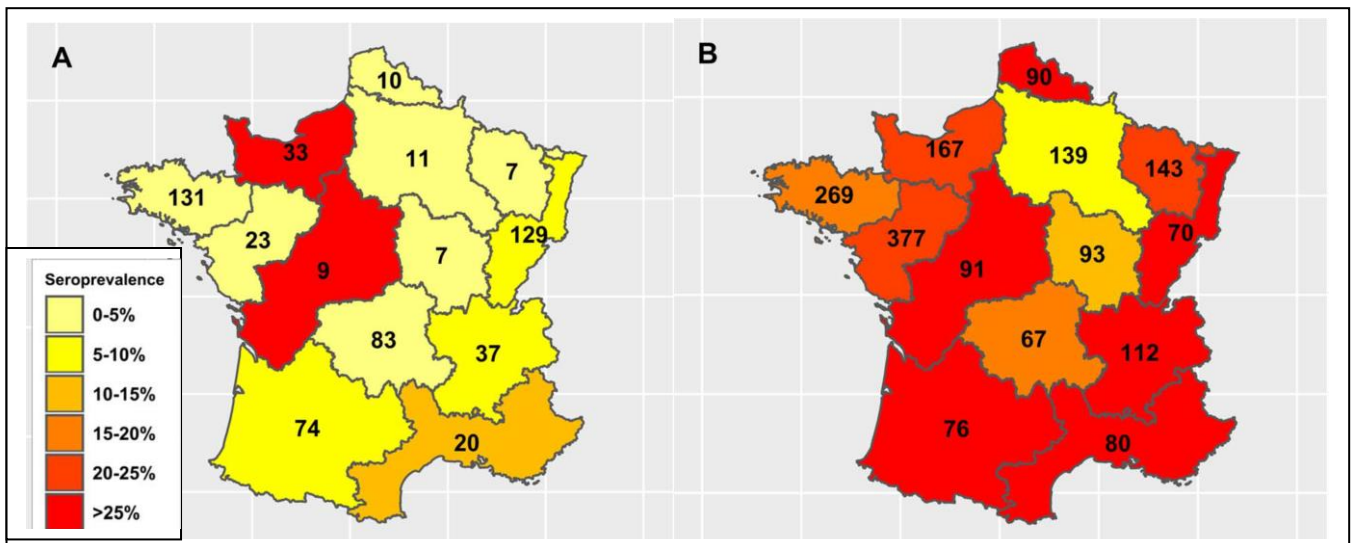


Figure 12 : Séroprévalence de l'infection à *Toxoplasma gondii* chez les veaux (A) et chez les adultes (B) en France

Une influence significative de l'âge (adultes/veaux) a été observée avec une séroprévalence de 5,34 % [2,49-11,09] pour les veaux (animaux de moins de 8 mois) et de 23,12 % [17,83-29,40] chez les adultes (animaux de plus de 8 mois) avec un titre/seuil de 6 (Figure 12, et tableau 3). La différence d'âge était valable pour les deux types d'échantillons français et importés, et pour toutes les régions françaises à l'exception de la Normandie et du Centre-Poitou Charentes, où une séroprévalence plus élevée a été observée chez les veaux. Cependant, cette différence n'était pas significative au vu des intervalles de confiance. Cette différence pourrait être due au faible nombre d'animaux (33 et 9, respectivement) ou à une source commune d'infection. Les différences de séroprévalence entre les veaux et les adultes peuvent être liées à l'infection par voie orale, les animaux plus âgés étant exposés au parasite sur une période plus longue. La séroprévalence globale et la différence d'âge significative dans la séroprévalence chez les bovins, suivent le même schéma que celui qui a déjà été observé en France pour d'autres espèces d'animaux de production (Djokic et al., 2016 ; Halos et al., 2010). Néanmoins, les pourcentages étaient significativement plus élevés pour les autres ruminants (ovins), tant pour la viande adulte (81%) que pour celle des agneaux (15%). La collecte d'échantillons français, et les données associées, a permis d'analyser l'effet de plusieurs paramètres : l'âge et le sexe des animaux, l'origine géographique et le niveau de production de viande bovine dans la région où l'échantillon a été prélevé. D'autres paramètres tels que les variations saisonnières, les caractéristiques du troupeau et la gestion du troupeau n'ont pas été pris en compte

A.						
Prévalence et IC 95%	6	10	25	50	100	200
Prélèvements français N=2349*	16.96 [11.91 - 23.56]	7.77 [4.91 - 12.09]	3.93 [1.90 - 7.95]	1.58 [0.54 - 4.52]	0.96 [0.30 - 3.05]	0.52 [0.12-2.17]
Prélèvements importés N=563	19.75 [7.88 - 41.48]	15.52 [6.32 - 33.32]	11.15 [3.54 - 30.04]	0.57 [0.07 - 4.33]	0.38 [0.05 - 2.91]	0.38 [0.05 - 2.91]
Total N=2912*	17.38 [12.73 - 23.26]	8.93 [5.97- 13.17]	5.01 [2.73 - 9.02]	1.43 [0.53 - 3.81]	0.87 [0.30 - 2.49]	0.50 [0.14 - 01.74]
B.						
Prélèvements français N=574	5.06 [1.79 - 13.50]	2.44 [0.35 - 14.94]	1.27 [0.17 - 8.89]	0.61 [0.08 - 4.68]	0.01 [0.00-0.12]	0
Prélèvements importés N=225	6.34 [4.94 - 8.10]	5.17 [3.28 - 8.06]	3.67 [1.59 - 8.22]	0	0	0
Total N=799	5.34 [2.49 - 11.09]	3.03 [0.89 - 9.82]	1.78 [0.56 - 5.51]	0.48 [0.06 - 3.55]	0.01 [0.00 - 0.09]	0
C.						
Prélèvements français N=1774	22.00 [16.16 - 29.22]	10.03 [7.22 - 13.79]	5.05 [2.76 - 9.07]	1.99 [0.76 - 5.10]	1.36 [0.42 - 4.34]	0.74 [0.17 - 3.11]
Prélèvements importés N=338	31.41 [19.23 - 46.83]	24.51 [15.38 - 36.72]	17.65 [7.51 - 36.14]	1.07 [0.20 - 5.51]	0.71 [0.13 - 3.71]	0.71 [0.13 - 3.71] ***
Total N=2112	23.12 [17.83 – 29.40]	11.75 [8.51 - 16.00]	6.55 [3.78 – 11.12]	1.88 [0.78 – 4.46]	1.28 [0.45 – 3.64]	0.73 [0.21 – 2.54]

Légende : % de prévalence, IC 95 % : intervalle de confiance à 95 % de la prévalence ; * 1 information manquante (adultes/veaux), 1 est ajouté au total
***aucun titre à la dilution 100 (mais à 200 ou 50)

Tableau 3 : La prévalence globale de l'infection à *Toxoplasma gondii* chez les bovins (A), veaux (B) et adultes (C) consommés en France en fonction du titre terminal (6 ; 10 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200). Un seul échantillon positif au titre terminal de 400 (adulte d'origine française).

pour plusieurs raisons : la période de temps était limitée (6 mois) ; l'objectif de notre étude était d'estimer la séroprévalence de l'infection par *T. gondii* dans la viande bovine consommée en France et non dans la population bovine de France. Néanmoins, les analyses statistiques révèlent que le facteur principal expliquant les variations de la séroprévalence observées est l'âge de l'animal (à un titre/seuil de 6) avec une relation non linéaire (Figure 13). Une relation non-linéaire a toujours été trouvée entre l'âge et la séroprévalence, peu importe le seuil, suggérant l'absence d'une immunité à vie et la possibilité d'une réinfection par *T. gondii* chez les bovins.

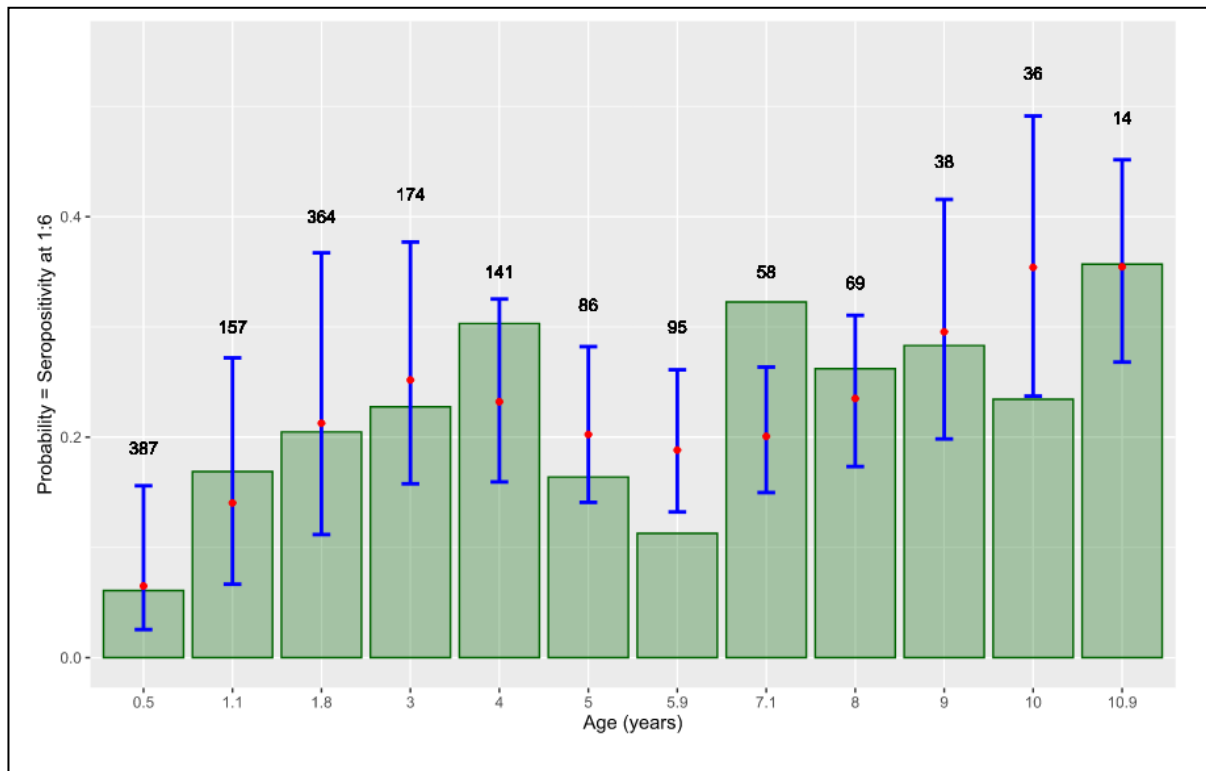


Figure 13 : Comparaison des valeurs observées et des valeurs prédites par le modèle final en fonction de l'âge. Les valeurs observées sont représentées par les barres vertes. Le point rouge représente la moyenne des valeurs prédites (prédiction moyenne) et le segment bleu l'intervalle de confiance de 95%. Le nombre au-dessus du segment bleu est le nombre d'observations pour cette classe d'âge particulière.

Un résultat similaire a été mis en évidence dans une étude récente en Estonie (Jokelainen et al., 2017), où la séroprévalence a augmenté jusqu'à l'âge de 5 ans (60-71 mois). Puis la linéarité entre l'âge et la séroprévalence n'a plus été observée. Le fait que les anticorps ne persistent pas chez les bovins, comme l'ont déjà démontré Dubey et Thulliez, 1993 et Gilot-Fromont et al. 2009, pourrait être une première explication. Cependant, chez d'autres espèces comme le mouton (Dubey, 2009), le porc (Djokic et al., 2016) et d'autres animaux (Dubey, 2010), les anticorps peuvent persister plusieurs années. Une autre explication pourrait être que les animaux séropositifs aient été abattus plus tôt, et par conséquent,

l'infection par *T. gondii* a pu être associée négativement à la longévité (Jokelainen et al., 2017). De plus, il a été montré que la présence de chats modifiait la relation âge-séroprévalence (Gilot-Fromont et al., 2009). Ce facteur n'a pu être testé ici. Notre population est probablement constituée d'un mélange d'animaux avec ou sans présence de chats. Par ailleurs, aucune relation claire n'a été établie entre le titre terminal et l'âge pour les veaux ayant des titres faibles et des adultes avec des titres élevés, ou l'inverse. Dans notre population, les titres élevés (>50) ont été trouvés chez les animaux de moins de 10 ans, avec des titres faibles, tandis que chez les animaux plus âgés (>10 ans), nous n'avons trouvé que des titres faibles (<50) (Figure 14).

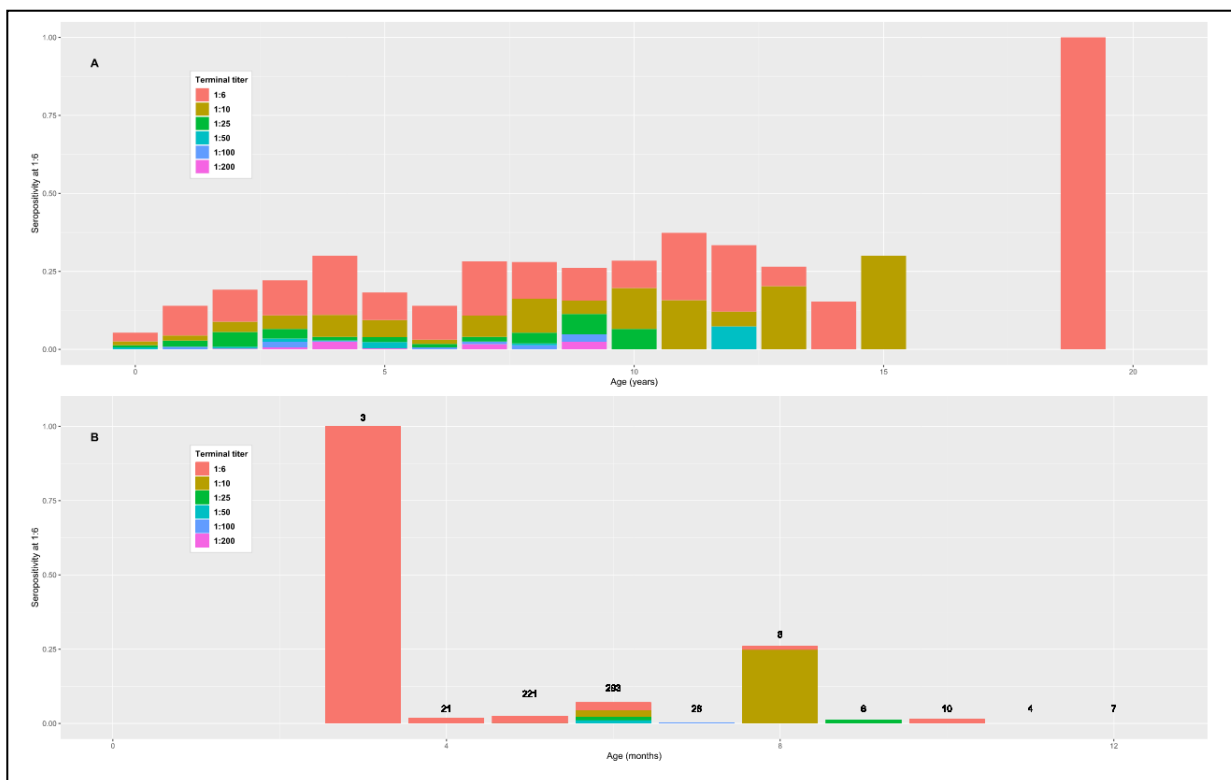


Figure 14 : Titre final de l'ADHS pour les échantillons d'origine française en fonction de l'âge pour (A) l'ensemble des échantillons (n = 2348) (âge en années) ; (B) uniquement les bovins de moins de 1 an (n = 601) (âge en mois). Le nombre d'observations à chaque catégorie d'âge est indiqué en haut de la barre correspondante.

A notre connaissance, aucune autre étude récente n'a examiné cette relation. Par conséquent, seules des spéculations sur la perte d'immunité chez les bovins plus âgés pourraient expliquer ce phénomène, comme cela a été mentionné précédemment (Dubey and Thulliez, 1993 ; Gilot-Fromont et al., 2009). En ce qui concerne les animaux de moins d'un an, on peut clairement constater que les veaux d'environ 3-4 mois sont positifs à des titres faibles (6). Cependant, ce résultat ne concerne qu'un petit nombre d'animaux, tandis que les animaux âgés de 6 à 9 mois se sont révélés positifs à divers titres (élevés et faibles), suggérant la détection/présence d'anticorps maternels (3-4 mois) et la

première infection par *T. gondii* (6-9 mois), avec la diminution de l'immunité maternelle. Des situations similaires avec la diminution des anticorps maternels et la première infection naturelle par *T. gondii* révélée par des titres d'anticorps plus élevés se retrouvent chez d'autres espèces animales, comme les moutons (Waldeland, 1977) ou les porcs (Djokic et al., 2016). En comparant les estimations de séroprévalence données par zone d'abattage et zone de naissance, une variation a été observée, montrant que les zones présentant la séroprévalence la plus élevée n'étaient pas les mêmes entre ces deux variables. Ceci est vrai pour les adultes et l'ensemble des bovins (veaux + adultes). Pour les veaux, le nombre d'analyses positives était trop faible pour poursuivre la comparaison. L'une des hypothèses pour expliquer cette variation est celle des échanges commerciaux : une séroprévalence similaire entre la zone de naissance et la zone d'abattage devrait être trouvée uniquement au niveau local, et non dans le cas où le niveau est national, lorsque des échantillons sont prélevés sur des animaux qui sont potentiellement nés dans la région A, élevés dans la région B et abattus dans la région C. Cette hypothèse est également soutenue par une récente étude britannique (Hosein et al., 2016), qui montre que le nombre de sites de transit pour un animal avant l'abattage varie de 1 à 15 (médiane 3), multipliant les possibilités d'infection par oocystes de *T. gondii*, et rendant relativement impossible l'identification du site d'infection. Une situation similaire pourrait également être présente en France. De plus, l'âge de l'abattage peut être considéré comme un facteur confondant pour comparer les différentes régions. Notre étude nous a permis d'observer que plusieurs régions (Aquitaine, Midi Pyrénées, Nord-Pas de Calais), pour lesquelles la séroprévalence était élevée chez les animaux adultes (viandes préférentiellement consommées crues ou peu cuites ; bleues ou saignantes), correspondaient à celles pour lesquelles la séroprévalence était également élevée chez l'homme (Berger-Schoch et al., 2010 ; Tourdjman et al., 2015). Nos résultats sont en accord avec l'étude précédente de Halos et al., 2010, identifiant des régions de concordance ou corrélation entre la séroprévalence de *T. gondii* chez l'homme et chez l'agneau, l'agneau représentant l'autre type de viande ingérée peu cuite (agneau rosé) en France. Néanmoins, aucun lien direct ne peut encore être établi entre la présence de *T. gondii* chez les animaux de production et la toxoplasmose humaine, sauf si l'on suppose que la viande produite localement est consommée localement (très peu probable). En revanche, d'autres régions présentant une séroprévalence élevée chez les animaux adultes (Rhône-Alpes, Centre-Poitou Charentes) ne présentent pas une séroprévalence élevée chez les humains. Par conséquent, la concordance entre la séroprévalence de *T. gondii* chez les humains et les bovins dans plusieurs régions de France doit être interprétée avec prudence, car elle reste inexpiquée. Elle pourrait être due à une circulation plus intense du parasite dans certaines régions. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour d'autres régions.

En ce qui concerne les bio-essais et l'isolement du parasite, plusieurs paramètres doivent être pris en compte : seulement un nombre limité d'échantillons (209/2349) a pu être testé, réduisant ainsi notre

analyse sur la prévalence des kystes tissulaires viables de *T. gondii* dans la viande bovine consommée en France; les tests biologiques sur les souris sont moins sensibles que ceux réalisés sur les chats (Dubey et Beattie, 1988), et en particulier dans les cas où le digestat de cœur entier n'a pas pu être entièrement inoculé ; nos résultats sous-estiment probablement la prévalence parasitologique réelle/effective dans le bœuf, puisque nous avons surtout testé des animaux sérologiquement positifs (200/209). Ceci a été fait en se basant, à l'époque, sur les résultats de l'enquête sur les ovins (Halos et al., 2010), où la probabilité d'obtenir des parasites viables augmentait avec le titre et l'âge. Entre-temps, dans une étude portant sur un nombre limité de bovins (n = 100), les auteurs ont identifié deux résultats positifs par PCR, alors que les échantillons correspondants (en sérologie MAT) étaient négatifs (seuil 1:40). De même, trois résultats positifs pour le MAT correspondaient à des résultats négatifs pour la PCR (Opsteegh et al., 2011). Dans une autre étude récente portant sur 167 veaux et 235 adultes, les auteurs ont démontré que les tests sérologiques par MAT ou immunoblot p30 ne fournissaient pas de résultats fiables quant à la présence de parasites ou d'ADN de *T. gondii* chez les bovins (Opsteegh et al., 2019). Cependant, dans notre cas, deux souches (1%) ont été isolées à partir d'échantillons de cœur de bovins ayant un faible titre de MAT, s'ajoutant au nombre limité d'isolements à partir de cette matrice (Belluco et al., 2016; Dubey, 1992 ; Opsteegh et al., 2011 ; Opsteegh et al., 2019). La présence de parasites vivants dans le cœur d'un bovin infecté de façon naturelle n'indique pas leur présence dans d'autres parties des carcasses qui seront consommées. Néanmoins, des études antérieures ont montré la persistance de *T. gondii* viable dans les tissus susceptibles d'être consommés, y compris le cœur, après une infection expérimentale avec des oocystes (Dubey et Thulliez, 1993). Une connaissance précise de la distribution du parasite dans les carcasses de bovins est encore nécessaire (Costa et al., 2011 ; de Macedo et al., 2012). Des résultats similaires ont été obtenus précédemment pour la viande ovine consommée en France, avec une prévalence significativement plus élevée de l'isolement des souches (5,4 %) à partir des carcasses fraîches (Halos et al., 2010). Les animaux de cette étude ont été échantillonnés en 2009, et il convient de souligner que la situation épidémiologique peut avoir changé depuis. Néanmoins, les échantillons ont été collectés et analysés de manière comparative avec les enquêtes nationales sur les moutons et les porcs (Djokic, et al., 2016 ; Halos et al., 2010).

En résumé, nos résultats indiquent qu'il y a un risque d'infection humaine à *T. gondii* suite à la consommation de viande bovine en France, qui doit encore être corrélé avec l'habitude alimentaire de consommer des viandes insuffisamment cuites (viande bleue ou saignante). Cependant, de nouvelles questions ont émergé concernant spécifiquement l'isolement des parasites à partir de la viande bovine et le rôle précis des bovins dans l'infection humaine. Les bovins sont généralement décrits comme des hôtes médiocres pour *T. gondii*.

5.1.2. Contamination de la viande porcine par *Toxoplasma gondii*

Cette étude représente la première étude nationale qui prend en compte la production porcine hors-sol et plein-air ainsi que les données de consommation pour construire la stratégie d'échantillonnage. Les résultats de cette enquête transversale sur *T. gondii* chez les porcs abattus en France montrent des valeurs de prévalence ajustées de 3,0% dans les élevages intensifs et de 6,3% dans les élevages de plein air (Figure 15). Des études en Espagne et au Portugal, utilisant le même test (MAT), ont montré, respectivement, une prévalence de 16,6% et 9,8% (Garcia-Bocanegra et al., 2010 ; Lopes et al., 2013) tandis qu'en Suisse, en utilisant un ELISA, Berger-Schoch et al. ont montré une prévalence de 23% (Berger-Schoch et al., 2011). La prévalence la plus élevée en Europe a été récemment rapportée en République Tchèque avec une prévalence de 36% chez les porcs d'élevage intensif (Bartova et Sedlak, 2011). En Roumanie, elle a été estimée à 30,5% chez les animaux d'extérieur (Pastiu et al., 2013). Dans l'analyse des facteurs de risque, nous avons trouvé que l'âge et le type d'élevage sont associés à la positivité de *T. gondii*. L'âge est souvent considéré comme un facteur de risque majeur pour l'infection à *T. gondii* chez les porcs, car les animaux plus âgés ont plus de risques de contracter une infection dans un délai plus long (de Sousa et al., 2014 ; Halos et al., 2010 ; Halova et al., 2013 ; Klun et al., 2011 ; Villari et al., 2009). L'étude actuelle indique également que les catégories d'âge plus jeunes (porcelets et porcs d'engraissement) sont plus protégées que les animaux reproducteurs. En effet, les porcelets sont abattus très jeunes (jusqu'à 45-60 jours de vie -25kg) à une période où leurs intestins et leur système immunitaire ne sont pas suffisamment développés et la possibilité d'infection est faible. Au cours de cette période, les porcelets sont principalement nourris par la tétée, pouvant entraîner la détection d'anticorps maternels. Même si elle était possible, l'infection serait non-délectable par les méthodes de détection actuelles en raison de la courte période de son développement. Chez le porc, après le développement complet des intestins (plus de 21 jours), l'infection peut être détectée par sérologie après une ou deux semaines d'infection expérimentale (Lind et al., 1997). La contamination des porcelets sans possibilité de détection entraînerait plus tard la détection d'anticorps et de parasites chez les porcs d'engraissement. De plus, dans notre étude, sur 11 porcelets sur lesquels nous avons essayé d'isoler des parasites, aucune souche n'a été isolée (0%) ; sur 98 porcs d'engraissement, 27 souches (27,55%) ont été isolées, et sur 51 truies, 14 souches (27,45%) ont été isolées. Étant donné que de nombreux élevages de porcelets disposent de parcs extérieurs seulement pour les jeunes, ces installations sont également plus vulnérables aux rongeurs et à l'accès des chats (AFSSA, 2005). Par conséquent, les porcelets peuvent importer des oocystes infectieux qui, après le toilettage par la mère, peuvent infecter la truie ou provoquer une infection en période et/ou fin de sevrage, après la maturation du système digestif. Un seul oocyste suffit à produire une infection chez les porcs (Dubey et al., 1996). Une prévalence élevée chez les porcs plein-air est courante, si l'on tient compte du fait que les porcs

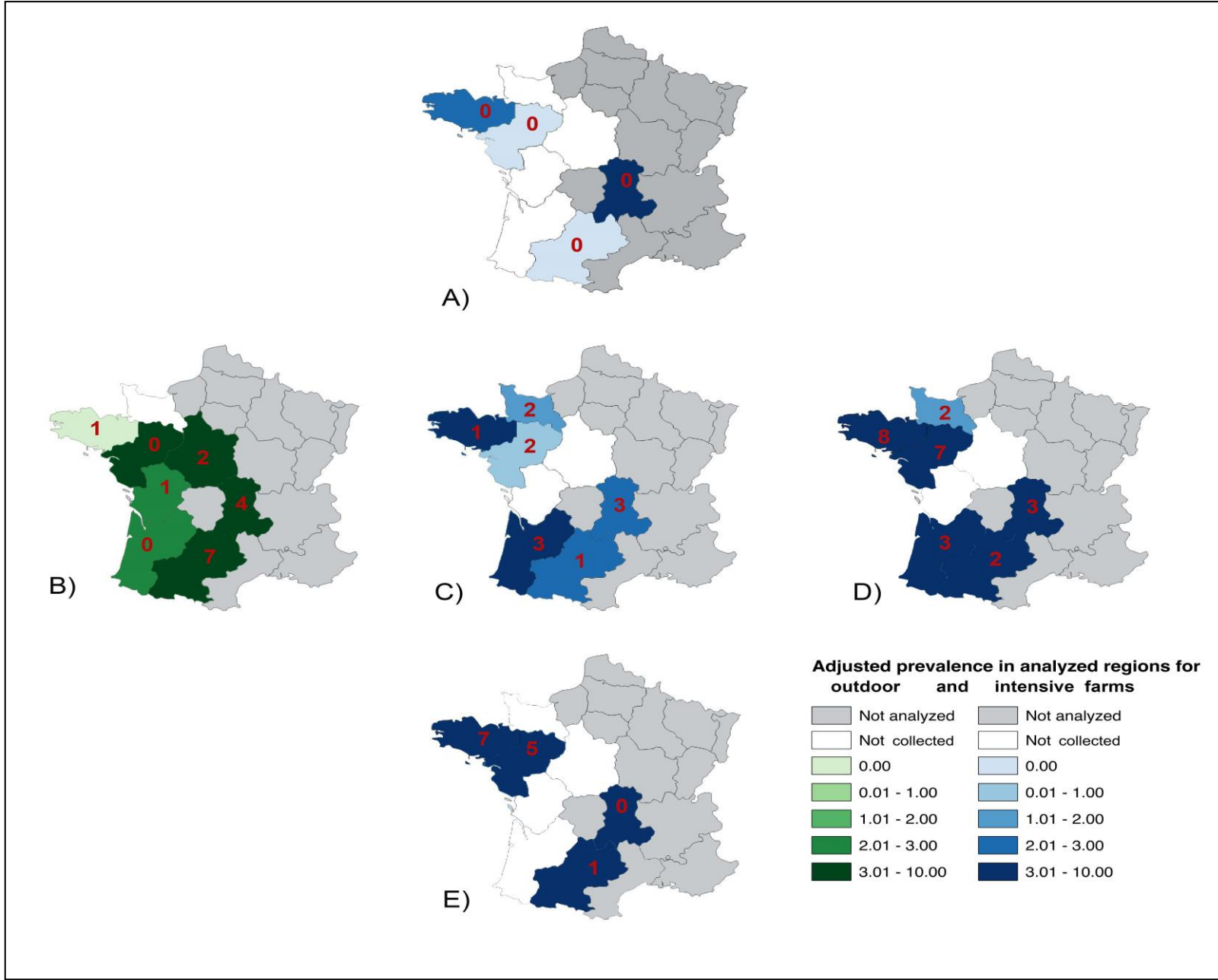


Figure 15 : Séroprévalence ajustée de *Toxoplasma gondii* et isolement de souches selon les catégories de production et d'âge dans les régions analysées. La séroprévalence ajustée (calculée en pourcentage) est présentée selon : 1. Catégories de production : élevage plein air - B (en vert) et élevage hors-sol - A, C, D, E (en bleu) ; 2. les catégories d'âge : A - porcelets, B et C – porcs d'engraissement, E - truies. Le nombre de souches isolées dans chaque catégorie par région est écrit en rouge. Pour les porcs hors-sols, la somme de toutes les classes d'âge est calculée sur la carte D. La comparaison n'a été faite qu'entre B et C, où la prévalence est nettement plus élevée. La prévalence est nettement plus élevée chez les porcs plein air que chez les porcs hors-sols. Le nombre le plus élevé de souches provient des porcs d'engraissement élevés en plein air.

plein-air sont plus exposés à la contamination environnementale (fèces de chat, rongeurs et nutriments contaminés), ainsi qu'aux contaminants potentiels des élevages intérieurs. En Europe, la prévalence varie de 5,6 % aux Pays-Bas (van der Giessen et al., 2007), 17,6 % en Lettonie (Deksne et Kirjusina, 2013) et 23 % en Suisse (Frey et al., 2012). Sur d'autres continents, la prévalence augmente, atteignant 27 % dans le sud de la Chine (Zhou et al., 2010a), 37,8 % en Argentine (Venturini et al., 2004), 45,3 % au Mexique (Alvarado-Esquivel et al., 2014) et dans le nord des États-Unis où Dubey et al. ont trouvé une prévalence de 90 % dans deux fermes biologiques (33 animaux) (Dubey et al., 2012). Seul Berger-Schoch et al., en Suisse n'a pas montré de différence statistiquement significative entre les systèmes d'élevage en intérieur et en extérieur (Berger-Schoch et al., 2011). Cette étude a une fois de plus montré un risque accru d'infection chez les porcs élevés en plein air, pouvant s'expliquer par une plus grande possibilité de contamination de l'environnement par des oocystes de *T. gondii* (Feitosa et al., 2014 ; Jiang et al., 2014) ou, s'il n'y a pas de chats, par une incidence plus élevée de porcs ayant des contacts avec des rongeurs, surtout si le contrôle des rongeurs est absent (Garcia-Bocanegra et al., 2010 ; Piassa et al., 2010). La séroprévalence plus élevée chez les porcs d'extérieur indique une charge parasitaire plus importante. Il est inquiétant de constater qu'une souche ait été isolée chez des animaux séronégatifs, comme cela a déjà été signalé, en Europe, au Portugal, en Irlande et en Slovaquie (Esteves et al., 2014 ; Halova et al., 2013 ; Turcekova et al., 2013) et aux États-Unis (Dubey et al., 2012 ; Lehmann et al., 2003). Cela peut être interprété comme un manque de sensibilité des méthodes de détection disponibles. Compte tenu de la rapidité de la période d'engraissement, le temps qui s'écoule entre l'infection du porc et le développement de la réaction immunologique pourrait être très limité et, pour les méthodes existantes, indétectable. De nouveaux outils de diagnostic sont donc nécessaires pour détecter les infections précoces chez les porcs et permettre des études d'évaluation des risques plus précises. Le génotypage RFLP a montré que les souches de type II ont une prévalence de 100% chez les porcs en France, ce qui correspond à la majorité des souches trouvées chez les moutons (Halos et al., 2010) et les bovins abattus en France (données non publiées). Le type II était également le plus répandu dans d'autres pays européens : porcs du Portugal et de Slovaquie (de Sousa et al., 2006 ; Turcekova et al., 2013), moutons de Suisse et de Serbie (Frey et al., 2012 ; Markovic et al., 2014) mais aussi chats d'Allemagne (Schaes et al., 2008).

En résumé, la prévalence décrite de *T. gondii* chez les porcs élevés et abattus en France fournit une preuve supplémentaire de la contamination étendue par ce parasite indépendamment des systèmes d'élevage. Par conséquent, des mesures de prévention innovantes sont nécessaires pour réduire la charge parasitaire chez les porcs et le risque zoonotique. Bien que plus souhaitables du point de vue du marché, les porcs élevés en plein air sont toujours plus exposés à la contamination environnementale. Cependant, l'isolement des parasites chez les porcs provenant d'exploitations hors-

sol confirme que, dans ces conditions, les mesures de confinement zootechniques ne sont pas suffisantes pour permettre l'étiquetage de la viande de porc exempte de toxoplasme sur les marchés.

5.1.3. Etude du portage de *Toxoplasma gondii* dans les viandes d'origine chevaline importées par le poste d'inspection frontalière de Roissy

Un peu plus de 15.600 tec (tonnes équivalents carcasses) de viande chevaline sont consommées en France par an. Un total de 86 % de la viande chevaline consommée en France provient de l'étranger, avec une forte représentation du continent américain (Canada, Argentine, Mexique). Sa consommation crue ou très peu cuite (saignante), représente le danger majeur pour la transmission de la toxoplasmose et de la trichinellose chez l'Homme (Boireau et al., 2000 ; Pomares et al., 2011). L'implication de la viande de cheval dans la contamination humaine a été retrouvée dans plusieurs cas entre 2008 et 2010 selon le CNR *Toxoplasma*. Ainsi un sujet de 74 ans a notamment présenté une forme gravissime de toxoplasmose, présentant un tableau de pneumopathie. Par ailleurs un enfant, dont la mère avait consommé de la viande de cheval crue pendant la grossesse, a développé une toxoplasmose congénitale [38]. L'identification moléculaire par PCR des souches isolées pour ces deux cas a révélé la présence des génotypes atypiques, notamment pour le premier cas un génotype canadien et pour le deuxième cas un génotype brésilien. Ainsi, les viandes importées pourraient représenter un risque de contamination plus sévère par la présence de génotypes atypiques plus virulents pour l'homme à l'origine de toxoplasmose sévère ou possiblement de recontamination par une souche virulente entraînant une pathologie chez un patient antérieurement immunisé.

Pour cette raison, une étude visant à mieux connaître la prévalence du toxoplasme chez les chevaux importés du continent américain a été mise en place avec l'aide des services vétérinaires des douanes françaises (SIVEP, Roissy) et la Direction générale de l'alimentation (DGAI) afin de déterminer la séroprévalence de *T. gondii* dans les viandes chevalines importées et consommées en France, ainsi qu'une caractérisation des génotypes de toxoplasme circulant chez le cheval. Les prélèvements de viande (100g) ont été effectués entre mai et décembre 2012. Un total de 247 échantillons de viandes de cheval issues de l'importation a été traité, avec une détection indirecte par agglutination directe haute sensibilité (ADHS) sur fluide musculaire et une PCR quantitative pour détecter la charge parasitaire. Les résultats d'ADHS montrent une séroprévalence globale de 34 % à une dilution supérieure à 1/25 (tableau 4). L'ADN de *T. gondii* extrait à partir des échantillons séropositifs (84), a pu être mis en évidence à partir de 2 carcasses (Ct=35), sans pouvoir toutefois permettre le génotypage, en raison de la faible quantité d'ADN.

Pays d'origine	Nombre total d'échantillons	Nombre d'échantillons séropositifs (titre > 1 :25)	Séroprévalence (%)	Nombre d'échantillons positifs en qPCR (Ct<35)	Pourcentage d'échantillons positifs
Mexique	222	75	34	2	2,6
Canada	16	5	31	0	0
Argentine	6	3	50	0	0
Australie	1	1	100	0	0
Non renseigné	2	0	0	0	0
Total	247	84	34	2	2,4

Tableau 4 : Séroprévalence et identification de l'ADN de *Toxoplasma gondii* chez les chevaux importés par le PIF de Roissy selon le pays d'origine.

L'étude présente un grand intérêt pour une approche épidémiologique caractérisant l'infection toxoplasmique des viandes chevalines importées pour lesquelles on ne disposait pas de donnée récente. Ces résultats complètent l'analyse précédemment réalisée pour les ovins et bovins. Néanmoins l'échantillonnage n'est pas représentatif pour la viande chevaline importées et consommée en France, car une majorité (126/247) de cette viande a pour destination finale la Suisse. Concernant l'origine des échantillons reçus pour une recherche des toxoplasmes, une très grande majorité (222/247) des échantillons provenaient du Mexique, alors que les pays ciblés par la lettre à diffusion limitée de la DGAI (DGAL/SDASEI/2012-206) étaient l'Argentine ou le Canada.

En résumé : Ces résultats confirment le risque potentiel associé à la consommation de viande chevaline en France. La mise en place d'un plan de surveillance de la viande chevaline importée spécifiquement d'Amérique du Sud pour la consommation française serait souhaitable et permettrait d'affiner l'évaluation du risque liée la consommation de cette viande. A travers les différents plans menés, la France dispose ainsi de données fiables sur le risque lié à la consommation de certaines viandes. De plus *Toxoplasma*, de par sa prévalence globale, est un indicateur de la conduite d'élevage.

En conclusion, au cours de ces enquêtes successives, des échantillons de cœur et de diaphragme ont été collectés chez 425 ovins, 2 349 bovins et 1 549 porcins dans des abattoirs français. Une analyse a été faite selon l'âge des animaux, leur origine géographique et le type d'exploitation. Au Marché d'intérêt national de Rungis, 376 et 562 carcasses d'ovins et bovins importées ont également été prélevées. Un titrage des anticorps spécifiques par la technique d'agglutination directe haute sensibilité (ADHS) a été effectué sur tous les prélèvements. L'enquête a permis de mettre en évidence une séroprévalence qui se situe, selon l'espèce et l'origine des viandes, entre 2,46 % pour les porcelets hors-sol (Djokic et al., 2016) et 69,5 % pour les ovins adultes d'origine française, mais avec des facteurs de variation importants, le principal étant lié à l'âge de l'animal (Halos et al. 2010 ; Villena et al., 2012). Concernant l'origine géographique, des échantillons issus d'ovins et bovins, de différents départements ont présenté de fortes variations de séroprévalence. Pour les bovins (tous âges confondus), la séroprévalence apparaît liée à la région d'abattage ou à la région de naissance, après ajustement sur l'âge des animaux. Pour les porcs (charcutiers) en revanche, il n'y a pas d'association significative avec la région ou le département d'abattage ou de naissance. Une différence significative d'infection par *T. gondii* (3 % vs 6,3 %,) a été observée entre la production porcine de type hors-sol et celle de type plein-air (Djokic et al., 2016). Les souches de *T. gondii* ont pu être isolées de ces carcasses, appartenant toutes au génotype majoritaire (Type II) circulant chez l'homme en France. Pour la première fois, des parasites vivants (également de génotype II) ont été détectés dans deux carcasses de bovins adultes, suggérant une possible transmission à l'Homme par la consommation de viande bovine. Même si la prévalence reste nettement plus faible que pour la viande ovine, la forte consommation de viande bovine crue ou non cuite à cœur en France doit être considérée comme une source potentielle de contamination pour l'Homme. La prévalence de *T. gondii* dans les élevages de porcs hors-sol révèle une certaine perméabilité puisque le cycle se perpétue chez 3 % des individus. Aux Pays-Bas, dans des élevages similaires, la prévalence ne dépasse pas les 0,4% (van der Giessen et al, 2007). Parmi les facteurs de risque, il y a l'utilisation de la paille (origine végétale, potentiellement contaminée par des oocystes) comme absorbant de lisier, mais également une maîtrise partielle du confinement de l'aliment et/ou de l'eau, et du confinement des bâtiments/zones d'élevage vis-à-vis de la faune domestique (chat) et sauvage (rongeurs). De ce fait, il pourrait être envisagé de prendre la prévalence de *T. gondii* comme marqueur de la maîtrise du confinement d'un élevage de porc hors-sol.

VALORISATION

- **Blaga R**, Aubert D, Thébault A, Perret C, Geers R, Thomas M, Alliot A, Djokic V, Ortis N, Halos L, Durand B, Mercier A, Villena I, Boireau P. *Toxoplasma gondii* in beef consumed in France: regional variation in seroprevalence and parasite isolation. *Parasite*. 2019;26:77.
- Djokic V, **Blaga R**, Aubert D, Durand B, Perret C, Geers R, Ducry T, Vallee I, Djurkovic Djakovic O, Mzabi A, Villena I, Boireau P. *Toxoplasma gondii* infection in pork produced in France. *Parasitology*. 2016 Apr;143(5):557-67 (**equally first author**)
- Djokic V, Fablet C, **Blaga R**, Rose N, Perret C, Djurkovic-Djakovic O, Boireau P, Durand B. Factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in confined farrow-to-finish pig herds in western France: an exploratory study in 60 herds. *Parasit Vectors*. 2016 Aug 24;9:466. (**equally first author**)
- Villena I, Durand B, Aubert D, **Blaga R**, Geers R, Thomas M, Perret C, Alliot A, Escotte-Binet S, Thébault A, Boireau P, Halos L. New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Vet Parasitol*. 2012 Feb 10;183(3-4):203-8.

(collaborations sur la même thématique)

- Paștiu AI, Györke A, **Blaga R**, Mircean V, Rosenthal BM, Cozma V. In Romania, exposure to *Toxoplasma gondii* occurs twice as often in swine raised for familial consumption as in hunted wild boar, but occurs rarely, if ever, among fattening pigs raised in confinement. *Parasitol Res*. 2013 Jun;112(6):2403-7.
- Bărburaș D, Györke A, **Blaga R**, Bărburaș R, Kalmár Z, Vișan S, Mircean V, Blaizot A, Cozma V. *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Romania: what is the importance for public health? *Parasitol Res*. 2019 Sep;118(9):2695-2703. (**equally first author**)

5.2. Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de la présence de *T. gondii* chez les principaux animaux de production

L'objectif général de ce projet était d'obtenir des informations en approfondissant les connaissances sur la présence et l'infectivité des kystes de *T. gondii* dans la viande et autres tissus comestibles des principaux animaux de production et leur relation avec la séroprévalence de *T. gondii* chez les animaux. Les principales questions étudiées sont (i) la relation entre les méthodes de détection indirecte et directe de la présence de *T. gondii* dans la viande et autres tissus comestibles des bovins abattus dans quatre pays (Pays-Bas (NL), Italie (IT), Royaume-Uni (UK) et Roumanie (RO) ; chez des chevaux abattus dans deux pays (France (FR) et Serbie (RS)) ; chez des porcs abattus en France ; chez des volailles biologiques en Allemagne (DE) ; (ii) la distribution anatomique des kystes dans la viande et d'autres tissus comestibles après une infection expérimentale chez des veaux, des moutons, des porcs, des poulets et des dindes ; (iii) les facteurs de risque d'infection par *T. gondii* chez les porcs au Royaume-Uni, chez les chèvres laitières élevées en intérieur aux Pays-Bas et chez les poules pondeuses biologiques ayant accès à l'extérieur en Allemagne ; (iv) la présence de kystes tissulaires après la vaccination des porcs et des moutons.

Pour répondre à ces questions, un consortium constitué de 12 institutions (Figure 16) (National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), The Netherlands ; Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald-Insel Riems (FLI), Germany; National Veterinary School of Alfort (ENVA –JRU BIPAR), France; Institute of Parasitology, University Leipzig, Germany ; Central Veterinary Institute (DLO-CVI), Netherlands; French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES – USC EpiToxo), France; University of Agricultural Science and Veterinary Medicine Cluj-Napoca (UASVM CN) , Romania; Istituto Superiore di Sanità (ISS), Italy; Royal Veterinary College (RVC), United Kingdom; Food Standards Agency (FSA), United Kingdom; Moredun Research Institute, United Kingdom; University of Belgrade Institute for Medical Research (IMR), Serbia) de 7 pays européens s'est formé, sous la coordination de Joke van der Giessen (RIVM, NL), et où j'ai pris la coordination des 2 groupes de travail (work-packages): l'un sur les porcs et l'autre sur les chevaux, dont les résultats sont présentés ci-dessous.

5.2.1. Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de *T. gondii* chez les porcs

En 2013, une étude nationale a été menée en France, avec l'aide de la DGAI (Ministère de l'Agriculture), visant à étudier la prévalence de *T. gondii* dans la viande de porc produite en France. Un

total de 1549 cœurs, 1520 diaphragmes et 1066 échantillons sanguins et cardiaques ont été testés en utilisant le test

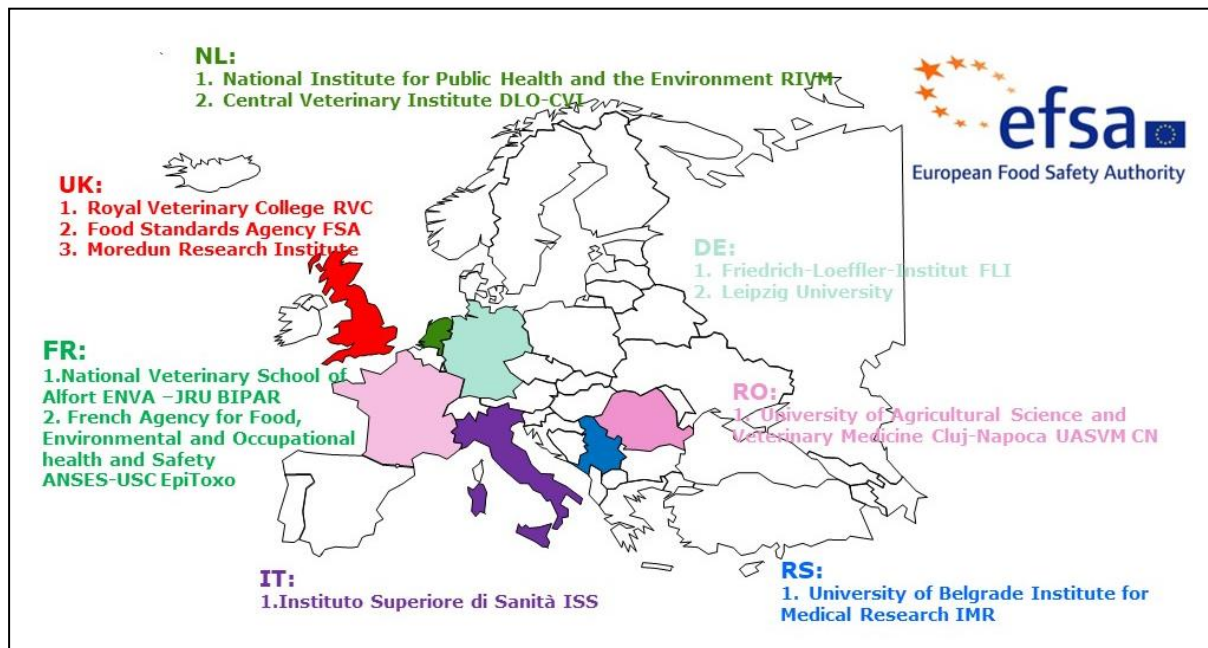


Figure 16 : Répartition géographique du consortium impliqué dans le projet européen sur la relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de *T. gondii* (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01)

d'agglutination haute sensibilité (ADHS). Une séroprévalence globale de 3% chez les porcs hors-sol et de 6,3% chez les porcs plein-air a été obtenue sur la base de l'ADHS effectué sur fluide cardiaque. Un total de 160 échantillons de cœur, correspondant à tous les échantillons positifs à l'ADHS (sérums ou fluides cardiaques) et des échantillons négatifs sélectionnés au hasard, ont été testés par un bioessai chez la souris et par qPCR.

Les techniques basées sur la PCR (qPCR sur le digestat cardiaque et MC-PCR sur le diaphragme) ont été réalisées sur tous les échantillons, une seule analyse qPCR a fait défaut. Un total de 22 souris sont mortes dans les 2-3 premiers jours après l'inoculation d'échantillons issus de 11 porcs, dans le bioessai sur souris. Cependant, la toxoplasmose clinique n'a pas été suspectée chez aucune de ces souris, ni même démontrée par PCR sur le fluide intrapéritonéal où la ré-inoculation du digestat cardiaque original a été effectuée. Comme les échantillons inoculés provenaient des trois catégories d'âge (porcelets, engraissement, truies), les effets toxiques liés à l'âge (comme dans l'étude sur les bovins) peuvent être exclus et pourraient être causés par une contamination bactérienne de l'inoculum, provoquant ainsi la mort précoce des souris. Les inoculations ont été refaites, en ajoutant

des antibiotiques (Vancomycine®, Ciprofloxacine®, Cefotaxim®) pendant la technique de digestion du cœur. De ce fait, la mortalité post-inoculation a complètement été réduite.

Selon la littérature, l'ADHS a montré une plus grande sensibilité que l'ELISA ou l'IFAT, sur les sérums de porc et les fluides tissulaires. Ici, nous avons choisi la toute première dilution (1:6), comme seuil pour toutes les matrices (sérums, fluide cardiaque et fluide du diaphragme) pour étudier la concordance de la détection des IgG et la présence de parasites viables. Sur les 160 échantillons, les anticorps ont été détectés par l'ADHS chez 61% des porcs à partir des sérums, chez 43% à partir du fluide cardiaque et chez 51% à partir du fluide. Cependant, lorsque les résultats obtenus par l'ADHS (sérums, fluide cardiaque et fluide diaphragmatique) ont été analysés selon le test du kappa de Cohen, la concordance entre eux était correcte voire similaire pour chaque paire (tableau 5).

ADHS réalisé sur:	Cohen's kappa	95%CI
sérum vs fluide cardiaque	0.35 (fair)	0.18 - 0.52
sérum vs fluide diaphragmatique	0.30 (fair)	0.03 - 0.57
fluide cardiaque vs fluide diaphragmatique	0.21 (fair)	-0.002 - 0.42

Tableau 5 : Concordance entre les résultats sérologiques obtenu par ADHS à partir de sérums, fluide cardiaque et fluide diaphragmatique

L'absence d'une concordance plus élevée peut s'expliquer par plusieurs hypothèses :

1. La qualité de la matrice à analyser n'est pas la même en termes de
 - a. concentration d'IgG circulantes : le sérum est le tissu présentant le taux d'IgG le plus élevé, suivi du fluide cardiaque et du fluide du diaphragme. Le sérum a été obtenu après un prélèvement sanguin dans la veine jugulaire. Le fluide cardiaque (FC) a été prélevé dans le récipient en plastique utilisé pour le transport du cœur, il s'agit d'un mélange de sérum, obtenu à partir du caillot de sang existant dans le cœur et du fluide tissulaire. Le fluide diaphragmatique (FD) a été obtenu par un processus de décongélation, contenant cependant une quantité importante d'eau et une très faible quantité de sang/sérum. Cette hypothèse est fortement soutenue par la diagonale de concordance calculée à partir de nos résultats, montrant une diminution du titre d'anticorps dans le FC par rapport aux sérums. Par conséquent, une grande partie des résultats discordants pourrait être due à une faible sensibilité

de l'ADHS dans le cas du FC et du FD, éventuellement causée par une concentration d'anticorps plus faible dans les fluides par rapport au sérum.

b. l'uniformité/homogénéité du prélèvement des fluides cardiaques et diaphragmatiques d'un échantillon à l'autre, dans une moindre mesure également applicable aux sérums.

2. Un manque de spécificité de l'ADHS en utilisant le seuil de 1/6. En utilisant un seuil plus élevé (1/12 ou 1/25), une concordance plus élevée pour les différentes matrices a été observée. Cependant, en utilisant une valeur seuil plus élevée ($\geq 1/25$), 5 souches isolées auraient été attribuées à des porcs dont les résultats sérologiques étaient inférieurs au seuil de détection (2 souches isolées à partir des porcs avec un titre de 1/6 et 3 souches isolées de porcs avec un titre de 1/12).

En outre, les échantillons ont été prélevés dans les abattoirs par les techniciens vétérinaires locaux. Par conséquent, un mauvais étiquetage des échantillons (sang vs cœur + diaphragme), aurait pu se produire lors de la collecte dans l'abattoir, entraînant une inversion des résultats positifs/négatifs, conduisant à des faux négatifs/positifs. En effet, 20 échantillons ont présenté une analyse positive sur le FC ou/et FD alors que le sérum correspondant était négatif. Dans une réponse immunologique normale, le premier fluide corporel à devenir positif pour la détection d'anticorps devrait être le sérum, suivi des autres fluides corporels. Par conséquent, l'hypothèse d'un mauvais étiquetage corrélé à une réponse biologique cohérente de l'hôte est la base pour exclure les 20 échantillons dont les résultats ne sont pas plausibles.

Lorsque nous avons comparé la technique de l'ADHS réalisée sur trois matrices différentes (sérum, fluide cardiaque et diaphragme) avec les méthodes de détection directe (bioessai, qPCR et MC-PCR), les valeurs kappa de Cohen les plus élevées sont observées pour le fluide cardiaque ADHS (0,66 avec le bioessai et 0,41 avec toute méthode de détection directe) (tableaux 6 et 7). Sur la base de ces résultats et de l'hypothèse du mauvais étiquetage (voir ci-dessus), l'ADHS sur le fluide cardiaque est considérée comme la matrice "de référence", que nous avons utilisée pour la suite.

En analysant les résultats des méthodes de détection directe (bioessai, qPCR sur le cœur et MC-PCR sur le diaphragme), la qPCR sur le digestat de cœur était la méthode la plus sensible avec 69 (43,1 %) résultats positifs, suivie par le bioessai avec 41 (27,7 %) et la MC-PCR avec 27 (16,9 %) résultats positifs (figure 17). Ces différences de sensibilité pourraient s'expliquer par a) l'utilisation du site de prédilection (cœur) pour la qPCR et le bioessai par rapport à la MC-PCR (diaphragme) ; b) la présence de parasites viables ou morts (PCR vs bioessai) combinée à c) la faible charge parasitaire. Lorsque nous mettons en corrélation les trois méthodes de détection directe, la meilleure concordance que nous avons trouvée est entre la qPCR et le bioessai (0,50) par rapport à la MC-PCR et bioessai (0,36) et entre les 2 techniques PCR : qPCR et MC-PCR (0,21).

ADHS FC	Méthodes directes		
	négative	positive	total
négative	54	29	83
positive	9	37	46
total	63	66	129

Moderate Cohen's kappa 0.41 95%CI: 0.26-0.58

ADHS Sérum	Méthodes directes		
	négative	positive	total
négative	15	9	24
positive	27	41	68
total	42	50	92

Poor Cohen's kappa 0.18 95%CI: -0.02-0.39

ADHS FD	Méthodes directes		
	négative	positive	total
négative	22	13	35
positive	15	22	37
total	37	35	72

Fair Cohen's kappa 0.22 95%CI: -0.01-0.45

Tableau 6 :

Comparaison de la technique ADHS réalisée sur fluide cardiaque (FC), sérum ou fluide diaphragmatique (FD) avec les méthodes de détection directe (bioessai, qPCR et MC-PCR). Les valeurs kappa de Cohen sont marqués en bas de chaque section.

	MBio	PCR digest	MC-PCR	Any DD
MAT CF < 1:6	5/83 (6.0%)	21/88 (23.9%)	9/88 (10.2%)	29/83 (34.9%)
MAT CF ≥ 1:6	32/46 (69.6%)	37/52 (71.2%)	16/52 (30.8%)	37/46 (80.4%)
kappa	0.66	0.46	0.23	0.41
95% CI	0.52-0.80	0.31-0.61	0.05-0.42	0.26-0.58

Tableau 7 : Concordance entre les résultats de sérologie par ADHS (MAT) (titre seuil de 1 :6) et ceux par bioessai (MBio), qPCR sur digestat de cœur, MC-PCR sur digestat de diaphragme ou toutes méthodes directes confondues (Any DD).

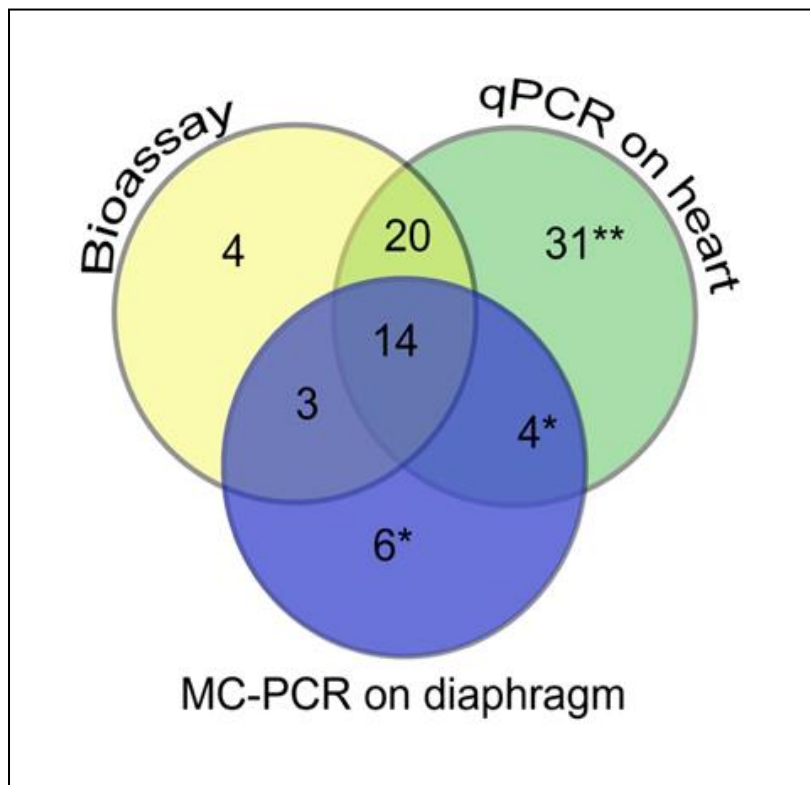


Figure 17 : Résultats positifs des méthodes de détection directe : bioessai, qPCR sur le cœur et MC-PCR sur le diaphragme et leur concordance respective. * ou ** correspond à une ou deux souris qui sont mortes dans les 2-3 premiers jours p.i., donc aucun résultat pour le bioessai n'a été pris en compte.

La concordance entre la qPCR et le bioessai pourrait s'expliquer par : a) l'utilisation de la même matrice pour l'analyse (site de prédilection = cœur) ; b) la méthode de digestion du cœur, avant l'extraction de l'ADN ou l'inoculation à la souris, qui a aidé à la libération des bradyzoïtes des kystes, résultant en un nombre plus homogène de parasites par μl de l'échantillon et c) la réalisation de la qPCR uniquement sur des souris sérologiquement positives, augmentant ainsi les chances de résultats positifs (ce qui n'est pas le cas dans l'étude sur les bovins et les chevaux, où la qPCR a été réalisée sur toutes les souris). L'absence d'une plus grande concordance entre les 2 techniques peut s'expliquer par : a) une différence dans la quantité d'échantillon utilisée pour l'analyse ; b) la charge parasitaire : le délai entre l'infection du porc et l'abattage peut être court (plusieurs jours), ne permettant pas au parasite de se multiplier en plus grand nombre ; c) une détection de cible différente (parasites viables vs ADN parasitaire/parasites morts).

Les concordances entre la MC-PCR et le bioessai sur souris et la qPCR sur le digestat du cœur étaient acceptable (kappa de Cohen 0,36 et 0,21, respectivement), plus faibles que pour le couple précédemment analysé. Cette divergence peut s'expliquer en premier lieu par : a) l'utilisation d'une matrice différente (le diaphragme) du site de prédilection (le cœur) ; b) l'utilisation d'une matrice congelée depuis plus d'un an (les conditions de stockage peuvent contribuer à la destruction de l'ADN) ; c) l'utilisation de protocoles d'extraction d'ADN différents.

Le taux global de détection directe, basé sur tous les tests de détection directe donnant un résultat positif, à partir des animaux séropositifs (80,43 %) est significativement plus élevé que le taux de détection chez les animaux séronégatifs (34,91 %) (χ^2 de Pearson, valeur $p < 0,001$). En y regardant de plus près, le taux global de détection directe, basé uniquement sur le bioessai, est encore significativement différent chez les animaux séropositifs (69,6%) par rapport aux séronégatifs (6%) (χ^2 de Pearson, valeur $p < 0,001$). Ce résultat est comparable aux résultats de l'analyse de la littérature, où une détection par des tests directs (bio-essai sur chat ou souris principalement) était de 58,8% chez les séropositifs. Cependant, le pourcentage relativement élevé du taux global de détection directe chez les animaux séronégatifs (34,91%) est différent de celui de la littérature qui est de 4,9% chez les séronégatifs. Une explication possible pourrait être l'utilisation d'un nombre relativement faible de données provenant d'articles utilisant des méthodes basées sur le principe de la PCR dans la revue de la littérature (seulement 1 article). Toutefois, cette divergence doit être étudiée plus en détails. Une souche a été isolée par bio-essai à partir d'un animal qui était négatif par les deux méthodes de détection indirecte (MAT sur le sérum et le fluide cardiaque). Les méthodes de détection par PCR ont donné une amplification positive pour la MC-PCR sur le diaphragme et un résultat négatif pour le digestat du cœur. Ce résultat pourrait s'expliquer par a) l'utilisation de différentes techniques de digestion : digestion à la protéinase K du diaphragme et digestion à la trypsine du cœur ; b) l'utilisation de différentes techniques d'extraction de l'ADN : capture magnétique de l'ADN pour le diaphragme et purification sur colonne de l'ADN pour le cœur ; c) l'utilisation de différents protocoles d'amplification par PCR ; d) l'hypothèse d'un étiquetage erroné entre le cœur et le diaphragme.

En conclusions : Il existe une faible concordance entre les trois matrices (sérum, fluide cardiaque et fluide du diaphragme) testées pour la détection d'anticorps circulants avec la même technique (ADHS) (0,35 ; 0,31 ; 0,20). Le fluide du diaphragme a montré la plus faible concentration d'anticorps circulants spécifiques de *T. gondii* détectés par l'ADHS. La détection d'anticorps et la présence de parasites sont positivement corrélées. Cependant, les sérums représentent une bonne matrice pour l'enquête épidémiologique tandis que le fluide cardiaque a la meilleure concordance avec le bio-essai sur souris et représente cependant la matrice de "référence" pour l'isolement des parasites viables. Le taux global de détection directe des parasites chez les animaux séropositifs (80,43 %) est significativement plus élevé que le taux de détection chez les animaux séronégatifs. Cependant, le taux de détection relativement élevé de *T. gondii* chez les animaux séronégatifs (34 % selon cette étude) doit être étudié plus en détails. Une souche a été isolée à partir d'un animal qui était négatif à la fois par les méthodes de détection indirecte (ADHS sur les sérums et le fluide cardiaque) et les méthodes de détection directe (qPCR sur le digestat cardiaque), indiquant le risque potentiel d'une infection humaine également à partir de porcs séronégatifs.

5.2.2. Relation entre les méthodes de détection directe et indirecte de la présence de *T. gondii* chez les chevaux

Des échantillons de sérum, de cœur et de diaphragme ont été prélevés sur des chevaux abattus dans deux pays, la France et la Serbie. Dans les deux pays, la quantité ciblée d'échantillons de 100 chevaux par pays a été atteinte. En France, parmi les 100 premiers chevaux, nous avons collecté 41 jeunes (< 2 ans) et 59 adultes (≥ 2 ans). Une disproportion par âge (%) a été révélée en comparant avec le ratio d'animaux abattus l'année précédente (2014) (25,5% de jeunes et 74,5% de chevaux adultes). Nous avons donc procédé à une collecte finale de 180 chevaux, en ajustant toutefois les pourcentages de jeunes/adultes à 31,1 : 68,9, plus proche du ratio de l'année précédente. Comme prévu, les adultes abattus étaient des mâles et des femelles, alors que les jeunes chevaux abattus étaient principalement des mâles, puisque les jeunes femelles (<2 ans) sont gardées pour la reproduction. La race/le type prédominant était le cheval "de trait" (cheval de travail, lourd), très probablement en raison de la masse musculaire généralement plus importante pour ce type de chevaux. Cependant, la collecte d'échantillons n'a été effectuée que dans un seul abattoir (sur 91 au niveau national) dans l'Est de la France, pendant une courte période (10 semaines) et n'est donc pas représentative de la population française de chevaux abattus en général. En Serbie, la plupart des animaux étaient des adultes (100). Les échantillons ont été collectés à un rythme de 3-4 animaux/semaine dans 2 abattoirs différents. Pour cette raison nous estimons que l'échantillonnage en Serbie est très probablement représentatif de la population de chevaux abattus en Serbie.

L'objectif de l'étude était d'analyser la concordance entre la détection des anticorps et la présence de parasites (viables). Nous avons choisi la dilution la plus faible (1:6) comme seuil de positivité pour les sérums. Comme l'agglutination directe haute sensibilité (ADHS) est un test sérologique indépendant de l'espèce et couramment utilisé avec des matrices animales pour détecter la présence d'anticorps IgG spécifiques de *T. gondii*, nous avons considéré la toute première dilution (1:6) comme un indicateur fiable d'une telle réaction spécifique. Une séroprévalence globale de 35,5% a été obtenue sur la base de l'ADHS sur sérums, avec une séroprévalence en France (27,8%) significativement plus faible qu'en Serbie (48,1%) (Pearsons χ^2 p-value=0,001) (tableau 8). Il faut garder à l'esprit que ces résultats peuvent être faussés par le fait que les échantillons de chevaux ont été collectés dans un seul abattoir, en France (sur 91 au niveau national). Ils ne sont donc pas forcément représentatifs de l'ensemble de la population équine française. Les titres d'anticorps étaient faibles, comme chez les bovins, avec un titre maximal de 1:200 ou supérieur à 200 pour 5 animaux seulement. La séroprévalence était plus faible chez les jeunes chevaux (27,8 %) que chez les chevaux adultes (37,3 %).

ADHS	France	Serbie	Total
Négatif	128	54	182
Positif	50 (27.8%)	50 (48.1%)	100 (35.5%)
1:6	20	31	51
1:10	11	7	18
1:25	12	6	18
1:50	2	1	3
1:100	3	2	5
1:200	0	1	1
>1:200	2	2	4
	178	104	282*

Tableau 8 : Séroprévalence de *T. gondii* chez les chevaux en France et Serbie à un titre seuil de 1:6 et résultats positifs pour les autres titres finaux. *Deux sérums étaient absents de l'analyse ADHS

Diverses méthodes de détection directe ont été utilisées pour démontrer la présence de *T. gondii* dans les tissus des chevaux des deux pays : bioessai chez la souris à partir du digestat du cœur (qPCR sur le cerveau de la souris et examen microscopique de l'homogénat du cerveau en Serbie), qPCR sur le digestat du cœur et MC-PCR sur le diaphragme. A l'exception de la MC-PCR, réalisée uniquement en France, les autres méthodes ont été effectuées dans chaque pays (examen microscopique uniquement en Serbie). Globalement, en France, 15 chevaux (8,15 %) ont été déclarés positifs par, au moins, une des techniques directes, alors qu'en Serbie, 69 chevaux ont été retrouvés positifs (66,34 %). Bien que cela puisse refléter une véritable différence entre les deux pays, puisque le nombre de séropositifs était deux fois plus élevé en Serbie, nous pensons que ces différences pourraient être mieux expliquées par deux autres hypothèses, car le nombre de positifs trouvé par détection directe par qPCR en France et en Serbie est très différent. La méthode utilisée par le laboratoire serbe est peut être plus sensible ou celle utilisée en France l'est moins ou un problème de contamination est survenu pendant les essais. Un essai inter-laboratoire a été réalisé en partageant plusieurs échantillons négatifs et positifs de France et de Serbie, entre le coordinateur (RIVM, NL) et les deux laboratoires. En analysant les résultats de l'essai inter-laboratoire, ainsi que le fait que tous les partenaires aient utilisé des protocoles PCR standardisés, la question de la contamination ne pouvait être exclue. Il n'était pas possible de déterminer le moment où la contamination des échantillons pouvait se produire. L'hypothèse qu'elle se fasse pendant la préparation des échantillons n'était pas à exclure. De ce fait, nous avons choisi de prendre en compte seulement, dans l'analyse

finale, les 10 échantillons trouvés positifs par bioessai en souris sur les 103 analysés par microscopie pour la Serbie et les 8 positifs par MC-PCR pour 104 chevaux analysés. La technique de l'examen microscopique, comparée à la qPCR sur le cerveau de la souris, est supposée être moins sensible. Par conséquent, le nombre de chevaux positifs en bioessai chez la souris en Serbie peut être sous-estimé. Cependant, lorsque nous examinons le taux de détection par MC-PCR, réalisée dans un seul laboratoire (ENVA-Anses, France), sur une matrice provenant de 2 origines géographiques différentes, nous trouvons des résultats similaires : 7,1 % pour la France et 7,7 % pour la Serbie.

Au total, 33 animaux ont été considérés comme positifs par détection directe (11,6 %), et pour 12 d'entre eux, cette conclusion est basée sur le bio essai chez la souris (4,2 %), indiquant la présence de kystes tissulaires viables. Toutes les souris ont donné des résultats négatifs lorsqu'elles ont été analysées par ADHS, à l'exception des souris correspondant aux souches de *T. gondii* isolées en Serbie. Ces résultats suggère que la concentration de parasites est généralement faible dans le cœur du cheval. Par conséquent, les faibles doses d'inoculation, lors des bioessai, ont entraîné des infections réduites chez les souris, de faibles charges parasitaires dans les homogénats cérébraux des souris et l'absence d'une réponse anticorps détectable chez les souris.

Les résultats pour les autres 21 chevaux sont basés sur des méthodes PCR réalisées sur des digestats de cœur, des homogénats de cerveau de souris ou des diaphragmes. Pour exclure toute contamination potentielle, des contrôles ont été inclus pendant l'extraction d'ADN et la PCR. Ces contrôles ont tous été trouvés négatifs. L'amplification non spécifique a été exclue en considérant uniquement les échantillons dont la courbe d'amplification était similaire à celle des contrôles positifs et dont la valeur de Ct était inférieure à 40. Pour les échantillons devenus positifs entre les cycles 35 et 40, la taille de l'amplicon a été vérifiée par électrophorèse sur gel. En raison des faibles concentrations d'ADN dans les échantillons amplifiés, les PCR de géotypage n'étaient pas réalisables.

Dans l'ensemble, nous avons constaté un manque de concordance entre les méthodes de détection directe et indirecte (0,09) et respectivement entre la MAT et le bio essai (0,08) et la MAT et la MC-PCR (0,02) (tableau 9). Le résultat obtenu chez les chevaux est comparable aux résultats rapportés pour les bovins dans la littérature et également dans la présente étude en abattoir chez les bovins dans quatre pays (RO, UK, NL, IT).

	MBio	MC-PCR	Any DD
MAT <1:6	4/178 (2.2%)	12/182 (6.7%)	16/184 (8.7%)
MAT ≥1:6	8/98 (8.2%)	8/100 (8.0%)	16/98 (16.3%)
kappa	0.08	0.02	0.09
95%CI	-0.07-0.23	-0.13-0.17	-0.05-0.23

Tableau 9 : Concordance entre les résultats de sérologie par ADHS (MAT) (titre seuil de 1 :6) et ceux par bioessai (MBio), MC-PCR ou toutes méthodes directes confondues (Any DD).

En plus d'un manque de concordance entre la détection directe et indirecte de *T. gondii*, les résultats des différentes méthodes de détection directe ont également montré des divergences. Les échantillons de diaphragme ont été testés par MC-PCR, alors que les digestes de cœur ont été testés par qPCR et inoculation aux souris. Par conséquent, le manque de concordance entre ces méthodes peut indiquer que les chevaux ne sont pas nécessairement infectés de manière égale par *T. gondii* dans les deux tissus et il suggère que la charge parasitaire globale est faible. Ce manque de concordance pourrait également être lié à la relation entre la cinétique des parasites et la taille de l'échantillon : chez les porcs ou les ovins, le cœur est au moins 3 fois plus petit que chez les chevaux et, si l'on suppose que le nombre de parasites est le même, cela entraînerait une concentration finale plus faible. Le cœur a été choisi comme organe de prédilection et le diaphragme comme représentatif des muscles destinés à la consommation humaine. D'après les résultats présentés ici, on peut conclure qu'il est peu probable que les chevaux soient infectés à un niveau détectable dans les deux tissus simultanément. Cependant, comme des méthodes différentes ont été utilisées pour les deux tissus, il n'est pas possible de conclure qu'un tissu est plus susceptible d'être infecté qu'un autre.

En conclusions : Chez les chevaux, 11,6 % ont été considérés comme positifs pour *T. gondii* par détection directe, et pour 4,2 % d'entre eux, cette conclusion est basée sur l'inoculation chez la souris, indiquant la présence de kystes tissulaires viables. Dans l'ensemble, nous avons constaté un manque de concordance entre les méthodes de détection directe et indirecte. Chez les chevaux, la détection des anticorps par l'ADHS et la détection directe de *T. gondii* n'étaient pas corrélées, quelles que soient les méthodes de détection directe appliquées chez les chevaux. Il n'y a pas de concordance entre les différentes méthodes de détection directe, reflétant très probablement une faible concentration de *T. gondii* chez les chevaux positifs en combinaison avec les différents organes utilisés pour l'inoculation chez la souris et la MC-PCR. Il y avait une différence significative entre les résultats de la détection directe basée sur la qPCR sur les cerveaux de souris et les digestats de cœur en France (0,6 %) et en

Serbie (46,7 %), mais pas sur la MC-PCR des diaphragmes. Par conséquent, il a été conclu que le nombre élevé inattendu de résultats positifs au test biologique en Serbie pouvait être dû à un problème technique et, par conséquent, seuls les résultats microscopiques ont été inclus dans les analyses finales. Comme il y avait une différence significative dans la séroprévalence, des études supplémentaires sont nécessaires en Serbie pour évaluer le risque potentiel. Deux isolats de *T. gondii* ont été obtenus chez des chevaux en Serbie, démontrant la présence de *T. gondii* viable chez les chevaux.

Valorisation

1. Opsteegh M, Schares G, **Blaga R** and van der Giessen J on behalf of the consortium, 2016. Experimental studies of *Toxoplasma gondii* in the main livestock species (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01) Final report. EFSA supporting publication 2016:EN-995, 161 pp.
2. Opsteegh M, Schares G and Joke van der Giessen on behalf of the consortium, 2016. Relationship between seroprevalence in the main livestock species and presence of *Toxoplasma gondii* in meat (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01) An extensive literature review. Final report. EFSA supporting publication 2016:EN-996, 294 pp.
3. Limon G, Beauvais W, Dadios N, Villena I, Cockle C, **Blaga R**, Guitian J. Cross-Sectional Study of *Toxoplasma gondii* Infection in Pig Farms in England. Foodborne Pathog Dis. 2017 Feb 10. doi: 10.1089/fpd.2016.2197. [Epub ahead of print]
4. Klun I, Uzelac A, Villena I, Mercier A, Bobić B, Nikolić A, Rajnpreht I, Opsteegh M, Aubert D, **Blaga R**, van der Giessen J, Djurković-Djaković O. The first isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from horses in Serbia. Parasit Vectors. 2017 Apr 4;10(1):167.

6. Projets de recherche

En lien avec les deux axes de recherche précédents, mes projets de recherche s'articulent autour de la thématique générale de parasites zoonotiques transmis par les aliments, tout en maintenant cette approche une seule santé (*One Health*). J'ai choisi d'exposer ici plus particulièrement quatre projets, qui seront réalisés à plus ou moins long terme, selon les financements accordés. Chacun répond de différentes façons (coté consommateur – coté éleveur) à la problématique principale : **Comment le vétérinaire peut-il contribuer à la prévention de la contamination humaine par *Toxoplasma gondii* ?** Afin de réduire le risque pour l'homme d'être infecté par *T. gondii* de manière congénitale ou post-natale, il est important de connaître la distribution et la résistance anatomique de *T.gondii* dans la viande destinée à la consommation (**projet numéro 1**). Par ailleurs, les informations relatives à la contamination des viandes (déjà explorées) permettront la mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose (**projet numéro 2**). D'autre part, connaître la source de contamination des animaux d'élevage par ce parasite (**projet numéro 3**) et l'ensemble des facteurs de risque potentiels associés à cette infection, représentent des connaissances essentielles pour la lutte contre ce parasite. Ainsi, les éleveurs pourront développer des mesures de contrôle efficaces et durables contre divers dangers sanitaires dans leurs exploitations en prenant *T.gondii* comme marqueur de biosécurité d'un élevage (**projet numéro 4**).

Le premier projet s'inscrit dans la coopération médico-vétérinaire dans le domaine de la toxoplasmose, sur la distribution et la résistance anatomique de *T. gondii* dans la carcasse du porc et dans le saucisson sec. Ce projet, réunissant une équipe médicale (CNR Toxoplasma, I.Villena), un vétérinaire (ENVA, R.Blaga) et un technicien (Institut du Porc (IFIP), B.Fremaux) est l'exemple type de la continuation de l'approche une seule santé (*One Health*). Ce projet bénéficiera d'une coopération internationale avec Pr.B. Koudela (VRI, Tchèque) et est inclus dans le projet de thèse d'université de Filip DAMEK (ToxSauQMRA).

Le deuxième projet représente la mise en œuvre de la proposition numéro 2 du groupe de travail multidisciplinaire constitué au sein de l'Agence française de sécurité des aliments (Afssa, devenue Anses en 2005), sur l'état des lieux de connaissances sur la toxoplasmose en France (rapport Afssa, décembre 2005). En effet, après la collecte des informations relatives à la contamination de la viande destinée à la consommation humaine (plans de surveillance détaillées dans la partie 4), les conditions actuelles sont réunies pour la mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose. Ce travail se fera dans le cadre d'une collaboration européenne de

type med-vet au sein du consortium One Health European Joint Projects (OHEJP)-Toxosources. Il est inclus également dans le projet de thèse d'université de Filip DAMEK (OHEJP-ToxSauQMRA).

Le troisième projet, développé, représente un projet de type « risque élevé - gain élevé » car il a pour but d'investiguer la source de contamination des porcs (oocystes/kystes) à partir d'une matrice inhabituelle : le sérum. Ce travail se fera dans la cadre d'une collaboration européenne de type med-vet au sein du consortium One Health European Joint Projects (OHEJP)-Toxosources.

Enfin, **Le quatrième projet** présenté, est toujours en lien avec la sérologie chez le porc et a pour objectif d'explorer la possibilité de prendre *T. gondii* comme marqueur de biosécurité des exploitations porcines. En effet, un certain nombre d'informations est actuellement réuni (plans de surveillance DGAL, visites sanitaires, etc.) pour nous permettre de poursuivre ce genre d'analyses qui faciliteront le travail d'identification des risques sanitaires liés à la consommation de viande de porc. Ce travail se réalisera en partenariat avec Dr Nicolas ROSE, Anses Ploufragan et Dr Benoit DURAND, Anses Maisons-Alfort.

6.1. Distribution et résistance anatomique de *Toxoplasma gondii* : du porc à la viande transformée.

L'homme se contamine en ingérant des kystes à bradyzoïtes présents dans les viandes crues ou peu cuites, ou des oocystes provenant des matières fécales d'un chat infecté et souillant les légumes, les fruits, l'eau, les mains. Il n'existe cependant pas de surveillance réglementaire de *T. gondii* sur la chaîne alimentaire en France. Les viandes crues ou insuffisamment cuites représentent la voie majeure de transmission du parasite chez l'homme (Opsteegh et al, 2016). Le porc, au même titre que les autres animaux de rente, peut héberger des kystes tissulaires suite à l'ingestion d'oocystes ou de cadavres d'animaux parasités. Le plan de surveillance diligenté par la DGAL en 2013 a montré que 3,0 % (IC95-[0,9-5,0 %]) des porcs élevés en système hors-sol et 6,3 % (IC95-[2,6-9,9 %]) des porcs élevés en plein-air présentaient une séroprévalence positive pour *T. gondii*. Cette séroprévalence atteignait 13,5% (IC95-[13,1-13,9 %]) pour les porcs reproducteurs hors-sol. Aussi, le risque associé à la consommation de produits à base de porc existe, même s'il apparaît plus faible que celui relatif à la consommation de viande ovine (séroprévalence globale estimée en 2007 de l'ordre de 25 %) ou de viande bovine (séroprévalence globale estimée en 2009 de l'ordre de 13,0 %) (Blaga et al, 2015).

La viande de porc, est la viande la plus consommée en France avec 40,4 kg par ménage en 2014 et les $\frac{3}{4}$ dégustés sous la forme de produits de charcuterie-salaison (FranceAgriMer, 2015). Parmi les produits de salaison crue, le saucisson sec est le plus largement consommé, avec environ 75 000 tonnes de saucisson sec par an en France. À elle seule, la France a produit un peu plus de 108 000 tonnes de saucisses et saucissons secs en 2015, représentant environ 9% du tonnage global de l'ensemble des

charcuteries (données FICT, 2016). La sécurité sanitaire de ces produits constitue donc un enjeu majeur. Cependant, l'importance relative de la consommation de viandes de porc dans les infections toxoplasmiques humaines n'est pas connue. Le risque de transmission du parasite *via* la consommation de produits de salaison est fréquemment questionné. Les récents travaux de Gomez-Samblas et collègues (2015) ont démontré que des formes viables du parasite pouvaient être détectées dans des jambons secs de type « Serrano » commercialisés par 3 des 7 salaisonnières échantillonnées, avec des prévalences respectives de 8,82% (6/68), 11,76% (8/68) et 20,45% (9/44). D'autres auteurs ont mis en évidence la présence du parasite dans 1,4% (4/288) des produits de saucisserie (spécialités allemandes : Mettwurst, Teewurst et Salami) procédés à partir de porcs volontairement inoculés (Abdulmawjood et al, 2014).

Le manque de données expérimentales concernant le devenir de *T. gondii* durant la fabrication et la conservation du saucisson sec de porc rend l'appréciation du risque difficile pour ce type de produits. Les matières premières privilégiées dans la formulation des mêlées sont l'épaule, le jambon et la poitrine. Elles proviennent majoritairement de cochons (troues reproductrices de réforme) qui présentent une exposition augmentée au risque du fait de l'âge avancé de l'animal par rapport au porc charcutier (environ 3 ans versus 6-7 mois). Les niveaux d'infection toxoplasmique de ces pièces sont toutefois méconnus. Aussi, une analyse fine de l'organotropisme du parasite au sein des carcasses de porcs, et notamment de cochons, est nécessaire pour une meilleure qualification des pièces vis-à-vis du danger *T. gondii*. Ces essais viendraient en outre compléter les récentes analyses supportées par l'EFSA à partir de porcs expérimentalement infestés, et pour lesquels une recherche positive du parasite viable a été mise en évidence dans 3 des 4 muscles testés (Opsteegh et al, 2016).

Par ailleurs, s'il est connu que le procédé de fabrication du saucisson sec a un impact assainissant vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes, il n'en est rien vis-à-vis des parasites tels que *T. gondii*. L'impact du sel (NaCl) et des nitrites (NaNO₂), adjuvants rajoutés dans les mêlées pour leurs rôles organoleptique, technologique et conservateur, a été préalablement investigué en conditions de laboratoire à partir de milieux de culture. Notamment, Pott et collègues (2013) ont montré une inactivation rapide des kystes toxoplasmiques exposés à des doses en NaCl \geq 2,5%. La supplémentation du milieu en nitrites permettait d'accroître cet effet. Aucun impact du pH, pour des valeurs comprises entre 5 et 7 unités, n'a été observé. Outre ces essais, Neumayerová et collègues (2014) ont observé une inactivation du parasite après seulement quelques heures dans du saucisson sec procédé à partir de viande de chèvre volontairement infestée et additionnée de sel nitrité à 6%. Cependant, la dose de sel nitrité employée est 10 fois supérieure à la dose maximale actuellement autorisée (i.e. 120 ppm versus 1500 ppm dans la présente étude) en France par le code des usages de la charcuterie, de la salaison et des conserves de viandes (IFIP, version 2016). Ces seules données sont difficilement exploitables pour apprécier le devenir du parasite dans le saucisson sec issu des productions

industrielles et artisanales françaises. De plus, les préconisations nutritionnelles actuelles, appuyées par une volonté réglementaire, visent à réduire les niveaux de nitrite (formation de nitrosamines cancérigènes) et de sodium (risque d'hypertension artérielle et d'accidents vasculaires cérébraux accru lors d'une consommation chronique à dose élevée) utilisés dans les salaisons et les charcuteries. Leur diminution pourrait favoriser la persistance de l'infectiosité des kystes toxoplasmiques dans le produit. Les principaux objectifs de ce programme visent donc à acquérir de nouvelles connaissances pour :

- caractériser l'organotropisme de *T. gondii* au sein de carcasses de cochons naturellement infestées en comparaison à des porcs expérimentalement infestés par la forme kystique ou oocyste du parasite (le tropisme musculaire pouvant différer d'une forme à l'autre). Les matières premières de porc entrant dans la composition du saucisson sec pourront être ainsi qualifiées d'un point de vue qualitatif et quantitatif vis-à-vis du danger *T. gondii*.
- déterminer le comportement de *T. gondii* et, notamment, sa viabilité durant la fabrication et la conservation du saucisson sec procédé à l'échelle pilote selon des pratiques représentatives de celles appliquées par les salaisonnières en France. Plusieurs recettes seront testées, incluant divers taux d'incorporation de nitrites (sous forme de nitrites de sodium NaNO₂) et de sel (NaCl).

Pour attendre le premier objectif, l'organotropisme de *T. gondii* au sein de carcasses de porcs naturellement versus expérimentalement infectées par la forme kystique ou oocyste du parasite, un essai d'infection expérimentale de porcs (n=7) sera réalisé avec les 2 formes parasitaires pouvant être à l'origine de la contamination chez le porc : l'oocyste (n=3) (ingestion à partir du milieu extérieur) et le kyste tissulaire (n=3) (ingestion à partir de viande infestée). En parallèle, une collecte de carcasses de porcs (n=6), naturellement infestés, sera réalisée dans un abattoir. Pour chacune des carcasses le cœur, la poitrine, l'épaule et le jambon seront prélevés et analysés par qPCR, MC-PCR et bio-essai. Cette analyse sera complétée par celle de 22 animaux, expérimentalement infestés, selon un protocole similaire au nôtre, par le Pr. B.Koudela (VRI, RépubliqueTchèque) et les mêmes tissus (le cœur, la poitrine, l'épaule, le jambon) ont été collectés. Cette coopération nous permettra d'augmenter la capacité de synthèse de nos résultats.

Pour la seconde partie et, notamment, sur le devenir de *T. gondii* durant les étapes de fabrication et de conservation de saucissons secs, la fabrication des saucissons secs sera effectuée à l'échelle pilote par l'IFIP, selon un protocole représentatif de ceux pratiqués en salaisonnerie. Les muscles utilisés pour cette étape proviendront des carcasses de porcs étudiées à l'étape 1 du présent programme. Ces muscles additionnés de gras en proportions adéquates seront hachés jusqu'à obtention d'une masse homogène. Après hachage, la mûlée sera divisée en sept portions (correspondantes aux 7 formulations), lesquelles seront mélangées aux ingrédients et additifs

suivants : NaCl et NaNO₂ satisfaisant aux conditions choisies, épices, KNO₃, dextrose, lactose et ferment lactique.

Au total, 7 taux d'incorporation de nitrites (sous forme de nitrites de sodium NaNO₂) et de NaCl seront comparés. Pour chacune des formulations testées, 3 saucissons secs seront prélevés à différentes dates (par exemple : J0, J2, J10, J20, J30 et J50), puis analysés pour la détection et la quantification de *T. gondii* par qPCR (EA3800) et MC-qPCR (ENVA). La viabilité du parasite sera vérifiée par bio-essai chez la souris (animalerie EA3800). A chaque date d'analyse, un suivi physicochimique (pH, a_w, pertes de poids) et un dénombrement de la flore lactique seront réalisés par l'IFIP à partir d'1 saucisson sec par formulation, notamment pour vérifier le bon déroulement du procédé. Au total, 168 saucissons secs seront nécessaires pour cette présente étude (3 saucissons secs × 7 recettes × 6 dates d'analyse pour le suivi de *T. gondii* ainsi que 1 saucisson sec × 7 recettes × 6 dates d'analyse pour les analyses physico-chimiques et bactériologiques).

Partenaires : IFIP, URCA ; VRI République Tchèque

Contrats : 1. France Agri Mer : Toxsau (2018 - 2021, IFIP, ENVA, URCA), 51.706 euros

2. One Health EJP : ToxSauQMRA (2019-2022), contrat de thèse pour Filip DAMEK, 136.250 euros

6.2. Mise en place d'une appréciation quantitative du risque alimentaire pour la toxoplasmose

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 œuvre 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.

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 l'humain, et plus particulièrement chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale.

A l'heure actuelle, nous disposons (ou nous allons disposer dans un avenir proche) d'un certain nombre d'éléments qui nous permettra de réaliser cette appréciation quantitative du risque et notamment :

1. la présence de *T. gondii* dans les diverses viandes consommées en France (plans de surveillance DGAI, résultats détaillés dans la partie numéro 4) ;
2. l'organotropisme : la distribution de la contamination parasitaire dans les différentes pièces de viande (le cœur, la poitrine, l'épaule et le jambon) sera évaluée dans le projet précédent (5.1), afin d'estimer au mieux le risque lié à la consommation d'une portion ;
3. l'abattement en fonction du mode de conservation des aliments : des données expérimentales seront disponibles sur l'effet de la salaison et la quantité de nitrites, dans le projet précédent

Ces résultats, obtenus en France, seront intégrés dans une démarche plus générale, dans le cadre du projet européen Toxosources (OHEJP), et plus particulièrement le WP2 (Évaluation quantitative multicentrique du risque microbiologique des infections à *T. gondii*) auquel je participe comme Task-leader. Dans ce cadre, les résultats déjà mentionnés seront complétés par (a) une recherche bibliographique sur l'épidémiologie humaine et animale de *T. gondii* en Europe (2000-2020) et (b) une enquête sur la consommation d'aliments au niveau européen.

Méthodologie d'appréciation quantitative du risque

La *première étape* sera de déterminer si l'appréciation quantitative du risque devra être appliquée d'emblée à toutes les viandes (charcuterie comprise) et les aliments d'origine végétale. De façon

symétrique, il faut aussi déterminer si l'évaluation doit tenir compte du génotype parasite ou non. *A priori* il conviendrait de garder toutes les 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 en Europe.

La *seconde étape* du travail sera l'acquisition de données quantitatives à tous les niveaux du module à partir de données bibliographiques. Cette étape correspond à la revue bibliographique sur l'épidémiologie de la toxoplasmose humaine et animale en Europe sur la période 2000-2020 et est nécessaire pour la construction de la base de données et l'établissement des modèles le plus pertinents à utiliser pour le AQR.

La *troisième étape*, correspond à l'enquête sur la consommation d'aliments au niveau européen. Pour mener l'appréciation quantitative de risque, il faut pouvoir quantifier le comportement des consommateurs d'aliments potentiellement 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 : la mesure de la variabilité entre individus des consommations habituelles des aliments concernés et les informations sur les modes de consommation de ces aliments (congélation, cuisson). Un important travail méthodologique préalable est nécessaire avec le développement et la validation d'un questionnaire dans ce domaine, avant de pouvoir envisager une enquête de terrain. Un travail avec un organisme spécialisé dans ce domaine (GfK, NL) est pris en compte.

Les compétences techniques pour la réalisation de cette appréciation quantitative du risque (AQR) pour la toxoplasmose existent en France et en Europe. Elles seront mobilisées dans un cadre collaboratif et multidisciplinaire représenté par le consortium européen OHEJP Toxosources.

Partenaires : Consortium Toxosources ; IFIP, URCA

Contrats : 1. One Health EJP : Toxosources (2020-2022), 269.966 euros

2. One Health EJP : ToxSauQMRA (2019-2022), contrat doctoral pour Filip DAMEK, 136.250 euros

6.3. Identifier la source de contamination des porcs par *T. gondii*

La sérologie est largement utilisée pour diagnostiquer une infection à *T. gondii*, car il existe de fortes corrélations entre la détection d'anticorps anti- *T. gondii* et la présence de kystes infectieux dans les tissus de porc, les anticorps et les kystes tissulaires étant supposés avoir une persistance à vie (Opsteegh et al., 2017). Cependant, avec les méthodes actuelles, les Laboratoires de références (LNR) sont incapables de faire la distinction entre les infections à oocystes et les kystes tissulaires. La définition précise des sources de contamination est donc une étape cruciale dans le développement de plans de prévention intégrée de l'infection à *T. gondii* chez le porc. Elle peut, de ce fait, aider à identifier les principales voies de contamination et mettre ainsi en évidence les principaux points d'intervention : contrôle des populations félines (oocystes) ou contrôle des rongeurs (kystes tissulaires). Dans le cadre plus large du consortium européen Toxosources (OHEJP) qui vise à identifier les sources de contamination humaine et animale de *T. gondii*, nous essaierons d'identifier au sein du WP4, « Méthodes sérologiques basées sur des nouveaux antigènes pour discriminer les infections à *T. gondii* acquises à partir d'oocystes » des antigènes capables d'une telle discrimination. Les nouveaux antigènes vont compléter le panel déjà existant des protéines décrites dans la littérature et capables d'une telle distinction (TgERP, TgCCp5A). Des essais immunologiques de type ELISA seront mis au point en utilisant divers antigènes et testés sur le panel ci-dessus de sérums collectés dans différents types d'élevages porcins (différents systèmes de logement : hors-sol et plein-air) et dans différentes catégories d'âge (porcelets, porcs d'engraissement, truies reproductrices). Il s'agit d'un projet de type « risque élevé - gain élevé » car nous n'avons aucune assurance que les antigènes sélectionnés *in-silico* et produits *in-vitro* donneront les résultats attendus. Cependant, nous pouvons toujours utiliser les deux antigènes déjà décrits (TgERP, TgCCp5A) afin de confirmer, au moins, leur pouvoir discriminatoire sur un panel très large des sérums (naturellement-expérimentalement ; jeune-adultes ; hors-sol-plein air, etc.), en sachant que les résultats liés à leur utilisation restent inconstants. Parallèlement à la sérologie d'attribution de la source, des questionnaires axés sur les principaux facteurs de risque pertinents seront élaborés et à faire remplir dans les exploitations. D'autres prélèvements (par exemple, dans le sol, rongeurs, animaux sauvages) et l'analyse des échantillons seront également effectués dans les exploitations.

Partenaires : Consortium Toxosources ; Dr Nicolas ROSE, Anses Ploufragan

Contrats : One Health EJP : Toxosources (2020-2022), 269.966 euros

6.4. *Toxoplasma gondii*, un marqueur de biosécurité idéal

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA, 2011) a conclu que *T. gondii* est l'un des principaux dangers pour la santé publique chez les porcs, et a donc conseillé aux États membres d'exiger des tests sérologiques réguliers sur les porcs et des audits des exploitations porcines pour contrôler l'infection par *T. gondii*. Cependant, la séroprévalence de *T. gondii* varie considérablement selon les classes de porcs étudiées (porcs de marché contre truies, porcs d'intérieur contre porcs en liberté) (Djokic et al., 2017). Si nous émettons l'hypothèse que *T. gondii* représente un marqueur biologique sain qui est principalement transmis de l'extérieur vers l'intérieur, soit par un vecteur actif (chats, rongeurs, animaux sauvages), soit de manière passive (eau, nourriture, litière), il serait alors possible de spéculer qu'une faible séroprévalence serait corrélée à une "faible contamination extérieure", tandis qu'une séroprévalence élevée suggérerait un environnement fortement contaminé par l'extérieur. Comme le recommande l'EFSA, nous testerons la viabilité du dépistage sérologique dans les élevages porcins (à l'aide d'un test d'agglutination directe haute sensibilité, ADHS), et nous les classerons dans différentes catégories de risque pour *T. gondii* (élevée, moyen, faible). Ce criblage sera accompagné d'un questionnaire axé sur les principaux facteurs de risque pertinents. D'autres prélèvements (par exemple, dans le sol, rongeurs, animaux sauvages) et l'analyse des échantillons seront également effectués dans les exploitations. En outre, l'exposition à l'extérieur devrait fournir des indices sur le niveau global de biosécurité des exploitations, et aidera les services vétérinaires à estimer d'autres menaces "extérieures" importantes pour la santé animale/humaine, telles que : *Trichinella* spp, *Campylobacter*, *Salmonella*, etc.

Partenaires : Dr Nicolas ROSE, Anses Ploufragan et Dr Benoit DURAND, Anses Maisons-Alfort.

Contrats : à demander lors du futur appel d'offre de France Agri Mer

7. Conclusion générale

Chaque année, des épidémies et des épizooties dues à des parasites transmis par les aliments engendrent des nombreux cas chez l'homme et l'animal. Etant donné le fort impact sociétal de ces maladies, les aliments étant omniprésents dans nos vies, ainsi que la perte de la qualité de vie engendrée potentiellement (QALY), il est important d'approfondir les connaissances sur la contamination des aliments (d'origine animale, végétale ou eau) ainsi que de développer des mesures de prévention sur la chaîne alimentaire depuis sa production jusqu'au consommateur.

En tant qu'enseignant-chercheur à l'ENVA, rattaché à l'UMR BIPAR associant ENVA-ANSES-INRA, une de mes missions principales consiste à investiguer la circulation de *Toxoplasma gondii* dans les aliments, avec une priorité pour les aliments d'origine animale. Au cours des dix dernières années passées au sein de l'UMR BIPAR, j'ai développé cette thématique avec une approche éminemment une seule Santé (One Health) que ce soit à travers des plans nationaux de surveillance ou la corrélation entre les diverses méthodes de diagnostic (directes, indirectes) et leur signification biologique. J'ai encadré des stagiaires de DUT, des étudiants de Master 2, des doctorants pour développer et appliquer ces méthodes. J'ai eu l'opportunité d'obtenir de nombreux financements (doctorats, projets) par des agences nationales ou internationales en tant que PI (investigateur principal) ou coordinateur. J'ai également intégré des projets Européens d'envergure pour la lutte contre la toxoplasmose (EFSA, OHEJP). En parallèle de ce projet principal de recherche, je participe à de nombreux projets collaboratifs à l'étranger (Roumanie, Croatie) portant sur la surveillance épidémiologique de *T.gondii* dans les populations animales. Différents articles sont déjà en cours d'écriture.

Tout en continuant ces projets de surveillance, je souhaite poursuivre mes projets de recherche avec les aspects liés à la prévention de la contamination humaine par *T.gondii*, soit en analysant finement sa distribution anatomique et sa résistance dans les produits carnés, soit en investiguant les sources de contamination des porcs ou la possibilité d'utiliser ce parasite comme marqueur de biosécurité et enfin conduire une analyse quantitative de risque. Ma participation au projet européen Toxosources (OHEJP) permet de financer mes premiers travaux dans cette thématique. A terme, je serai en mesure de demander des allocations postdoctorales à différentes agences (ABIES, DIM) pour poursuivre dans cette thématique.

Une perspective très positive pour l'avenir de mon équipe est le recrutement d'une enseignante-chercheuse spécialisée dans le domaine de l'Immunologie, collègue de l'ENVA, ce qui nous laisserait entrevoir la possibilité de l'investigation plus détaillée des facteurs spécifiques (cellulaire, immunitaire) liés à l'hôte définitif de *T.gondii*, c'est-à-dire le chat.

8. Bibliographie

1. Ballagi, J., 1913, An epidemic of trichinosis in Pennsylvania. N.Y. Med.J 98 1166-1167.
2. Batz MB, Hoffmann S, Morris JG, JR 2012. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. J Food Prot. 2012 ; 75 (7) : 1278-91.
3. Beck, R., Mihaljevic, Z., Marinculic, A., 2005, Comparison of trichinelloscopy with a digestion method for the detection of *Trichinella* larvae in muscle tissue from naturally infected pigs with low level infections. Vet Parasitol 132, 97-100.
4. Bellali H, Pelloux H, Villena I, Fricker-Hidalgo H, Le Strat Y, Goulet V. Prevalence of toxoplasmosis in France in 1998 : Is there a difference between men and women ? At what age do children become infected ? Rev Epidemiol Sante Publique. 2013; 61: 311-7.
5. Berger-Schoch, A. E., D. Bernet, M. G. Doherr, B. Gottstein, et C. F. Frey. 2011. « Toxoplasma Gondii in Switzerland: A Serosurvey Based on Meat Juice Analysis of Slaughtered Pigs, Wild Boar, Sheep and Cattle ». Zoonoses and Public Health 58 (7): 472-78. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2011.01395.x>.
6. Berger F, Goulet V, Le Strat Y et al. Toxoplasmose chez les femmes enceintes en France : évolution de la séroprévalence et de l'incidence et facteurs associés, 1995-2003, Bull Epidemiol Hebd. 2008; 14-15: 117-21.
7. Boireau, P., Vayssier, M., Fabien, J.F., Perret, C., Calamel, M., Soule, C., 1997, Characterization of eleven antigenic groups in *Trichinella* genus and identification of stage and species markers. Parasitology 115 (Pt 6), 641-651.
8. Boireau P, Vallée I, Roman T, Perret C, Mingyuan L, Gamble HR, Gajadhar A. *Trichinella* in horses: a low frequency infection with high human risk. Vet Parasitol 2000; 93: 309-320.
9. Boireau Bull. Acad. Vét. France — 2018 - Tome 171 - N°2 LE DOMAINE D'INTÉRÊT MAJEUR EN RECHERCHE DE LA RÉGION ÎLE-DE-FRANCE : "UN MONDE, UNE SANTÉ" (DIM1HEALTH)
10. Bouwknegt, M., Devleeschauwer, B., Graham, H., Robertson, L.J., van der Giessen, J.W., 2018. Prioritisation of food-borne parasites in Europe, 2016. Euro Surveill. 23.
11. Broglia, A and Kapel, C. Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. Veterinary Parasitology 2011; 182:2-13.
12. Brown HL, Jade L. Passey, Maria Getino, Isabella Pursley, Piyali Basu, Daniel L. Horton and Roberto M. La Ragione The One Health European Joint Programme (OHEJP), 2018–2022: an exemplary One Health initiative, 2020
13. Brown C. Virchow revisited: Emerging zoonoses. ASM News 2003; 69: 493-97
14. Capo, V., Despommier, D.D., 1996, Clinical aspects of infection with *Trichinella* spp. Clin Microbiol Rev 9, 47-54.
15. Cazacu, M., 1999, The story of Romanian gastronomy. The Romanian cultural foundation publishing house, Bucharest, 143 p.
16. Cironeanu, I., 1981, The absence of *Trichinella spiralis* in modern swine farms, In: Trichinellosis. Proceedings of the 5th International Conference on trichinellosis, 1-5 September 1980, Noordwijk aan Zee, The Netherlands.
17. Cironeanu, I., Ispas, A., 2002, Totul despre trichineloză. Editura MAST, Bucuresti, 190 p.
18. Chatellier V., 2017. Les échanges de bovins vivants et de viande bovine dans le monde et dans l'UE : trajectoires productives et commerciales des principaux pays impliqués INRA Productions Animales 30 (3), 199-218
19. Cleaveland S., Laurenson M.K. & Taylor L.H. (2001). – Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergency. *Philos. Trans. roy. Soc. Lond., B, biol. Sci.*, **356** (1411), 991-999.
20. Cook RA, Karesh WB, Osofsky SA. The Manhattan Principles on 'One World, One Health'. One World One Health. Available from: <http://www.oneworldonehealth.org/>
21. Cristea G, 1998, Trichineloză la animale și riscul imbolnavirii omului. Editura Ceres, Bucuresti,

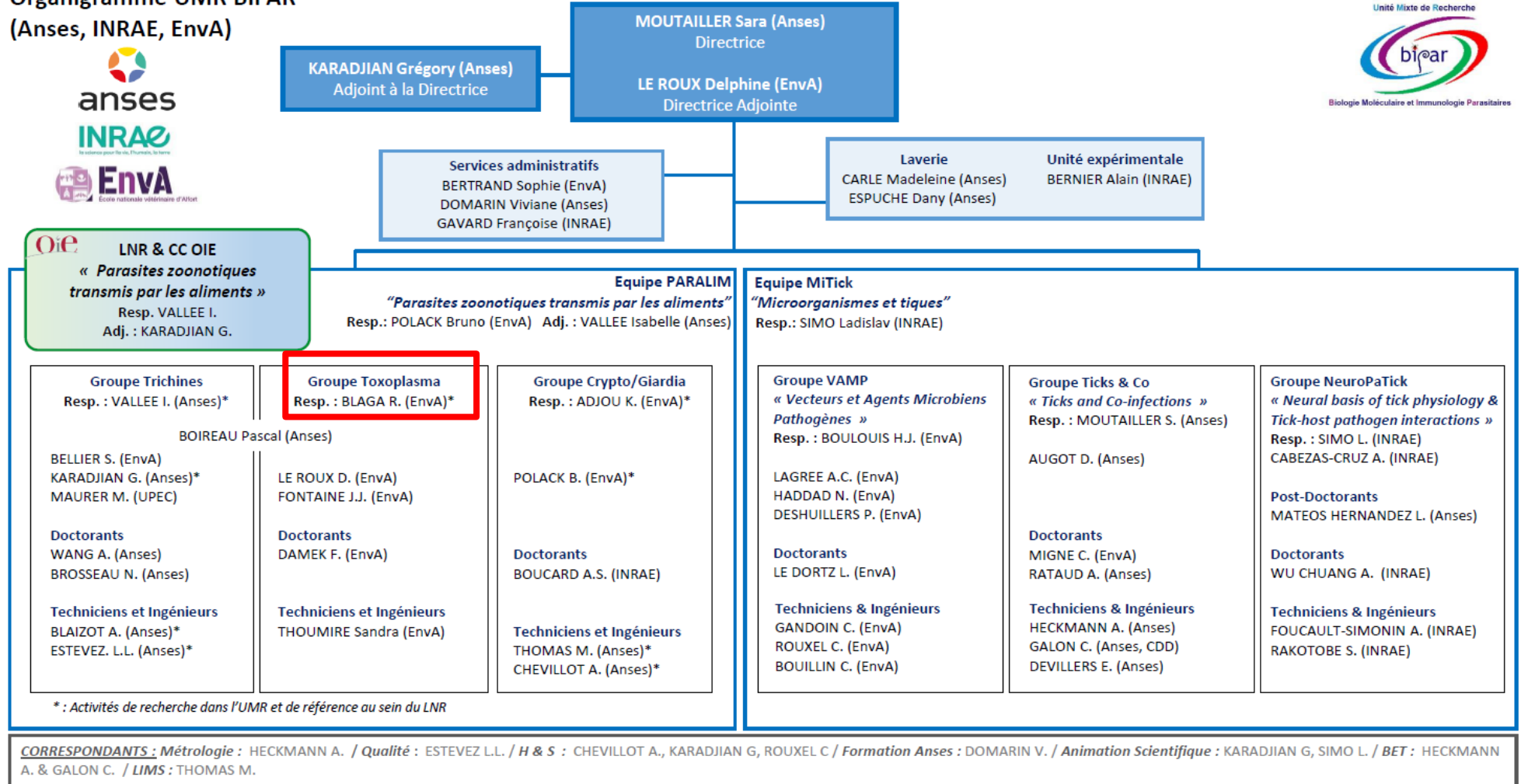
222 p.

22. Davidson, R, Simard, M, Kutz, SJ, Kapel, CMO, Hamnes, IS and Robertson, LJ. Artic parasitology: why should we care? *Trends in Parasitology* 2011; 27(6):238-244.
23. Despommier, D.D., RW, G., Hotez PJ, CA., K., 2000, *Trichinella spiralis*, In: Parasitic Diseases. Apple Trees Productions, LLC. Pub., New York, pp. 125-132.
24. DeVault T, Beasley J, Olson Z, Moleon M, Carrete M, Margalida A, *et al.* Ecosystem Services Provided by Avian Scavenger, In: *Why Birds Matter: Avian Ecological Function and Ecosystem Services*. University of Chicago Press, USA. 2016; 235-70.
25. Dubey, J.P., 1986. A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet. Parasitol.* 22, 177–202.
26. Dubey, J.P., Thulliez, P., 1993. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.* 54, 270–273.
27. Dunn, M Wallon, F Peyron, E Petersen, C Peckham, R Gilbert Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling *Lancet* 1999 May 29;353(9167):1829-33.
28. Dupouy-Camet, J., 2000, Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Vet Parasitol* 93, 191-200.
29. Dupouy-Camet, J., Kociecka, W., Bruschi, F., Bolas-Fernandez, F., Pozio, E., 2002, Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert Opin Pharmacother* 3, 1117-1130.
30. Felix, I. 1870. Raportul general pe anul 1869, Wess, E.I., ed. (Bucuresti), pp. 49 -50.
31. Forbes, L.B., Parker, S., Scandrett, W.B., 2003, Comparison of a modified digestion assay with trichinoscopy for the detection of *Trichinella* larvae in pork. *J Food Prot* 66, 1043-1046.
32. Fürst, T, Keiser, J and Utzinger, J. Global burden of human food-borne trematodiasis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012; 12:210-21. FERG
33. Gamble, H.R., 1998, Sensitivity of artificial digestion and enzyme immunoassay methods of inspection for trichinae in pigs. *J Food Prot* 61, 339-343.
34. Gebreyes WA, Dupouy-Camet J, Newport MJ, Oliveira CJB, Schlesinger LS *et al.* The global one health paradigm: challenges and opportunities for tackling infectious diseases at the human, animal, and environment interface in low-resource settings. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e3257.
35. Gilot-Fromont, E., Aubert, D., Belkilani, S., Hermitte, P., Gibout, O., Geers, R., Villena, I., 2009. Landscape, herd management and within-herd seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in beef cattle herds from Champagne-Ardenne, France. *Vet. Parasitol.* 161, 36–40.
36. Gould, S.E., 1945, Trichinosis. Charles C.Thomas, Springfield, Illinois, 358 p.
37. Havelaar AH, Kemmeren JM, Kortbeek LM. Disease burden of congenital toxoplasmosis. *Clin Infect Dis.* 2007; 44(11): 1467-74.
38. Jokelainen P, Tagel M, Mõtus K, Viltrop A, Lassen B. 2017. *Toxoplasma gondii* seroprevalence in dairy and beef cattle: large-scale epidemiological study in Estonia. *Veterinary Parasitology*, 236, 137–143.
39. Liu, M., Boireau, P., 2002, Trichinellosis in China: epidemiology and control. *Trends Parasitol* 18, 553-556.
40. Lupascu, G., Cironeanu, I., Hacıg, A., Pambuccian, G., Simionescu, O., Solomon, P., Tantareanu, J., 1970, Trichineloza. Editura Academiei Romane, Bucuresti, 346 p.
41. Markandya A, Taylor T, Longo A, Murty M, Murt S, Dhavala K. Counting the cost of vulture decline—An appraisal of the human health and other benefits of vultures in India. *Ecological Economics* 2008; 67: 194-204.
42. Mas-Coma, S, Valero, MA and Bargues, MD. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. *Veterinary Parasitology* 2009; 163:264-280.
43. Mercier A. Approche écologique, épidémiologique et génétique de la biodiversité de *Toxoplasma gondii* en zone tropicale humide : exemples du Gabon et de la Guyane Française. Thèse D de doctorat : Biologie Sciences Santé. Limoges : Université de Limoges, 2010. Disponible sur <http://epublications.unilim.fr/theses/2010/mercier-aurelien.pdf>
44. Moorhead, A., Grunenwald, P.E., Dietz, V.J., Schantz, P.M., 1999, Trichinellosis in the United States, 1991-1996: declining but not gone. *Am J Trop Med Hyg* 60, 66-69.
45. Murrell, K.D., Pozio, E., 2000, Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly. *Int J Parasitol*

- 30, 1339-1349.
46. Nogareda F, Le Strat Y, Villena I, De Valk H, Goulet V. Incidence and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women in France, 1980-2020 : model-based estimation. *Epidemiol Infect.* 2014; 142: 1661-70.
 47. Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA *et al.* Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 2004; 427: 630-33.
 48. Olteanu, G., 1997, New study on epidemiology and control of trichinellosis in Romania. , In: Ortega-Pierres, G., Gamble, HR, van Knapen, F, Wakelin D, eds (Ed.) *Trichinellosis*. Centro de Investigacion y Estudios Avanzados IPN, D.F. Mexico, Mexico, pp. 531-538.
 49. Orlandi, PA; Chu, D-MT, Bier, JW and Jackson, GJ. Parasites and the food supply. *Food Technology* 2002; 56(4):72-81.
 50. Perret, C., Barrat, J., Calamel, M., Fabien, J.F., Boireau, P., Soulé, C., 1997, Comparative humoral responses in a horse and a fox infected and reinfected with *Trichinella*. *Trichinellosis*, 307-312.
 51. Polley, L and Thompson, RCA. Parasite zoonoses and climate change: molecular tools for tracking shifting boundaries. *Trends in Parasitology* 2009; 25(9):285-291.
 52. Pomares C, Ajzenberg D, Bornard L, et al. Toxoplasmosis and horse meat, France. *Emerg Infect Dis* 2011 ; 17 : 1327-1328
 53. Pozio, E., 2001, New patterns of *Trichinella* infection. *Vet Parasitol* 98, 133-148.
 54. Rozette L, Dumètre A, Couquet CY, Dardé ML. 2005. Seroprevalence de la toxoplasmose chez des ovins et des bovins en Haute-Vienne. *Epidemiologie et Santé Animale*, 48, 97–99.
 55. Slifko, TR, Smith, HV and Rose, JB. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology* 2000; 30:1379-1393.
 56. Stoica, S., 1891, *Trichinosa*, In: Kraft, T.W. (Ed.) *Tratatul bolilor acute - infectatoare*. Sibiu, pp. 124 - 126.
 57. Tenter, Astrid M, Anja R Heckeroth, et Louis M Weiss. 2000. « *Toxoplasma Gondii*: From Animals to Humans ». *International Journal for Parasitology* 30 (12-13): 1217-58. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7).
 58. Tourdjman M, Tchéandjieu C, De Valk H et al. Toxoplasmose chez les femmes enceintes en France : évolution de la séroprévalence et des facteurs associés entre 1995 et 2010, à partir des Enquêtes nationales périnatales. *Bull Epidemiol Hebd.* 2015; 15-16:264-72.
 59. van der Giessen J., Fonville M., Bouwknegt M., Langelaar M., Vollema A. Seroprevalence of *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* in pigs from different housing systems in The Netherlands. *Vet Parasitol.* 2007 Sep 30;148(3-4):371-4. Epub 2007 Jul 23.
 60. Villena I, Ancelle T, Delmas C et al. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis, EuroSurveill.* 2010; 15 (issue 25). pii : 19600
 61. Villena I, Durand B, Aubert D, Biaga R, Geers R, Thomas M et al. New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Vet Parasitol.* 2012; 183: 203-8.
 62. Waldeland H. 1977. Toxoplasmosis in sheep. I. Long-term epidemiological studies in four breeding flocks. II. Influence of various factors on the antibody contents. III. Hematological, serological and parasitological studies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 18, 227–256.
 63. Wallon M, Kodjikian L, Biquet C et al. Long term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis, *Pediatrics.* 2004; 113: 1567-72.
 64. Webster, P., Maddox-Hyttel, C., Nockler, K., Malakauskas, A., van der Giessen, J., Pozio, E., Boireau, P., Kapel, C.M., 2006, Meat inspection for *Trichinella* in pork, horsemeat and game within the EU: available technology and its present implementation. *Euro Surveill* 11, 50-55.
 65. World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites: report of a Joint FAO/WHO expert meeting, 3-7 September 2012, FAO Headquarters, Rome, Italy.. FAO, World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112672>

9. Organigramme de l'UMR BIPAR

Organigramme UMR BIPAR
(Anses, INRAE, EnvA)



Anses LSAn	ORGANIGRAMME UMR BIPAR LSA-NO-0043	Révision	P_REVISION	1/1
		Date	P_APPLICATION_DATE	