

***Toxoplasma gondii*: taux de portage chez les ovins de la région de Marrakech (Mnabha)**

I. Belbacha¹, J. Hafid^{1,2}, R. Tran Manh Sung³, P. Flori³, H. Raberin³, R. Aboufatima¹, A. Regragui¹, A. Dalal¹, A. Chait¹

¹UFR de Biologie et Santé, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, ²Unité d'Immunologie et de Physiologie, Faculté des Sciences et Techniques, Marrakech, Maroc, ³Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine Jaques Lisfranc, Saint Etienne, France

Résumé

Toxoplasma gondii est un parasite ubiquiste avec une prévalence variable d'un pays à l'autre. Au Maroc très peu d'études ont été consacrées à cette prévalence. Afin de contribuer à combler ce vide, nous nous sommes intéressés à l'étude épidémiologique de ce parasite et avons jugé opportun de connaître le taux de portage de ses différents vecteurs qui représentent des sources de contamination pour l'homme. La recherche de ce parasite a été réalisée par la mise en évidence de kystes directement dans le tissu cérébral de 50 ovins abattus et destinés à la consommation. Il résulte de notre étude que 30% des cas sont porteurs de kystes de *T. gondii*. Pour confirmer ces résultats et vérifier la virulence des kystes, les différents prélèvements cérébraux ont été inoculés à des souris. Ces résultats nous encouragent à compléter ce travail par une étude sérologique et par la recherche de ce parasite chez les bovins et les caprins de la région de Marrakech.

Mots clés: prévalence, *Toxoplasma gondii*, kyste, ovin, souris

***Toxoplasma gondii*: level of carriage in sheep of Marrakech region (Mnabha)**

Toxoplasma gondii is an ubiquitous parasite with a prevalence variable from country to country. In Morocco very few studies were devoted to this prevalence. To fill this gap we were interested to study the epidemiology of this parasite and to know the level of carriage by the different vectors which are the sources of contamination in humans. The study was done by directly detecting the cysts in the cerebral tissue of the 50 sheep killed and destined for consumption. The results of this preliminary study show that 30% of the cases carry the cysts of *T. gondii*. To confirm this result and verify the virulence, cerebral specimens were inoculated into mice. These findings are encouraging to complete this study with serological tests and to look for the parasite in cows and goats of this region.

Keywords: prevalence, *Toxoplasma gondii*, cyst, sheep, mice

Introduction

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) est un protozoaire intracellulaire obligatoire, capable de parasiter tous les animaux à sang chaud y compris l'homme. Cette coccidie a la possibilité de pénétrer et de se multiplier dans la plupart des cellules mais avec un retentissement pathologique plus marqué au niveau des cellules du système nerveux central, de la rétine, du cœur et des poumons pour lesquelles elle possède un tropisme particulier. La gravité de la toxoplasmose est bel et bien connue chez la femme enceinte non prémunie (chez qui le parasite peut être source d'une fœtopathie grave) et chez l'immunodéprimé (chez qui la réactivation des formes quiescentes contenues dans des kystes intratissulaires peut être source d'abcès cérébraux). Cette maladie parasitaire représente aussi la

cause majeure d'avortement et de mortalité néonatale chez les ovins (Hartley et al., 1954; Hartley et Marshall 1957; Munday et Mason 1979; Chhabra et Gautam 1984; Buxton 1990; Krupa et al., 1990), les caprins (Van Knapen et al., 1985), et de sérieuses complications chez les bovins (Munday 1975; Dubey et Streitl, 1976; Underwood et Rook, 1992; Buxton et Innes, 1995).

La prévalence de la toxoplasmose humaine est variable d'un pays et même d'une région à une autre, selon les conditions climatiques, les habitudes alimentaires et les règles d'hygiène. Quant au Maroc, rares sont les données relatives à cette prévalence et peu de données quantitatives concernant cette pathologie existent

actuellement; par conséquent, plusieurs travaux seront nécessaires. De ce fait, nous avons jugé opportun de contribuer à l'étude épidémiologique de cette parasitose uniquement chez le mouton de l'une des régions de Marrakech (Mnabha). Ceci, afin de connaître, d'une part, le taux de portage et, d'autre part, de comparer nos résultats à ceux des seuls travaux réalisés chez cet animal par Châarani en 1987 (dans la région de Meknès, résultats non publiés) et par Benkirane et al., 1990 (dans la région de Rabat) à savoir, respectivement, 42% et 39%. Chez le mouton, la toxoplasmose est généralement latente et peut être la cause de pertes économiques considérables (Freyer et al., 1997).

Animaux, matériel et méthodes

L'étude épidémiologique de la toxoplasmose chez le mouton de la région de Marrakech (Mnabha) a été basée exclusivement sur la recherche des kystes de *T. gondii* au niveau des cerveaux des animaux. En effet, cinquante cerveaux d'ovins ont été collectés, pendant plusieurs jours, dans la même boucherie de la région de Mnabha située à 50 km de la ville de Marrakech. Cette collecte est faite sans tenir compte du sexe, de la race ou de l'âge de l'animal. Des souris blanches OF-1 âgées de 2 mois (22 et 25 gr), provenant de l'élevage de l'animalerie de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech et n'ayant jamais été en contact avec *T. gondii* auparavant, ont été utilisées pour la mise en évidence et le maintien de ce parasite. Le choix de cet animal repose sur le fait que, de par sa disponibilité et sa sensibilité au *T. gondii*, il représente à notre avis le moyen le plus efficace pour mettre en évidence *T. gondii* dans un tissu suspect.

Identification des Kystes

Elle consistait à prélever à l'aide d'un scalpel et d'une pince chirurgicale des fragments de 1 gr des diverses parties constitutives des cerveaux, de les broyer dans un «poter» muni d'un piston et en présence de 500 µl de sérum physiologique à 9‰ de NaCl. Dix appositions de 30 µl de chaque broyat sont ensuite réparties sur des lames et enfin lues au microscope. Un cerveau est considéré contaminé dès que l'on détecte ne serait-ce qu'un seul kyste de *T. gondii*. Cependant, un cerveau est considéré non porteur de kystes quand toutes les observations de ses différentes parties se sont avérées négatives.

Inoculation à la souris et recherche des anticorps anti-*T. gondii*

Deux cent cinquante microlitres des broyats ont été inoculés par voie orale et/ou intrapéritonéale à des lots de 5 souris. Après un mois, ces souris ont été

endormies à l'éther, leur sang prélevé à la veine jugulaire et centrifugé pour récupérer les sérums, tandis que leur cerveaux ont été extraits en ouvrant délicatement leur boîte crânienne. Les sérums sont analysés par Immunofluorescence indirecte (IFI, Ambroise-Thomas et al., 1967) pour la recherche des anticorps spécifiques de *T. gondii*, alors que les cerveaux ont été broyés comme précédemment et examinés au microscope.

Résultats et Discussion

La recherche des kystes à l'examen direct des cerveaux de mouton nous a permis d'obtenir un taux de portage de 30%, autrement dit, parmi les 50 cerveaux examinés 15 ont été trouvés positifs. La densité de ces kystes varie de 1 à 2 jusqu'à 5 à 8 kystes par apposition. Ils sont caractéristiques de *T. gondii* avec une membrane épaisse entourant plusieurs bradyzoïtes. Les souris ayant reçu les prélèvements de cerveaux positifs manifestaient une anorexie, un amaigrissement et une asthénie générale, symptômes comparables à ceux développés lors d'une toxoplasmose. Leur sérums, testés en IFI, s'avèrent contenir, tous, des IgG spécifiques du parasite. Quand aux broyats de leur cerveaux, ils contenaient tous des kystes de *T. gondii*. En revanche aucun résultat positif n'a été noté chez les animaux ayant reçu les broyats de cerveaux négatifs. Un événement important s'est produit: la mort d'un lot de 5 souris trois jours après qu'on leur ait injecté un broyat de cerveau de mouton. Pour écarter l'idée qu'il pourrait s'agir d'un accident au moment de l'administration, nous avons réinjecté le même broyat à un autre lot de 3 souris par les deux voies, orale et intra-péritonéale. Après trois jours, ces souris ont aussi trouvé la mort. Vu la courte durée qui sépare l'inoculation et le décès, nous n'avons pas essayé de rechercher les anticorps spécifiques et les kystes. Il peut s'agir d'une souche hypervirulente de *T. gondii*; alors que la ou les souches qui ont été retrouvées chez les souris ayant survécu un mois sont avirulentes (kystogènes).

L'objectif de cette étude était de rechercher les kystes intracérébraux de *T. gondii* chez le mouton de l'une des régions de Marrakech. En effet, cette étude épidémiologique a été réalisée chez 50 moutons et le type d'examen adopté au laboratoire était assez lent surtout pour les cerveaux qui étaient négatifs et demandaient donc une exploration totale des différentes régions de l'organe. L'examen direct est considéré comme peu fiable par certains auteurs du fait que la détection du parasite dans un tissu quelconque d'une espèce animale dépend de la taille de l'échantillon examiné et que si le parasite se localisait dans une zone qui n'a pas été analysée, un résultat négatif ne signifierait pas nécessairement que tout l'échantillon est indemne,

ceci ne rend donc pas l'examen à lui seul, assez concluant pour démontrer la présence du parasite (Esteban Redondo et al., 1999). Cependant, dans notre cas, l'inoculation à la souris de broyats et la recherche des kystes dans leur cerveaux et des anticorps spécifiques dans leur sérums nous a permis de confirmer les résultats obtenus par l'examen direct et de bien montrer que ces kystes sont ceux de *T. gondii* et non d'un autre apicomplexa parasite du mouton. L'inoculation intra-péritonéale à la souris demeure la technique la plus sensible pour démontrer l'existence de *T. gondii* dans un tissu et pour appuyer d'autres procédés de détection (Dubey, 1980).

Les kystes de *T. gondii* ont été fréquemment retrouvés au cours de l'infection naturelle chez le mouton, caractérisant ainsi un état chronique subclinique (Frenkel et al., 1970). Leur densité varie en fonction de la date de l'infection par cette coccidie. Nous les avons retrouvés chez 30% des animaux. Ce taux est comparable à celui retrouvé par Spiewak et Malafieg, 1996 en Finlande (35%), Van der Puije et al., 2000 en Guinée (33,2%), Pita Gondim et al., 1999 dans la station Bahia au Brésil (18,75%), Benkirane et al., 1990 dans la région de Rabat au Maroc (39%), et Châarani (résultats non publiés) dans la région de Meknès au Maroc (42%). Ces études épidémiologiques ont été généralement basées sur la recherche des anticorps anti-*T. gondii* dans les sérums des moutons et ceci

par le biais de multiples techniques telles que le test d'Agglutination directe (Spiewak et Malafieg, 1996), l'ELISA (Van der Puije et al., 2000) et la réaction d'agglutination des particules de latex (Benkirane et al., 1990, Pita Gondim et al., 1999). Cette similitude observée au cours de ces analyses pourrait être attribuée au mode de conduite des troupeaux et à la présence de chats dans les élevages. Dans notre cas, l'existence de la contamination toxoplasmique chez 30% d'ovins dans la région de Marrakech (Mnabha), laisserait supposer que ces animaux ont probablement contracté la parasitose en broutant un pâturage souillé par les excréments des chats (Owen et al., 1998) ou en buvant de l'eau contaminée par des oocystes sporulés. Un seul chat infecté suffirait pour contaminer une prairie en excréant des millions d'oocystes en une défécation (Dubey, 1997), d'où le fort potentiel de dissémination et de contamination des animaux à proximité.

Cette étude épidémiologique nous a permis de montrer que les ovins de l'une des régions de Marrakech sont porteurs d'au moins deux souches de *T. gondii* avec un taux proche de ceux trouvés dans d'autres régions du monde, et qu'ils représentent, comme partout ailleurs, une réelle source de contamination de l'homme par ce parasite lors de l'ingestion de leur viande insuffisamment cuite, ou de ses annexes (cas du cerveau).

Toxoplasma gondii: Verbreitung beim Schaf in der Region von Marrakesch (Mnabha)

Toxoplasma gondii ist ein ubiquitär vorkommender Parasit mit einer unterschiedlichen Prävalenz von Land zu Land. In Marokko existieren nur wenige Studien, die sich diesem Thema widmen. Um diese Lücke zu schliessen, waren wir an einer epidemiologischen Studie über diesen Parasiten interessiert, die auch das Vorkommen verschiedener Vektoren als mögliche Quelle menschlicher Infektionen abklären sollte. Die Untersuchungen erfolgten durch direkten Nachweis von Zysten im Hirngewebe von 50 Schafen, die für den menschlichen Konsum geschlachtet wurden. Die Ergebnisse dieser vorläufigen Studie zeigen, dass bei 30% aller Tiere Zysten von *T. gondii* gefunden wurden. Um diesen Befund zu bestätigen und die Virulenz des Parasiten abzuklären, wurden mit den infizierten Gewebeproben Mäuse inokuliert. Diese Ergebnisse sind vielversprechend und geben Anlass, auch serologische Methoden einzubeziehen und die Untersuchungen auf Kühe und Ziegen in dieser Regio auszuweiten.

Propagazione nelle pecore del Toxoplasma gondii nella regione di Marrakesch (Mnagha)

Il *Toxoplasma gondii* è un parassita ubiquitario che si presenta con una prevalenza differenziata da paese a paese. In Marocco esistono solo pochi studi che trattano questo tema. Al fine di completare tali lacune abbiamo effettuato uno studio epidemiologico su questo parassita che doveva anche chiarire l'esistenza di differenti vettori quali fonti possibili di infezioni umane. Gli esami hanno fornito la prova diretta della presenza di cisti nel tessuto cerebrale in 50 pecore, abbattute per il consumo umano. I risultati di questo studio provvisorio mostrano che nel 30% degli animali sono state riscontrate cisti del *T. gondii*. Per conferma questo risultato e per chiarire la virulenza del parassita sono stati inoculati a cavie delle prove di tessuto infettato. Questi risultati sono molto convincenti e rappresentano un valido motivo per includere anche metodi serologici e per propagare queste analisi anche alle mucche e alle capre di questa regione.

Références

- Ambroise-Thomas P., Garin J.P., Cornet A., Kien-Truong T.: Utilisation d'un antigène figuré lyophilisé pour le serodiagnostic de la toxoplasmose par Immunofluorescence. Lyon Med. 1967, 201: 1673–1676.
- Benkiran A., Jabli N., Rodolakis A.: Fréquence d'avortement et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives ovines dans la région de Rabat. Ann. Rech. Vet. 1990, 21: 267–273.
- Buxton D.: Ovine Toxoplasmosis. J. R. Soc. Med. 1990, 83: 509–511.
- Buxton D., Innes E.A.: A commercial vaccine for ovine Toxoplasmosis. Parasitol. 1995, 110: 11–16.
- Chhabra M.B., Gautam O.P.: Caprine abortion and neonatal mortality associated with toxoplasmosis in India, Les colloques de l'INRA, France. 1984, 28: 719–726.
- Dubey J.P.: Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals. J.P.Kreir (Ed) Parasitic Protozoa 3. New York, Academic Press, 1977
- Dubey J.P.: Mouse pathogenicity of Toxoplasma gondii isolated from a goat. Am. J. Vet. Res. 1980, 41: 427–429.
- Dubey J.P., Streitl R.H.: Prevalence of Toxoplasma infection in cattle slaughtered at an Ohio abattoir. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1976, 169: 1197–1199.
- Esteban Redondo I., Meley S.W., Thomson K., Nicoll S., Wright S., Buxton D., Innes E.A.: Detection of Toxoplasma gondii in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet. Parasitol. 1999, 86: 155–171.
- Frenkel J.K., Dubey J.P., Miller N.L.: Toxoplasma gondii in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science 1970, 167: 893–896.
- Freyer A., Bonino J., Falcon J., Castells D., Correa O., Casaretto A.: The incidence and economic significance of ovine Toxoplasmosis in Uruguay. Vet. Parasitol. 1997, 81: 85–88.
- Hartley W.J., Jebson J. L., McFarlane D.: New Zealand II type abortion in ewes. Aust. Vet. J. 1954, 30: 216–218.
- Hartley W.J., Marshall S. C.: Toxoplasmosis as a cause of ovine perinatal mortality. N. Z. Vet J. 1957, 5: 119–124.
- Munday B.L.: Prevalence of Toxoplasma gondii Tasmanian meat animals. Aust. Vet. J. 1975, 51: 315–316.
- Munday B.L., Mason R.W.: Toxoplasmosis as a cause of perinatal mortality in goats. Aust. Vet. J. 1979, 55: 485–487.
- Owen M. R., Clarkson M.J., Trees A.J.: Acute phase Toxoplasma abortions in sheep. Vet. Res. 1998, 42: 480–482.
- Pita Gondim L. F., Barbosa H.V.J., Ribiro Filho C.H., Saeki H.: Serological survey of antibodies to Toxoplasma gondii in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Vet. Parasitol. 1999, 82: 273–276.
- Spiewak E., Malafieg E.: Toksoplazma-wybrane zagadnienia epidemiologii, kliniki i diagnostyki. Microbiol. Med. 1996, 1: 14–28.
- Underwood W.J., Rook J. S.: Toxoplasmosis infection in sheep. Comp. Cont. Ed. Vet. Pract. 1992, 114: 1543–1549.
- Van Der Puije W.N., Bosompem K.M., Conaco E.A., Wastling J.M., Akanmori D.B.: The prevalence of anti-Toxoplasma gondii antibodies in Ghanaian sheep and goats. Acta. Trop. 2000, 76: 21–26.
- Van Knapen F., Panggabean S. O., Van Leusden J.: Demonstration of Toxoplasma antigen containing complexes in active toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 1985, 22: 645–650.

Adresse de correspondance

Pr. Jamal Eddine Hafid, Unité d'Immunologie et de Physiologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences et Techniques, Bd. Abdelkrim Khattabi, B. P. 549, 40 000 Marrakech, Maroc, E-Mail: hfjamal@yahoo.fr

Enregistrement: 7 mai 2004

Accepté: 14 juillet 2004