

# LES INFECTIONS PAR *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ LES MAMMIFÈRES MARINS ÉCHOUÉS SUR LES CÔTES FRANÇAISES ET ROUMAINES

## TOXOPLASMA GONDII INFECTIONS IN STRANDED MARINE MAMMALS IN FRANCE AND ROMANIA

Par Anne-Claire LAGRÉE (née LE CORRE)<sup>1</sup>  
(Communication présentée le 11 juin 2015)

### RÉSUMÉ

Les mammifères marins sont des sentinelles de premier choix pour l'étude de la contamination du milieu marin par des pathogènes terrestres et permettent d'attirer l'attention en cas d'apparition ou de recrudescence de maladies infectieuses. Les protozoaires *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis spp.*, le nématode *Trichinella nativa* sont retrouvés fréquemment chez de nombreuses espèces de mammifères marins à travers le monde. Le parasitisme de ces animaux par des agents zoonotiques (*Toxoplasma gondii* et *Trichinella nativa*) a un impact en santé publique, puisque leur viande est susceptible d'être consommée dans de nombreux pays.

De nombreuses enquêtes de séroprévalence ont détecté la présence fréquente d'infections par *T. gondii* chez les mammifères marins. Première étude du genre en France et en Roumanie, elle met en évidence la présence du parasite *T. gondii* chez les cétacés et les pinnipèdes des eaux françaises et roumaines et pour la première fois chez un cachalot.

**Mots-clés :** *Toxoplasma gondii*, zoonose, mammifère marin, France, Roumanie.

### SUMMARY

Marine mammals are major sentinel species for the research concerning contamination of marine environment by terrestrial pathogens and are early warnings for the emergence or resurgence of infectious diseases. Protozoal parasites such as *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis spp.* and the helminth parasites *Trichinella spp.* can infect many species of marine mammals worldwide. *T. gondii* and *Trichinella spp.* zoonotic infections are a matter of concern for human health, because consumption of marine mammal meat is frequent in some regions of the world.

Extensive seroprevalence investigations have been made in some parts of the world, showing a high presence of *T. gondii* infections in marine animals, yet little is known about it in France and Romania. This study indicates the exposure of cetaceans and pinnipeds from France and Romania to *T. gondii* and should be pursued by large-scale studies. This is the first report on the detection of *T. gondii* antibodies in cetaceans and seals in France and Romania and the first identification of *T. gondii* in a sperm whale.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, zoonosis, marine mammal, France, Romania.

(1) Docteur vétérinaire, en thèse universitaire à l'UMR BIPAR (ANSES, ENVA) à Maisons-Alfort  
Courriel : [anneclaire.lagree@vet-alfort.fr](mailto:anneclaire.lagree@vet-alfort.fr)

## INTRODUCTION

Les relations entre la santé humaine, animale et la qualité de l'environnement sont démontrées. Partout dans le monde, les organismes marins sont de plus en plus contaminés par des parasites et autres pathogènes propres aux animaux domestiques terrestres, qui passent plus facilement qu'autrefois de la terre à la mer à cause de l'action de l'homme : celui-ci bétonne ou assèche des zones marécageuses ayant joué le rôle de filtre naturel et pratique une agriculture intensive.

Le concept des organismes marins sentinelles fournit une approche de l'évaluation de la santé de l'écosystème aquatique. Ces sentinelles servent de signal d'alarme précoce lorsque leur santé est affectée, que ce soit à l'échelle de l'individu ou de la population. On peut ainsi caractériser la nature de ces affections qui, pour certaines d'entre elles, ont des retombées directes sur la santé de l'Homme, tandis que d'autres sont les indicateurs d'un syndrome de détresse environnementale.

Les mammifères marins sont des sentinelles de premier choix pour l'étude des maladies infectieuses émergentes ou ré-émergentes ou pour celle des effets des toxiques libérés dans l'environnement par les activités humaines. En effet, la plupart de ces espèces ont une longue espérance de vie, vivent souvent près des côtes et partagent le même environnement que les humains ; elles se nourrissent des mêmes invertébrés et constituent d'importantes réserves adipeuses qui accumulent les produits chimiques et toxiques. En conséquence, la recherche sur ces espèces est un domaine à prendre en compte (Bossart, 2011).

Par ailleurs, la viande de mammifères marins est aussi consommée par les humains. Chez les Inuits du Nunavik au Québec, pour lesquels cette viande constitue un aliment de base (Simon *et al.* 2011), 60 % de la population est séropositive vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) (Messier *et al.* 2009). La consommation de viande de phoque peu cuite a été incriminée comme facteur de risque (Tryland *et al.* 2011). Des cas d'infections par *Trichinella nativa* sont aussi identifiés en Arctique suite à la consommation de viande de morse ou de phoque.

Cependant, ces populations des zones arctiques ne sont pas les seules à se contaminer par l'ingestion de viande de mammifères marins. Robards & Reeves (2011) synthétisent les connaissances actuelles sur la consommation de mammifères marins par les humains dans le monde, depuis 1970 jusqu'en 2009 : l'utilisation de ces ressources est mondialement répandue. La capture des mammifères marins de petite taille est actuellement considérée comme une menace majeure pesant sur ces espèces. Ces pratiques ne sont pas toujours intentionnelles : dans certains cas, les espèces échouées ou mourant accidentellement dans les filets de pêche sont consommées, ce qui est parfois le cas en France. Ceci reste cependant des pratiques individuelles et non diffusées à grande échelle comme dans d'autres États.

En Amérique du Nord, de récents épisodes de toxoplasmose humaine aiguë, associés à des sources d'eau contaminée font prendre conscience du risque de transmission du parasite par

l'eau. Une épidémie de toxoplasmose à Vancouver en 1995 est reliée à la contamination d'un réservoir d'eau potable par les oocystes libérés par des chats (Bowie *et al.* 1997). Le milieu marin est soumis aux mêmes risques de contamination. Une cause probable de contamination par *T. gondii* serait le lessivage des sols par les eaux de pluie : les oocystes libérés sur le sol par les chats atteignent le milieu marin et peuvent être concentrés par les mollusques filtreurs. La contamination des mammifères marins est par conséquent le reflet de la pollution marine par les oocystes de *T. gondii* et ces animaux pourraient jouer un rôle de sentinelle dans le cadre de la santé publique.

L'objectif de la partie expérimentale de ce travail de thèse a pour objet la recherche du parasite *T. gondii* chez les mammifères marins échoués sur les côtes françaises et roumaines, par sérologie et biologie moléculaire. À part l'étude de Cabezón *et al.* (2011) chez les phoques gris de Molène, notre travail constitue le premier du genre en France et en Roumanie. Il permet de donner une idée de l'infection parasitaire des eaux françaises et roumaines par *T. gondii*.

## QUELQUES RAPPELS SUR LA TOXOPLASMOSE ET SON AGENT TOXOPLASMA GONDII

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite affectant pratiquement tous les vertébrés à sang chaud, mammifères et oiseaux. Elle est due au parasite *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 par Splendore en 1909. *T. gondii* est un protozoaire intracellulaire, appartenant à l'ordre des coccidies, seule espèce du genre *Toxoplasma*. Il existe sous trois formes infectantes : les tachyzoïtes, formes de multiplication rapide dans les phases aiguës de l'infection ; les bradyzoïtes, formes de multiplication lente au sein de kystes tissulaires ; les oocystes sporulés. Le cycle parasitaire comporte une multiplication asexuée qui s'effectue dans différents tissus chez les homéothermes (mammifères -dont le chat- et oiseaux), appelés hôtes intermédiaires et un cycle sexué qui s'effectue dans l'épithélium digestif du chat et de quelques autres félinés (hôtes définitifs). La particularité du toxoplasme au sein des autres coccidies est la possibilité de transmission du parasite par carnivorisme entre hôtes intermédiaires, sans l'intervention de l'hôte définitif (Dubey, 2010).

Les hôtes intermédiaires et définitifs ont la possibilité de se contaminer de trois façons (**figure 1**) :

- à partir des oocystes sporulés disséminés dans l'environnement : consommation de végétaux ou d'eau souillés par les oocystes. Un seul oocyste sporulé peut contaminer un hôte intermédiaire ;
- à partir des kystes tissulaires présents chez les hôtes intermédiaires : consommation de viande infectée crue ou peu cuite d'animaux ;

- par passage transplacentaire des tachyzoïtes : lorsqu'une femelle de mammifère gestante contracte une primo-infection, des tachyzoïtes peuvent atteindre le fœtus par le placenta, à l'origine d'une toxoplasmose congénitale. À l'inverse, chez une femelle en phase d'infection latente (hébergeant des kystes à bradyzoïtes), le fœtus n'est pas infecté si survient une gestation (Dubey, 2010).

La toxoplasmose est une zoonose majeure. Les conséquences en santé publique sont très importantes notamment chez des fœtus ou de jeunes enfants (avortements, hydrocéphalie, cécité, retard mental, etc.), ainsi que lors d'immuno-déficience : toxoplasmose récurrente.

Elle se retrouve sur tous les continents. Étant le plus souvent asymptomatique, le recensement des cas cliniques sous-estime la prévalence de l'infection de manière importante. L'estimation précise doit recourir à des études sérologiques (Institut national de veille sanitaire [InVS], 2007). La prévalence des infections s'étend de 4 % en Corée jusqu'à 92 % au Brésil. Les conditions climatiques, mais aussi d'autres facteurs de risque, liés aux modes de vie et à l'alimentation (habitude de consommer certaines viandes peu cuites) sont évoqués pour expliquer ces différences de prévalence entre les pays (InVS, 2007 ; Dubey, 2010).

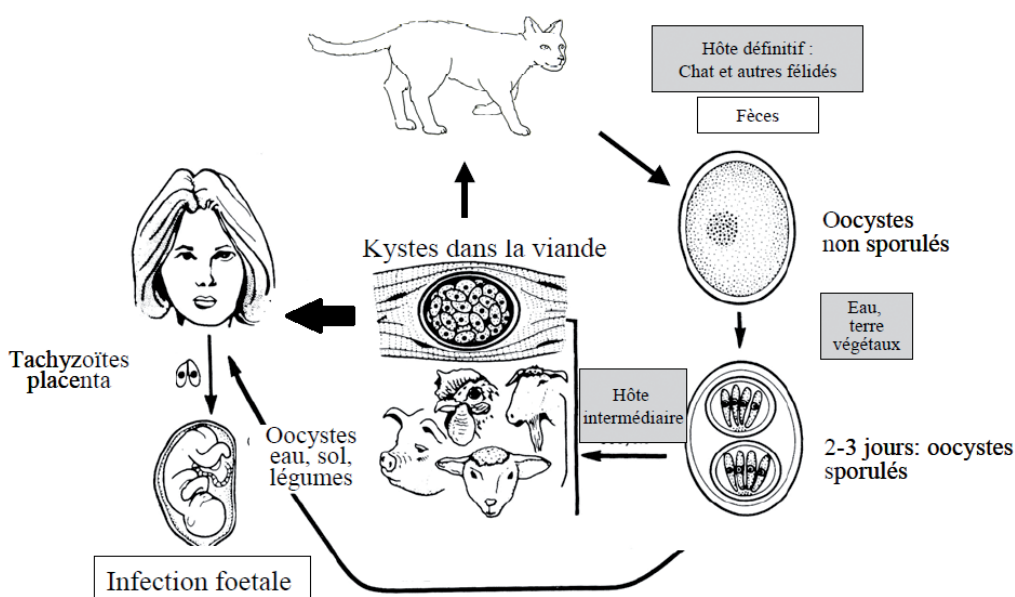
La consommation de viande peu cuite explique l'importance de la toxoplasmose en France, où la séroprévalence était de 44 % en 2003 (InVS, 2007). On estime que 200 000 à 300 000 nouvelles infections surviennent chaque année, dont 15 à 20 % sont symptomatiques (InVS, 2007). Malgré les dispositions réglementaires ayant pour objectif de dépister, par la sérologie, les femmes exposées au risque d'infection par *T. gondii*, les formes graves de toxoplasmose (infection congé-

nitale, toxoplasmose cérébrale des immunodéprimés) restent importantes et justifient l'application rigoureuse des mesures de prévention de la contamination par les populations à risque, notamment la cuisson à cœur de la viande et le nettoyage soigneux des légumes.

## ÉTAT DES LIEUX DES INFECTIONS PAR *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ LES MAMMIFÈRES MARINS

Les descriptions de toxoplasmose sont nombreuses chez les mammifères marins et les premières remontent à 1951. Il s'agit le plus souvent de cas ponctuels observés chez des animaux captifs et isolés. Les premiers cas sont rapportés chez des pinnipèdes : deux lions de mer de Californie (Ratcliffe & Worth, 1951 ; Migaki *et al.* 1977), un jeune phoque veau-marin (Van Pelt & Dieterich, 1973). À partir de 1990, de nombreux cas sont décrits chez des cétacés (Cruikshank *et al.* 1990 ; Migaki *et al.* 1990 ; Domingo *et al.* 1992 ; Di Guardo *et al.* 1995 ; Mikaelian *et al.* 2000 ; etc.).

L'importance clinique des infections à *T. gondii* est significativement plus importante chez les cétacés et les loutres de mer : atteintes générale (anorexie, dépression, hyperthermie, lymphadénopathie), hépatique, cardiaque, neurologique et avortements ou mortalités néonatales sont les manifestations les plus fréquentes. Au contraire, les phoques et otaries sont rarement malades et les symptômes sont associés la plupart du temps à une maladie concomitante ou à une immunodépression (Miller, 2007). Le **tableau 1** présente les résultats d'enquêtes sérologiques chez les cétacés et les pinnipèdes, dans plusieurs régions du monde.



**Figure 1** : Schéma du cycle de *Toxoplasma Gondii* (d'après Dubey & Beattie, 1988).

Les hôtes intermédiaires (ruminants, porcs, volailles) et les hôtes définitifs (Félidés) se contaminent lors de la consommation de végétaux ou d'eau souillés par des oocystes sporulés, à partir de kystes tissulaires présents chez les hôtes intermédiaires, lors de consommation de leur viande infectée crue ou peu cuite ; lorsqu'une femelle de mammifère gestante contracte une primo-infection, le fœtus peut être infecté suite au passage transplacentaire des tachyzoïtes.

| Espèces                       | Pays                                     | Nombre d'animaux testés | Nombre de positifs et séroprévalence | Références                     |
|-------------------------------|--|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| CÉTACÉS                       |  |                         |                                      |                                |
| Grands dauphins               | États-Unis d'Amérique (USA) (Californie) | 94                      | 91 (97 %)                            | (Dubey <i>et al.</i> 2003)     |
|                               | USA (Floride)                            | 47                      | 47(100 %)                            |                                |
| Bélugas                       | USA (Californie)                         | 3                       | 0                                    |                                |
| Grands dauphins               | USA (Californie et Floride)              | 146                     | 146 (100 %)                          | (Dubey <i>et al.</i> 2005)     |
| Grands dauphins               | Espagne                                  | 7                       | 4                                    | (Cabezón <i>et al.</i> 2004)   |
| Dauphins bleu et blanc        |  | 36                      | 4 (11 %)                             |                                |
| Dauphins communs              |  | 4                       | 2                                    |                                |
| Marsouin commun               |  | 1                       | 1                                    |                                |
| Dauphins de Risso             |  | 9                       | 0                                    |                                |
| Globicéphale noir             |  | 1                       | 0                                    |                                |
| Dauphins bleu et blanc        | Italie                                   | 8                       | 4                                    | (Di Guardo <i>et al.</i> 2009) |
| Dauphins communs              | Royaume-Uni                              | 21                      | 6 (29 %)                             | (Forman <i>et al.</i> 2009)    |
| Baleine à bosse               |  | 1                       | 1                                    |                                |
| Marsouins communs             |  | 70                      | 1                                    |                                |
| PINNIPÈDES                    |  |                         |                                      |                                |
| Lions de mer de Californie    | USA (Alaska)                             | 27                      | 8 (30 %)                             | (Dubey <i>et al.</i> 2003)     |
|                               | USA (Californie)                         | 18                      | 11 (61 %)                            |                                |
| Phoques veaux-marins          | USA (Alaska)                             | 311                     | 51 (16 %)                            |                                |
| Phoques annelés               |  | 32                      | 5 (16 %)                             |                                |
| Phoques barbus                |  | 8                       | 4                                    |                                |
| Phoques veaux-marins tachetés |  | 9                       | 1                                    |                                |
| Morses                        |  | 53                      | 3 (6 %)                              |                                |
| Phoques à ruban               |  | 14                      | 0                                    |                                |
| Phoques gris                  | Canada                                   | 122                     | 11 (9 %)                             | (Measures <i>et al.</i> 2004)  |
| Phoques veaux-marins          |  | 34                      | 3 (9 %)                              |                                |
| Phoques à capuchon            |  | 60                      | 1 (2 %)                              |                                |
| Phoques du Groenland          |  | 112                     | 0                                    |                                |
| Phoques veaux-marins          | Japon                                    | 322                     | 3 (1 %)                              | (Fujii <i>et al.</i> 2007)     |
| Phoques veaux-marins tachetés |  | 46                      | 0                                    |                                |
| Phoques à ruban               |  | 4                       | 0                                    |                                |
| Phoques barbus                |  | 1                       | 0                                    |                                |
| Phoques gris                  | Royaume-Uni                              | 32                      | 7 (22 %)                             | (Cabezón <i>et al.</i> 2011)   |
|                               | France                                   | 15                      | 4 (27 %)                             |                                |
| Phoques veaux-marins          | Royaume-Uni                              | 56                      | 6 (5 %)                              |                                |

**Tableau 1 :** Les enquêtes sérologiques montrent des taux de séroprévalence proches de 100 % chez les grands dauphins aux États-Unis d'Amérique. Chez les phoques, ils sont généralement moins importants. En Europe, la prévalence est plus faible qu'aux USA, mais des anticorps anti-T. gondii sont néanmoins détectés chez des cétacés des eaux italiennes, espagnoles et britanniques.

Le mode de contamination des mammifères marins est intrigant car la plupart des espèces se nourrissent de poissons ou d'invertébrés, animaux à sang froid, ou sont exclusivement herbivores. L'ingestion de kystes par la viande est donc peu probable (Dubey *et al.* 2003). Par ailleurs, la plupart des cétacés et pinnipèdes boivent très peu d'eau. La transmission la plus plausible serait l'ingestion d'oocystes rejetés par les félinés sauvages et domestiques sur le sol, qui atteindraient l'eau de mer suite au lessivage des sols et pourraient être concentrés par des mollusques filtreurs ou des invertébrés ou bien transportés par des poissons. Du fait de leur capacité de survie et de sporulation dans l'eau de mer, les oocystes peuvent évoluer en forme infectante et entrer ainsi dans la chaîne de contamination (Agence française de sécurité sanitaire des aliments [AFSSA], 2005). Néanmoins, *T. gondii* n'a été isolé qu'une seule fois d'une moule en milieu naturel (Miller *et al.* 2008).

Miller *et al.* (2002) établissent un lien entre la séropositivité des loutres de mer de Californie et l'écoulement de grandes quantités d'eaux douces : le lessivage des sols par les pluies pourrait apporter des oocystes de *T. gondii* dans la mer, près du rivage. Par ailleurs, Cabezón *et al.* (2004) mettent en évidence une séroprévalence de 54 % (six animaux sur 11 testés) chez les espèces de cétacés habituées à se rapprocher des côtes (grand dauphin et dauphin commun), significativement plus élevée que celle de 9 % des espèces pélagiques, vivant plus au large (quatre dauphins bleus et blancs et dauphins de Risso sur 45 testés). Les espèces se rapprochant des côtes seraient plus susceptibles d'être en contact avec des oocystes de chats rejetés dans la mer.

## ENQUÊTE SUR LA PRÉVALENCE DES INFECTIONS PAR *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ LES MAMMIFÈRES MARINS ECHOUÉS SUR LES CÔTES FRANÇAISES ET ROUMAINES

### Matériel et méthodes

Nous avons recherché le parasite *T. gondii* dans les carcasses de mammifères marins échoués sur les côtes françaises grâce à une collaboration avec le RNE (Réseau national échouages) (Le Corre, 2012). Les échantillons proviennent de cadavres autopsiés par les équipes du Centre de Recherche sur les mammifères Marins (CRMM) de la Rochelle (17) et d'Océanopolis à Brest (29). Les échantillons roumains nous ont été fournis par l'association Oceanic club à Constanța, sur la côte de la Mer Noire. Au total, nous avons disposé de 48 échantillons provenant de sept espèces de pinnipèdes (phoques gris et phoque commun) et d'odontocètes (dauphins communs, grands dauphins, dauphins bleus et blancs, marsouins communs et cachalot) (**tableau 2**).

La recherche des anticorps anti-*T. gondii* est réalisée en utilisant l'ADHS (Agglutination directe de haute sensibilité). On utilise des antigènes figurés : les tachyzoïtes trypsinés, puis formolés. Des dilutions de sérum sont effectuées du 1/6<sup>ème</sup> au 1/384<sup>ème</sup> et nous appliquons une dilution seuil de 1/24<sup>ème</sup> pour considérer un résultat positif, valeur communément admise dans la littérature, définie chez le porc (Dubey, 1997). En complément, nous cherchons à mettre directement en évidence la présence d'ADN du parasite par une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) quantitative, sur LightCycler 480

| Origine géographique                                      | Océanopolis, Brest, France | CRMM, La Rochelle, France | Oceanic club, Constanța, Roumanie | Nombre total d'échantillons |
|---|----------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Pinnipèdes  |                            |                           |                                   |                             |
| Phoques gris ( <i>Halichoerus grypus</i> )                | 17                         |                           |                                   | 17                          |
| Phoque commun ( <i>Phoca vitulina</i> )                   | 1                          |                           |                                   | 1                           |
| Odontocètes   |                            |                           |                                   |                             |
| Dauphins communs ( <i>Delphinus delphis</i> )             | 6                          | 5                         | 2                                 | 13                          |
| Marsouins communs ( <i>Phocoena phocoena</i> )            |                            | 4                         | 7                                 | 11                          |
| Grands dauphins ( <i>Tursiops truncatus</i> )             |                            |                           | 3                                 | 3                           |
| Dauphins blancs et bleus ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) |                            | 2                         |                                   | 2                           |
| Cachalot ( <i>Physeter macrocephalus</i> )                |                            | 1                         |                                   | 1                           |
| Total   | 24                         | 12                        | 12                                | 48                          |

**Tableau 2 :** Origine géographique des échantillons prélevés chez des pinnipèdes et des odontocètes.

Software (Roche Diagnostics). Nous ciblons l'élément répété rep529 de *T. gondii* par les amorces Forward (5'-AGA GAC ACC GGA ATG CGA TCT-3') et Reverse (5'-CCC TCT TCT CCA CTC TTC AAT TCT-3') et la sonde 6FAM-ACG CTT TCC TCG TGG TGA TGG CG-TAMRA.

### Résultats

Des échantillons sont prélevés chez 30 cétacés et 18 phoques. Vingt-six de ces 48 échantillons (54 %) sont analysés à la fois par ADHS et qPCR (PCR quantitative), 11 (23 %) seulement par ADHS et les 11 derniers uniquement par qPCR car nous n'avons pas pu récolter de fluide musculaire. *T. gondii* est détecté dans 22 échantillons (46 %) par l'une ou l'autre technique ou par les deux à la fois : 19 cétacés et trois phoques sont ainsi positifs avec une prévalence respectivement de 63 et 17 %.

La technique sérologique de l'ADHS est utilisée, seule ou en complément de la qPCR, sur 37 échantillons. En appliquant le seuil de 1/24<sup>ème</sup>, la séroprévalence globale de l'infection par

*T. gondii* dans cette sous-population est de 38 % (**tableau 3**). La séroprévalence s'est révélée légèrement supérieure pour les échantillons provenant des côtes roumaines (42 %) par rapport aux échantillons des côtes atlantiques (36 %).

La recherche de l'ADN du parasite par PCR quantitative est effectuée, seule ou en complément de l'analyse sérologique, sur 37 échantillons. Elle se révèle positive dans 32 % des échantillons avec, dans tous les cas sauf un, la mise en évidence d'une très faible quantité d'ADN, au niveau du seuil de détection (cycle seuil Ct de 35,00). Seul l'échantillon provenant d'un cachalot échoué en juillet 2012 au Cap-Ferret (Gironde) a permis de détecter une quantité d'ADN supérieure au seuil de la technique (Ct de 30,79) (**tableau 3**). La moitié des échantillons roumains se sont révélés positifs, contre seulement 23 % des échantillons prélevés sur les côtes françaises.

Étant donné que tous les échantillons ont été congelés avant les analyses, il n'a pas été possible de tenter l'isolement des parasites ou d'effectuer des bio-essais chez le chat ou la souris pour confirmer la présence de parasites vivants.

|  | ADHS     |                               |                                   |                    | qPCR     |                       |                    |                    | Nombre total d'échantillons |
|--|----------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|
|  | Négatifs | Positifs <1/24 <sup>ème</sup> | Positifs (>=1/24 <sup>ème</sup> ) | ADHS non effectuée | Négatifs | Positifs (Ct = 35,00) | Positif (Ct<35,00) | qPCR non effectuée |                             |
| <b>Pinnipèdes</b>                        |          |                               |                                   |                    |          |                       |                    |                    |                             |
| Phoques gris                             | 8        |                               | 1                                 | 8                  | 8        | 1                     |                    | 8                  | 17                          |
| Phoque veau-marin                        |          |                               |                                   | 1                  |          | 1                     |                    |                    | 1                           |
| <b>Odontocètes</b>                       |          |                               |                                   |                    |          |                       |                    |                    |                             |
| Dauphins communs                         | 2        | 1                             | 7                                 | 3                  | 8        | 4                     |                    | 1                  | 13                          |
| Marsouins communs                        | 7        |                               | 4                                 |                    | 7        | 2                     |                    | 2                  | 11                          |
| Grands dauphins                          |          | 2                             | 1                                 |                    |          | 3                     |                    |                    | 3                           |
| Dauphins bleus et blancs                 | 1        |                               | 1                                 |                    | 2        |                       |                    |                    | 2                           |
| Cachalot                                 | 1        |                               |                                   |                    |          |                       | 1                  |                    | 1                           |
| Nombre total d'échantillons              | 19       |                               | 14                                | 12                 | 25       | 11                    | 1                  | 11                 | 48                          |
| Pourcentage par rapport au total analysé | 51%      | 11%                           | 38%                               |                    | 68%      | 29%                   | 3%                 |                    |                             |

**Tableau 3** : Résultats de la recherche des anticorps anti-*T. gondii* par l'agglutination directe de haute sensibilité (ADHS) et de celle de l'ADN du parasite par la technique de PCR quantitative (qPCR).



## Discussion

L'ADHS est le test le plus communément employé pour la recherche de *T. gondii* chez les animaux, mais il ne permet que la détection des anticorps sans donner d'information sur la présence ou non du parasite chez l'hôte. La séroprévalence globale de *T. gondii* est de 38 %. Les taux de séroprévalence sont supérieurs chez les dauphins communs et chez les grands dauphins par rapport aux marsouins communs et aux dauphins bleus et blancs. Or, les premiers appartiennent à des espèces qui vivent généralement près des côtes. Ces résultats sont cohérents avec le fait que *T. gondii* est un parasite terrestre qui se retrouve dans le milieu marin à la suite du lessivage des sols et a donc plus de chances de se retrouver près du rivage. Ils vont d'ailleurs dans le même sens que ceux de Cabezón *et al.* (2004). Par ailleurs, seul un phoque sur les neuf testés s'est révélé séropositif. Bien que surprenant car les phoques vivent à la fois en milieu marin et terrestre, cette prévalence est conforme à ce que rapporte la littérature, les taux de séroprévalence étant généralement supérieurs chez les cétacés que chez les pinnipèdes (Miller, 2007).

Dans notre étude, presque un tiers des échantillons se sont révélés positifs en qPCR. Néanmoins, à l'exception du cachalot, les quantités d'ADN détectées sont toujours très faibles. Cependant, étant donné que cette technique n'est habituellement pas utilisée chez les mammifères marins et que seule la PCR non quantitative a été effectuée chez des échantillons de mammifères marins par Pretti *et al.* (2010) et Simon *et al.* (2011), nous ne pouvons pas comparer nos résultats avec ceux d'autres études. Nous pouvons tout de même noter que notre étude est la première à mettre en évidence la présence du parasite chez un cachalot.

La moitié des échantillons analysés à la fois par qPCR et ADHS présentent des résultats discordants entre les deux techniques, comme dans les études de Pretti *et al.* (2010) et Simon *et al.* (2011) où les échantillons ont été analysés à la fois par ADHS et PCR. Ceci pourrait provenir de la difficulté à mettre en évidence des kystes tissulaires par PCR.

Au niveau géographique, la prévalence s'est révélée supérieure à la fois par sérologie et qPCR pour les échantillons provenant de Roumanie. Ceci peut être partiellement expliqué par le fait que la Mer Noire est beaucoup plus « fermée » que l'Océan Atlantique avec certainement moins de brassage et donc une probabilité plus importante que les oocystes qui y parviennent y restent plus longtemps. Des études complémentaires au sujet de la présence des chats sauvages et domestiques dans les deux régions seraient néanmoins nécessaires pour expliquer cette divergence.

## CONCLUSION

Cette étude nous permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-*T. gondii* dans les échantillons prélevés chez les espèces de mammifères marins échoués le long de la côte atlantique française et de la côte roumaine de la Mer Noire. Nous avons démontré la présence de l'ADN du parasite au sein de certains échantillons et notamment du cachalot. Malgré la faible quantité d'échantillons analysés, il semble probable que l'infection par *T. gondii* soit répandue chez les mammifères marins de l'Atlantique, ce qui n'est pas surprenant étant donné les résultats rapportés dans d'autres études européennes (Cabezón *et al.* 2004, 2011 ; Di Guardo *et al.* 2009 ; Forman *et al.* 2009). En revanche, aucune autre étude n'a pour l'instant étudié la présence du parasite dans la Mer Noire, des études futures seront donc nécessaires pour expliquer les taux d'infection plus importants dans cette région. Cette étude est par ailleurs la première à avoir mis en évidence *T. gondii* chez un cachalot.

À la lumière de ces résultats, il apparaît donc que la contamination des eaux françaises et roumaines par ce parasite, à l'origine terrestre, pourrait poser un problème de santé publique. Des études ayant démontré la présence possible du parasite chez les mollusques filtreurs, tels les huîtres ou les moules, des études complémentaires devraient être menées sur ce sujet pour évaluer le risque d'infection zoonotique à partir de l'eau.

## BIBLIOGRAPHIE

- AFSSA, Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail "Toxoplasma gondii" de l'AFSSA. 2005, 318 p.
- Bossart GD. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Vet Pathol.* 2011; 48(3): 676–90.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB *et al.* Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet.* 1997; 350(9072): 173–77.
- Cabezón O, Resendes AR, Domingo M, Raga JA, Agustí C, Alegre F *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild dolphins from the Spanish Mediterranean coast. *J Parasitol.* 2004; 90(3): 643–4.
- Cabezón O, Hall AJ, Vincent C, Pabón M, García-Bocanegra I, Dubey JP *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in North-eastern Atlantic harbor seal (*Phoca vitulina vitulina*) and grey seal (*Halichoerus grypus*). *Vet Parasitol.* 2011; 179(1-3): 253–6.
- Cruickshank JJ, Haines DM, Palmer NC, Aubin, DJS. Cysts of a *Toxoplasma*-like organism in an Atlantic bottlenose dolphin. *Can Vet J.* 1990; 31(3): 213.
- Domingo M, Visa J, Pumarola M, Marco AJ, Ferrer L, Rabanal R *et al.* Pathologic and immunocytochemical studies of Morbillivirus infection in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Vet Pathol.* 1992; 29(1): 1–10.
- Dubey JP & Beattie CP. *Toxoplasmosis of Animals and Man.* Boca Raton, Florida: CRC Press; 1988. 220 pp.
- Dubey JP. Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. *Vet Parasitol.* 1997; 71(4): 307–310.
- Dubey JP, Zarnke R, Thomas N, Wong S, Bonn WV, Briggs M *et al.* *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet Parasitol.* 2003; 116(4): 275–96.

- Dubey JP, Fair P, Bossart G, Hill D, Fayer R, Sreekumar C *et al.* A comparison of several serologic tests to detect antibodies to *Toxoplasma gondii* in naturally exposed bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Parasitol.* 2005; 91(5): 1074–81.
- Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and humans.* 2nd ed. New-York: CRC Press; 2010.
- Forman D, West N, Francis J, Guy E. The sero-prevalence of *Toxoplasma gondii* in British marine mammals. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009; 104(2): 296–8.
- Fujii K, Kakumoto C, Kobayashi M, Saito S, Kariya T, Watanabe Y *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in seals around Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2007; 69(4): 393–398.
- Di Guardo G, Agrimi U, Morelli L, Cardeti G, Terracciano G, Kennedy S. Post mortem investigations on cetaceans found stranded on the coasts of Italy between 1990 and 1993. *Vet Rec.* 1995; 136(17): 439–42.
- Di Guardo G, Proietto U, Di Francesco CE, Marsilio F, Zaccaroni A, Scaravelli D *et al.* Cerebral toxoplasmosis in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Ligurian Sea coast of Italy. *Vet Pathol.* 2009; 47(2): 245–3.
- InVS, Institut de Veille sanitaire. La toxoplasmose en France chez la femme enceinte en 2003: séroprévalence et facteurs associés. France Repro, Maisons-Alfort : 2007, 42p.
- Le Corre AC. Étude des infections parasitaires à *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis spp.* et *Trichinella spp.* chez les mammifères marins. Thèse de Doctorat vétérinaire, Alfort. Créteil : Université Paris-Est Créteil Val de Marne, 2012. 182p.
- Measures LN, Dubey JP, Labelle P, Martineau D. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Canadian pinnipeds. *J Wildl Dis.* 2004; 40(2): 294–300.
- Messier V, Lévesque B, Proulx J-F, Rochette L, Libman MD, Ward BJ *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Among Nunavik Inuit (Canada). *Zoonoses Public Hlth.* 2009; 56(4): 188–97.
- Migaki G, Allen JF, Casey HW. Toxoplasmosis in a California sea lion (*Zalophus californianus*). *Am J Vet Res.* 1977; 38(1): 135–6.
- Mikaelian I, Boisclair J, Dubey JP, Kennedy S, Martineau D. Toxoplasmosis in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St Lawrence estuary: two case reports and a serological survey. *J Comp Pathol.* 2000; 122(1): 73–6.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA *et al.* Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int J Parasitol.* 2002; 32(8): 997–1006.
- Miller MA. Tissue cyst-forming coccidia of marine mammals. In: *Zoo and wild animal medicine current therapy.* 6<sup>th</sup> revised ed. Saint Louis: Fowler ME & Miller RE; 2007, pp. 319-340.
- Miller M, Miller W, Conrad P, James E, Melli A, Leutenegger C *et al.* Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. *Int J Parasitol.* 2008; 38(11): 1319–28.
- Pretti C, Mancianti F, Nardoni S, Ariti G, Monni G, Di Bello D *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* infection in dolphins stranded along the Tuscan coast, Italy. *Revue Méd. Vét.* 2010; 161(10): 428–431.
- Ratcliffe HL & Worth CB. Toxoplasmosis of captive wild birds and mammals. *Am J Pathol.* 1951; 27(4): 655–67.
- Robards MD & Reeves RR. The global extent and character of marine mammal consumption by humans: 1970–2009. *Biol Conserv.* 2011; 144(12): 2770–86.
- Simon A, Chambellant M, Ward BJ, Simard M, Proulx JF, Levesque B *et al.* Spatio-temporal variations and age effect on *Toxoplasma gondii* seroprevalence in seals from the Canadian Arctic. *Parasitol.* 2011; 138(11): 1362–8.
- Tryland M, Lunestad B, Nesbakken T, Robertson L, Skjerve E. Human pathogens in marine mammal meat. Norwegian scientific committee for food safety. 2011, 71 p.
- Van Pelt RW & Dieterich RA. Staphylococcal infection and toxoplasmosis in a young harbor seal. *J Wildl Dis.* 1973; 9(3): 258–61.