

Université de Montréal

***Toxoplasma gondii* dans la viande au détail au Canada :
prévalence, quantification et facteurs de risque dans une
perspective de santé publique**

par

Corinne Lafrance-Girard

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)
en sciences vétérinaires option hygiène vétérinaire et innocuité des aliments

Avril 2017

© Corinne Lafrance-Girard, 2017

Résumé

La consommation de viande crue ou insuffisamment cuite est une voie de transmission de *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) à l'humain dont on connaît peu l'impact sur la santé publique. Dans une perspective d'évaluation de l'exposition humaine, nous avons caractérisé la présence de *T. gondii* dans la viande vendue au détail au Canada par l'estimation de prévalences, de facteurs de risque et de quantités de parasites par portion. Au total, 302 échantillons d'agneau, 363 de porc et 330 de bœuf ont été collectés dans des magasins d'alimentation à travers le pays. Les échantillons d'agneau et de porc ont été testés par ELISA. Tous les échantillons séropositifs ainsi que tous les échantillons de bœuf ont été testés par réaction de polymérase en chaîne précédée d'une capture magnétique (MC-PCR). Parmi les échantillons de porc et de bœuf, respectivement 0,3% et 0,6 % étaient positifs à *T. gondii*. Des prévalences de 11,1%, 4,3% et 5,4% ont été estimées respectivement dans la viande d'agneau vendue au Québec, en Colombie-Britannique et en Ontario, avec généralement plus de 4000 parasites par échantillon.

Une régression logistique multivariante a permis d'identifier la viande d'agneau comme étant à risque plus élevé de contenir *T. gondii* comparativement à la viande de bœuf (OR=13,9 et $p<0,001$) et de porc (OR=33,3 et $p<0,001$). La viande d'agneau hachée comparée aux autres coupes (OR=8,8 et $p<0,001$) ainsi que la viande d'agneau provenant de Nouvelle-Zélande comparativement à l'Australie (OR=12,3 et $p<0,001$) ont également été identifiés comme étant des facteurs de risque. Ces données sont essentielles à l'élaboration de modèles quantitatifs d'évaluation du risque de toxoplasmose par la consommation de viande et par conséquent, permettent d'orienter sa gestion au Canada.

Mots-clés : *Toxoplasma gondii*, Prévalence, Quantification, Facteurs de risque, MC-PCR, Porc, Agneau, Bœuf, Santé publique, Évaluation du risque

Abstract

The consumption of raw or undercooked meat is a route of transmission of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) to humans whose public health impact is little known. In a human exposition assessment perspective, we characterized the presence of *T. gondii* in retail meat in Canada by the estimation of prevalences, risk factors and amounts of parasites per serving. A total of 302 samples of lamb, 363 pork and 330 beef were collected in food stores across the country. Lamb and pork were tested by ELISA. All seropositive samples and all beef samples were tested by magnetic capture polymerase chain reaction (MC-PCR). Among pork and beef samples, 0.3% and 0.6% were *T. gondii* positive, respectively. Prevalences of 11.1%, 4.3% and 5.4% were found in lamb meat purchased in Quebec, British Columbia and Ontario respectively, with generally more than 4000 parasites.

Multivariate logistic regression identified lamb meat as being more at risk to contain *T. gondii* compared to beef (OR=13.9, $p<0.001$) and pork (OR= 33.3, $p<0.001$). Ground lamb meat compared to other cuts (OR=3.2, $p<0.001$) and lamb from New Zealand compared to Australia (OR=12.3, $p<0.001$) were also identified as risk factors. These data are essential to the development of quantitative models for assessing the risk of toxoplasmosis by meat consumption and therefore guide its management in Canada.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Prevalence, Quantification, Risk factors, MC-PCR, Pork, Lamb, Beef, Public Health, Risk Assessment

Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des sigles.....	ix
Liste des abréviations.....	xi
Remerciements.....	xiii
1. Avant-propos.....	1
2. Recension de la littérature.....	2
2.1 Description du parasite.....	2
2.1.1 Historique et classification.....	2
2.1.2 Structure populationnelle.....	2
2.1.3 Organisation génique.....	3
2.1.4 Facteurs de virulence.....	4
2.1.5 Formes parasitaires.....	4
2.2 Hôtes, cycle de vie et voies de transmission.....	6
2.2.1 Description du cycle de vie de <i>T. gondii</i>	7
2.2.2 L'excrétion parasitaire chez les félins.....	9
2.3 Sources d'infection.....	10
2.3.1 Chez l'humain.....	10
2.3.2 Chez les félinés.....	13
2.4 Relation hôte-parasite.....	13
2.4.1 Dose infectieuse.....	13
2.4.2 Réponse immunitaire de l'hôte.....	14
2.4.3 Localisation préférentielle des kystes parasitaires selon l'espèce.....	17
2.4.4 Présentation clinique.....	17
2.5 Méthodes de détection.....	20

2.5.1 Méthodes de détection immunologiques	21
2.5.2 Méthodes de détection directe dans les tissus.....	23
2.5.3 Corrélation entre la détection immunologique et la détection directe	25
2.6 Prévalence et facteurs de risque	26
2.6.1 Chez l'humain.....	26
2.6.2 Chez les animaux d'élevage.....	31
2.6.3 Chez les félidés	36
2.6.4 Chez les autres espèces	36
2.7 Attribution de source de toxoplasmose humaine	38
2.7.1 Le risque lié à la consommation des différents types de viande.....	40
2.8 Comment gérer le risque de transmission de <i>T. gondii</i> à l'humain par la viande ?	42
2.8.1 Prévention primaire.....	42
2.8.2 Prévention secondaire : Dépistage et prophylaxie chez les femmes enceintes.....	48
2.8.3 Prévention tertiaire : traitements curatifs.....	50
2.8.4 Analyse du risque alimentaire.....	50
3. Objectifs de l'étude	55
4. Article scientifique.....	56
<i>Toxoplasma gondii</i> in beef, lamb and pork retail meat in Canada: prevalence, quantification and risk factors from a public health perspective	56
5. Discussion générale	84
5.1 Aspect innovateur	84
5.2 Interprétation des résultats	84
5.2.1 Statut à <i>T. gondii</i> vs présence de <i>T. gondii</i>	84
5.2.2 Prévalence	85
5.2.3 Facteurs de risque	86
5.2.4 Quantification	87
5.3 Limites de l'étude	87
5.3.1 Limites liées à l'échantillonnage	87
5.3.2 Limites techniques	89
5.4 Directions futures.....	90
5.4.1 Évaluation du risque d'exposition humaine par la consommation de viande.....	90

5.4.2 Doit-on ajuster le modèle de l'ACIA?	92
5.4.3 Investigation d'autres sources potentielles de <i>T. gondii</i>	93
6. Conclusion	94
Bibliographie.....	96
Annexe	xiv

Liste des tableaux

Tableau I. Mesures d'hygiène de base pour prévenir la toxoplasmose humaine.....	43
Tableau II. Recommandations du Gouvernement du Canada concernant les températures sécuritaires de cuisson interne de la viande	45
Tableau III. Attribution des cas de toxoplasmose au Canada aux différentes denrées alimentaires (%).....	54
Tableau IV. Seroprevalence and prevalence of <i>Toxoplasma gondii</i> in pork, beef and lamb retail meat in Canada	69
Tableau V. Distribution of meat samples (frequency) according to the quantity of <i>Toxoplasma gondii</i> , detected in retail meat in Canada.....	70
Tableau VI. Distribution of meat samples by commodity, meat characteristics and <i>Toxoplasma gondii</i> status.	71
Tableau VII. Results from the final multivariable logistic regression modeling <i>Toxoplasma gondii</i> positive status in lamb retail meat in Canada	73

Liste des figures

Figure 1.	Cycle de vie de <i>Toxoplasma gondii</i> et sources d'infection de l'humain	11
Figure 2.	Cinétique des concentrations des divers types d'anticorps dans le temps suite à une infection primaire à <i>Toxoplasma gondii</i> chez l'humain.	16
Figure 3.	Niveaux moyens de séroprévalence de toxoplasmose humaine dans le monde au cours des vingt dernières années.	27
Figure 4.	Description of the methodological process to determine <i>Toxoplasma gondii</i> status of lamb retail meat samples in this study.....	74
Figure 5.	Description of the methodological process to determine <i>Toxoplasma gondii</i> status of pork retail meat samples.	75

Liste des sigles

ACIA :	Agence canadienne d'inspection des aliments
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AFSSA :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
ARN :	Acide ribonucléique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
ASPC :	Agence de la santé publique du Canada
bp :	paire de bases/ base pair
CFIA :	Canadian Food Inspection Agency
CI :	Confidence interval
CIAC :	Competitive internal amplification control
CIPARS :	Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance
Cp:	Crossing point
DALY :	Disability Adjusted Life Years
OD:	Optical density
ddPCR :	Droplet digital PCR/ PCR numérisé par gouttelettes
EFSA :	European Food Safety Authority
ELISA :	Enzyme-linked immunosorbent assay
ERE :	Évaluation des risques dans les établissements alimentaires
FERG :	Foodborne Disease Epidemiology Reference Group
IFAT :	Immunofluorescence antibody test
IFN- γ :	Interferon gamma
IgA :	Immunoglobuline de type A
IgE :	Immunoglobuline de type E
IgG :	Immunoglobuline de type G
IgM :	Immunoglobuline de type M
IL-12 :	Interleukine 12
HACCP :	Hazard Analysis Critical Control Point
MAPAQ :	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
MAT :	Modified agglutination test

MC-PCR :	Magnetic capture polymerase chain reaction
NAHMS :	National Animal Health Monitoring System
NHANES :	National Health and Nutrition Examination Survey
NSERC :	Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada
OMS :	Organisation mondiale de la Santé
OR :	Odds ratio
PCR :	Polymerase chain reaction / réaction en chaîne par polymérase
PHAC :	Public Health Agency of Canada
PI :	Probability of infection
PICRA :	Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens
qPCR :	PCR en temps réel (quantitatif)
RCMS :	Research Chair in Meat Safety
RFLP :	Restriction fragment length polymorphism
rpm :	revolutions per minute
RT-PCR :	Reverse transcription polymerase chain reaction
TgERP :	Sporozoite-specific embryogenesis-related protein
VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine
WB :	Western blot
WHO :	World Health Organization
YLD:	Years of life with disability
YLL:	Years of life lost

Liste des abréviations

Etc. : Et cætera

min. : minute

Qté. : quantité

No. : number

Aux amateurs de tartares...Bon appétit !

Remerciements

Plusieurs personnes ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de maîtrise. Je tiens à les remercier sincèrement de leur appui.

Merci à Dr Sylvain Quessy, mon directeur, pour sa confiance inébranlable en mon potentiel même quand moi-même je doutais. Merci pour ta bienveillance et pour ces conversations philosophiques qui font tellement de bien.

Merci à Julie Arsenault, ma co-directrice, pour sa disponibilité, son ouverture, sa confiance et son habileté à me faire réfléchir plus loin encore que ce que je croyais possible. Avec toi, mes interrogations ne trouvaient pas toujours de réponse, mais menaient toujours à des discussions enrichissantes sur le plan humain et scientifique.

Merci à Yan Fontaine, mon très cher ami qui a été là près de moi à chaque soupir, chaque larme, chaque réussite et chaque folie.

Merci à ma famille, Alain, Suzanne et Aude, qui m'encouragent à être la meilleure version de moi-même.

Merci à Emy Roberge, étudiante stagiaire durant l'été 2016, pour son support moral et son aide en laboratoire lors de la mise au point de la méthode moléculaire.

Finalement, merci à toute l'équipe de la CRSV, plus particulièrement aux gars du bureau, William, Guillaume et Philippe, d'avoir égayé mes journées.

1. Avant-propos

Toxoplasma gondii est un parasite largement répandu à travers le monde. Il est responsable d'une zoonose appelée toxoplasmose¹. Cette maladie possède un fardeau élevé dans plusieurs régions du monde, de par la sévérité de ses conséquences sur la santé humaine, plus que par son occurrence. La difficulté que nous éprouvons à la diagnostiquer chez l'humain et à détecter les protozoaires dans des matrices environnementales telles que l'eau, le sol et les aliments a certainement ralenti l'attribution de source pour cette maladie. Aujourd'hui, nous avons l'opportunité de contribuer à l'avancement des connaissances scientifiques grâce à de nouvelles techniques qui sont prometteuses, sans toutefois être standardisées. Le portrait actuel de la toxoplasmose au Canada reste nébuleux. Est-ce une infection fréquente au sein de la population ? D'où provient-elle ? Quelles en sont les conséquences économiques et sociales ? Toutes ces questions restent sans réponse.

L'élaboration du modèle d'évaluation du risque axé sur les établissements alimentaires (ERE) de l'Agence canadienne d'inspection des aliments a permis de mettre en lumière un manque d'information flagrant concernant le risque que représentait *T. gondii* dans la viande consommée au Canada. Des données non-publiées, simplifiées ou étrangères (des Pays-Bas et des États-Unis) sont incluses par défaut au modèle, ce qui sème le doute quant à la précision et l'exactitude des estimations de risque produites. Suite à nos lectures préliminaires, il s'est avéré évident qu'un flou important persistait quant à la présence de ce parasite dans la viande consommée et ce, partout dans le monde. Les potentielles retombées sur la santé publique et l'aspect novateur de cette fenêtre de recherche ont motivé les travaux décrits fièrement dans ce mémoire.

¹ Le terme toxoplasmose est utilisé dans ce mémoire pour désigner la maladie provoquée par *T. gondii*. En d'autres mots, si l'on veut désigner une infection latente sans manifestation clinique, le terme «toxoplasmose» sera plutôt remplacé par « infection à *T. gondii*».

2. Recension de la littérature

2.1 Description du parasite

2.1.1 Historique et classification

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) a été découvert par Nicolle et Manceaux (1908) en Tunisie dans les tissus d'un rongeur, le gundi (*Ctenodactylus gundi*), qui était alors utilisé en laboratoire pour étudier la leishmaniose. À la même époque, Splendore identifia le parasite chez un lapin de laboratoire au Brésil (Jitender Prakask Dubey, 2010). Le développement d'un test sérologique en 1948 permit d'établir l'infection à *T. gondii* comme étant commune chez l'humain (Dubey, 2011; Sabin et al., 1948). Ce n'est que dans les années 1970 que le cycle de vie du parasite et ses voies de transmissions ont été élucidées par Dubey et al. (1970) par le biais d'études sur sa répllication dans l'intestin des chats.

T. gondii est un protozoaire coccidien appartenant au phylum des *Apicomplexa*. La classification des coccidies est basée sur la structure de l'oocyste, forme parasitaire ayant un rôle clé dans leur transmission. Deux classes sont ainsi distinguées : les *eimeria* et les *isospora*. *T. gondii* est la première coccidie du groupe des *isosporas* dont le cycle de vie a été élucidé, contribuant ainsi à la découverte de plusieurs autres parasites y étant apparentés tels que *Neospora*, *Sarcocystis* et *Hammondia* (Jitender Prakask Dubey, 2010). *T. gondii* est couramment utilisé comme modèle dans le domaine de la biologie cellulaire des organismes *Apicomplexa*.

2.1.2 Structure populationnelle

Malgré la présence d'un cycle de reproduction sexué et d'une distribution géographique planétaire, la structure de la population de *T. gondii* a initialement été décrite comme étant hautement clonale et génétiquement peu diversifiée. Ces conclusions, tirées d'analyses par isoenzymes et par microsatellites, ont permis de grouper des isolats européens et américains, en trois lignées (I, II et III) génotypiques (clonales) majeures, stables dans le temps et l'espace (Darde et al., 1988, 1992; Howe et al., 1995; Sibley et al., 2008). Un faible degré de divergence (1 à 2% de la séquence d'ADN) est présent entre ces lignées «occidentales» (Ajzenberg et al.,

2004). En contrepartie, les récents génotypages multi-chromosomiques et multi-loci d'isolats de partout dans le monde ont révélé une population parasitaire plus complexe et diversifiée, reflétant un probable historique d'échange et de dérivation génétique fréquents. En effet, la majorité des isolats trouvés en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie ne concordent pas avec l'une des trois lignées majeures occidentales. À ce jour, le regroupement des nombreux génotypes (incluant les 3 lignées occidentales) a permis de décrire 12 haplogroupes. Ceux-ci ne sont toutefois pas totalement homogènes, dévoilant des sous-regroupements potentiellement associés à l'origine géographique et aux caractéristiques phénotypiques des isolats. Il existe encore des isolats atypiques et hautement différenciés qui ne peuvent être inclus dans aucun de ces haplogroupes (Robert-Gangneux et al., 2012) .

En Europe et en Amérique du Nord, la lignée clonale de type II est nettement prédominante chez l'humain. En Amérique du Nord, les types II et III sont prédominants chez les animaux de consommation (D. E. Hill et al., 2013). Il s'avère toutefois qu'une prévalence plus élevée de souches atypiques y a été notée chez les animaux (sauvages et domestiques) nord-américains en comparaison aux européens. L'haplogroupe 12, très similaire à la lignée II, serait également présent de façon notable en Amérique du Nord (J. P. Dubey et al., 2011; Khan et al., 2011). La population de *T. gondii* en Amérique du Sud est hautement diversifiée du point de vue génétique, avec plus de 88 génotypes atypiques identifiés à l'aide de marqueurs de *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) (Pena et al., 2008; Pena et al., 2011). La lignée II y est presque inexistante (Dubey et al., 2006). En Afrique et en Asie, la structure populationnelle du parasite est encore peu connue, mais semble être moins complexe et diverse qu'en Amérique du Sud.

2.1.3 Organisation génique

À l'aide du séquençage de génome complet, 14 chromosomes ont été identifiés dans le génome de *T. gondii* allant d'une taille de 2 millions à plus de 7 millions de paires de bases (Khan et al., 2005). Pour chacun des chromosomes, seulement deux allèles ont été identifiées. Celles-ci sont réparties de façon aléatoire entre les trois lignées principales, de sorte que pour chacun des loci, deux lignées ont des allèles identiques (à l'exception de possibles mutations mineures) alors que l'autre aura une combinaison d'allèles différente. Ce bassin génétique bi-allélique indique que

les trois lignées dominantes sont originaires de deux souches étroitement liées (Ajioka et al., 2007).

2.1.4 Facteurs de virulence

La virulence des isolats de *T. gondii* est normalement déterminée expérimentalement par l'inoculation intrapéritonéale de tachyzoïtes chez une souris. Les isolats de type I sont très virulents, alors que les types II et III sont considérés avirulents. Tous les autres isolats ont une virulence variable selon les différentes combinaisons de gènes dont ils ont hérités (Dardé, 2008). Les génotypes avec une majorité d'allèles de type I sont généralement plus virulents (Mercier et al., 2010).

Les facteurs de virulence clés sont des protéines sécrétées libérées par des organelles apicales, les rhoptries. Ces dernières ont été étudiées chez *T. gondii* et chez plusieurs autres parasites apicomplexiens tels que *Plasmodium* et *Eimeria* (Dubremetz et al., 1998). Elles jouent un rôle dans le processus d'invasion parasitaire et régulent la réponse inflammatoire de l'hôte (Robben et al., 2004). La protéine rhoptrie ROP16 interfère avec les voies de signalisation de la réponse immune de la cellule hôte, résultant en une diminution de production d'interleukine-12 (IL-12) par les macrophages et subséquemment une diminution d'interféron gamma (IFN- γ) (Boothroyd et al., 2008). Cette propriété est toutefois exclusive aux isolats de type I (Saeij et al., 2006). Cela est cohérent avec le fait que les souches contenant les allèles de type I créent généralement des infections plus sévères. Les souches de type II induisent une réponse immunitaire rapide limitant la croissance du parasite qui résulte en une conversion vers la forme bradyzoïte et un enkystement tissulaire.

Il est important de noter que des caractéristiques (statut immunitaire, génétique, etc.) de l'hôte peuvent également influencer la virulence du parasite.

2.1.5 Formes parasitaires

Le parasite se présente sous trois formes infectieuses : les tachyzoïtes, les bradyzoïtes et les sporozoïtes. Elles ont toutes une morphologie semblable, c'est-à-dire une forme de croissant

d'approximativement 5 μm de long et 2 μm de large avec une extrémité effilée et l'autre arrondie (Robert-Gangneux et al., 2012).

Le tachyzoïte est la forme répliquative retrouvée principalement dans les cellules épithéliales de l'intestin en phase aiguë d'infection. Ils peuvent également se retrouver dans les fluides corporels (sang, lymphe, lait, salive, etc.) (Derouin et al., 2005). Il s'agit de la forme parasitaire la moins résistante aux conditions environnementales et physiologiques diverses (Tenter et al., 2000). Les tachyzoïtes restent infectieux pour la souris après une exposition de 30 minutes à une température de 45°C. Ils sont détruits par la pasteurisation et par le maintien du lait à une température de 50°C pendant 30 minutes (Derouin et al., 2005; Tenter et al., 2000).

Le bradyzoïte est la forme latente du parasite retrouvée en phase chronique de l'infection. Il prend forme lorsque le tachyzoïte ralentit son développement afin de survivre au sein de kystes tissulaires (Villeneuve, 2003). La taille des kystes varie entre 5 et 100 μm proportionnellement à leur sénescence au sein du tissu (Dubey et al., 1998). Leur aspect varie selon la localisation; les kystes cérébraux sont de forme sphérique alors que ceux dans les muscles sont allongés. Chaque kyste peut contenir des centaines de bradyzoïtes (Jitender Prakask Dubey, 2010). La localisation des kystes varie en fonction de l'hôte (variation inter-espèce et individuelle) et de la souche de *T. gondii*. Les kystes demeurent intracellulaires durant toute leur durée de vie. Seuls la mort ou la destruction de la cellule kystique peuvent déclencher la libération de bradyzoïtes dans l'organisme (Dubey et al., 1998). *T. gondii* peut demeurer infectieux pendant trois semaines dans une carcasse réfrigérée ou dans la viande hachée. La congélation de la viande ne garantit pas la destruction du parasite. Il a été démontré que le bradyzoïte peut survivre pendant plus de 11 jours à -7°C, mais qu'il est inactivé par une température maximale de -12°C maintenue pendant au moins trois jours, avec une efficacité dépendante de l'épaisseur de la pièce de viande (Dubey, 1988). Les kystes tissulaires sont neutralisés instantanément par une exposition à une température de 67°C. Sous ce seuil, le temps de cuisson nécessaire à la suppression du parasite est inversement proportionnel à la température de cuisson (Dubey et al., 1990). Heureusement, les bradyzoïtes de *T. gondii* ne survivent pas à la plupart des méthodes de cuisson couramment utilisées en Amérique du Nord (Jitender Prakask Dubey, 2010) à l'exception de l'utilisation du four à micro-ondes, qui procure une cuisson inégale peu efficace pour la destruction du parasite (Lundén et al., 1992). Les divers traitements tels que la salaison,

la fumaison à froid et le traitement à la saumure peuvent détruire le parasite avec une efficacité variant en fonction de l'osmolarité de la matrice et de la température d'entreposage de la viande (Robert-Gangneux et al., 2012).

Le sporozoïte est contenu dans les oocystes matures, soit des structures ovoïdes de 12 à 14 µm excrétées dans l'environnement par les félins. Les oocystes de *T. gondii* sont auto fluorescents (Lindquist et al., 2003) et chargés négativement (Shapiro et al., 2009). Les oocystes prennent de 1 à 5 jours pour sporuler dans l'environnement et ainsi devenir infectieux. Chaque oocyste sporulé contient deux sporocystes renfermant chacun quatre sporozoïtes. La membrane cellulaire des oocystes est une structure épaisse et robuste leur conférant une grande résistance aux dommages mécaniques et chimiques (Dubey et al., 1998). Les oocystes immatures perdent leur capacité à sporuler s'ils passent 7 jours à -6 °C ou après avoir été exposé à une température de 37°C pendant une journée (Jitender Prakask Dubey, 2010). Une fois sporulés, ils sont davantage résistants aux conditions environnementales. L'oocyste peut survivre pendant plus d'un an dans un environnement humide (Tenter et al., 2000). Lélou et al. (2012) ont récemment mis en évidence que le pouvoir infectieux des sporozoïtes sporulés trouvés dans le sol diminuait dans le temps et ce, de façon plus prononcée en milieu sec qu'humide. La longue persistance des oocystes sporulés dans le sol fait en sorte que l'on ne peut s'étonner d'en retrouver dans les plans d'eau. Ils peuvent maintenir leur plein pouvoir infectieux dans une eau à 35 °C pendant 32 jours, à 4°C pendant 54 mois et jusqu'à 106 jours à -10°C (Dubey, 1998). Les traitements chimiques et physiques de l'eau couramment appliqués (incluant la chloration et le traitement à l'ozone) ne détruisent pas le parasite, mais sa taille relativement importante fait en sorte qu'il devrait être retenu par les systèmes municipaux usuels de traitements des eaux (coagulation, floculation et précipitation préalable à la filtration) (Krueger et al., 2014).

2.2 Hôtes, cycle de vie et voies de transmission

L'hôte définitif de *T. gondii* est le félin, incluant les chats domestiques et les félins sauvages. Seul l'hôte définitif est en mesure d'excréter des oocystes dans ses fèces et peut ainsi contaminer son environnement. Toutes les espèces animales à sang chaud, mammifères comme oiseaux, sont des hôtes intermédiaires potentiels pour *T. gondii* (Villeneuve, 2003).

Les hôtes définitifs et intermédiaires peuvent s'infecter via trois voies principales : horizontalement par ingestion d'oocystes sporulés dans l'environnement, horizontalement par ingestion de kystes tissulaires contenus dans la viande crue ou peu cuite (incluant les viscères) et verticalement par passage transplacentaire de tachyzoïtes. Des routes de transmission impliquant les tachyzoïtes telles que la voie vénérienne, l'ingestion de lait, l'échange de salive ou la transmission *in ovo*, sont théoriquement possibles, mais rarement observées (Tenter et al., 2000).

Le cycle de vie de *T. gondii* est hétéroxène facultatif, c'est-à-dire que la maturation du parasite peut impliquer le passage par un, plusieurs ou aucun hôte intermédiaire. La transmission peut donc se faire entre les hôtes intermédiaires et définitifs mutuellement et/ou à l'intérieur de chaque catégorie. Par exemple, le cycle peut perdurer autant par la transmission de kystes tissulaires entre les hôtes intermédiaires que par transmission d'oocystes entre les hôtes définitifs exclusivement (Tenter et al., 2000).

2.2.1 Description du cycle de vie de *T. gondii*

Débutons la description du cycle par le félin qui s'infecte principalement lors de la prédation (figure 1). Lorsque la proie est mangée, les kystes enfouis dans les tissus du rongeur se retrouvent dans le système digestif du chat. Sous l'effet des enzymes protéolytiques contenus dans l'estomac et le petit intestin, la membrane kystique est dégradée et des bradyzoïtes sont relâchés dans le système digestif. Ces derniers ont une résistance significative (1 à 2 heures) à l'acide peptidique trouvée dans les sucs gastriques ce qui permet leur transmission par ingestion (Jacobs et al., 1960). Ils pénètrent alors les cellules épithéliales du petit intestin et y initient le cycle entéroépithélial. Une phase de multiplication asexuée initiale par endodyogénie est suivie d'une endopolygénie répétée pour former successivement cinq différentes formes parasitaires (types A à E) morphologiquement distinctes. Il est important de noter que ces formes intermédiaires sont différentes des tachyzoïtes qui se développent eux aussi dans les cellules intestinales, mais à d'autres moments du cycle. La reproduction sexuée (endopolygénie) débute deux jours après l'ingestion du kyste. La production de gamètes perdure jusqu'à 15 jours au sein des cellules épithéliales de l'hôte. Après fertilisation des gamètes, un mur « oocystique » est formé autour du parasite après quoi l'éclatement de la cellule hôte survient (Jitender Prakask

Dubey, 2010). Les oocystes sont alors libérés dans la lumière intestinale et excrétés dans les fèces. L'excrétion d'oocystes dure 1 à 2 semaines, avec une période d'excrétion massive entre le jour 5 et 8 (Dubey et al., 1972, 1976). Les chats ont l'habitude d'enfouir leurs selles dans la terre ou le sable, ce qui procure les conditions idéales à la survie de *T. gondii*. La dispersion se fait ensuite par divers vecteurs mécaniques tels que les insectes, le vent, la pluie, la machinerie agricole, les chaussures et les animaux. Les fèces des chats sont en général fermes et denses, ce qui limite la dispersion locale du parasite (Jitender Prakask Dubey, 2010).

Une fois sporulés, les oocystes présents dans l'environnement (sol, végétaux, eau, etc.) peuvent alors être ingérés par un hôte intermédiaire et ainsi démarrer un nouveau cycle. Le développement du parasite se fait alors en deux phases asexuées (Dubey et al., 1997; Jitender Prakask Dubey, 2010). La première phase débute lors de l'ingestion des oocystes sporulés et met en action les sporozoïtes qui vont pénétrer la paroi du petit intestin. Ils se différencient alors en tachyzoïtes et se répliquent par endodyogénie en deux lieux, soit localement dans les entérocytes ou dans la lamina propria après avoir franchi les couches superficielles de la paroi intestinale. Une grande variété de cellules telles que les fibroblastes, les cellules endothéliales et les leucocytes peuvent être envahies par les tachyzoïtes (Jitender Prakask Dubey, 2010). Ils sont d'ailleurs les acteurs de la dissémination du parasite dans l'ensemble de l'organisme et initient la seconde phase de développement qui résulte en la formation de kystes tissulaires. Il a été démontré que le passage entre ces deux formes parasitaires (tachyzoïte vers bradyzoïte) comporte une succession de transformations transitoires qui ne sont pas encore caractérisées sur le plan morphologique et biologique (Jitender Prakask Dubey, 2010). Sous forme de bradyzoïte, le parasite se multiplie lentement par endodyogénie au sein de ces kystes. Il représente le stade terminal chez l'hôte intermédiaire et est immédiatement infectieux (Dubey et al., 1998). Les kystes peuvent persister durant toute la vie de l'hôte et se retrouvent principalement dans les cellules à longue espérance de vie telles que les neurones et les cellules musculaires. Le mécanisme de persistance est encore peu connu, mais il semblerait que les kystes, en réponse à une pression immunitaire de l'hôte ou à divers stress environnementaux, se dégradent et libèrent des bradyzoïtes qui se convertissent en tachyzoïtes pour envahir l'hôte à nouveau et créer de nouveaux kystes ailleurs dans l'organisme (Dubey et al., 1998; Tenter et al., 2000; Weiss et al., 2000).

Dans le cas où un hôte intermédiaire carnivore ou omnivore ingère des bradyzoïtes enkystés dans les tissus de leur proie, le cycle enclenché est le même que celui initié par les oocystes. Par contre, il a été démontré que les bradyzoïtes sont moins infectieux que les sporozoïtes chez la souris (Dubey, 2006; Dubey et al., 1997) .

Dans le cas où un félin ingère des oocystes, le cycle enclenché est le même que chez l'hôte intermédiaire, à l'exception du fait que les bradyzoïtes éventuellement enkystés sont relâchés lors de rupture fortuite du kyste et retournent alors vers l'intestin pour démarrer le cycle de réplication entéro-épithélial expliqué précédemment (Freyre et al., 1989).

Si des tachyzoïtes sont ingérés par un hôte définitif ou intermédiaire, le cycle enclenché est le même que celui déclenché par les oocystes, selon le type d'hôte. N'étant pas aussi résistants aux milieux acides que les bradyzoïtes, l'utilisation par les tachyzoïtes d'une voie d'infection alternative à l'ingestion a été suggérée par Dubey et al. En effet, il semblerait que ces derniers soient en mesure de pénétrer la muqueuse buco-pharyngienne (Dubey, 2002, 2005).

2.2.2 L'excrétion parasitaire chez les félins

Les félins peuvent excréter des oocystes de *T. gondii* après avoir ingéré l'une des trois formes infectieuses du parasite. La période prépatente et la fréquence d'excrétion varient selon la forme parasitaire ingérée. Moins de 50% des chats présenteront une phase d'excrétion après avoir ingéré des tachyzoïtes ou des oocystes alors que pratiquement tous les chats (97%) excréteront après avoir ingéré des bradyzoïtes (Jitender Prakask Dubey, 2010; Dubey, 2011; Tenter et al., 2000). La période de prépatence est de 3 à 10 jours après ingestion de bradyzoïtes, et d'un minimum de 18 jours suite à l'ingestion d'oocystes sporulés, indépendamment de la dose (Dubey, 1996, 2001, 2006; Freyre et al., 1989). Lors d'ingestion de tachyzoïtes, une période prépatente allant de 11 à 17 jours a été observée (Dubey, 2005). Cette variabilité de prépatence est probablement due à l'ingestion de formes transitoires de *T. gondii* entre le tachyzoïte et le bradyzoïte.

En général, il semblerait que ce sont surtout les chats en bas âge (< 1 an) qui excrètent massivement les oocystes de *T. gondii* dans l'environnement. (Dubey et al., 1977). Personne n'a encore établi si le chat domestique excrète à une ou plusieurs reprises dans sa vie (Dubey, 2011). Par contre, il a été démontré expérimentalement qu'un chat ayant développé une immunité contre *T. gondii* suite à une primo-infection peut excréter de nouveau s'il y a ré-inoculation orale de kystes tissulaires (Dubey, 1995).

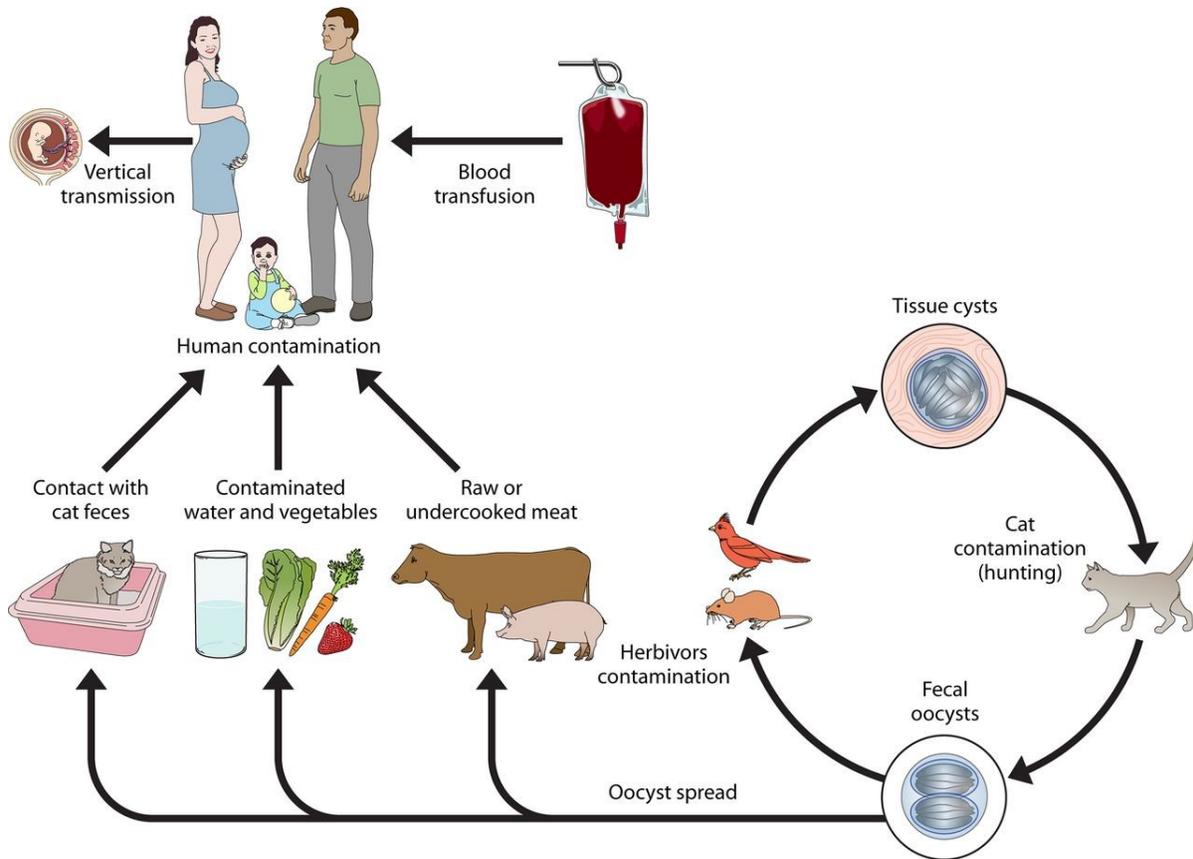
2.3 Sources d'infection

2.3.1 Chez l'humain

Chez l'humain, la transmission par ingestion d'oocystes provenant de l'environnement est rapportée. Toute activité impliquant un contact étroit avec le sol (ex. jardinage) ou avec des félidés (ex. gardien de zoo, vétérinaire) combinée à un manque d'hygiène représente une situation de potentielle transmission indirecte (Villeneuve, 2003).

Parmi ces scénarios de transmission par le biais de l'environnement figure aussi la consommation d'aliments ou d'eau contaminés par des oocystes sporulés (figure 1). Les fruits et les légumes poussant près ou à même le sol sont particulièrement sujets à être contaminés. L'importance de la transmission via les oocystes a été appuyée par des séroprévalences allant de 24 à 47% chez des populations végétariennes (Hall et al., 1999; Roghmann et al., 1999). Quelques éclosions de toxoplasmose ont été associées à des réservoirs d'eau potable non filtrée et ont touché bon nombre de citoyens (Balasundaram et al., 2010; Moura et al., 2006). En 1995, une éclosion ayant potentiellement atteint jusqu'à 7700 habitants de l'île de Vancouver en Colombie-Britannique a été associée à la consommation d'eau provenant d'un réservoir municipal non filtré (Bowie et al., 1997).

Figure 1. Cycle de vie de *Toxoplasma gondii* et sources d'infection de l'humain



(Esch et al., 2013)²

La transmission de *T. gondii* par la consommation de viande contaminée est d'une importance épidémiologique notoire. En effet, une étude multi-centrée a estimé que la consommation de viande serait responsable de 30 à 63% des cas de toxoplasmose en Europe (Cook et al., 2000). Quelques éclosions liées à l'ingestion de viande insuffisamment cuite ont été décrites. Toutefois, celles-ci tendent à impliquer un nombre restreint d'individus (2 à 20) contrairement aux cas liés à l'eau contaminée qui atteignent souvent plus de 100 personnes à la fois (Derouin et al., 2005).

² Reproduit avec la permission de l'American Society for Microbiology

T. gondii peut également être transmis d'humain à humain par la transplantation d'organes ou de moelle osseuse. Deux scénarios permettent cette transmission : lorsqu'un organe contenant un kyste est implanté chez un receveur immuno-compromis et non immunisé contre le parasite et lorsqu'un organe sain est implanté chez un receveur immuno-compromis atteint d'une toxoplasmose latente. Ce dernier scénario provoquerait en fait une réactivation de l'infection latente. Le cœur semble être l'organe le plus incriminé à ce jour (Robert-Gangneux et al., 2012) dans les cas liés aux greffes d'organes. Les transfusions de leucocytes peuvent également transmettre *T. gondii* (Jitender Prakask Dubey, 2010). Au Canada, aucun test de dépistage de *T. gondii* n'est fait dans le sang transfusé (Gouvernement du Canada, 2004).

Un faible pourcentage des toxoplasmoses humaines est généralement considéré comme étant acquis verticalement, soit moins de 1% (Dubey, 2011; Tenter et al., 2000). Hide et al. (2009) ont toutefois rassemblé les résultats de plusieurs études qui suggèrent que la transmission congénitale pourrait être plus fréquente que ce que l'on croit, chez l'homme comme chez la plupart des mammifères domestiques (mouton, chèvre, porc). Celle-ci survient lors de l'infection primaire de la mère durant la gestation (Jitender Prakask Dubey, 2010). Plus l'infection se produit à un stade avancé de la grossesse, plus le risque de transmission au fœtus est élevé (Hohlfeld et al., 1994). Bien qu'elle soit rare en début de grossesse, les conséquences de la transmission à la progéniture y sont plus lourdes qu'en fin de gestation. Les grossesses survenant au moins 4 à 6 mois après l'infection primaire ne sont généralement pas à risque, puisqu'une protection immunitaire suffisante est déjà développée chez la mère (Tenter et al., 2000). Ceci étant dit, quelques cas de transmission congénitale impliquant des femmes immunisées contre *T. gondii* s'étant réinfectées durant la grossesse ont été rapportés (Elbez-Rubinstein et al., 2009; Gavinet et al., 1997; Hennequin et al., 1997; Kodjikian et al., 2004) et incitent à investiguer davantage le phénomène. Il a été suggéré que des souches atypiques ou étrangères de *T. gondii* échapperaient à l'immunité de l'hôte et seraient en cause (Kodjikian et al., 2004). Bien que la transmission via le lait maternel ait été démontré chez plusieurs modèles animaux, elle reste hypothétique chez l'humain (Tenter, 2009).

La toxoplasmose humaine a été associée à l'ingestion de lait animal non pasteurisé, en particulier celui de chèvre. Il est convenu que le risque lié à la consommation de lait de vache

est minime en raison de la pasteurisation fréquente de ce lait et de la rare détection du parasite chez cet hôte (Jitender Prakask Dubey, 2010).

2.3.2 Chez les félidés

Les félidés s'infectent principalement par ingestion de bradyzoïtes contenus dans des kystes enfouis dans les tissus de leurs proies. Il semblerait que les autres formes infectieuses de *T. gondii* soient moins efficaces, puisqu'elles provoquent une infection chez un faible nombre d'animaux suivie d'une excrétion tardive et d'une séroconversion incertaine (Dubey, 1996; Frenkel et al., 1982; Villeneuve, 2003).

La transmission verticale de *T. gondii* est possible chez le chat, mais serait toutefois rare dans des conditions naturelles (Jitender Prakask Dubey, 2010). Le chaton infecté de cette manière est un excréteur potentiel (Dubey, 2011).

2.4 Relation hôte-parasite

2.4.1 Dose infectieuse

La dose infectieuse de *T. gondii* chez l'humain est encore inconnue et pourrait varier en fonction de plusieurs facteurs dont la virulence de la souche, la voie d'infection et certaines caractéristiques de l'hôte (santé, âge, immunité, etc). Des courbes exponentielles dose-réponse basées sur des données expérimentales animales sont décrites par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) dans son dernier rapport concernant la toxoplasmose (Derouin et al., 2005). Les données concernant les bradyzoïtes proviennent de la souris et le rat uniquement, alors que celles concernant les oocystes proviennent du porc, du bœuf et du mouton. Elles varient selon le type génétique et la souche du parasite inoculé aux animaux. Il est important de mentionner que ces courbes ont été créées avant tout pour comparer le potentiel infectieux des différentes formes et souches parasitaires et non pour prédire le risque d'infection. Le rapport de l'AFSSA mentionne tout de même qu'une dose de 452 bradyzoïtes (souche de génotype II ME49) entraînerait une probabilité de 50% d'infection humaine (Derouin et al., 2005).

Tout récemment, des modèles (exponentiel et beta-poisson) ont été élaborés pour prédire la probabilité d'infection humaine par la consommation de viande contenant *T. gondii*. Des facteurs de mise à l'échelle ont été développés permettant de tenir compte des ajustements intra et inter-espèce et d'inclure le modèle directement dans des évaluations du risque de toxoplasmose humaine. Toutefois, ces modèles considèrent la pathogénicité et la virulence d'une seule souche parasitaire (type II ME-49) et estiment le risque pour la population en général, sans tenir compte des populations à risques (M Guo et al., 2016).

La dose infectieuse de *T. gondii* chez le porc semble être particulièrement basse. En effet, le parasite a pu être isolé des tissus d'un porc inoculé expérimentalement avec un seul oocyste de *T. gondii* et une réponse sérologique spécifique a pu être mesurée chez des individus ayant ingéré entre 1 et 10 oocystes (Dubey et al., 1996).

La dose infectieuse de *T. gondii* chez l'ovine n'est pas précisément connue, mais l'inoculation expérimentale de 20 oocystes viables a permis l'infection d'agneaux de 14 mois (Buxton et al., 1991) et des brebis inoculées avec 100 oocystes ont donné naissance à des agneaux congénitalement infectés (Kirkbride et al., 1992).

2.4.2 Réponse immunitaire de l'hôte

Les acteurs de la réponse immune contre *T. gondii* ont été largement étudiés dans les dernières années, particulièrement chez l'humain. Une revue exhaustive et détaillée a été publiée par Miller et al. (2009) sur ce sujet.

2.4.2.1 Immunité cellulaire

Très sommairement, une réponse de l'immunité cellulaire impliquant les lymphocytes T de type 1 et soutenue par les cellules productrices d'IFN- γ et d'IL-12 est essentielle au contrôle de la charge parasitaire (Miller et al., 2009).

La réaction immunitaire de l'hôte (homme ou animal), bien que puissante et bien orchestrée, comporte deux principales failles. Premièrement, la forte réponse de l'immunité cellulaire peut surpasser l'objectif de défense de l'organisme et avoir des répercussions négatives en créant une

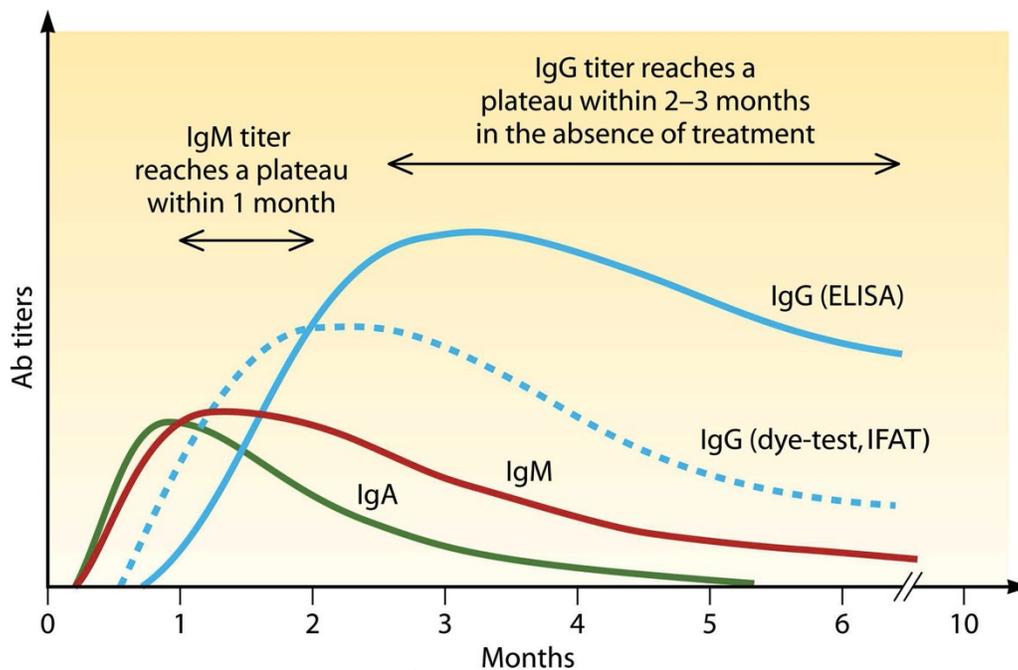
réaction inflammatoire sévère, entre autres au niveau intestinal. Ces mêmes effets délétères sont présents lorsqu'une primo-infection survient durant la grossesse et cela peut entraîner la mort fœtale en déstabilisant la population lymphocytaire nécessaire à la tolérance du fœtus par l'organisme maternel. Le placenta a probablement un rôle immuno-modulateur essentiel au maintien de la gestation suite à l'infection de la mère (Pfaff et al., 2007). Il constitue une barrière naturelle conçue pour protéger le fœtus, mais est également un tissu cible pour la multiplication de *T. gondii*. La barrière placentaire est plus efficace en début de gestation pour ensuite graduellement augmenter sa perméabilité, ce qui fait qu'une infection maternelle durant le troisième trimestre permet le passage trans-placentaire du parasite dans 60 à 70% des cas alors qu'une infection durant le premier trimestre résulte en une infection congénitale dans 10% des cas (Dunn et al., 1999). La sévérité des lésions au fœtus est inversement corrélée au stade de gestation. La multiplication parasitaire crée des foyers de nécrose et une forte inflammation induisant des dommages majeurs entre autres au cerveau et aux yeux du fœtus. Une destruction ou un remodelage extensif de la matière blanche cérébrale peut survenir (Robert-Gangneux et al., 2012).

2.4.2.2 Immunité humorale

La réponse immunitaire humorale de l'hôte produit divers types d'anticorps dont l'importance relative varie au fil du processus infectieux. Les immunoglobulines de type A (IgA) et de type M (IgM) sont produites durant la première semaine suivant l'infection et atteignent un plateau en un mois. Les IgM diminuent après 1 à 6 mois, mais peuvent être encore détectables plus d'un an post-infection (Gras et al., 2004). Les IgA quant à eux disparaissent au maximum 9 mois post-infection (Nascimento et al., 2008). Des immunoglobulines de type E (IgE) spécifiques sont produites tôt après l'infection et disparaissent promptement (Foudrinier et al., 2003). La production d'immunoglobulines de type G (IgG) atteint un plateau en 2 à 3 mois et ralentit plus ou moins rapidement. Elle persiste durant toute la vie de l'hôte à des concentrations résiduelles grandement variables entre les individus. La capacité de détecter précocement les IgG dépend du test sérologique utilisé. Les ELISA, utilisant surtout des mélanges d'antigènes de surface cytosoliques et métaboliques, les détecte plus tardivement comparativement aux tests qui utilisent des antigènes membranaires ou carrément le parasite entier. La figure 2 décrit la cinétique des concentrations des divers types d'anticorps à travers le temps suite à une infection

primaire chez l'homme. La réponse moyenne aux différents isotypes est représentée et peut différer entre les patients et la technique de détection sérologique utilisée.

Figure 2. Cinétique des concentrations des divers types d'anticorps dans le temps suite à une infection primaire à *Toxoplasma gondii* chez l'humain.



(Robert-Gangneux et al., 2012)³

2.4.2.3 Les mécanismes d'évasion immunitaire de *T. gondii*

T. gondii est un maître dans l'art de la manipulation et réussit à tromper le système immunitaire de l'hôte pour pouvoir y persister pendant plusieurs années, voire jusqu'à sa mort. Les tachyzoïtes envahissent les monocytes au niveau de la lamina propria de l'intestin (Barragan et al., 2008). Ces cellules ont un rôle clé dans la dissémination de *T. gondii* par le flux sanguin jusqu'aux organes. En effet, tout comme plusieurs autres protozoaires, *T. gondii* utilise les

³ Reproduit avec la permission de *American Society for Microbiology*

monocytes comme un cheval de Troie pour traverser les barrières biologiques (Bierly et al., 2008). La capacité de ce parasite à envahir activement toutes les cellules nucléées, incluant les cellules phagocytaires, lui procure une emprise directe sur la réponse immune de l'hôte. Le parasite peut également inhiber les mécanismes d'induction de l'apoptose (mort) de la cellule infectée et ainsi éviter l'élimination des tachyzoïtes intracellulaires par les macrophages et assurer la survie des bradyzoïtes enkystés. Par exemple, il a été démontré que *T. gondii* module entre autres la cascade d'activation des caspases, protéases de la cellule hôte jouant un rôle clé dans l'apoptose cellulaire (Hippe et al., 2009). Finalement, la grande diversité génétique de *T. gondii* pourrait être une arme immunologique en soi, puisque l'hypothèse d'une immunité croisée solide a été réfutée par un cas de réinfection humaine par une souche atypique ayant mené à une toxoplasmose sévère. Les lignées atypiques en général semblent créer des infections cliniques plus sérieuses (Robert-Gangneux et al., 2012).

2.4.3 Localisation préférentielle des kystes parasites selon l'espèce

La localisation de la forme enkystée de *T. gondii* au sein de l'hôte est très variable. Chez l'agneau et le porc, *T. gondii* semble avoir un tropisme pour le cerveau, le cœur et les poumons. Des kystes peuvent se former également dans les muscles squelettiques plus couramment consommés, mais aucune tendance n'a pu être mise en évidence parmi ceux-ci. Chez le bovin et le cheval, aucun site de prédilection n'a pu être identifié. Chez la volaille, le cerveau et le cœur sont les organes les plus souvent porteurs de kystes. La charge parasitaire y est 100 à 1000 fois plus élevée que dans la poitrine, les cuisses ou les ailes (Opsteegh et al., 2016).

2.4.4 Présentation clinique

2.4.4.1 Chez l'humain

La majorité des individus immunocompétents infectés par *T. gondii* demeurent asymptomatiques ou développent des symptômes mineurs pouvant facilement être confondus avec la grippe et la mononucléose infectieuse. Par contre, l'infection primaire à *T. gondii* chez la femme enceinte fait l'objet de grandes préoccupations, puisque la transmission au fœtus peut avoir des conséquences sévères telles que l'avortement spontané, la mortinatalité ou le développement d'une infection congénitale entraînant des désordres oculaires et neurologiques

majeurs. Chez les patients immuno-supprimés (virus de l'immunodéficience humaine (VIH), transplantation d'organe, chimiothérapie), l'infection est toujours très menaçante et peut résulter en une toxoplasmose cérébrale fatale. Quatre principaux syndrômes sont trouvés lors d'une infection clinique, toutes catégories d'hôtes confondues : 1) une lymphadénopathie cervicale avec maux de tête et de gorge, fièvre et myalgie parfois accompagnée d'une éruption cutanée érythémateuse; 2) une forme exanthématique ressemblant à un typhus avec myocardite, méningo-encéphalite et pneumonie atypique pouvant mener à la mort; 3) une choroïdo-rétinite pouvant être sévère, mener à la cécité et/ou nécessiter l'énucléation; 4) une implication du système nerveux central pouvant entraîner des désordres psychiatriques et physiques (Beaver et al., 1984; Flegr et al., 2014). La lymphadénopathie est la forme clinique de toxoplasmose la plus souvent rapportée (Jitender Prakask Dubey, 2010). *T. gondii* peut être responsable d'un grand éventail de symptômes supplémentaires. Cette grande variabilité des manifestations cliniques serait le résultat d'une interaction extensive entre le parasite et environ 3000 gènes ou protéines de l'hôte. Cela est possible grâce à une fréquente homologie antigénique entre l'hôte et le pathogène qui interrompt ou déclenche des voies métaboliques spécifiques et contribue au développement d'endophénotypes de différentes maladies (Carter, 2013). La présence d'auto-anticorps dérivés de *T. gondii* chez l'hôte joue également un rôle dans sa pathogénie (Carter, 2013). La toxoplasmose, spécialement sous sa forme oculaire (choroïdo-rétinite), peut se développer chez tout individu, qu'il soit immuno-supprimé ou non. Il est reconnu que la sévérité de la maladie dépend entre autres du génotype de la souche en cause (Howe et al., 1995). La toxoplasmose est généralement de moindre gravité en Europe de l'ouest et en Amérique du nord où la souche de type II prédomine, alors qu'elle tend à être plus pernicieuse en Afrique et en Amérique du sud où d'autres génotypes circulent (Carme et al., 2002; Khan et al., 2006; Robert-Gangneux et al., 2012).

Il existe une unité permettant d'exprimer quantitativement les conséquences d'une maladie sur la santé (individuelle et publique) d'une population, soit le *disability adjusted life years* (DALY). Cette donnée est calculée de la façon suivante :

$$DALY = YLL + YLD$$

Le *years of life lost* (YLL) représente le nombre d'années de vie perdues en raison de la mortalité due à la condition étudiée dans une population spécifique. Le *years of life with disability* (YLD) représente le nombre d'années vécues avec une invalidité résultant de la maladie dans une population spécifique. Le DALY peut être exprimé pour la population entière, par 100 000 cas ou par cas. Havelaar et al. (2012) a mesuré les DALYs attribuables à 14 pathogènes d'origine alimentaire aux Pays-Bas. Selon cette étude, la listériose périnatale et la toxoplasmose congénitale sont responsables des plus hauts fardeaux de maladie par cas. *T. gondii* a également été associé au plus haut fardeau de maladie au niveau de la population, aux côtés de *Campylobacter spp.* thermophile et *Salmonella spp.*

2.4.4.2 Chez les animaux d'élevage

T. gondii a été identifié comme une des principales causes d'avortement dans les troupeaux ovins en Nouvelle-Zélande, en Australie, en Angleterre et aux États-Unis. L'avortement peut survenir chez les brebis de tous âges, mais est retrouvé surtout chez les jeunes, puisqu'il survient majoritairement lorsque la brebis est infectée de façon primaire. Moins de 1% des avortements se produisent lors des gestations subséquentes à l'infection (Morley et al., 2008). Les brebis demeurent asymptomatiques ce qui complique le diagnostic de la condition. Comme chez la femme, la conséquence de la transmission trans-placentaire sur le fœtus varie en fonction du moment où l'infection survient dans la gestation. Les agneaux peuvent subir une momification, une macération, peuvent être avortés, mort-nés, naître affaiblis et/ou mourir dans la semaine suivant la naissance. La toxoplasmose crée des lésions de nécrose caractéristiques au niveau des cotylédons placentaires dans environ 50% des infections qui atteignent le placenta (Jitender Prakask Dubey, 2010). Les agneaux qui survivent à leur première semaine de vie ont une croissance normale jusqu'à maturité et ne transmettent pas l'infection à leur progéniture. Les brebis qui avortent retournent en chaleur et conçoivent normalement par la suite. La cause des avortements dus à *T. gondii* n'est pas bien comprise, puisque des agneaux sains peuvent naître en étant associés à un placenta sévèrement atteint. Les hypothèses proposant un déséquilibre hormonal ou le déclenchement de l'avortement par la pyrexie chez la brebis ont été émises (Jitender Prakask Dubey, 2010). Une récente étude a démontré la présence de lésions vasculaires thrombotiques des placentomes chez des brebis expérimentalement infectées à *T. gondii* durant leur gestation. Des lésions ischémiques au cerveau de plusieurs fœtus manifestent le possible

effet hypoxique des dommages placentaires dus à *T. gondii* (Castano et al., 2014). Cette découverte représente une hypothèse à investiguer davantage dans les prochaines années.

Chez le porc, la toxoplasmose clinique sévère est rare. Les signes cliniques incluent l'anorexie, la faiblesse généralisée, la fièvre, la diarrhée, la dyspnée et des troubles neurologiques, pouvant entraîner la mort. La transmission congénitale est possible, mais peu fréquente et peut causer des avortements, de la mortinatalité et de la mortalité néonatale. Il a été rapporté que les porcelets infectés congénitalement peuvent être atteints d'une encéphalite, une pneumonie, une lymphadénite, une myocardite et/ou une hépatite et qu'ils peuvent présenter de la boiterie ainsi que de la diarrhée sanguinolente (Jitender Prakask Dubey, 2010; Haritani et al., 1988).

Aucun cas de toxoplasmose avec signes cliniques n'a été rapporté en milieu naturel chez le bovin adulte à ce jour. Avant la découverte de *Neospora caninum* comme cause d'avortement chez la vache, il semblerait que *T. gondii* ait souvent été diagnostiqué à tort. Les deux parasites sont en fait morphologiquement similaires ce qui porte à les confondre. En regard des quelques rapports disponibles à ce jour dans la littérature concernant l'isolation de *T. gondii* chez des avortons bovins, il est raisonnable de considérer que la transmission trans-placentaire est possible chez cette espèce, mais d'occurrence rare. Il a été possible de transmettre l'infection à des souris par inoculation de tissus de veaux infectés expérimentalement avec une grande quantité d'oocystes (200 000), sans toutefois être en mesure de détecter le parasite chez les veaux. Les seuls signes cliniques observés expérimentalement sont une anorexie et diarrhée légère (Dubey et al., 1993; Jitender Prakask Dubey, 2010).

La volaille infectée par *T. gondii* est habituellement exempte de signes cliniques. Seuls quelques cas de toxoplasmose ont été rapportés à travers le monde jusqu'à ce jour (J. P. Dubey, 2010).

2.5 Méthodes de détection

La performance des diverses méthodes de détection de *T. gondii* est difficile à évaluer. Elles sont souvent comparées à l'essai biologique chez le chat ou la souris, considéré comme l'épreuve de référence, ou à des tests sérologiques très performants en contexte expérimental, soit le test de Sabin-Feldman ou l'agglutination directe modifiée (MAT). Lorsqu'effectués sur des échantillons provenant d'animaux naturellement exposés à *T. gondii*, ces tests demeurent très spécifiques, mais leur sensibilité est affectée par le petit volume pouvant être analysé. Les

estimations de performance des divers tests sont conséquemment basées sur des épreuves imparfaites, ce qui produit un biais de mesure difficilement quantifiable (Derouin et al., 2005).

2.5.1 Méthodes de détection immunologiques

La majorité des études de prévalence d'infection par *T. gondii* chez les animaux à ce jour ont utilisé des méthodes de détection immunologique. L'estimation de la séroprévalence informe uniquement sur le fait que l'animal a été infecté ou non par le parasite, c'est-à-dire s'il a des anticorps spécifiques pour ce pathogène. Cela est donc pertinent si l'objectif de l'étude est d'avoir une idée du niveau d'infection d'un cheptel donné ou de dépister *T. gondii* dans une population. Le diagnostic sérologique de cette infection chez les animaux est basé sur la détection IgG principalement. Pour ce faire, plusieurs épreuves sérologiques ont été utilisées, dont les principales sont décrites ci-après.

Le «Dye test» ou test de Sabin-Feldman est basé sur la cytolysse, médiée par le complément, de tachyzoïtes vivants couverts d'anticorps. La lyse des cellules est mise en évidence par l'incapacité du réactif à fixer le bleu de méthylène. Ce test est hautement sensible et spécifique et est considéré comme la référence pour la mise en évidence des anticorps spécifiques anti-*T. gondii* (Udonsom et al., 2010). Il détecte les immunoglobulines totales (IgA, IgG et IgM) et permet de distinguer les infections aiguës des infections latentes (Grillo et al., 1999). Par contre, il n'est pas applicable chez le bovin pour qui on observe des faux positifs dus à la présence d'immunoglobulines de type M (IgM) naturels et des faux négatifs dus à la disparition rapide des anticorps lytiques (Dubey et al., 1985). Ce test est peu utilisé puisqu'il requiert l'utilisation de parasites vivants.

Le MAT a été initialement proposé pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose chez l'homme dans les années 80 (Desmots et al., 1980), puis utilisé chez l'animal. L'antigène est une suspension de tachyzoïtes trypsinés fixés au formol et la réaction est réalisée sur des dilutions de sérums. Ce test est simple à réaliser, a une bonne sensibilité et spécificité, et peut être réalisé chez de nombreuses espèces animales. Il est largement employé dans des études de dépistage sur de nombreuses espèces de la faune domestique ou sauvage (Tenter et al., 2000). À titre d'exemple, une sensibilité de 90% (95% IC : 83-95%) a été rapportée concernant un MAT détectant des tachyzoïtes dans des fluides cardiaques de moutons (Villena et al., 2012). Dans une

étude de Gamble et al. (2005a), une sensibilité de 85,7% et une spécificité de 94,6% a été mesurée en comparaison avec l'essai biologique sur des échantillons de sérums de porc.

L'immunofluorescence indirecte (IFAT) peut être employée chez les animaux, mais la sensibilité varie selon les seuils utilisés et l'espèce hôte (Miller et al., 2002). Cette technique est limitée par la nécessité d'utiliser un conjugué spécifique à l'espèce animale testée et est peu adaptée aux enquêtes de séroprévalence (Eckert, 1996).

Les techniques immuno-enzymatiques (ELISA) ont été proposées pour la recherche d'anticorps anti-*T. gondii* chez de nombreuses espèces animales domestiques. Comme pour l'immunofluorescence, les techniques ELISA nécessitent l'emploi d'un conjugué spécifique pour chaque espèce, ce qui limite son utilisation auprès de la faune et/ou des espèces peu communes (Derouin et al., 2005). Toutefois, un ELISA commercial incluant le conjugué approprié est disponible pour la plupart des espèces charcutières occidentales. L'ELISA a l'avantage d'être rapide, facile à exécuter et peu coûteux, en plus d'avoir une performance diagnostique comparable à celle du MAT. Villena et al. (2012) et Dubey et al. (1995) ont estimé une concordance (coefficient kappa) entre le MAT et l'ELISA de 0,64 et 0,62 respectivement. L'ELISA peut être réalisé sur du sérum ou du liquide tissulaire (jus de viande), composé principalement de liquide interstitiel et de sang. De nombreuses études ont décrit les résultats de l'utilisation d'épreuves ELISA sur ces deux matrices et en ont tiré des conclusions divergentes. En effet, certains auteurs décrivent une forte corrélation entre les résultats d'ELISA obtenus à partir des deux matrices (Glor et al., 2013; Lunden et al., 2002; Mecca et al., 2011; Anne Wingstrand et al., 1997), alors que d'autres ont trouvé l'exsudat de viande moins sensible que le sang (Gamble et al., 2005b; Hill et al., 2006). La comparaison des données bibliographiques à ce sujet est difficile en raison d'une grande variation au niveau du seuil utilisé, du type d'antigène considéré et de l'échantillon. Il est toutefois important de noter que la plupart des études ayant conclu à une faible performance de l'ELISA sur liquide tissulaire ont utilisé un taux de dilution de matrice élevé, ce qui résulte inévitablement en un échantillon dilué et à une sous-estimation du nombre d'échantillons positifs. La principale lacune concernant l'utilisation de liquide tissulaire pour la détection d'anticorps réside dans le fait qu'il contient souvent une faible proportion de sang, ce qui dilue les anticorps et peut mener à un résultat

faussement négatif. Tel que proposé récemment par Mecca et al. (2011), il est possible de contrecarrer ce problème en ajustant chaque unité d'échantillonnage à la dilution optimale pour procéder à l'ELISA, et ce en fonction de la concentration du liquide tissulaire en hémoglobine. La pratique courante est néanmoins d'utiliser quand même la même dilution pour toutes les unités d'échantillonnage. L'utilisation de liquide tissulaire est intéressante dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques de séroprévalence chez les animaux de boucherie, car contrairement au sérum, il est aisément récolté à l'abattoir ou dans les étapes ultérieures de transformation. Des programmes de surveillance basés sur des tests sérologiques sur fluide tissulaire ont déjà été validés dans des abattoirs de porcs pour le diagnostic de *Salmonella* (Mousing et al., 1997; Nielsen et al., 1998), *Trichinella* (Nöckler et al., 2005) et pour le virus *Aujeszky* (Le Potier et al., 1998). De plus, des trousse d'ELISA commerciales ont été validées pour l'utilisation sur le liquide tissulaire.

2.5.2 Méthodes de détection directe dans les tissus

Parmi les méthodes de détection directe de *T. gondii* dans les tissus, la visualisation microscopique du parasite est peu sensible et rarement employée. La culture cellulaire, quant à elle, est possible et relativement rapide (3 à 5 jours), mais est moins sensible que l'essai biologique ou que les techniques de biologie moléculaire au profit desquels elle a été abandonnée au fil des ans (Jitender Prakask Dubey, 2010). Ces dernières méthodes, ainsi que les récentes innovations en matière de détection directe de *T. gondii*, sont expliquées plus en détails ci-après.

La recherche de kystes tissulaires se fait souvent à partir du cœur, du cerveau et des muscles (Jitender Prakask Dubey, 2010). L'isolement du parasite par essai biologique chez le chat ou la souris demeure l'épreuve de référence et a l'avantage d'évaluer la viabilité et le pouvoir infectieux du parasite. La procédure chez le chat et la souris consiste en la mise en solution de tissu animal suspecté de contenir des parasites, suivi de son inoculation par voie orale ou intrapéritonéale respectivement. Chez la souris, l'infection est confirmée par la séroconversion et la présence de kystes tissulaires dans le cerveau. Chez le chat, l'excrétion d'oocystes dans les fèces permet de conclure à une infection réussie. Le seuil de détection de l'essai biologique chez la souris est d'un kyste par 100g de tissus porcins. Cette technique a une spécificité optimale de

100%, mais manque de sensibilité puisqu'elle permet l'analyse d'une portion relativement petite de tissu (<100g pour la souris, 100-500g pour le chat) qui peut être exempte de parasite, même si l'hôte en héberge ailleurs dans son organisme (Jitender Prakask Dubey, 2010). De plus, la procédure est laborieuse, coûteuse et implique l'utilisation expérimentale d'animaux.

Des techniques de réaction en chaîne par polymérase (PCR) ont été développées pour détecter *T. gondii* dans la viande. Elles sont considérées très sensibles, spécifiques et pouvant fournir un diagnostic rapide. La PCR en temps réel (qPCR) a l'avantage de procurer des informations concernant la quantité d'acide désoxyribonucléique (ADN) présente dans l'échantillon. Le gène B1 (35 copies) et l'élément 529-bp (300 copies) sont les marqueurs les plus fréquemment utilisés. Le caractère hautement répétitif de la séquence non-codante 529-bp en fait un marqueur 10 à 100 fois plus sensible pour la détection du parasite que le gène B1 (Jitender Prakask Dubey, 2010). Il a également une bonne spécificité, puisqu'il n'est pas présent dans le génome de l'homme, de la souris et de parasites génétiquement proche de *T. gondii*, dont entre autres *Sarcocystis spp.* et *Neospora caninum* (Opsteegh et al., 2010). La sensibilité avec laquelle les techniques PCR peuvent détecter *T. gondii* dans la viande varie selon la méthode d'extraction et de purification d'ADN utilisée, la séquence ciblée, la technique d'amplification et le type d'échantillon (Paredes et al., 2016). La distribution hétérogène des kystes tissulaires combiné au petit volume de tissu pouvant être traité par PCR limite la détection chez l'animal. L'ADN est habituellement extrait d'au maximum 50 mg de viande pour procéder à une PCR (Opsteegh et al., 2010). La logique voudrait que l'on augmente le volume de viande duquel l'ADN est extrait pour ainsi augmenter la sensibilité de la méthode. Malheureusement, si on procède ainsi, l'ADN de *T. gondii*, généralement peu présent, sera dilué dans une quantité énorme d'ADN de fond (hôte et autre). Cela risque fort de résulter en une inhibition de la réaction PCR (Bellete et al., 2003). Une technique d'extraction d'ADN par capture magnétique a été conçue pour pouvoir analyser jusqu'à 100g de tissus tout en concentrant l'ADN parasitaire et en retirant les inhibiteurs potentiellement présents dans la viande tels que l'hémoglobine, la myoglobine, des substances hormonales et de l'ADN non-ciblée (Opsteegh et al., 2010). Une section spécifique du génome de *T. gondii* est isolée lors de la capture magnétique, soit l'élément répétitif 529-bp. Il est hautement conservé entre les souches de *T. gondii*, ce qui le rend idéal pour la détection, mais inadéquat à des fins de génotypage. La technique de capture magnétique spécifique

combinée au PCR en temps réel (MC-PCR) a un seuil minimal de détection de 230 parasites par 100g de viande. En préalable à cette méthode, une digestion enzymatique des tissus est nécessaire pour permettre la lyse des formations kystiques, libérant les parasites et augmentant ainsi la sensibilité de détection. Il est important de noter que la PCR ne permet pas de déterminer la capacité infectieuse des parasites détectés dans la viande. Néanmoins, la PCR serait une bonne alternative au bio-essai pour la recherche qualitative et quantitative de kystes dans la viande, et ce particulièrement pour des études à grande échelle (Opsteegh et al., 2010).

Des méthodes automatisées d'identification par fluorescence ont été développées pour détecter et quantifier *T. gondii* dans les tissus. Une technique par cytométrie en flux démontre de bonnes performances, mais uniquement sur un volume très restreint de tissus (un cerveau de souris) contenant au minimum 70 kystes parasitaires. Une technique par microscopie à haut débit démontre quant à elle une limite de détection plus intéressante, mais est aussi limitée par le volume de tissu pouvant être analysé (Aldebert et al., 2011).

La PCR numérisée par gouttelettes (ddPCR) est une technique en émergence qui intéresse beaucoup les parasitologistes. Son principal avantage est qu'elle est indépendante de toute courbe de calibration et qu'elle permet de quantifier une très faible concentration d'ADN, même en présence de nombreux inhibiteurs. Bien qu'aucune étude ne soit encore publiée concernant l'utilisation de cette technique pour quantifier *T. gondii* dans la viande, ses qualités poussent à croire qu'il serait prometteur de s'y intéresser. Toutefois, selon une étude l'ayant comparé au qPCR dans le but de quantifier *Cryptosporidium* dans des matières fécales, son utilisation serait deux fois plus coûteuse (Yang et al., 2014). Le rapport coût-bénéfice devient donc important à considérer selon les objectifs de l'étude.

2.5.3 Corrélation entre la détection immunologique et la détection directe

Une toute nouvelle étude menée par l'*European Food Safety Authority (EFSA)* a conclu que la séroprévalence peut être un indicateur utile pour estimer la présence du parasite viable dans l'organisme animal (Opsteegh et al., 2016). Toutefois, cette conclusion mérite quelques nuances et est applicable seulement aux espèces porcines, aviaires, ovines et caprines. Il est important de noter que la corrélation rapportée entre la séroconversion de ces animaux et la présence de parasites dans leurs tissus est bonne (Dubey & Jones, 2008; Tenter et al., 2000; Zia-Ali et al.,

2007), mais pas parfaite (<10 % de faux négatifs) et varie selon la technique utilisée (Opsteegh et al., 2016; A. Wingstrand et al., 1997). L'utilisation de la sérologie n'est donc pas adéquate pour déclarer un animal exempt de *T. gondii* ou pour confirmer la présence du parasite dans un tissu spécifique. Tel que mentionné précédemment, la présence de kystes tissulaires de *T. gondii* n'est pas constante en termes de quantité et de localisation dans l'organisme. Cette variabilité constitue le principal obstacle à la détection de kystes tissulaires. Il est donc communément recommandé de confirmer l'atteinte tissulaire via un outil diagnostique indépendant des épreuves sérologiques tel que la visualisation directe, l'essai biologique, la culture cellulaire ou une technique de biologie moléculaire (Marieke Opsteegh et al., 2011). Chez les bovins et les équins, l'EFSA conclue que la sérologie ne devrait pas être utilisée pour dépister la présence de *T. gondii*. Il semble qu'un individu de ces espèces aurait autant de chance d'héberger des kystes dans ses tissus, qu'il soit séropositif ou séronégatif (Opsteegh et al., 2016). Ce phénomène demeure inexplicé et les méthodes de détection directes telles que décrites précédemment devraient donc être priorisée pour tout programme de dépistage chez ces espèces.

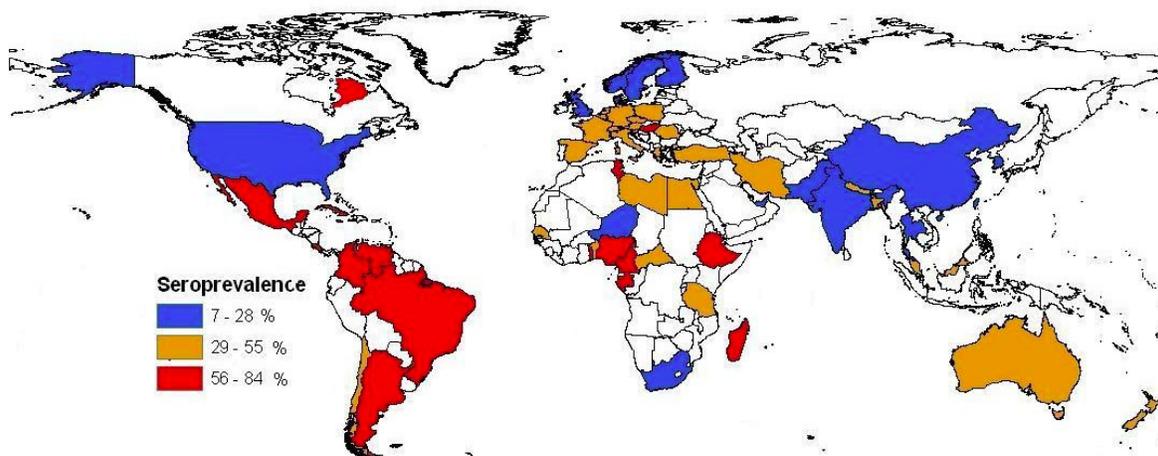
2.6 Prévalence et facteurs de risque

Il est important de noter que la séroprévalence n'est pas une donnée qui informe sur le stade de l'infection, sa sévérité, son étendue et le statut d'excrétion de l'hôte. De plus, il est difficile de comparer les études de prévalence entre elles, puisque les méthodes de détection et d'échantillonnage varient énormément.

2.6.1 Chez l'humain

De 25 à 30% de la population humaine mondiale possède des anticorps contre *T. gondii*, ce qui en fait une des zoonoses parasitaires les plus fréquentes (Robert-Gangneux et al., 2012; Tenter et al., 2000). La prévalence varie grandement (10 à 80%) entre les pays ainsi qu'entre les régions et les communautés d'un même pays. Tel qu'illustré dans la figure 3, les séroprévalences les plus élevées ont été trouvées en Amérique du Sud et dans les pays tropicaux d'Afrique, alors que les plus faibles ont été observées principalement en Amérique du Nord, en Asie du sud-est, au nord de l'Europe et dans les pays sahariens d'Afrique.

Figure 3. Niveaux moyens de séroprévalence de toxoplasmose humaine dans le monde au cours des vingt dernières années.



(Simon, 2012)⁴

Aux États-Unis, Jones et al. (2014) constatèrent une baisse de la séroprévalence globale chez les américains natifs âgés de 12 à 49 ans, passant de 14,1% entre 1988 et 1994 à 9% entre 1999 et 2004. Cette tendance à la baisse a aussi été observée en Europe. Par exemple, la séroprévalence chez les femmes enceintes en France était de 80% dans les années 1960, 66% dans les années 1980, 54% en 1995 et 44% en 2003 (Villena et al., 2010). Aux Pays-Bas, la séroprévalence est passée de 35,2% en 1995-1996 à 18,5% en 2006-2007 chez les femmes en âge de se reproduire (Hofhuis et al., 2011)..

La séroprévalence actuelle globale de toxoplasmose dans la population canadienne est inconnue. Une étude menée exclusivement chez des personnes du milieu agricole et habitant en région rurale au Québec a révélé une séroprévalence élevée de 72% (Pechere et al., 1977). Viens et al. (1977) ont étudié la population québécoise âgée de plus de 40 ans et y ont estimé une prévalence de 70%. La prévalence chez des femmes (n=4136) et leurs enfants (n=3787) de la région de Montréal a été mesurée à 40,8% et 36,4% respectivement avec un taux annuel de séroconversion de 0,95%. Les populations autochtones canadiennes ont fait l'objet de nombreuses études dans

⁴ Reproduit avec la permission d'Audrey Simon

les dernières années en raison de plusieurs facteurs culturels et environnementaux suggérant une exposition élevée à *T. gondii*. Les résultats furent variables selon la région et la communauté. Par exemple, dans les communautés Cree de la Baie James, des séroprévalences modérées de 4 à 12 % ont été mesurées (Sampasa-Kanyinga et al., 2013) alors que des anticorps contre *T. gondii* ont été détectés chez plus de la majorité (59,8%) des Inuits du Nunavik (Messier et al., 2009).

L'EFSA a établi en 2004 la toxoplasmose comme étant la parasitose humaine la plus répandue en Europe (European Food Safety, 2007). De plus, il a été estimé, en appliquant des données d'incidence américaine à la population canadienne, que *T. gondii* est responsable de 28,1 cas de toxi-infections alimentaires domestiques sur 100 000 annuellement au Canada, le classant ainsi au 11^e rang sur 30 pathogènes spécifiques causant ce type de maladie au pays (Thomas et al., 2013). Une récente étude aux États-Unis a identifié la toxoplasmose comme étant la seconde cause de mort et la quatrième cause d'hospitalisation liées aux toxi-infections alimentaire avec approximativement 327 morts et 4428 hospitalisations annuellement (Scallan et al., 2011).

De nombreuses variables peuvent altérer la probabilité d'être infecté par *T. gondii* : les conditions climatiques, l'importance de la population de félinés, la qualité de l'eau et une multitude de facteurs anthropologiques tels que les conditions socio-économiques et les habitudes culturelles. Les coutumes liées à l'alimentation et à l'hygiène semblent avoir un impact majeur sur la prévalence de toxoplasmose dans les populations humaines. Par exemple, la séroprévalence élevée de toxoplasmose en France serait liée à une tendance à manger certaines viandes crues (agneau, bœuf, gibier) (Jones et al., 2010). Il est rapporté que la séroprévalence chez l'humain augmente avec l'âge avec un taux variable selon le pays et le niveau socio-économique. En effet, une étude menée au Brésil a démontré que la séroprévalence de *T. gondii* était plus élevée chez les populations de niveau économique inférieur et que celles-ci s'infectaient en plus bas âge (Bahia-Oliveira et al., 2003). Des oocystes ont été détectés dans 32% des cours d'école au Brésil (dos Santos et al., 2010).

En général, les climats chauds et humides ainsi qu'une faible altitude sont des variables environnementales associées à une séroprévalence d'infection plus élevée (Jitender Prakask Dubey, 2010; Robert-Gangneux et al., 2012).

L'immunosuppression de l'hôte augmente les risques de réactivation d'une infection latente et de syndromes cliniques dévastateurs, mais n'augmente pas le risque d'infection primaire. Il est également important de mentionner que le fait d'être enceinte ne constitue pas un facteur de risque en soi, mais représente plutôt une situation dans laquelle la toxoplasmose peut avoir de graves conséquences et qui nécessite conséquemment une attention particulière sur le plan préventif (Jitender Prakask Dubey, 2010).

Une étude cas-témoins menée de 2002 à 2007 aux États-Unis a identifié de nombreux facteurs de risque en lien avec la toxoplasmose dont la majorité sont associés aux aliments. La consommation de bœuf haché cru, d'agneau saignant, de viande salée, séchée ou fumée produite localement, de lait de chèvre non pasteurisé et de mollusques crus sont tous des éléments augmentant le risque d'infection récente à *T. gondii*. À ceux-ci s'ajoute le fait d'avoir plus de 50 ans, d'être un homme, de pratiquer un emploi impliquant la manipulation de viande et de posséder 3 chatons ou plus (Jones et al., 2009). Il est intéressant de noter qu'aucun facteur de risque n'a pu être identifié pour 48% des cas analysés lors de cette étude en excluant les facteurs de risque non-modifiables (âge, genre et région). Cela souligne le fait qu'il est difficile de définir spécifiquement une exposition responsable de toxoplasmose chez un individu, puisque les sources d'infections sont multiples et que les expositions sont souvent inconscientes, donc peu rapportées. Bon nombre d'études épidémiologiques à travers le monde ont identifié la consommation de viande partiellement cuite comme étant un facteur de risque pour la toxoplasmose humaine (Cook et al., 2000).

D'autre part, une étude transversale rétrospective révéla une association entre l'infection à *T. gondii* et la source d'eau utilisée par l'individu à partir des résultats sérologiques de 23 030 américains comptabilisées par le *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) sur 8 ans (Krueger et al., 2014). Les consommateurs d'eau de puit domestique ou d'eau d'aqueduc non-traitée à la maison ont un ratio de séropositivité significativement plus haut que ceux qui utilisent de l'eau d'aqueduc traitée à la maison. Toutefois, ledit traitement (type de filtre, entretien du filtre) est peu décrit dans l'étude, ce qui laisse place à l'interprétation.

2.6.1.1 Le rôle du chat domestique dans la toxoplasmose humaine

Plusieurs éléments font en sorte que le risque lié au fait de côtoyer un chat domestique est moins alarmant que ce qui est généralement perçu. Des conclusions équivoques ont été tirées d'études comparant la séroprévalence chez les personnes qui possèdent ou non un chat. Certaines ont révélé une association alors que d'autres n'en ont décelé aucune (Weese et al., 2011). Il est toutefois clair que le principal facteur à considérer en lien avec la transmission de *T. gondii* du chat à l'humain est davantage le contact indirect avec ses fèces dans l'environnement que le fait de le côtoyer. Le simple geste de toucher un chat entraîne peu de chances de s'infecter puisqu'il serait étonnant de retrouver des oocystes accolés à sa fourrure. Cela est expliqué par le comportement d'auto-toilettage très présent chez cette espèce et au fait que la toxoplasmose n'induit généralement pas de signes cliniques (ex. diarrhée) chez le chat (Villeneuve, 2003). De plus, tel que mentionnée en section 2.1.3, les oocystes présents dans les fèces deviennent infectieux seulement 1 à 5 jours après l'excrétion qui se fait généralement en bas âge et en une seule phase d'une durée maximale de 20 jours (Jitender Prakask Dubey, 2010). Finalement, l'infection de l'animal implique qu'il ait eu accès à l'extérieur ou qu'il soit nourrit de viande crue ou peu cuite (Weese et al., 2011).

Tous ces facteurs impliquent théoriquement que le risque lié au chat peut être accentué pour une personne ayant un chaton ayant accès à l'extérieur et/ou nourrit avec de la viande crue ou mal cuite, que les fèces ne soient pas ramassées quotidiennement, que l'animal soit en phase d'excrétion et que des lacunes au niveau de l'hygiène de base surviennent. Il est raisonnable de penser que les probabilités que toutes ces conditions soient réunies sont plutôt faibles et donc que le simple fait de côtoyer un chat domestique ne met par nécessairement l'humain à risque d'infection à *T. gondii*. Il est néanmoins important de ne pas sous-estimer le pouvoir de contamination environnementale des chats faisant leurs besoins à l'extérieur, puisqu'un seul individu peut excréter des millions d'oocystes (Jones et al., 2010).

2.6.2 Chez les animaux d'élevage

2.6.2.1 Études multi-espèces et généralités

Dans une optique de santé publique, la présence de kystes tissulaires de *T. gondii* chez les animaux de production est une donnée importante à connaître, puisque le bradyzoïte est la forme parasitaire principalement impliquée dans l'infection des humains à partir de produits carnés (Jones et al., 2012). Il est important de noter que la séroprévalence des animaux d'élevage n'est pas équivalente à la présence du parasite dans ses tissus consommables, ni avec le risque que celle-ci représente pour les consommateurs.

Une méta-analyse a estimé la prévalence de *T. gondii* dans la viande dans plusieurs pays en incluant des études utilisant uniquement des méthodes directes (bio-essai, PCR, microscopie). Les conclusions étaient les suivantes : la présence de ce parasite chez les animaux d'élevage à travers le monde n'est pas négligeable, des résultats très variables entre les études sont obtenus, la prévalence varie selon les régions du monde et aucune hypothèse généralisée ne peut être émise à ce jour concernant le rôle de chacune des espèces dans la transmission de la toxoplasmose à l'humain (Belluco et al., 2016).

Une autre méta-analyse a estimé la prévalence (sérologique et directe confondue) chez les animaux d'élevage aux États-Unis. Les prévalences agrégées ont été estimées à : 31,0 % chez les porcs élevés dans un environnement non confiné, 30,7% chez les chèvres, 24,1 % chez les poulets élevés dans un environnement non confiné, 22,0% chez les agneaux, 16,7% chez les truies élevées en environnement confiné et 5,6 % chez les porcs élevés en environnement confiné (M et al., 2016). Comme dans plusieurs autres méta-analyses, les auteurs mentionnent une grande variation dans les prévalences révélées par les différentes études incluses. Il est donc important de se rappeler que plusieurs facteurs peuvent faire varier des résultats de prévalence au sein d'un même pays (méthodologie, localisation, conditions d'élevage, etc.).

Une étude américaine à l'échelle nationale a mesuré de faibles prévalences de *T. gondii* dans la viande au détail de bœuf, de porc et de poulet (Dubey et al., 2005). Ces résultats pourraient être expliqués par l'adoption majoritaire de méthodes d'élevage industriel intensif impliquant des

mesures d'hygiène et de confinement strictes, associées par plusieurs études à un déclin de la prévalence de *T. gondii* chez les animaux de production (Tenter, 2009). En contrepartie, l'élevage biologique, de plus en plus populaire, a été associé à une plus haute prévalence de *T. gondii* chez les espèces charcutières (Jones et al., 2012). Bien qu'une hausse de 151% des ventes de viande biologique aux États-Unis ait eu lieu entre 1999 et 2000, ce marché représentait moins de 1% de la viande produite en 2001 (Carolyn Dimitri, 2002). Entre 2015 et 2016, les ventes de viande biologique bondirent de 17%, soit la plus grande augmentation annuelle notée pour ce marché (Dumas, 2017). Au Canada, alors que le nombre total de fermes (tout secteur confondu) diminuait de 17% entre 2001 et 2012, le nombre de ferme certifiées biologiques augmentait de 66,5%. La viande biologique représentait environ 1% des produits biologiques vendus au Canada en 2008 (Louis-Samuel Jacques, 2012). Bien que ce marché croisse de façon manifeste, il semblerait que celui-ci demeure pour l'instant marginal.

Un risque élevé d'infection dans les élevages (toutes espèces confondues) a également été associé par plusieurs études à la présence de chats et de vermine, à l'accès des animaux à l'extérieur, aux troupeaux de petite taille et à une mauvaise gestion des carcasses (Assadi-Rad et al., 1995; Meerburg et al., 2006; Veronesi et al., 2011; Vesco et al., 2007; Weigel et al., 1995).

2.6.2.2 Chez le porc

Chez le porc d'élevage industriel en engraissement, la séroprévalence a été estimée inférieure à 5 % dans la plupart des pays industrialisés (Dubey & Jones, 2008). Une séroprévalence de 0,5% a été mesurée par ELISA à partir de 2094 échantillons de jus de viande de porc vendue au détail aux États-Unis (Dubey et al., 2005). Quatre études du *National Animal Health Monitoring System* (NAHMS) réalisées aux États-Unis en 1990, 1996, 1998 et 2006 mettent en évidence une baisse constante de la prévalence chez les porcs (Jitender Prakask Dubey, 2010). La dernière mesure effectuée dans le cadre de ce projet, soit en 2006, a révélé une séroprévalence de 2,6 % chez les porcs en engraissement par ELISA sur sérum (Hill et al., 2010).

En 1990, une séroprévalence de 9,4 % a été rapportées chez des truies à l'abattage provenant de diverses régions du Canada. Les plus hautes séroprévalences ont été retrouvées en Ontario (16,2%) et dans les provinces maritimes (22,4%), alors que la Saskatchewan (6,8%) et le Manitoba (3,0%) étaient les moins infectées (Smith, 1991). Selon l'auteur, cela pourrait être expliqué en partie par le fait que les élevages échantillonnés étaient plus volumineux (> 100 têtes) dans ces dernières provinces que dans l'est du Canada.

En Ontario, une étude a permis d'estimer la séroprévalence réelle (par analyse bayésienne rétrospective) à l'échelle des individus et des troupeaux de porcs en finition et ce, pour les années 2001, 2003 et 2004. Globalement, les données obtenues ont mis en évidence une prévalence réelle faible et décroissante au fil des années, soit passant de 1,7% (95% PI 1,2-2,2), en 2001 à 0,3% (95% PI 0,1-0,7) en 2004 (Poljak et al., 2008). Une étude menée en Alberta a trouvé 8 échantillons (0,3%) de sang séropositif parmi 2689 échantillons provenant de porcs en engraissement (Kennedy et al., 2003). Les résultats de ces études canadiennes démontrent que les porcs en engraissement et en finition au Canada sont rarement infectés par *T. gondii* et soutiennent la tendance au déclin de la prévalence de ce parasite dans les pays industrialisés.

En contrepartie, l'élevage biologique et axé sur le bien-être animal est associé à une augmentation de l'exposition des porcs (Jones et al., 2012). Kijlstra et al. (2004) aux Pays-Bas ont estimé (par IFAT, test de Sabin-Feldman et LAT) une séroprévalence nulle chez des porcs en élevage conventionnel contrastant avec une séroprévalence de 2,9 % chez des porcs provenant d'un élevage biologique. Toujours aux Pays-Bas, une séroprévalence moyenne de 2,6% variant de 0,38% en élevage intensif à 5,62% en élevage en liberté a été mesurée par ELISA (van der Giessen et al., 2007).

2.6.2.3 Chez la volaille

La prévalence de *T. gondii* chez la volaille varie grandement selon le type d'élevage (Robert-Gangneux et al., 2012). Aux États-Unis, la séroprévalence dans les fermes industrialisées est pratiquement nulle, mais peut atteindre 100% dans les élevages de basse-cour et 30-50% dans les élevages biologiques (J. Dubey, 2010; D. Hill et al., 2013). Au Brésil, une séroprévalence

atteignant 65% chez des poulets élevés en liberté a été estimée par MAT et la présence de *T. gondii* viable dans la viande de 81% des oiseaux (entre 0,8 et 2,5 kg) séropositifs a été déterminée par bio-essai sur des souris (da Silva et al., 2003).

2.6.2.4 Chez les petits ruminants

Les ovins et les caprins à travers le monde sont souvent élevés périodiquement ou en permanence au pâturage. Ils sont généralement soumis à une plus forte pression d'infection à *T. gondii* en raison de la vraisemblable contamination de leur environnement par des oocystes. Cette particularité est reflétée par des niveaux de séoprévalence généralement élevés, pouvant atteindre 92% et 75%, respectivement, chez le mouton et la chèvre, dans certaines régions du monde (Tenter et al., 2000).

D'après les résultats de Halos et al. (2010), environ 5,4% des carcasses ovines mises sur le marché en France contiendrait du *T. gondii* viable. Ils ont également rapporté des prévalences élevées de l'ordre de 17,7% dans la viande d'agneau et 89% dans la viande de moutons (>1 an). Ces résultats révèlent une différence significative entre les deux groupes d'âge ($p < 0,0001$) qui a aussi été démontrée dans d'autres études (Boughattas et al., 2014; Dumètre et al., 2006). Une séoprévalence particulièrement élevée de 87,4 % a été mesurée par ELISA sur des moutons de plus d'un an en Belgique en 2014 (Verhelst et al., 2014). Il est important de noter que la séopositivité détectée chez les agneaux n'est pas liée au transfert d'immunité maternelle puisque celle-ci est présente dans les trois premiers mois de vie uniquement (Halos et al., 2010) et les agneaux inclus dans les études de prévalence sont généralement plus âgés. Malik et al. (1990) ont rapporté une séoprévalence de 42 % chez les agneaux et de 80 % chez les ovins adultes de cinq abattoirs du nord-est des États-Unis. En 2007, 27,1 % des agneaux analysés par MAT dans des abattoirs du nord-est des États-Unis étaient séropositifs à *T. gondii* (Dubey, Sundar, et al., 2008). Au Canada, une étude en Ontario a révélé que 99% des troupeaux de moutons étaient séropositifs pour *T. gondii* avec une séoprévalence moyenne au sein d'un même troupeau de 57.6% (Waltner-Toews et al., 1991). Au Québec, Dubreuil et al. (2003) ont estimé que de 96,7% des troupeaux (n=29) et 42,6% des brebis (n=156) étaient séropositifs.

La séroprévalence rapportée dans le monde chez la chèvre varie de 4 à 77% (J. Dubey et al., 2011; Tenter et al., 2000). Aux États-Unis, la viande de chèvre est très populaire auprès des communautés ethniques et une récente étude menée sur la côte est a révélé une prévalence de *T. gondii* de 53,4% dans la viande caprine destinée à la consommation humaine (J. Dubey et al., 2011).

2.6.2.5 Chez les bovins

La séropositivité rapportée chez le bovin varie de 2 à 92% (Tenter et al., 2000) à travers le monde. Bien que de hautes séroprévalences ont été rapportées dans certaines études, il est très rare de trouver le parasite dans les tissus de vaches adultes ou d'avortons (Dubey & Jones, 2008), comme le supporte l'absence d'échantillons positifs dans une étude portant sur la viande de bœuf vendue au détail aux États-Unis (Dubey et al., 2005). En fait, une vache infectée avec *T. gondii* éliminera le parasite ou le réduira à un niveau indétectable en quelques semaines, ce qui suggère chez cette espèce une résistance naturelle et un système immunitaire particulièrement efficace pour évincer le parasite (Jitender Prakask Dubey, 2010) (Marieke Opsteegh et al., 2011). De plus, la séroprévalence réelle pourrait être plus basse que ce qui est mesuré en laboratoire puisque la spécificité des tests sérologiques utilisés pour détecter les anticorps contre *T. gondii* semble problématique chez les bovins (Jitender Prakask Dubey, 2010).

2.6.2.6 Chez le cheval

Les prévalences sont généralement considérées basses chez le cheval, mais les données rapportées dans la littérature varient de 0,4% à 65,6%. Aucun cas de toxoplasmose n'a été rapporté chez le cheval à ce jour et le parasite n'a pu persister plus de 3 mois dans les tissus équins après inoculation expérimentale (Jitender Prakask Dubey, 2010), ce qui suggère une résistance naturelle de cette espèce au développement de la maladie et à l'enkystement parasitaire.

2.6.2.7 Chez le gibier

En général, le gibier semble être davantage infecté par *T. gondii* que les animaux d'élevage. À titre d'exemple, des séroprévalences entre 30 et 60% ont été mesurées chez le cerf de Virginie aux États-Unis entre 2004 et 2008. Des parasites viables furent identifiés dans 17 à 29% de ces échantillons (Jones et al., 2012). Chez le sanglier, des séroprévalences de l'ordre de 31 à 37% ont été mesurées par MAT aux États-Unis au début des années 1990 (Diderrich et al., 1996). Chez l'ours noir, des séroprévalences allant jusqu'à 80% ont été mesurées aux États-Unis en 1995 (Dubey, Humphreys, et al., 1995). Très peu d'information est disponible concernant la séroprévalence chez les espèces visées par la chasse sportive au Canada.

2.6.3 Chez les félinés

Chez le chat domestique, la prévalence est élevée et peut atteindre 80% (Jones et al., 2010). Il est généralement considéré que la prévalence de *T. gondii* est plus élevée chez les chats qui peuvent aller à l'extérieur et chasser (Weese et al., 2011). Au Canada, une étude a estimé une séroprévalence de 12% en Ontario sur un échantillon de 27 chats domestiques présentant des épisodes de convulsions (Quesnel et al., 1997). La séroprévalence chez les chats errants de l'Île-du-Prince-Édouard a été estimée à 29,8%, ce qui est comparable à des données obtenues en Californie et à Grenade (Stojanovic et al., 2011).

La séroprévalence chez les félinés sauvages est très élevée et peut atteindre 100% selon les populations (Jitender Prakask Dubey, 2010). L'infection par *T. gondii* a été mise en évidence chez 31 des 39 espèces de félinés sauvages connues sur la planète (Jitender Prakask Dubey, 2010).

2.6.4 Chez les autres espèces

L'infection par *T. gondii* a été décrite chez plus de 350 espèces animales dont la majorité appartiennent à la faune (Robert-Gangneux et al., 2012; Tenter et al., 2000). Plusieurs facteurs influencent l'infection des populations sauvages à *T. gondii* tels que les conditions climatiques, la susceptibilité des espèces, leur espérance de vie, leur comportement alimentaire et la présence de félinés dans l'environnement (Smith et al., 1995). Les plus hautes prévalences dans la faune ont été trouvées dans des pays tropicaux, c'est-à-dire au climat chaud et humide. Les animaux

ayant une courte espérance de vie ont tendance à avoir une prévalence plus basse. Les herbivores ont en général une prévalence moindre que les omnivores et les carnivores (Smith et al., 1995). Dans l'hémisphère nord, des prévalences élevées ont été trouvées chez des carnivores tels que l'ours noir et le renard roux, et chez des omnivores tels que le sanglier (Robert-Gangneux et al., 2012). Un intérêt particulier envers la présence de *T. gondii* chez les mammifères marins a récemment été suscité suite à la découverte de prévalences très variables (47 à 100%) chez la loutre de mer (Conrad et al., 2005). Suite à ses observations sur des populations sauvages sur la côte californienne, Conrad et al. (2005) ont émis l'hypothèse que ces animaux pourraient en fait jouer le rôle de sentinelles reflétant la contamination environnementale des écosystèmes marins par le ruissellement de l'eau douce. L'augmentation des mortalité des loutres aux États-Unis dues à des encéphalites protozoaires, incluant celles liées à *T. gondii*, engendre donc certaines inquiétudes pour la santé publique (Kreuder et al., 2003).

Au Canada, une séroprévalence de 6,4% et de 37% a été mesurée par MAT chez les bœufs musqués (Kutz et al., 2000) et les caribous de la toundra (Kutz et al., 2001), respectivement dans diverses régions nordiques. Ces espèces sont couramment chassées par les communautés locales et le risque pour la santé publique lié à la présence de *T. gondii* reste à investiguer. La séroprévalence a été évaluée à 14% chez les lynx de l'ouest québécois (Simon et al., 2013) et à 41,7% chez les carcajous du Nunavut (Reichard et al., 2008). Le lynx du Canada est le seul hôte définitif sauvage identifié dans la faune du Canada boréal (Simon et al., 2013).

Peu d'informations sont disponibles concernant la prévalence chez les animaux de compagnie autres que le chat. Des prévalences allant de 11 à 89% ont été rapportées chez le chien (Dubey, Cortes-Vecino, et al., 2007; Dubey, Rajapakse, et al., 2007; Jitender Prakask Dubey, 2010; Figueredo et al., 2008; Tsai et al., 2008; Weese et al., 2011) dans plusieurs pays d'Amérique du Sud, d'Europe et d'Asie. Les plus hauts taux de prévalence canine ont été mesurés en Amérique du Sud. Une étude effectuée en Amérique du Nord a révélé une séroprévalence de 25 % chez 229 chiens du Kansas (Lindsay et al., 1990). Yan et al. (2012) a mesuré une séroprévalence de 40,3% chez des chiens errants en Chine et proposa que cette population animale pourrait servir d'indicateur de la distribution de *T. gondii* dans l'environnement.

2.7 Attribution de source de toxoplasmose humaine

L'attribution des sources de maladies consiste à associer leur fardeau à des sources précises, le terme « source » pouvant désigner des voies de transmission (alimentaire, eau, par contact animal ou par contact direct entre personne) ou des réservoirs (denrée alimentaire, animaux, etc.). Nos connaissances sont limitées concernant plusieurs éléments phares de l'attribution de source pour *T. gondii*, dont ses principaux réservoirs naturels, l'importance relative de la transmission horizontale entre les espèces hôtes et l'impact épidémiologique des différentes sources alimentaires pour l'humain.

Mondialement, la proportion d'infection humaine attribuable à chacune des sources de *T. gondii* est peu connue. Selon Dubey et al., (2010) une tendance semble toutefois se dessiner, soit que l'infection via les oocystes serait prédominante dans les régions du monde où les chats abondent et défèquent un peu partout dans l'environnement et les habitations. Les kystes tissulaires, quant à eux, seraient la source principale d'infection dans les régions où la population féline est mieux contrôlée et où la consommation de viande crue ou peu cuite est populaire, soit essentiellement en Europe et en Amérique du Nord.

Un rapport visant à élaborer des recommandations concernant la méthode d'attribution de source la plus appropriée à utiliser pour des maladies d'origine alimentaires spécifiques a été produit par un groupe de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le *Foodborne Disease Epidemiology Reference Group* (FERG) (Pires, 2013). Il a été conclu qu'une approche épidémiologique consistant en la réalisation d'une revue systématique et d'une méta-analyse de données sur des cas sporadiques était appropriée pour l'attribution de source de toxoplasmose. L'approche par sous-typage, quant à elle, s'est avérée inapplicable. Une méta-analyse faite par le même groupe de l'OMS a été produite suite à la publication de ces recommandations, estimant que les toxoplasmoses (congénitales et acquises) d'origine alimentaire représenteraient 49% de tous les cas à l'échelle mondiale (Torgerson et al., 2015).

Butler et al. (2015) procéda à une attribution de source pour 28 pathogènes entériques au Canada. À l'aide d'un processus de consultation d'expert, il fut en mesure de déterminer que

51,4 % des cas de toxoplasmose au Canada étaient d'origine alimentaire, 33,8% étaient attribuable à un contact animal, 8,8% était attribuable à la consommation d'eau, 3,3% à une source autre et 2,7 % à un contact entre personne. La proportion de cas d'origine alimentaire au Canada est en concordance avec celle estimée par l'OMS à l'échelle mondiale en 2015.

Des données d'attribution de source au niveau de la denrée alimentaire ont été produites par l'Agence de santé publique du Canada (ASPC), mais ne sont pas encore publiées. Le tableau III est basé sur ces données.

Jusqu'à tout récemment, aucun test ne permettait de faire la distinction entre l'ingestion de kystes tissulaires ou d'oocystes comme voie d'infection dans un cas de toxoplasmose. La découverte d'un antigène spécifique à la forme sporozoaire du parasite par Hill et al. (2011) constitue un nouvel outil prometteur. En effet, cette étude suggère qu'une sérologie démontrant la présence d'anticorps contre cette protéine (TgERP) serait indicateur d'une infection aiguë découlant d'une exposition à des oocystes de *T. gondii*. Cette épreuve sérologique a permis d'identifier les oocystes comme source de primo-infection chez 76% d'un échantillon de femmes ayant donné naissance à un enfant infecté congénitalement. Il est difficile de comparer ce résultat à l'attribution de source produite par l'OMS en 2015, car l'identification des oocystes comme étant à l'origine de ces cas ne permet pas de distinguer clairement la voie de transmission encourue. En effet, les oocystes peuvent infecter l'humain via l'alimentation, l'eau, le contact avec les animaux, etc. Ils ne sont toutefois pas présents dans la viande et ne peuvent être transmis verticalement. Suite à une entrevue, des facteurs de risques significatifs liés à l'exposition aux oocystes ont été identifiés chez seulement 50% des femmes infectées par cette forme parasitaire. Une autre étude observa que 43% de 193 femmes enceintes séropositives à *T. gondii* avaient été infectées par des oocystes plutôt que par des kystes (Munoz-Zanzi et al., 2010). Ces données rejoignent celles d'autres études suggérant que les oocystes représentent une source importante de toxoplasmose chez l'humain, mais souvent non identifiée par les études épidémiologiques (Boyer et al., 2011; Hill et al., 2011).

2.7.1 Le risque lié à la consommation des différents types de viande

Belluco et al. (2016) considèrent qu'aucune hypothèse générale ne peut être émise à ce jour concernant le rôle de chacune des espèces dans la transmission de la toxoplasmose à l'humain à l'échelle mondiale. L'évaluation comparative de l'exposition a été identifiée par Pires et al. (2013) comme étant une méthode prometteuse pour estimer le risque de transmission de *T. gondii* posé par les différents types de viande chez une population donnée. Elle consiste à accorder un niveau de risque à chaque denrée en fonction de la probabilité d'exposition à celle-ci, donnée qui dans le cas de *T. gondii* nécessite bien souvent une modélisation mathématique. Cette approche a été appliquée à un modèle d'évaluation quantitative du risque lié à *T. gondii* aux Pays-Bas en 2011 (M. Opsteegh et al., 2011) et pourrait l'être ailleurs dans le monde à condition que des données suffisantes y soient disponibles. Celles-ci incluent la prévalence (directe ou sérologique dépendamment de la denrée) chez toutes les sources potentielles, des données d'exposition humaine tenant compte de la consommation alimentaire typique de la population ainsi que de l'information concernant la survie du parasite à travers les étapes principales de la chaîne de production alimentaire.

Cette dernière étude menée par Opsteegh et al. (2011) aux Pays-Bas identifia la viande de bœuf comme étant responsable de 67,6 % des toxoplasmoses contractées par ingestion de viande (parmi le porc, l'ovin, le bœuf et les produits mixtes). Ce résultat est plutôt étonnant, car tel que mentionné en section 2.8.4, le bœuf n'est pas considéré comme un hôte favorable à l'enkystement de *T. gondii* (D. Hill et al., 2013). Dernièrement, comme dans le cas de l'étude d'Opsteegh, la consommation de viande de bœuf, surtout hachée, a été identifiée comme étant un facteur de risque important pour la toxoplasmose humaine (Belluco et al., 2016; Jones et al., 2009). Ce lien épidémiologique surprenant peut pour l'instant être expliqué par la possibilité de contamination croisée de la viande avec d'autres espèces plus sujettes à contenir des kystes parasitaires ou par un manque de performance dans nos méthodes de détection moléculaires, spécifiquement pour cette espèce. La popularité de la viande bovine et les habitudes de consommation qui impliquent parfois de la manger crue ou saignante contribuent probablement au risque y étant attribué.

Aucun cas de toxoplasmose humaine n'a pu être directement lié à la consommation de volaille aux États-Unis (D. Hill et al., 2013). La volaille est généralement consommée bien cuite et/ou subit des conditions de congélation de durée variable dans son processus de transformation avant de se rendre sur l'étagère de l'épicerie, ce qui abaisserait le risque de transmission de *T. gondii*. Aucun des échantillons de viande de poulet vendus au détail aux États-Unis ne contenait de *T. gondii* viable parmi les 2094 échantillons analysés par Dubey et al. (2005) et une séroprévalence de 1,3% a été estimée par ELISA sur le jus de viande de ces mêmes échantillons. Ces résultats suggèrent que la toxoplasmose pourrait survenir dans les élevages de poulet américains, mais que le risque lié à la viande de poulet au détail est très faible (Jones et al., 2012). Il est probable que la situation soit similaire au Canada, étant donné les types de productions comparables. Selon une communication personnelle, seulement 2,6% des DALYs liés à *T. gondii* au Canada serait attribuable à la viande de volaille.

La viande ovine et caprine est probablement une importante source d'infection dans de nombreux pays et spécialement en Europe (Cook et al., 2000; Ginsbourger et al., 2012; Kijlstra et al., 2008). La part du risque attribuée à ce type de viande pourrait être plus faible en Amérique du Nord en raison de sa popularité moindre (Dubey et al., 2005). La consommation d'agneau par les Canadiens reste marginale (1% du volume annuel en 2011) comparativement aux autres viandes (MAPAQ, 2014). La viande de mouton adulte (> 1 an), qui sont potentiellement exposés plus longtemps au parasite, est quant à elle destinée principalement au marché de l'alimentation animale et à l'exportation. Une offre importante de viande ovine provenant de la Nouvelle-Zélande et l'Australie est présente sur les tablettes des épiceries canadiennes. Il est raisonnable de croire que ces produits représentent un risque moindre de transmettre *T. gondii*, car 96% de la viande ovine importée au Canada était congelée entre 2007 et 2012 (MAPAQ, 2014). La température et la durée de congélation sont toutefois inconnus.

La faible prévalence tissulaire (0,38%) et sérologique (0,5%) estimée par Dubey et al. (2005) suggère que le porc n'est pas une source d'infection importante aux États-Unis. Par contre, il est important de prendre en compte le volume et les habitudes de consommation avant de pouvoir établir que le risque lié à cette viande est faible. Une étude d'évaluation quantitative de risque a récemment estimé que la probabilité d'infection humaine à *T. gondii* par portion de

viande de porc fraîche aux États-Unis était de $3,2 \times 10^{-7}$ à $9,5 \times 10^{-6}$, ce qui correspond à 94 600 nouveaux cas annuellement (Guo et al., 2017). Toutefois, cette estimation était basée sur un modèle dose réponse d'infection chez la souris (M Guo et al., 2016) et puisqu'aucune donnée n'était disponible concernant la concentration de bradyzoïtes dans la viande de porc, des données concernant la viande caprine ont été utilisées. Ces facteurs pourraient avoir biaisé les résultats.

Une étude portant sur un cas de toxoplasmose aiguë chez une adolescente italienne a permis d'identifier la consommation d'une saucisse de porc crue comme étant la source d'infection (Vitale et al., 2014). Il est important de noter que le porc ayant fourni la viande avait été élevé à l'extérieur et abattu à la maison. En Italie, la saucisse de porc grillée est un plat traditionnel et il n'est pas rare qu'elle soit goûtée crue lors de la préparation du repas. Cette habitude est commune à plusieurs autres pays d'Europe et augmenterait le risque d'infection via la viande.

2.8 Comment gérer le risque de transmission de *T. gondii* à l'humain par la viande ?

2.8.1 Prévention primaire

2.8.1.1 Éducation

Différentes mesures d'hygiène sont primordiales pour prévenir l'infection humaine à *T. gondii*. Les recommandations de base (tableau I) sont fondées sur les connaissances quant à la résistance intrinsèque du parasite et aux caractéristiques biologiques de ses différents stades infectieux. La portée de ces recommandations dépend grandement des politiques en santé publique propres à chaque pays et de l'efficacité de leur communication à la population.

Tableau I. Mesures d'hygiène de base pour prévenir la toxoplasmose humaine

Source d'infection	Mesure de prévention
Oocystes dans les fèces de chats	<ul style="list-style-type: none"> • Se laver soigneusement les mains après avoir caressé un chat. • Porter des gants lors du changement de litière. • Changer la litière souvent et laver le plateau avec de l'eau chaude (60 ° C). • Évitez de mettre la litière dans la cuisine. • Nourrir les chats avec de la nourriture sèche ou en canne.
Oocystes dans l'environnement	<ul style="list-style-type: none"> • Se laver soigneusement les mains et brosser les ongles après toute activité de plein air en contact avec le sol. • Porter des gants pour le jardinage. • Préférer l'eau minérale à l'eau du robinet (dans les pays où le réseau d'eau est fourni principalement par les eaux de surface) • Évitez les huîtres, les palourdes et les moules crues. • Évitez l'ingestion accidentel d'eau (lacs, rivières) pendant les activités récréatives. • Nettoyer soigneusement les légumes, les fruits et les herbes mangées crues, surtout s'ils se développent près du sol. • Éviter les légumes crus aux restaurants.
Kystes tissulaires dans la viande	<ul style="list-style-type: none"> • Bien cuire la viande (four, poêle ou mijoteuse). • Éviter la cuisson au micro-onde. • Manger de la viande ayant été préalablement congelée à un minimum de -20 ° C pendant au moins 15 jours. • Se laver les mains, laver les couteaux, les récipients et les planches après avoir manipulé ou coupé la viande.

Traduit et adapté de (Robert-Gangneux et al., 2012)⁵

⁵ Reproduit avec la permission de American Society for Microbiology

L'éducation du public est une stratégie potentielle pour prévenir la toxoplasmose humaine. Une étude américaine a révélé que les femmes enceintes ne savent généralement pas comment prévenir l'infection, et sont surtout mal informées quant aux risques liés à la consommation et la manipulation de viande crue ou insuffisamment cuite (Jones et al., 2003). De nombreuses études soutiennent que l'éducation prénatale constitue une intervention bénéfique et efficace pour réduire l'incidence de toxoplasmose congénitale (Foulon et al., 1994; Pawlowski et al., 2001), alors que certaines revues systématiques concluent qu'il existe très peu de preuves scientifiques rigoureuses qui vont en ce sens. Ces études soulignent par le fait même l'importance de réaliser des essais contrôlés randomisés pour confirmer les bénéfices potentiels et quantifier l'impact de telles interventions sur la population (Di Mario et al., 2013; Gollub et al., 2008). De tels essais permettraient également de comparer l'efficacité de diverses stratégies d'éducation; est-il plus efficace d'éduquer les patients à risque via le rôle de première ligne des médecins généralistes ou d'éduquer la population de façon moins ciblée, par le biais des systèmes scolaires ou de campagnes gouvernementales ?

La plupart des recommandations du Gouvernement du Canada (2015) concernant la température interne de cuisson sécuritaire des viandes sont suffisantes pour détruire *T. gondii* (tableau II). Toutefois, il est recommandé de cuire les coupes entières de bœuf, de veau, d'agneau (cuisson désirée mi-saignante) et la viande de bœuf attendrie mécaniquement à 63°C, ce qui laisse une zone d'incertitude, puisque tel que mentionné précédemment, le taux de survie du parasite en deçà de 67°C dépend de plusieurs facteurs dont l'épaisseur de la viande et la durée de cuisson.

Tableau II.Recommandations du Gouvernement du Canada concernant les températures sécuritaires de cuisson interne de la viande

Type de viande	Température de cuisson interne
Bœuf, veau et agneau (coupes entières et morceaux)	
Mi-saignant	63°C
À point	71°C
Bien cuit	77°C
Porc (par exemple, jambon, longe, côtes levées)	
Porc (coupes entières et morceaux)	71°C
Viande hachée et mélange de viande (par exemple, saucisses, hamburgers, boulettes de viande, pain de viande, plats en casserole)	
Bœuf, veau, agneau et porc	71°C
Volaille	74°C
Bœuf attendri mécaniquement (bœuf coupé solide)	
Bœuf, veau	63°C
Bifteck (Retourner au moins deux fois durant la cuisson)	63°C
Volaille (par exemple, poulet, dinde, canard, etc.)	
Morceaux	74°C
Volaille entière	82°C

Adapté de (Gouvernement du Canada, 2015)

2.8.1.2 Vaccination

La diminution d'excrétion d'oocystes chez le chat et la prévention de formation de kystes chez les hôtes intermédiaires permettraient de réduire significativement la transmission de *T. gondii*. Beaucoup d'efforts ont donc été dirigés vers l'élaboration de méthodes d'immunisation efficaces pour l'une ou l'autre de ces indications. Malgré d'importants progrès dans la connaissance de l'immuno-pathogénicité de *T. gondii*, le seul vaccin disponible commercialement à ce jour (en Nouvelle-Zélande, Angleterre, France et Irlande) est le Toxovax[®], constitué de tachyzoïtes vivants atténués de la souche S48. Ce vaccin est autorisé pour usage vétérinaire seulement afin de diminuer l'incidence d'avortements chez les brebis. Il n'a jamais été démontré que ce vaccin puisse prévenir la formation de kystes tissulaires chez le mouton en infection naturelle (Garcia JL, 2014), mais une récente étude menée au Royaume-Uni a révélé que la vaccination avec la souche S48 réduisait la charge parasitaire dans les tissus consommables d'agneaux infectés expérimentalement (Opsteegh et al., 2016). Il n'est pas utilisé chez l'humain par peur qu'il mute en une souche virulente et parce que, comme tout vaccin vivant atténué, il est susceptible d'être pathogène chez les patients immunosupprimés (Zhang et al., 2013). Depuis 2009, les études portant sur le développement de vaccins ont été menées principalement chez les chats, les animaux de consommation et la souris. L'antigène de rhoptrie RP18 semble être un candidat intéressant puisqu'il augmente significativement le taux de survie chez des souris infectées expérimentalement (Yuan et al., 2011). Il a également été démontré que certaines interleukines sont des adjuvants efficaces à l'immunisation contre *T. gondii*. Finalement, des épitopes spécifiques aux antigènes de *T. gondii* se liant au complexe majeur d'histocompatibilité humain ont été découverts et représentent une voie prometteuse (Tan et al., 2010).

Le contrôle du niveau d'excrétion des félins a été suggéré comme étant une stratégie prometteuse pour les élevages d'espèces herbivores. Aucun vaccin ou traitement préventif permettant de limiter l'excrétion d'oocystes par les chats n'est disponible commercialement à ce jour, mais il s'agit d'une avenue qui est en développement depuis plusieurs années. La pertinence d'un tel vaccin est questionnable, car il serait voué à être administré de façon massive chez les chats ruraux qui sont souvent sans propriétaire et il n'améliorerait pas la santé du chat

lui-même. Il est généralement accepté qu'il est plus réaliste d'empêcher l'accès des chats aux lieux de productions animales que de contrôler leur excrétion parasitaire (Kijlstra et al., 2008).

2.8.1.3 Biosécurité et gestion des intrants

À la ferme, aucun traitement n'est disponible à ce jour pour freiner la formation de kystes tissulaires chez les animaux de consommation une fois qu'ils sont infectés. Il vaut donc mieux prévenir leur infection en contrôlant les principales sources potentielles. On peut penser que le fait de garder les troupeaux à l'intérieur permettrait de protéger les animaux de la toxoplasmose. Cela a pourtant été réfuté par les résultats d'une récente étude transversale menée au Pays-Bas sur des élevages de chèvres laitières. Celle-ci conclue que le confinement n'est pas associé à une diminution significative de la séroprévalence, alors que le nombre de chats circulant sur la ferme le serait (Opsteegh et al., 2016). Encore une fois, cela souligne l'importance de contrôler l'accès des félins sur les lieux d'élevages.

Dans les élevages d'espèces omnivores telles que le porc, le contrôle de la qualité des intrants d'origine animale s'ajoute à la mesure précédemment suggérée. En effet, il a été démontré que le fait de nourrir un troupeau avec des protéines animales non-pasteurisées constitue un facteur de risque à l'infection à *T. gondii*. De plus, la gestion de la présence de vermine (rongeurs, oiseaux) est importante, car ceux-ci sont des porteurs potentiels de kystes. La qualité de l'eau est également un facteur de risque dans tout type d'élevage, puisqu'une eau contaminée peut transmettre *T. gondii* (Kijlstra et al., 2008).

Bref, la gestion de la biosécurité, entre autres par un maintien d'un bon niveau de confinement et par le contrôle de la salubrité des intrants (aliments, eau, lait, animaux) est la principale stratégie recommandée actuellement à la ferme pour prévenir l'infection des troupeaux à *T. gondii* (D. Hill et al., 2013; Opsteegh et al., 2016).

2.8.1.4 Surveillance

Au Canada, aucune surveillance concernant *T. gondii* n'est usuellement faite à la ferme, à l'abattoir ou dans les étapes subséquentes de la chaîne de production des viandes. Un système national ciblant *T. gondii* à l'abattoir pourrait permettre d'identifier les fermes à risque et d'y implanter des mesures de biosécurité pouvant améliorer la salubrité de la viande. Il pourrait

également permettre d'identifier la viande contaminée et de faire une destruction ciblée des kystes parasitaires à l'aide de procédures spécifiques (cuisson, congélation, irradiation ou autre). Bien que potentiellement utile, un tel système ne peut actuellement pas être mis en place en raison de lacunes technologiques (détection à grande échelle), d'un manque de connaissance des méthodes de contrôle efficaces (avec rapport coût-bénéfice favorable) et d'une prise en charge financière incertaine (Kijlstra et al., 2008). Il y a espoir que des actions seront prises prochainement à l'international pour remédier à la situation, car un panel d'experts de la EFSA a récemment émis la recommandation d'implanter un système gouvernemental longitudinal de surveillance et de contrôle de *T. gondii* chez le porc, entre autres par la détection *ante-mortem* de lots infectés et par l'inactivation du parasite *post-mortem* (EFSA, 2011).

Au Canada, la réduction du risque post-élevage repose pour l'instant entre les mains des consommateurs et travailleurs en alimentation adoptant des habitudes de consommation et d'hygiène sécuritaires (Jones et al., 2012).

2.8.2 Prévention secondaire : Dépistage et prophylaxie chez les femmes enceintes

Certains pays ont mis en place un système de dépistage sérologique ciblant *T. gondii* chez les femmes enceintes. Par exemple, la haute prévalence observée chez les Français dans les années 70 a motivé le pays à implanter un tel système constitué d'un premier dépistage sérologique dans les trois premiers mois de grossesse et d'un suivi mensuel chez les femmes séronégatives (Robert-Gangneux et al., 2012). Lorsque le premier test révèle que la patiente possède des anticorps depuis longtemps, aucun suivi n'est nécessaire durant la grossesse. Plusieurs autres pays européens ont adopté des politiques similaires (Belgique, Norvège, Italie, Autriche) (Robert-Gangneux et al., 2012). Démarrer un traitement ciblé aussitôt que la séroconversion est observée et fournir un diagnostic prénatal sont les principaux objectifs visés par ces programmes. Certaines limites telles que le respect des directives par les patients (Cornu et al., 2009) et l'anxiété créée par un diagnostic d'infection primaire à *T. gondii* chez la femme enceinte (Eskild et al., 2001) mettent en doute l'efficacité et l'utilité de ces programmes. D'ailleurs, plusieurs études et revue systématiques de la littérature ont soulevé des conclusions

contradictoires quant aux bénéfices du dépistage prénatal et du traitement de la toxoplasmose congénitale. Il y a un besoin certain pour la mise en œuvre d'études rigoureuses permettant de déterminer l'efficacité et la pertinence de telles interventions dans une population (Jeffrey L. Jones et al., 2014).

Les traitements généralement utilisés chez les femmes enceintes et leurs nourrissons sont la spiramycine ou une combinaison de pyriméthamine-sulfonamide avec de l'acide folique (Robert-Gangneux et al., 2012). L'effet de ces thérapies sur la transmission du parasite de la mère à l'enfant n'est pas encore bien connu. Quelques études suggèrent néanmoins que tout traitement prénatal réduirait le risque de dommages neurologiques chez les fœtus (Cortina-Borja et al., 2010). Ci-dessous sont énumérées les principales directives cliniques en matière de dépistage et de prévention chez les femmes enceintes, approuvées par la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada en 2013 et mises en œuvre par nos médecins généralistes (Paquet et al., 2013) :

- Un dépistage universel ne devrait pas être mis en œuvre de façon systématique en ce qui concerne les femmes enceintes n'étant exposées qu'à de faibles risques. Le dépistage sérologique ne devrait être offert qu'aux femmes enceintes considérées comme étant plus exposées à un risque d'infection primaire à *T. gondii*.

- La présence d'une infection à *T. gondii* devrait être soupçonnée chez les femmes enceintes qui présentent des constatations échographiques conformes à la présence possible d'une infection TORCH (toxoplasmose, rubéole, cytomégalovirus, herpès et autres).

- Un dépistage devrait être offert aux femmes enceintes ou non qui sont immunodéficientes ou séropositives pour le VIH, en raison du risque de réactivation et d'encéphalite.

- Lorsque la présence d'une infection aiguë est soupçonnée chez la femme enceinte, un deuxième dépistage devrait être mené dans un délai de deux à trois semaines et la mise en œuvre immédiate (sans attendre les résultats du deuxième dépistage) d'un traitement à la spiramycine devrait être envisagé.

- Une femme n'étant pas enceinte qui reçoit un diagnostic d'infection aiguë à *T. gondii* devrait se voir conseiller d'attendre six mois avant de tenter de devenir enceinte. Chaque cas devrait être pris en considération de façon distincte, en consultation avec un spécialiste.

-Des renseignements sur la prévention de l'infection à *T. gondii* pendant la grossesse devraient être mis à la disposition de toutes les femmes qui sont enceintes ou qui planifient le devenir.

2.8.3 Prévention tertiaire : traitements curatifs

Lors d'infection sans signe clinique chez un patient immunocompétent, aucun traitement n'est recommandé. Lors de toxoplasmose (choriorétinite, encéphalite), une combinaison de médicaments antiparasitaires est généralement prescrite (souvent constituée de sulfonamides et de pyriméthamines). Malheureusement ces chimiothérapies présentent une toxicité élevée et ne permettent pas la destruction complète des kystes parasitaires déjà formés. La forme chronique de la toxoplasmose est donc encore incurable. Chez les animaux, aucun traitement n'est actuellement disponible (Neville et al., 2015). Plusieurs thérapies de toutes sortes (antimicrobiennes, anti-protistes, anti-fongiques, anti-bactériennes, immuno-modulatrices, anti-rétrovirales, anti-cancérogènes et anti-psychoactives) sont actuellement à l'étude et sont décrites dans une récente revue de la littérature (Neville et al., 2015).

2.8.4 Analyse du risque alimentaire

2.8.4.1 Approche théorique

L'analyse du risque dans le domaine alimentaire a pour objectif ultime de raffiner notre connaissance des risques potentiels liés à notre alimentation afin de les anticiper, les prévenir et les gérer le mieux possible. Elle comprend trois volets interdépendants : l'évaluation du risque, la gestion du risque et la communication du risque (Welte, 2016).

L'évaluation du risque est un processus basé sur des données scientifiques qui permet d'estimer la probabilité d'occurrence et l'importance d'un risque. La première étape est d'identifier le danger potentiel (ex. *Campylobacter* de souche x dans la nourriture est lié à des cas cliniques humains). Ensuite, le danger doit être caractérisé en termes de sévérité, de virulence, de dose, etc. La caractérisation de l'exposition est aussi nécessaire pour savoir à quel type d'aliment il est associé, dans quelle proportion il y est présent et sous quelle condition. Les conséquences de l'exposition sont déterminées (morbidité, mortalité), pour finalement arriver à faire une caractérisation exhaustive du risque que ce danger représente (Welte, 2016).

La gestion du risque consiste à développer et mettre en place des mesures ou politiques conséquentes à l'évaluation du risque pour le prévenir et le contrôler. Cette gestion peut être entreprise autant au niveau de l'industrie, du gouvernement local qu'au niveau international (codex alimentaire). La communication du risque est un échange continu interactif, ouvert et transparent entre toutes les parties intéressées (industrie, gouvernement, média, chercheurs, consommateurs, etc.). Ce dialogue commence dès le début de l'évaluation du risque et a plusieurs objectifs dont ceux de maximiser l'efficacité du processus d'analyse du risque, de sensibiliser, engager et/ou influencer les parties et d'accroître la confiance du public (Welte, 2016).

2.8.4.2 Évaluation du risque de toxoplasmose par la consommation de viande

L'évaluation des risques microbiens se fait généralement à l'aide de modèles quantitatifs ou qualitatifs. Seulement cinq modèles (trois quantitatifs et deux qualitatifs) ont été publiés à ce jour pour évaluer le risque que représentait la viande pour la toxoplasmose humaine (Guo et al., 2015; Guo et al., 2017; Miao Guo et al., 2016; Mie et al., 2008; M. Opsteegh et al., 2011). Comme pour tout modèle mathématique, leur validité dépend entre autres de la disponibilité de données de qualité pouvant y être incluses, ainsi que de la nature des suppositions et simplifications qui y sont émises.

Une récente étude a d'ailleurs souligné cela tout en précisant la nature des données les plus importantes à détenir pour estimer le risque d'exposition humaine à *T. gondii* par la consommation de viande d'une façon précise et exacte (Crotta et al., 2016). À l'aide d'un modèle hypothétique quantitatif, la probabilité qu'un kyste viable soit présent dans une portion de 100g de porc en Angleterre fut estimée. Après avoir soumis ce modèle à des tests de sensibilité et de scénarios multiples, trois intrants furent identifiés comme ayant le plus grand impact sur l'estimation finale, qui en soi avait une grande variabilité (environ 1 à 10% de probabilité d'infection). Il s'agit du nombre et de la taille des kystes présents dans les tissus de prédilections des animaux infectés, le nombre de kystes dans les tissus consommables et la présence de kystes viables chez les animaux séropositifs vs séronégatifs. La conclusion principale de cette étude était qu'il est essentiel de prioriser la création de données descriptives solides concernant la présence de *T. gondii* dans la viande, sans quoi les estimations de risque

ne pourront être suffisamment précises pour développer des mesures adéquates de gestion des risques.

2.8.4.3 Modèle d'évaluation du risque dans les établissements alimentaires au Canada

Au Canada, comme partout dans le monde, la salubrité alimentaire est l'affaire de tous. Au Québec, elle est surveillée et contrôlée par l'ACIA, le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) et le secteur privé. Les produits alimentaires peuvent être porteurs de dangers biologiques, chimiques ou physiques. Pour un type d'aliment donné, l'ACIA doit considérer et évaluer tous les dangers possibles. Les dangers biologiques sont causés par la présence de microorganismes (bactéries, virus, parasites, champignons, moisissures, etc.) pathogènes ou responsables de l'altération des aliments. Le risque qu'un danger biologique représente peut être évalué selon la gravité des conséquences qu'il engendre (ACIA (2016a)). Pour définir le risque d'un danger biologique dans un type d'aliment spécifique (combinaison aliment-danger), divers éléments doivent être mesurés, soient le risque intrinsèque du microorganisme lui-même, la probabilité qu'il se trouve dans l'aliment donné et la probabilité que le consommateur développe une pathologie suite à son ingestion. Pour exprimer quantitativement le fardeau que représente un agent pathogène sur la santé humaine, le DALY est une mesure utile et de plus en plus utilisée à travers le monde, dont à l'ACIA. Cette mesure quantitative permet de classer les agents pathogènes en ordre d'importance selon leur impact sur la santé publique.

L'ACIA utilise depuis toujours une approche axée sur les risques pour orienter ses activités d'inspection. Dans le cadre de récents efforts de modernisation, elle s'engage à adopter une approche plus structurée et transparente dans l'allocation des ressources d'inspection tout en assurant le même niveau de salubrité alimentaire. Cela veut dire que les établissements présentant un risque plus élevé seront soumis à des inspections plus serrées (en termes de fréquence, d'intensité et/ou de type d'inspection) que les établissements représentant un faible risque pour la santé publique (ACIA, 2016b). Pour évaluer ce risque, l'ACIA a élaboré un modèle d'évaluation du risque basé sur les établissements, nommément le ERE. Le principe de base du modèle est de distribuer les DALYs des différents pathogènes parmi les établissements.

La formule générale permettant d'obtenir un résultat d'évaluation du risque pour un établissement (Re) est :

$$Re = \frac{DALYs}{cas_p} \times \frac{cas_p}{année} \times \frac{cas_{denrée}}{cas_p} \times \frac{cas_{prod}}{cas_{denrée}} \times \frac{V_e}{V_{Canada}} \times Ajust(FR)_e$$

Où cas_p = nombre de cas pour un pathogène spécifique

$cas_{denrée}$ = nombre de cas attribué à une denrée spécifique

cas_{prod} = nombre de cas attribué à un produit spécifique

V_e = volume de production d'un établissement

V_{Canada} = volume de production total au Canada

$Ajust (RF)_e$ = ajustements pour les facteurs de risque présents dans un établissement (facteurs de risque inhérents, facteurs de mitigation et facteurs de compliance)

Le nombre de DALYs par cas est basé sur une étude de Havelaar et al.(2012) Pour le modèle ERE, l'ACIA suppose que les conséquences de la maladie, le poids de l'invalidité et la durée de la maladie sont les mêmes pour les canadiens que pour les néerlandais.

Le nombre de cas d'origine alimentaire par année au Canada repose sur Thomas et al., (2013) (données canadiennes de 2006) pour 30 agents pathogènes. Cependant, le nombre de cas de *T. gondii* par année au Canada a été basé sur des données d'incidence américaine estimées à partir de données sérologiques du *U.S. National Health and Nutrition Examination Survey* (Jones et al., 2007; Scallan et al., 2011), puis appliquées à la population canadienne. L'étude de Thomas a prédit 9 132 cas de toxoplasmose d'origine alimentaire acquise au Canada, dont 358 avec des symptômes graves, le reste présentant des symptômes légers. Seuls 358 cas sévères ont été pris en compte dans le modèle ERE. L'attribution à la voie alimentaire pour chaque pathogène provient de Butler et al. (2015). Les données d'attribution des cas de toxoplasmose aux différentes denrées alimentaires (tableau III) ont été basées sur une communication personnelle

entre l'ACIA avec l'ASPC. Une consultation d'expert a permis d'estimer la contribution des différents sous-produits alimentaires aux cas de toxoplasmose dans la population canadienne.

Tableau III. Attribution des cas de toxoplasmose au Canada aux différentes denrées alimentaires (%)

Bœuf	Porc	Volaille	Gibier	Charcuteries et autres viandes	Agneau et mouton	Produits laitiers	Poissons	Autres	Total
8,6	16,1	2,6	24,3	1,7	30,1	4,4	1,4	10,8	100,0

Adapté de (Quessy, 2017)⁶

Le volume de production de l'établissement est obtenu grâce à un questionnaire. La variable d'ajustement selon les différents facteurs propres à l'établissement comprend plusieurs éléments. Premièrement, un risque inhérent est attribué à chaque établissement alimentaire selon le type de produit, le volume de production, la clientèle cible, la persistance du danger aux traitements faits au produit, etc (Quessy, 2016). À ce risque inhérent est ajouté l'effet de facteurs de mitigation (certification HACCP, procédé additionnel, audit par des tiers, etc.) sur le ou les dangers en question (Quessy, 2016). À tout cela est combiné l'historique de conformité des établissements (rappel de produit, résultats d'inspection, plaintes, etc.) pour finalement définir la variable Adj (RF)_e de l'établissement (Quessy, 2016). La performance du modèle ERE a déjà été évaluée dans le secteur laitier et des viandes et le sera sous peu dans le secteur des poissons et produits de la mer. Une adaptation du modèle est également en développement pour prendre en charge les importations et les risques chimiques.

Tel que mentionné précédemment, aucune donnée n'est disponible quant à la présence de *T. gondii* dans la viande vendue au détail au Canada. Il est donc problématique de déterminer avec précision et exactitude le risque qui y est associé pour la santé humaine. Actuellement, certaines données provenant d'études américaines, néerlandaises ou de travaux non-publiés sont

⁶ Reproduit avec la permission de Dr. Sylvain Quessy, ACIA.

appliqués à la population canadienne pour déterminer ce risque (Quessy, 2016). On peut remarquer dans le tableau III qu'une proportion considérable des cas de toxoplasmose est attribué à la viande de porc. Une part conséquente du fardeau de la toxoplasmose y est attribué. Pourtant, les élevages porcins au Canada sont majoritairement hautement confinés, ce qui réduit grandement leur propension à être infecté par un parasite tel que *T. gondii* qui rappelons-le, se transmet principalement aux porcs par le biais de l'environnement contaminé par les fèces de chat. La proportion non-négligeable du fardeau de maladie attribuée au bœuf pourrait également être surestimée, puisque les données de séroprévalence produites à ce jour à travers le monde semblent être grandement variables et même parfois discordantes chez cette espèce. Toujours en se référant au tableau III, l'agneau et le mouton semblent être un réservoir important de *T. gondii* parmi les viandes consommées au Canada. Cela est vraisemblable, mais mérite d'être validé par des données quantitatives directes et objectives compte tenu des divers facteurs environnementaux, culturels et économiques qui sont propres au Canada et qui pourraient affecter grandement l'attribution de source. Peu de fardeau de maladie est attribué à la volaille, ce qui est tout-à-fait plausible étant donné que ces animaux n'ont pratiquement aucun contact avec l'environnement, dû au climat canadien parfois rude. Tel que mentionné précédemment, la volaille est considérée comme une source de toxoplasmose de très faible importance en Amérique du Nord.

La problématique générale mentionnée précédemment concernant le manque d'information liée à la présence de *T. gondii* dans la viande est manifestement applicable au Canada et pourrait avoir des répercussions tangibles dans les activités gouvernementales de gestion du risque de toxoplasmose.

3. Objectifs de l'étude

Ce projet vise à estimer la prévalence de *T. gondii* dans la viande de porc, de bœuf et d'agneau vendue au détail au Canada, mettre en évidence des facteurs de risque liés au statut positif de la viande à *T. gondii* et fournir une estimation de la quantité de parasites par portion de viande.

4. Article scientifique

***Toxoplasma gondii* in beef, lamb and pork retail meat in Canada: prevalence, quantification and risk factors from a public health perspective**

Corinne Lafrance-Girard¹, Julie Arsenault¹, Alexandre Thibodeau¹, Marieke Opsteegh², Brent Avery³, Sylvain Quessy¹

¹Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

²National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

³Laboratory for Foodborne Zoonoses, Public Health Agency of Canada, Guelph, ON, Canada.

*En préparation pour le journal *Emerging Infectious Diseases*

4.1 Abstract

Toxoplasmosis is a zoonose of major public health concern worldwide. *T. gondii* can be transmitted to human by consumption of raw or undercooked meat, but little is known about the risk associated with food products issued from various meat commodities consumed by Canadians. We estimated the prevalence of *T. gondii* positive status of retail meat in Canada using a combination of ELISA and qPCR. The prevalence was 0.3 % in pork (n=360), 0.6 % (n= 329) in beef and was ranging between 4.3 % and 11.1 % in lambs (n=298) depending on the province. When detected, generally more than 4000 parasites were present in lamb meat. Meat origins and cuts were identified as risk factors for *T. gondii* positive status of retail lamb meat according to a multivariate logistic regression. These results preclude any quantitative risk assessments in Canada and should contribute to a better toxoplasmosis management.

Keywords: *Toxoplasma*, Food parasitology, Prevalence, Risk Factors, Red meat, Public health, Quantitative real time polymerase chain reaction

4.2 Introduction

T. gondii is an intracellular protozoan having a major public health impact in several countries. In the United States, *T. gondii* was reported to account for 24% of all deaths due to foodborne illness (Scallan et al., 2011). While the infection often remains asymptomatic, it can cause abortions, congenital defects in newborns and encephalitis in immunocompromised patients. Immunocompetent patients are susceptible to develop an ocular toxoplasmosis which is cureless and can lead to blindness (Kijlstra et al., 2014).

T. gondii has three distinct infective forms. The sporozoite, contained in the oocysts, is the environmental form excreted in feces of infested felids, which are the only definitive host. The tachyzoite is the replicative form which can penetrate host cells and disseminate in the organism via blood and lymph. The bradyzoite is the latent form encysted in host tissues. The parasite can infect all warm-blooded animals as well as humans. The three main routes of transmission of this parasite are the ingestion of oocysts from the environment, the ingestion of bradyzoites encysted in another host tissues (meat) and the vertical transmission. In a systematic review and meta-analysis based on sporadic toxoplasmosis cases, the World Health Organization estimated that 49 % of the cases were foodborne at a planetary level (Torgerson et al., 2015). Among food commodities, meat seems to be responsible for a considerable proportion of cases (Cook et al., 2000; Guo et al., 2015). The parasite can be inactivated by most of the domestic cooking methods; however, consumption habits vary a lot from a country to another and the annealing power of cooking on the parasite depends on the temperature reached in the middle of the meat piece (Jones et al., 2012

The gold standard for *T. gondii* detection is still bio-assay in cats or mice. It provides valuable information about the viability of the parasite, but it implicates the use of laboratory animals in addition to be time and money consuming. Alternatively, the detection of *T. gondii* bradyzoites in meat by conventional DNA extraction is possible, but can be difficult, mostly because cysts are unequally spread within tissues. Thus, it may lead to unreliable detection and quantification outputs. Opsteegh et al. (2010) has consequently elaborated a DNA extraction method by which specific sequences are captured with magnetic beads, allowing the extraction from a large

volume of meat (up to 100g). It also concentrates specific *T. gondii* DNA and removes potential PCR inhibitors. Followed by a qPCR, it has been showed to be a highly sensitive and specific detection tool in several species and it provides accurate and reliable quantification outputs (Marieke et al., 2010). Alternatively, serology can be used to indicate the presence of *T. gondii* DNA in tissues of pork, lamb, poultry and goats (J. Dubey & Jones, 2008; Marieke Opsteegh et al., 2016; Tenter et al., 2000; Zia-Ali et al., 2007). However, the correlation between seropositivity and detection of tissue cysts is not perfect and varies between methods used.

The risk of human infection via bradyzoites in meat and the specific role of each meat products depend on the prevalence of *T. gondii* infection in meat animals, on cultural factors linked to meat consumption and preparation, on host-related factors (such as age and immunological status) and on parasite-related factors (such as viability and genotype) (Jitender Prakask Dubey, 2010; Robert-Gangneux et al., 2012). The evaluation of the risk of human exposure to *T. gondii* by meat consumption has been performed in few modelling studies (Guo et al., 2015; Guo et al., 2017; Guo et al., 2016; Mie et al., 2008; M. Opsteegh, Prickaerts, et al., 2011). Most of these studies have identified knowledge gaps leading to assumptions and simplifications, mostly regarding the presence and quantity of cysts in predilection sites and edible tissues (Crotta et al., 2016). In Canada, the scarcity of information on *T. gondii* presence in meat clearly preclude the development of risk assessment models and ultimately, adequate risk analysis and management. The main objectives of this study were to 1) estimate the prevalence and risk factors for the presence of *T. gondii* in retailed pork, lamb and beef meat in Canada, and 2) provide a quantitative estimate of parasite per meat portion.

4.3 Methods

4.3.1 Experimental design and sampling

A cross-sectional study was conducted in five provinces of Canada (Alberta, British-Columbia, Quebec, Ontario and Saskatchewan). Retail meat of pork, beef, and lamb was collected on a weekly basis by the Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) according to their protocol (CIPARS Annual Report 2014, 2016). Briefly, quartiles (or terciles) of the total population of each province were created from a list of census divisions, ranked in increasing order of population. In general, between 15 and 18 census divisions by province were then selected by stratified random selection and weighted according to the population of each stratum. The number of sampling days attributed to each stratum was also demographically weighted and sampling days were randomly scheduled over one year. More concretely, each week in each scheduled area, three chain stores and one independent or butcher store were sampled and one meat sample per commodity was sampled in each store.

The required sample size for prevalence estimation was calculated for each commodity using a confidence level of 95% (Dohoo et al., 2009). For pork, the target sample size was fixed at 280 at the given precision of 2% and expected prevalence of 3% (J. P. Dubey et al., 2005; Hill et al., 2010; Poljak et al., 2008; Smith, 1991). For beef, the target sample size was fixed at 288 at the given precision of 5% and expected prevalence of 25% (J. P. Dubey et al., 2005; Tenter et al., 2000). For lamb, the target sample size was fixed at 370 at the given precision of 5% and expected prevalence of 40%. (J. Dubey, Sundar, et al., 2008; Dumètre et al., 2006; Halos et al., 2010; Lopes et al., 2013; Waltner-Toews et al., 1991). Expected prevalences were calculated as the average of North-American prevalence estimates assessed by comparable detection methods (ELISA, PCR or bio-assay). International data were used if no Canadian data were available.

Information about the following variables was collected for each sample: date of sampling, localisation of the store, store category, store volume, country of origin, meat cut, final processing in store, 'package may contain frozen meat' and 'organic label'. All lamb (figure 4) and pork (figure 5) samples were sent to the laboratory for ELISA testing, and a subsample was then submitted to molecular detection. For lamb, this subsample consisted in 30 randomly selected samples among weak seronegative samples, using a cut-off defined as their positivity

percentage median (3,1 %). For pork, 87 samples were also selected among weak seronegatives, using a cut-off defined as the 33th percentile (-0.09 %) of their positivity percentage distribution. All beef samples were directly submitted to molecular analysis (appendix figure 1), given the low reliability of serology for this animal species (M. Opsteegh, Teunis, et al., 2011).

4.3.2 Sample processing

Samples were received at the Public Health Agency of Canada laboratory of Saint-Hyacinthe within 24 hours post purchase. They were kept at 4 °C for 2 to 3 days before being brought to the Research Chair in Meat Safety (RCMS) laboratory in Université de Montréal. Samples were frozen (-20°C for at least 3 days) and thawed to increase meat fluids seepage, as recommended by the ELISA test manufacturer. After thawing, a minimum of 50 µl of meat fluid was sampled directly from the storage bag of each pork and lamb sample, transferred to a 1.5 ml freezing tube and refrozen at -20°C until serological analysis. The meat was refrozen at -20°C for an eventual *T. gondii* DNA extraction.

4.3.3 Serological analysis

Antibodies (IgG) against *T. gondii* were detected in meat fluids with host-specific commercial indirect ELISA kits. The protocols provided by the manufacturer were followed, with exception that the plate reader filter was set at 640 nm instead of 620 nm because of equipment limitations. The sensitivity and specificity of ‘prioCHECK® Toxoplasma AB porcine’ (Prionics, The Netherlands) were respectively of 97% and 100% on meat fluids relative to IFAT, WB and ELISA (Patrick Buholzer, 2010). The sensitivity and specificity of ‘prioCHECK® Toxoplasma AB SR’ (Prionics, The Netherlands) were respectively of 91,3-97,9 % and 94,9-97,9% on meat juice, relative to IFAT and IHA (Glor et al., 2013).

4.3.4 Control samples and parasites

Samples of 100g of rear leg muscle from seronegative pigs were used as environmental matrix for molecular detection controls. These tissues came from experimental animals of another research project where they were raised in a biocontainment level 2 facility of the Université de Montréal. For positive controls and standard curve DNA extracts, a known number of parasites were spiked into weighted and prepared meat from which DNA was extracted by magnetic capture. Negative controls consisted in blank control samples from which DNA was extracted.

Whole type 1 tachyzoites from RH strain, provided by Dr. Louis-Philippe Leroux from INRS-Institut Armand-Frappier (Québec), were used to spike control samples. These parasites were stored dry at -80°C until suspended in sterile water and then stored at -20°C until use.

4.3.5 DNA extraction and qPCR

A specific and highly conserved fragment of *T. gondii* genome, the repetitive 529-bp element, was extracted from meat by magnetic capture and quantified by qPCR (MC-PCR) following the protocol elaborated by (Marieke et al., 2010) with minor modifications (technical appendix 1). The detection limit of our MCR-PCR method was 250 parasites per portion of 100g of meat.

A positive and negative meat control were included in every magnetic capture run and tested by qPCR with the samples processed in that run. The qPCR standard curve was made of previously extracted *T. gondii* (529-bp) DNA from pork meat spiked with tachyzoites. Five extractions, from 250 to 4000 parasites with a dilution factor of 2, were included in the standard curve. Positive samples were visualized on agarose gel electrophoresis. The amplicons of one positive sample of each commodity and a positive control were submitted to a Sanger type sequencing to confirm their identity. The competitive internal amplification control (CIAC) present in the original PCR protocol (Marieke et al., 2010) was not included in our method.

4.3.6 Statistics and data analysis

All statistics were performed in SAS® 9.4.

4.3.6.1 Prevalence estimation

Prevalences of antibody-positive and *T. gondii* positive samples with 95% exact confidence limits were estimated for each commodity. *T. gondii* positive status was defined as molecularly confirmed presence of more than 250 parasites (detection limit) notwithstanding of serological status. *T. gondii* negative status was defined as a molecularly confirmed absence (less than 250 parasites) of *T. gondii*. Seronegative samples that were not selected for PCR confirmation were also considered as *T. gondii* negative.

4.3.6.2 Risk factors

A multivariable logistic regression was used to model the *T. gondii* status in meat per commodity (lamb, pork and beef), adjusted for the province of localisation of the store. A risk factor analysis was then performed separately for each meat commodity. For each potential risk factors (table V), association with *T. gondii* status was evaluated using a Chi-square test; only variables with $p < 0,25$ were kept for multivariable modeling. Pairwise correlations between selected variables were assessed using Chi-square tests. In the presence of strong correlation between two variables, the variable deemed to be the most directly related to the presence of *T. gondii* DNA in meat in a biological point of view was kept for modeling. A multivariable logistic regression model was the built using a backward selection, with $p > 0.05$ (log-likelihood ratio test) as criteria for rejection. The Hosmer and Lemeshow test was performed to assess the fit of our data in the final model.

4.4 Results

4.4.1 Sampling

Between September 2015 and January 2017, a total of 363 pork meat and 329 beef meat samples were collected from the 5 provinces. Lamb samples were collected from December 2015 to November 2016 in Ontario, British-Columbia and Quebec. Due to timetable and practical limits, a convenience sampling occurred in December 2016 and January 2017, representing 52 lamb samples that were collected exclusively in Quebec using the same store selection protocol, but collecting as much different cuts as possible in each store.

4.4.2 Seroprevalence and prevalence of *T. gondii*

Prevalence results are detailed in table III. For pork and beef, data from all sampled provinces were aggregated for the prevalence estimation according to each food commodities, whereas provincial prevalences were estimated for lamb due to differences in the sampling effort per province. The highest seroprevalence and *T. gondii* positive prevalence were observed in lamb retail meat collected in Quebec. No seropositive sample was found in pork samples.

Only one pork sample containing *T. gondii* DNA was detected among the subsample of weak seronegative (figure 5). This sample was 0,53% as positive as the ELISA positive control in term of optical density. No PCR-positive samples were found among seronegative lamb samples (figure 4).

4.4.3 Quantification

Out of 28 lamb samples with a Cp-value on qPCR, 21 had more than 4000 parasites, three were under the limit of detection and four were precisely quantifiable (table IV). All pork and beef samples with a Cp-value were considered positive and contained less than 1500 parasites.

4.4.4 Risk factors

The commodity (pork, beef and lamb) was associated with *T. gondii* status of retail meat ($p < 0.001$, Khi-2 test). Lamb meat had a higher risk to be *T. gondii* positive compared to beef (OR=13.9 ; 95% CI 3.3-59.5) and pork (OR=33.3 ; 95% CI 4.5-247.1) products. No difference was observed between pork and beef ($p = 0.48$).

Due to the very small number of positives samples found in beef and pork meat, the risk factor analysis per commodity was limited to lamb meat samples. Among the potential risk factors (table V), the variable ‘organic labelling’ was excluded from the analysis, because only one sample was classified as ‘organic label’. The following variables were first considered (all $p < 0.25$) for multivariate modeling: ‘localisation of the store’, ‘meat cut’, ‘country of origin’, ‘final processing in store’ and ‘package may contain frozen meat’. Then, ‘final processing in store’ and ‘package may contain frozen meat’ variables were excluded due to their strong correlation with ‘country of origin’. Indeed, meat coming from New-Zealand and Australia was more frequently found in packages possibly containing frozen meat and was unlikely to have final processing in the store. From the remaining variables, the ‘localisation of the store’ variable was rejected during the backward selection ($p = 0.91$). Since all pairwise comparisons were non-significant for non-minced meat cuts, they were grouped together in the final model for simplification. According to the final model (table VI), ‘Ground’ meat compared to other cuts, and New-Zealand origin of lamb meat compared to Australian were identified as risk factors for *T. gondii* positive status of lamb meat. A statistical

trend towards significance ($p=0.08$) was found for the New-Zealand origin of lamb meat as a risk factor compared to Canadian meat; no difference was observed between Canadian versus Australian origin ($p= 0.13$).

4.4.5 Sequencing

We found a similarity at the nucleotide level between our samples and the 529-bp reference sequence on about 80 consecutive nucleotides. It was considered sufficient to confirm the identity of the detected fragment (data not shown).

4.5 Discussion

Prevalence estimates resulting from this project provide the first estimates of proportion of meat portions in Canada that contained *T. gondii* cysts in a human exposure assessment perspective. Only a few studies in North-America can be used as comparatives to our prevalence results.

In Canada, a seroprevalence by ELISA of 0.3% among nearly 3000 finishing porks raised in Alberta was estimated, which is similar to what we found (Poljak et al., 2008). Using ELISA, a seroprevalence of 0.5% in retail pork and 0% in beef meat fluids in USA was reported (J. P. Dubey et al., 2005). The same research team reported a seroprevalence of 17.7% by MAT on lamb hearts from slaughterhouses in USA (Dubey, Sundar, et al., 2008). This higher seroprevalence may be explained by methodological and matrix differences between serological assays.

A prevalence of viable *T. gondii* measured by biological assay was estimated at 0.38% for pork and 0% for beef. The direct detection method we used didn't evaluate the viability of the parasites found in retail meat in Canada, but based on Dubey's bio-assay results, it would be reasonable to assume that most of our PCR positives contained viable cysts. A prevalence of viable *T. gondii* by bio-assay of 13.8% in lamb hearts from slaughterhouses in USA (Dubey, Sundar, et al., 2008). The slightly higher direct prevalence compared to our might be explained by the use of heart samples, heart being a predilection site for *T. gondii* in lamb.

The detection limit of our adapted MC-PCR method was very similar to the original experiments of Dr. Opsteegh (230 parasites-equivalent) which seemed to be comparable with bio-assay

(Marieke et al., 2010). Because tissues cysts can contain hundreds of bradyzoites, one single cyst should have been detected in most cases by our method (J. P. Dubey et al., 1998).

T. gondii status of every pork and lamb sample was not confirmed by molecular detection, but considering our stratified verification of seronegative samples and supporting scientific opinions in the literature concerning the use of such a screening in lamb and pork species, we are confident that final status is a good approximation of the presence of the parasite. The single ELISA false-negative out of 360 could be explained by the performance limits of the assay itself, more precisely by the reported sensitivity of 97%.

Most positive lamb samples found in our study contained more than 4000 parasites. We could not precisely estimate the parasite load of these samples, because their Cp-value were outside of our standard curve. Based on a mice experiment, a dose of 452 bradyzoites (genotype II strain ME49) would result in a 50% probability of human infection (Derouin et al., 2005). This exponential model considers the pathogenicity and virulence of one single strain in a general healthy population. In full awareness of these limits, it seems probable that most of positive lamb portions found in our study contained enough parasites to infect humans. We believe that our quantification results are a reliable first indicator of the quantity of *T. gondii* that Canadian consumers may be exposed to while eating lamb meat and justify changes in the way this microbial risk should be managed.

As far as we know, this project is the first to identify risk factors for the presence of the parasite among intrinsic characteristics of retail meat. The main risk factor found was the species, with a higher odd of positivity for lamb meat products compared to pork and beef meat. This result can be explained by the suspected resistance of bovine to *T. gondii* (Jitender Prakask Dubey, 2010). Moreover, most pork productions in Canada are kept in highly confined housing while lambs are raised in various type of environment including farm flocks (combine pasture grazing for part of the year and indoor or corral housing for the winter), confined housing and pasture-based farming (OSMA, 2017) depending on the climate, the resources and the producer management choices. Consumption of rare lamb has been identified has a major risk factor for human toxoplasmosis in USA (Jones et al., 2009), supporting our finding.

In lamb meat, 'ground meat' was associated with a higher odd of positivity compared to other cuts of meat. This association is biologically plausible as ground meat is often made of pooled skeletal muscles from several individuals and could contain meat from older animals (mutton) (Chevalier, 2017). The significant effect of New-Zealand origin on *T. gondii* status of lamb meat compared to Australian was a surprising discovery at first sight as we expected similar prevalences. Indeed, lambs in both countries are raised on pasture with a probable important exposition to *T. gondii* oocysts, due to a high density of feral cat populations (Langham et al., 1990; Reynolds et al., 2005; Dempster et al., 2011; Government of Australia, 2011). However, when comparing meteorological data of both countries, a tendency toward a higher level of rain precipitations in New-Zealand compared to Australia is observed. *T. gondii* oocysts infective power is reduced faster in dry rather than in humid environments (Lélu et al., 2012). It is important to mention that in the interpretation of this risk factor, we assume that the origin of meat indicated on the package is reliable.

New-Zealand origin tends to increase the risk of positive *T. gondii* status of lamb meat compared to Canadian. This tendency could be explained by the full-time access of New-Zealand lamb to the outdoor environment compared to the variable access, going from inexistent to complete, in Canada. New-Zealand lamb represents most of Canadian lamb imports (MAPAQ, 2014) and thus has to be considered in risk management. However, since most of New-Zealand meat imported in Canada is frozen (MAPAQ, 2014), the viability of *T. gondii* and the probability of infection related to these products might be reduced. The assessment of the viability of *T. gondii* in frozen lamb meat coming from New-Zealand should be conducted to clarify this possibility, taking in consideration the freezing temperature and duration, thickness of the meat and many more factors.

In conclusion, lamb was much more likely to be *T. gondii* positive than pork and beef retail meat in Canada and generally contained more than 4000 parasites. Lamb ground meat and lamb coming from New-Zealand seem to be more at risk of positive *T. gondii* status compared to other cuts and origins. This project provides essential information for toxoplasmosis risk evaluation at a national and international scale.

4.6 Acknowledgments

We thank Dr. Louis-Philippe Leroux at INRS-Institut Armand Frappier for providing our control tachyzoites. We also thank Dr. Danielle Daignault, Julie Roy and Sindy Cleary from CIPARS for coordinating the sampling. We thank Dr. Manon Racicot from CFIA for her contribution to the project. We thank the RCMS team for their support. We thank Dr. Alvin Gajadhar for sharing his expertise. Finally, we thank our financial partners: the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) and Thermo Fisher Scientific (Prionics).

Tableau IV. Seroprevalence and prevalence of *Toxoplasma gondii* in pork, beef and lamb retail meat in Canada

Commodity	No. sampled	No. Tested	<i>T.gondii</i> antibodies			<i>T.gondii</i> positive status†		
			No. positive	Seroprevalence		No. positive	Prevalence	
				%	95% CI		%	95% CI
Pork	363	360	0	0	-	1	0.3	0.0-1.5
Beef	329	329	-	-	-	2	0.6	0.0-2.2
Lamb								
Québec	173	171	22	12.9	8.2-18.8	19	11.1	6.8-16.8
B.-C.	72	70	4	5.7	1.6-14.0	3	4.3	0.9-12.0
Ontario	57	57	3	5.3	1.1-14.6	3	5.3	1.1-14.6

*Some samples couldn't be tested because of an absence of meat fluids.

† Positive status was defined as molecularly confirmed presence of more than 250 parasites (detection limit) notwithstanding of serological status.

Tableau V. Distribution of meat samples (frequency) according to the quantity of *Toxoplasma gondii*, detected in retail meat in Canada

Commodity	No. samples with Cp values	Number of <i>Toxoplasma gondii</i> DNA equivalents		
		< 250 (considered qPCR negative)	250 - 4000 (qPCR positive, quantifiable)	> 4000 (qPCR positive, not quantifiable)
Pork	1	0	1*	0
Beef	2	0	2†	0
Lamb	28	3	4‡	21

*Number of parasites \pm PCR inter-duplicate variation = 313 ± 69

†Number of parasites \pm PCR inter-duplicate variation = $604 \pm 275, 723 \pm 519$

‡Number of parasites \pm PCR inter-duplicate variation = $1603 \pm 475, 2941 \pm 1360, 1933 \pm 243, 1941 \pm 221$

Tableau VI. Distribution of meat samples by commodity, meat characteristics and *Toxoplasma gondii* status.

Variable	Pork		Beef		Lamb		Exact Chi-2 P-value
	No. *	% positive	No*	% positive	No. *	% positive	
Localisation of the store							0.16
Alberta	49	0	63	0	-	-	
BC	57	0	67	0	70	4.3	
Ontario	13	0	14	0	57	5.3	
Quebec	206	0	155	1.3	171	11.1	
Saskatchewan	35	2.8	30	0	-	-	
Store category							0.29
Butcher	39	0	44	2.3	26	15.4	
Chain	268	0.4	221	0	226	7.1	
Independant	53	0	64	1.6	45	11.1	
Meat cut							<0.001
Ground	15	6.7	328	0.6	68	23.5	
Leg	-	-	-	-	47	4.3	
Loin	338	0	-	-	84	3.6	
Shoulder	1	0	-	-	80	3.8	
Other	6	0	1	0	16	6.3	
Country of origin							<0.001
Australia	0	-	1	0	74	4.1	
Canada	137	0.7	103	0	125	4.0	

New Zealand	0	-	0	-	53	26.4	
Other†	5	0	0	-	3	0	
Final processing in store							0.07
Yes	282	0	247	0.8	161	5.0	
No	53	1.9	71	0	135	13.0	
Package may contain frozen meat							<0.001
Yes	6	16.7	9	0	56	21.4	
No	8	0	161	0.6	242	5.4	
Organic label							NA ‡
Yes	0	-	1		1		
No	285	0.4	263	0.4	105	3.8	
Store volume §							0.53
Small	142	0.7	152	0.7	71	11.3	
Medium	156	0	122	0	168	7.7	
Large	60	0	52	0	51	12.5	

* Discarded samples (absence of meat fluids) and samples with ‘Unknown’ values are not represented in this table.

†UK, USA and Spain were grouped as a ‘Other’ category, because the number of samples in each category was very low (1 pork sample from Spain, 4 pork and 1 lamb samples from the USA and 1 lamb sample from the UK).

‡The variable ‘Organic label’ was not tested, because the number of ‘Yes’ value was too low.

§‘Small’ store volume is considered as 5 cash registers or less, ‘medium’ goes from 6 to 10 and ‘large’ is considered as more than 10.

Tableau VII. Results from the final multivariable logistic regression modeling *Toxoplasma gondii* positive status in lamb retail meat in Canada

Variable	Odds ratio		
	Estimate	95% CI	P-value
Meat cut			
Ground vs Other *	8.8	2.8-28.9	<0.001
Country of origin†			
Canada vs Australia	3.8	0.7-21.6	0.13
New-Zealand vs Australia	12.3	3.1-49.1	<0.001
New-Zealand vs Canada	3.2	0.9-11.7	0.08

*All categories of meat cut except ‘Ground’ were combined for this analysis, because there was no significant differences in post-hoc pairwise comparisons.

† The category ‘Other’ was excluded of statistical analysis because it contained no positive

Figure 4. Description of the methodological process to determine *Toxoplasma gondii* status of lamb retail meat samples in this study

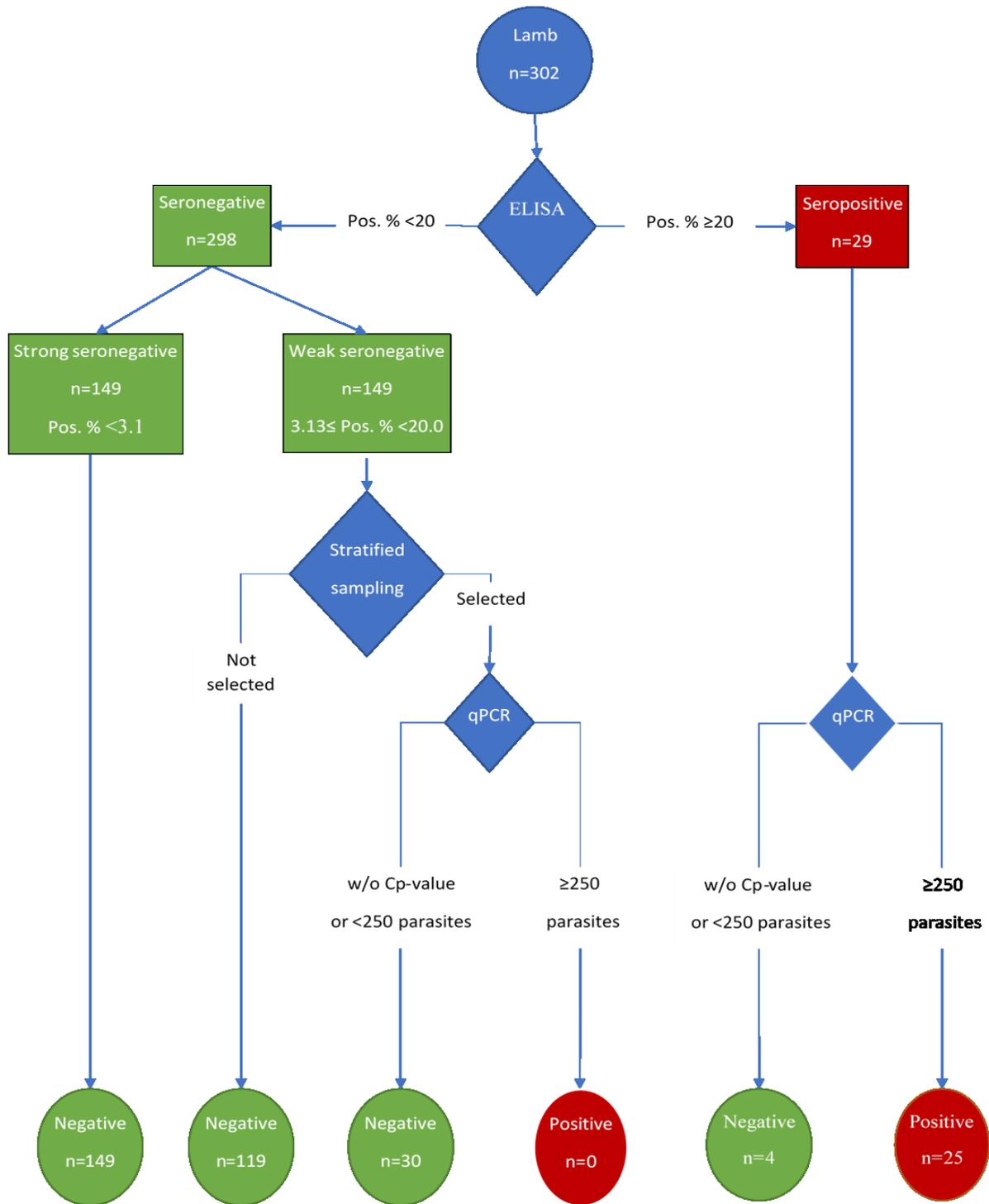


Figure 5. Description of the methodological process to determine *Toxoplasma gondii* status of pork retail meat samples.

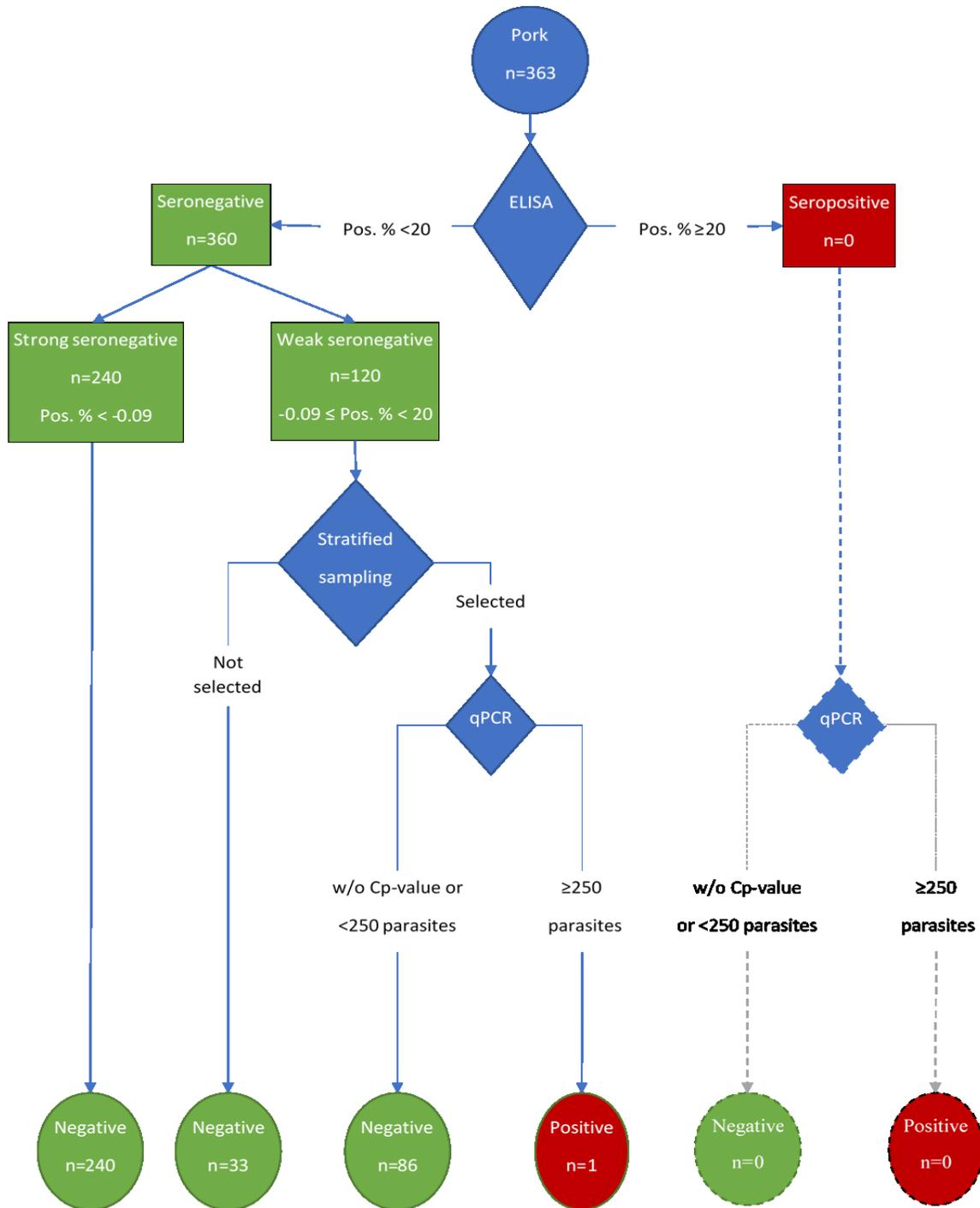
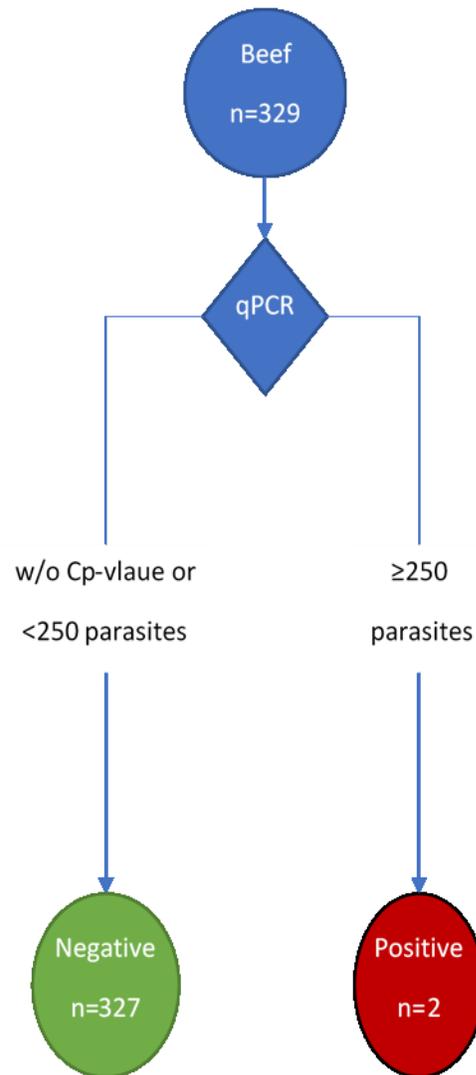


Figure 5 legend: Dashed lines represent planned but un-needed steps

Appendix Table 1 Oligonucleotide sequences of capture-oligonucleotides, primers and probes used in this study, adapted from Opsteegh et al., (2010).

Name	Sequence 5'-3'	5' label	3' label	Position
Tox-CapF	cttgagcca cagaaggac agaagtcgaa ggggactaca gacgcgatgc cgctctcca gccgtcttg	Biotin TEG	-	173–242
Tox-CapR	aagcctccga ctctgtctcc ctcgccctct tctccactct tcaattctct ccgccatcac cacgaggaaa	Biotin TEG	-	406–475
Tox-9F	aggagagata tcaggactgt ag	-	-	243–264
Tox-11R	gcgtcgtctc gtctagatcg	-	-	386–405
Tox-TP1	ccggcttggc tgcttttct	6-FAM	BHQ1	338–357

Appendix Figure 1. Description of the methodological process to determine *T. gondii* status of beef retail meat samples.



Technical Appendix 1. Detailed method for molecular detection of *Toxoplasma gondii* in retail meat

***T. gondii* DNA extraction by magnetic capture**

Preparation of crude DNA extract

After removing fat and connective tissues, 100g of meat sample were cut into small pieces (approximately 1x1x1 cm). Knives and cutting board were cleaned between each sample using hot water and soap, followed by DNAzap (Life Technologies). Meat was put into a stomacher bag with filter and cell lysis buffer containing 100 mM Tris HCl pH 8, 5 mM EDTA pH 8, 0,2% SDS, 200 mM NaCl, 40 mg/l proteinase K (36,3 U/mg; Wisent Bioproducts, St-Jean-Baptiste, Quebec, Canada) at 2,5 ml per gram of sample. The sample was homogenized in a stomacher for 2 minutes at high speed. The sample was incubated overnight at 55 °C in a water bath. After incubation, the samples were homogenized for 1 additional minute. Afterwards, 50 ml of homogenate was transferred to a 50-ml tube, and centrifuged for 45 min at 3500×g.

Removal of free biotin

Twelve milliliters of supernatant (crude extract) were transferred to a 15-ml polypropylene tube. This crude extract was incubated at 100 °C for 10 min to inactivate the proteinase K. Per sample, 50 µl of streptavidin sepharose (binding capacity 300 nmol/ml; GE Healthcare,) was washed 3 times in phosphate buffered saline (PBS). After cooling down the crude-extract samples to below 40 °C, the washed streptavidin-sepharose was added. The samples were incubated for 45 min at room temperature, while rotating at approximately 10 rpm, to allow for streptavidin–biotin binding. Afterwards, the tubes were centrifuged for 15 min at 3500×g, and 10 ml of biotin-free supernatant was transferred to a clean 15-ml polypropylene tube.

Sequence-specific magnetic capture

Ten picomoles of each oligonucleotide were added to each tube. The supernatants were heated at 95 °C for 15 min to denature all DNA. Then, the tubes were transferred to a water bath set at 55 °C, and left to allow for hybridization between capture oligonucleotides and *T. gondii* DNA for 45 min with manual decantation each 15 minutes. The tubes were left to cool down to room temperature while rotating. Per sample, 80 µl of M-270 Streptavidin Dynabeads (Termo Fisher

Scientific, Waltham, MA, USA) was washed in Binding & Washing (B&W) buffer (5 mM Tris HCl pH 7.5, 0.5 mM EDTA pH 8.0, 1 M NaCl) according to the manufacturer's instructions. The washed beads and 2 ml of 5 M NaCl were added to each supernatant sample and the samples were incubated rotating (10 rpm) at room temperature for 60 min. The complex of streptavidin bead and biotin-labelled capture-oligonucleotide with hybridized *T. gondii* DNA was isolated using a magnet support for 15 ml tubes (Promega PolyATract System 1000, Promega, Wisconsin, USA). The tube was placed in the magnet for 10 min on a shaking platform and supernatant was removed. The beads were washed twice in B&W buffer, and resuspended in 50 µl of distilled water in a 1.5-ml tube. The bead suspension was heated at 100 °C for 10 min to release *T. gondii* DNA from the beads. The tube was placed in the DynaMag-2 magnet (Termo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), and the supernatant was immediately transferred to a clean 1.5-ml tube. Beads were discarded. This last supernatant is the concentrated *T. gondii* DNA extraction that was stored at -20 °C for ulterior PCR amplification.

qPCR amplification

PCR amplification was performed using a LightCycler96 thermo-cycler instrument (Roche, Laval, Canada). All samples and controls were tested in duplicate. The 20 µl reaction mixture consisted of 10 µl 2x FastStart Essential DNA probes master mix (Roche, Basel, Switzerland), 0.7 µM of each primer (Tox-9F and Tox-11R), 0.1 µM of Tox-TP1, 1 µl of PCR-grade water and 8 µl of template (sample or quantification control) DNA. The reaction mixture was initially incubated at 95 °C for 10 minutes to activate FastStart DNA polymerase. Initial incubation was followed by 45 amplification cycles that consisted of a denaturation step at 95 °C for 10 s, an annealing step at 58 °C for 20 s, and an extension step at 72 °C for 20 s. Afterwards, the samples were cooled to 37 °C for 60 s. Fluorescence at 530nm (Tox TP-1) was measured at the end of each extension step. A standard curve made of previously extracted *T. gondii* (529-bp) DNA was included in each PCR run. The magnetic capture protocol was used to produce the standard curve by extracting DNA from negative pork meat spiked with a known number of tachyzoites. Five extractions, from 250 to 4000 parasites with a dilution factor of 2, were included in the standard curve. Cp-values, scores (positive/negative) and quantification data were determined by the LightCycler® 96 SW 1.1. The efficiency (> 85%) of the standard curve was verified for

each PCR run containing at least one positive sample to quantify. The error and R^2 was noted, but not considered as a criterion to discard the run. If a positive and/or negative control were not scored correctly, all samples were retested. Positive samples were visualized on agarose gel electrophoresis. The length of the fragment isolated (162 bp) and the specificity of the amplicon were verified. The amplicons of one positive sample of each commodity and a positive control were extracted on gel and submitted to a Sanger type sequencing to confirm their identity. Resulting sequences were trimmed at 120 bp and aligned with a reference 529-bp sequence (GenBank AF146527) using ClustalX.

References

- Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) Annual Report 2014. (2016). Retrieved from <http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/pubs-eng.php>
- Chevalier (2017, 21-04-2017). [Coordonnateur de la mise en marché à la Fédération des producteurs d'agneau du Québec].
- Cook, A., Gilbert, R., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P., . . . Holliman, R. (2000). Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study, Commentary: Congenital toxoplasmosis—further thought for food. *The British Medical Journal*, *321*(7254), 142-147.
- Crotta, M., Limon, G., Blake, D. P., & Guitian, J. (2016). Knowledge gaps in host-parasite interaction preclude accurate assessment of meat-borne exposure to *Toxoplasma gondii*. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.010
- Dempster, R. P., Wilkins, M., Green, R. S., & de Lisle, G. W. (2011). Serological survey of *Toxoplasma gondii* and *Campylobacter fetus fetus* in sheep from New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, *59*(4), 155-159. doi:10.1080/00480169.2011.579240
- Derouin, F., Bultel, C., & Roze, S. (2005). *Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation*. Retrieved from <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-Toxoplasmose.pdf>
- Dohoo, I. R., Martin, S. W., & Stryhn, H. (2009). *Veterinary epidemiologic research* (2nd ed.). Charlottetown, P.E.I.: VER, Inc.
- Dubey, J., & Jones, J. (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, *38*(11), 1257-1278.
- Dubey, J., Sundar, N., Hill, D., Velmurugan, G., Bandini, L., Kwok, O., . . . Su, C. (2008). High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. *International Journal for Parasitology*, *38*(8), 999-1006.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans*: CRC press.
- Dubey, J. P., Hill, D. E., Jones, J. L., Hightower, A. W., Kirkland, E., Roberts, J. M., . . . Gamble, H. R. (2005). Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *Journal of Parasitology*, *91*(5), 1082-1093. doi:dx.doi.org/10.1645/GE-683.1
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S., & Speer, C. A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, *11*(2), 267-299.
- Dumètre, A., Ajzenberg, D., Rozette, L., Mercier, A., & Dardé, M.-L. (2006). *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Veterinary Parasitology*, *142*(3-4), 376-379. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.005
- Glor, S. B., Edelhofer, R., Grimm, F., Deplazes, P., & Basso, W. (2013). Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in serum, plasma and meat juice from experimentally and naturally infected sheep. *Parasites & Vectors*, *6*, 85. doi:10.1186/1756-3305-6-85

- Government of Australia, The feral cats (*felis catus*). (2011). Commonwealth of Australia Retrieved from <https://www.environment.gov.au/system/files/resources/34ae02f7-9571-4223-beb0-13547688b07b/files/cat.pdf>.
- Guo, M., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Lambertini, E., Ying, Y., . . . Pradhan, A. K. (2015). Qualitative assessment for *Toxoplasma gondii* exposure risk associated with meat products in the United States. *Journal of Food Protection*, 78(12), 2207-2219. doi:10.4315/0362-028x.jfp-15-270
- Guo, M., Lambertini, E., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Gamble, H. R., . . . Pradhan, A. K. (2017). Quantifying the risk of human *Toxoplasma gondii* infection due to consumption of fresh pork in the United States. *Food Control*, 73, Part B, 1210-1222. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.038
- Guo, M., Mishra, A., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Gamble, H. R., & Pradhan, A. K. (2016). Quantifying the risk of human *Toxoplasma gondii* infection due to consumption of domestically produced lamb in the United States. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1181-1187. doi:10.4315/0362-028x.jfp-15-591
- Halos, L., Thébault, A., Aubert, D., Thomas, M., Perret, C., Geers, R., . . . Dardé, M.-L. (2010). An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *International Journal for Parasitology*, 40(2), 193-200.
- Hill, D., Haley, C., Wagner, B., Gamble, H., & Dubey, J. (2010). Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in the US swine herd using sera collected during the National Animal Health Monitoring Survey (Swine 2006). *Zoonoses and public health*, 57(1), 53-59.
- Jones, J. L., Dargelas, V., Roberts, J., Press, C., Remington, J. S., & Montoya, J. G. (2009). Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 878-884.
- Jones, J. L., & Dubey, J. (2012). Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, cis508. doi:10.1093/cid/cis508
- Kijlstra, A., & Petersen, E. (2014). Epidemiology, pathophysiology, and the future of ocular toxoplasmosis. *Ocular Immunology and Inflammation*, 22(2), 138-147. doi:dx.doi.org/10.3109/09273948.2013.823214
- Langham, N. P. E., & Charleston, W. A. G. (1990). An investigation of the potential for spread of *Sarcocystis spp.* and other parasites by feral cats. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 33(3), 429-435. doi:10.1080/00288233.1990.10428439
- Lélu, M., Villena, I., Dardé, M.-L., Aubert, D., Geers, R., Dupuis, E., . . . Dumètre, A. (2012). Quantitative estimation of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5127-5132.
- Lopes, A. P., Dubey, J. P., Neto, F., Rodrigues, A., Martins, T., Rodrigues, M., & Cardoso, L. (2013). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. *Veterinary Parasitology*, 193(1/3), 266-269.
- MAPAQ. (2014). *Monographie de l'industrie ovine du Québec*. Gouvernement du Québec.
- Marieke, O., Merel, L., Hein, S., Laurien, D. H., Stéphane, D. C., Gertie, B., . . . van, d. G. J. (2010). Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3), 193-201.

- Mie, T., Pointon, A. M., Hamilton, D. R., & Kiermeier, A. (2008). A qualitative assessment of *Toxoplasma gondii* risk in ready-to-eat smallgoods processing. *Journal of Food Protection*, 71(7), 1442-1452.
- Ontario Sheep Marketing Agency OSMA, Type of sheep farms. (2017). Retrieved from <http://www.ontariosheep.org/SHEEPPRODUCTIONINFO/ResourceLibrary.aspx>
- Opsteegh, M., Prickaerts, S., Frankena, K., & Evers, E. G. (2011). A quantitative microbial risk assessment for meatborne *Toxoplasma gondii* infection in The Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, 150(2/3), 103-114. doi:dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.022
- Opsteegh, M., Schares, G., Blaga, R., & van der Giessen, J. (2016). Experimental studies on *Toxoplasma gondii* in the main livestock species *EFSA Supporting Publications*, 13(2). doi:10.2903/sp.efsa.2016.EN-995
- Opsteegh, M., Teunis, P., Zuchner, L., Koets, A., Langelaar, M., & Giessen, J. v. d. (2011). Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. *International Journal for Parasitology*, 41(3/4), 343-354. doi:dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.10.006
- Patrick Buholzer, M. P., Pascal Schacher, Tina Haupt-Gerber, Adrian Hehl, Gereon Schares, Peter Deplazes, Alex J. Raeber. (2010). *Evaluation of the PrioCHECK® Toxoplasma AB Porcine ELISA for surveillance of Toxoplasma infections in pigs*. Communication presented at the AAVLD Annual Conference, Minneapolis, MN, USA.
- Poljak, Z., Dewey, C. E., Friendship, R. M., Martin, S. W., Christensen, J., Ojkic, D., . . . Chow, E. (2008). Pig and herd level prevalence of *Toxoplasma gondii* in Ontario finisher pigs in 2001, 2003, and 2004. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 72(4), 303-310.
- Reynolds, S., & Frame, J. (2005). *Grasslands: Developments, Opportunities, Perspectives* (T. Francis Ed.): Food & Agriculture Organization of the United Nations.
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M.-L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264-296.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., . . . Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States -major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7-15.
- Smith, H. (1991). Seroprevalence of anti-*Toxoplasma* IgG in Canadian swine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 55(4), 380.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2005). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(12), 1217-1258.
- Torgerson, P. R., Devleeschauwer, B., Praet, N., Speybroeck, N., Willingham, A. L., Kasuga, F., . . . de Silva, N. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: A data synthesis. *PLoS Medicine*, 12(12), e1001920. doi:10.1371/journal.pmed.1001920
- Waltner-Toews, D., Mondesire, R., & Menzies, P. (1991). The seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Ontario sheep flocks. *The Canadian Veterinary Journal*, 32(12), 734.
- Zia-Ali, N., Fazaeli, A., Khoramizadeh, M., Ajzenberg, D., Dardé, M., & Keshavarz-Valian, H. (2007). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from different hosts in Iran. *Parasitology Research*, 101(1), 111-115.

5. Discussion générale

5.1 Aspect innovateur

Les estimations de prévalence obtenues lors de cette étude sont pionnières sous plusieurs aspects. En effet, aucune étude n'avait encore évalué la quantité de parasites dans la viande de porc, de bœuf ou d'agneau vendue au détail ni au Canada, ni ailleurs dans le monde. Aucune étude n'avait même évalué la prévalence de *T. gondii* dans la viande d'agneau vendue au détail.

La méthode utilisée (MC-PCR) pour produire ces données est elle-même innovatrice, n'ayant jamais été utilisée auparavant en Amérique du Nord. Cette étude a d'ailleurs permis d'appuyer sa pertinence et son applicabilité dans le contexte d'un projet à grande échelle visant à détecter et quantifier l'ADN de *T. gondii* dans la viande. Cela pourrait ouvrir la voie pour d'autres équipes de recherche ayant pour but d'obtenir des données descriptives fiables. L'usage de cette méthode pour détecter et quantifier l'ADN de *T. gondii* est avantageuse comparativement à l'essai biologique, puisqu'elle est plus rapide, moins coûteuse et laborieuse, et n'implique pas l'utilisation d'animaux vivants.

À notre connaissance, aucune étude ne s'était penchée sur de potentiels facteurs de risque concernant la viande au détail elle-même. Des éléments d'information nouveaux sont donc fournis concernant le type de viande consommé au Canada le plus à risque de contenir *T. gondii*.

5.2 Interprétation des résultats

5.2.1 Statut à *T. gondii* vs présence de *T. gondii*

Compte tenu de notre démarche méthodologique particulière constituée d'un dépistage sérologique, suivi d'une confirmation moléculaire pour un sous-échantillon ciblé, il nous est paru plus exact de présenter nos résultats en termes de statut (positif ou négatif) à *T. gondii*. Il est pertinent de se demander si un statut positif équivaut à la présence de *T. gondii* dans la viande. Tel que défini dans notre article scientifique, pour qu'un échantillon ait un statut positif, une confirmation de la présence d'ADN de *T. gondii* était nécessaire. De plus, les tests PCR

réalisés chez un sous-ensemble d'échantillons négatifs à l'ELISA suggèrent fortement que le statut attribué à nos échantillons est concordant avec la présence de molécule de *T. gondii* dans la viande. Il est donc adéquat, selon nous, d'interpréter nos résultats en termes de présence de *T. gondii* dans la viande. Toutefois, il est important de garder en tête que la viabilité du parasite n'est pas définie dans ce statut.

5.2.2 Prévalence

Très peu de données concernant la prévalence de *T. gondii* dans la viande au détail sont disponibles dans le monde, ce qui limite les comparaisons possibles des données trouvées dans cette étude. En regard des résultats obtenus, le bœuf et le porc consommés au Canada semblent peu infectés par *T. gondii*. Cela n'est pas une découverte étonnante. En effet, le porc au Canada est généralement élevé sous haut niveau de confinement, ce qui minimise l'exposition des animaux à l'environnement et par le fait même, à *T. gondii*. Pour ce qui est du bœuf, sa résistance à l'enkystement du parasite est l'explication la plus plausible de la faible prévalence observée. Pour ces deux espèces, Dubey et al. (2005) ont émis des conclusions semblables concernant un vaste échantillon de viande vendue au détail aux États-Unis, ce qui est cohérent avec la prédominance de l'élevage industriel dans les deux pays. Aucune donnée n'est actuellement disponible pour mettre en reflet nos résultats de prévalence dans la viande d'agneau vendue au détail spécifiquement. Par contre, des infections expérimentales ont permis de démontrer la persistance de kystes tissulaires dans des muscles squelettiques d'ovins (Esteban-Redondo et al., 1999), ce qui du moins suggère que leur présence est probable.

L'espèce ovine, chez qui la prévalence est relativement élevée, fut identifiée comme étant un facteur de risque lié à la présence de *T. gondii* dans la viande au détail au Canada comparativement au bœuf et au porc. Ce résultat était attendu et pourrait être expliqué par un accès total ou partiel au pâturage et/ou à un contrôle moins serré de la circulation de chats dans les bâtiments de ferme. Ces facteurs augmenteraient la probabilité d'exposition des animaux à des oocystes de *T. gondii*. Aucune donnée n'est disponible à l'échelle nationale concernant la proportion de troupeaux d'agneau ayant accès à l'extérieur. Au Québec, il semblerait que la majorité des troupeaux ovins sont élevés en bergerie (selon Agneau du Québec) en raison du climat aride. En Ontario, le plus grand producteur d'agneau au Canada, il semblerait que le type

de production varie selon la préférence de l'éleveur selon *Food & Care Ontario* (2011). Aucune étude n'a porté directement sur la présence de félins dans les élevages ovins au Canada en relation avec le risque d'infection à *T. gondii* au sein du troupeau. Toutefois, dans le but d'identifier des facteurs de risque pour la fièvre Q (*Coxiella burnetii*) dans les fermes de petits ruminants Meadows et al. (2014) estimèrent à l'aide d'un questionnaire rempli par 72 producteurs ovins en Ontario, que dans 87,5% des fermes, des chats avaient accès à la bergerie. Au Québec, Turcotte et al. (2015) estimèrent que des chats étaient présents dans 73,9% des fermes ovines participant à son étude (portant également sur *Coxiella burnetii*). Ces données suggèrent que la présence de chats dans les élevages ovins au Canada est fréquente, ce qui pourrait contribuer à la transmission de *T. gondii* aux agneaux que l'on consomme.

La viande de volaille n'a pas été analysée dans cette étude, car la littérature scientifique suggère que cette espèce est exempte de *T. gondii* lorsqu'élevée en conditions industrielles et qu'elle représente peu de risque de transmission en raison de sa cuisson quasi-systématique en Amérique du Nord. Les autres espèces charcutières telles que le cheval, la chèvre, le canard et le lapin n'ont pas été évalués en raison de leur part négligeable dans la consommation de viande canadienne.

5.2.3 Facteurs de risque

La totalité des variables analysées lors de l'étude de facteurs de risque chez l'agneau étaient liées entre elles, ce qui faisait qu'une association statistiquement significative était parfois décelée entre une caractéristique et la présence de *T. gondii* sans que cette relation n'ait de lien biologique plausible. Par exemple, le fait que le paquet de viande puisse contenir de la viande congelée a été associé au statut positif à *T. gondii*. Sachant que la congélation n'a jamais été identifiée comme étant un processus qui exposait la viande à l'infection et qu'elle est même reconnue pour avoir un effet délétère sur le parasite, cette association n'avait aucun sens. Suite à l'exploration des données, l'explication suivante est apparue : les échantillons pouvant contenir de la viande congelée étaient constitués de beaucoup plus de viande hachée et de viande provenant de la Nouvelle-Zélande que les autres. Nous faisons donc face à un biais de confusion entre l'effet de nos variables. Nous nous sommes conséquemment basés sur la présence d'une explication biologique pour sélectionner les variables à inclure dans le modèle multivarié.

La viande d'agneau hachée s'étant révélée être plus à risque de contenir *T. gondii* que les autres coupes de viande, nous avons tenté d'en connaître davantage sur sa composition. Selon une communication personnelle (Chevalier, 2017), l'ensemble des acheteurs d'agneaux qui passent par la Fédération des producteurs d'agneau du Québec achètent les carcasses entières, qui sont ensuite débitées dans les boucheries ou les supermarchés. Les abattoirs provinciaux ne produisant donc pas de viande hachée comme telle, il est difficile de savoir d'où provient la viande hachée d'agneau et il ne semble pas y avoir de données disponibles à ce sujet. La réglementation sur les étiquettes de produit fait en sorte que s'il est indiqué « agneau haché », c'est de l'agneau (donc âgé de moins d'un an). Par contre, cela ne semble pas être vérifié et ce n'est pas impossible que de la viande de brebis se retrouve dans l'agneau haché. Tel que discuté dans l'article, nous considérons que la présence de viande d'animaux plus âgés est possible dans la viande hachée et pourrait expliquer en partie le facteur de risque observé dans notre étude.

5.2.4 Quantification

Pour ce qui est de l'aspect quantitatif, Opsteegh et al. (2011) ont estimé la quantité moyenne de bradyzoïtes par portion de viande aux Pays-Bas en se basant sur ses propres résultats (non-publiés) de MC-PCR sur des cœurs d'agneau. La quantité moyenne s'est avérée être d'environ 4000 parasites par portion d'agneau. Toujours par MC-PCR, Opsteegh et al. (2011). ont identifié, sur 100 cœurs bovins, deux échantillons contenant une très faible quantité de parasites, dont le nombre précis n'était malheureusement pas mentionné dans l'article Ces résultats, bien que produits à partir de cœurs et non de muscles périphériques, présentent une tendance similaire à celle trouvée dans notre étude, soit une charge parasitaire supérieure chez l'ovine que chez le bovin. Aucun comparatif n'est disponible chez le porc.

5.3 Limites de l'étude

5.3.1 Limites liées à l'échantillonnage

Les tailles d'échantillon élevées de ce projet ont permis d'atteindre des niveaux de précisions élevés. Il est toutefois important de noter que la taille de l'échantillon d'agneau s'est avérée plus petite que ce qui était prévu au départ selon nos calculs. Toutefois, la prévalence attendue incluse dans la formule était assez conservatrice dans le but de s'assurer d'avoir un nombre

d'échantillon (n) suffisant pour détecter une prévalence de près de 50%. La prévalence mesurée s'avérant être plus faible qu'attendue, il est raisonnable de penser que la précision de notre estimation de prévalence est peu affectée par l'échantillonnage plus limité. Les résultats démontrent que bien que l'on ait divisé l'échantillon par province, les intervalles de confiance obtenus sont très près de la précision désirée, à un moindre degré pour l'Ontario ayant un effectif plus modeste.

Toujours concernant l'agneau, un échantillonnage de convenance a été fait durant les 2 derniers mois et ce, uniquement au Québec. La sélection des magasins s'est fait selon le protocole, mais on a tenté de maximiser le nombre d'échantillons différents (marque, coupe, origine, etc) collectés par magasin. L'échantillon du Québec reste donc probablement représentatif de sa population source, mais se retrouve avec une probabilité d'échantillonnage différente des autres provinces. Si l'on avait combiné les prévalences de toutes les provinces, la haute prévalence au Québec combinée à la plus grande probabilité d'échantillonnage de cette province aurait probablement fait en sorte que l'on aurait surestimé la prévalence canadienne. La prévalence de *T. gondii* dans l'agneau a donc été calculée séparément pour chacune des provinces.

Pour ce qui est des prévalences estimées chez le porc et le bœuf, les cinq provinces ont été échantillonnées en respectant le protocole du PICRA durant toute la durée de l'étude, donc sont considérées représentatives de la consommation de viande de la population source. Une extrapolation de ces prévalences au Canada est justifiable sous plusieurs aspects. Premièrement, la population de ces cinq provinces totalisait près de 90% de la population canadienne en 2015 et 2016 selon Statistiques Canada. Deuxièmement, l'abattage du porc et du bœuf au Canada ne se fait pas nécessairement à proximité du lieu de production, ce qui fait que la viande produite dans une province peut très bien être vendue au consommateur dans une province voisine. Par exemple, 85% de la viande de bœuf consommée au Québec en 2012 provenait du commerce interprovincial (Herry, 2014).

Dans notre étude, tous les échantillons de bœuf étaient hachés, donc notre échantillon de bœuf pourrait ne pas être représentatif de toute la viande de bœuf vendue au Canada. Le bœuf haché est souvent constitué de tissus mis en commun à partir de bovins de réforme, plus âgés (donc avec une période d'exposition potentielle supérieure) et élevés dans un environnement plus

variable que les bovins de boucherie. Par conséquent, la prévalence que nous avons estimée dans le bœuf pourrait être surestimée.

La généralisation de ces résultats de prévalence à une population externe autre que la population canadienne est délicate. Pour pouvoir estimer la prévalence de *T. gondii* dans la viande au détail d'un autre pays à l'aide de ces résultats, il faudrait entre autres que les conditions d'élevage de l'espèce visée soit semblable, que les souches parasitaires présentes soient les mêmes, que le marché d'importation soit semblable, etc. Il est essentiel d'être conscient de ces limites lors de l'utilisation de ces données à des fins d'évaluation des risques dans d'autres pays occidentaux.

Finalement, il est important de mentionner que certaines voies de distribution de la viande au consommateur (restauration, vente de proximité, etc.) et sous-produits (charcuterie, prêt-à-manger, etc.) de viande n'ont pas été directement évaluées dans cette étude. Il suffirait de déterminer si cette part de la viande consommée au Canada provient des mêmes productions que la viande vendue au détail, pour savoir si nos résultats fournissent une approximation de la présence réelle du parasite dans ces produits. Malheureusement, cette information n'est pas facilement disponible et demanderait des recherches qui surpassent les objectifs de nos travaux. Il nous apparaît donc raisonnable de limiter notre interprétation des résultats à ce qui a été étudié, c'est-à-dire la viande au détail.

5.3.2 Limites techniques

En infection naturelle, le bradyzoïte est la forme parasitaire retrouvée dans les muscles. Nous ne croyons pas que l'utilisation de tachyzoïtes comme contrôles pour la détection et quantification ait altéré la sensibilité de la méthode. En fait, l'élément répétitif de 529 pb dans le génome de *T. gondii* est hautement conservé parmi les souches et entre les formes parasitaires. De plus, les kystes présents dans nos échantillons de viande au détail ont subi une lyse enzymatique, de sorte que les bradyzoïtes se retrouvent libres dans le digesta à partir duquel l'ADN sera extrait, tout comme les tachyzoïtes contrôle. Une analyse comparative préliminaire (Opsteegh et al., 2010) a même permis d'observer que la sensibilité de la méthode MC-PCR semble avoir une sensibilité comparable à celle du bio-essai, qui lui se base sur la détection de bradyzoïtes en condition naturelle d'infection.

La méthode de quantification telle qu'appliquée dans notre projet comportait certaines limites en termes de précision. En fait, la plupart des échantillons d'agneaux étaient en dehors de notre courbe standard ce qui fait qu'ils n'ont pu se voir attribué qu'une information quantitative générale, soit plus de 4000 parasites. L'analyse quantitative absolue par qPCR elle-même a produit des marges d'erreurs notables, ce qui pourrait être dû à la très faible quantité d'ADN extraite à partir d'une matrice complexe. La mise au point de cette méthode ou l'élaboration d'une technique plus précise employant un appareil hautement sensible (ex. ddPCR) pourrait avoir un intérêt en particulier pour les échantillons avec un petit nombre de parasites. Cependant, le besoin de données de quantification très précises devrait être mis en perspective considérant les connaissances actuelles limitées (décrites précédemment) concernant la dose infectieuse minimale de *T. gondii* chez l'humain. Il nous apparaît vain de fournir des efforts en ce sens alors que l'applicabilité des données obtenues ne se verrait pas nécessairement améliorée.

5.4 Directions futures

5.4.1 Évaluation du risque d'exposition humaine par la consommation de viande

Les prévalences estimées lors de cette étude incitent à se demander s'il serait pertinent de procéder à une analyse quantitative du risque d'infection humaine par la consommation de ces viandes au Canada. À première vue, il semble clair que l'évaluation du risque lié à l'agneau est prioritaire puisque la prévalence chez cette espèce est plus élevée. Il est toutefois primordial de tenir compte de la consommation relative de chacune de ces viandes au Canada. La viande la plus populaire en 2011 était la volaille avec 42% de la consommation canadienne, suivie par le bœuf (incluant le veau) avec 33%, le porc avec 24% et l'agneau avec 1% (MAPAQ, 2014). Si on se fie à ces statistiques, il semble logique de vouloir prioriser l'évaluation du risque lié au bœuf et au porc, puisque les canadiens en consomment davantage. Pour départager, il est pertinent de considérer le volume de viande consommé par personne, qui est une donnée plus concrète. Le nombre de portions contenant *T. gondii* consommé en 2015 par un canadien a été estimée (annexe 1) et suggère que la plus grande quantité de viande contaminée consommée est

le bœuf, suivi par le porc et finalement l'agneau. Ces données représentent une estimation de l'exposition brute des canadiens annuellement, mais il est important de préciser qu'un élément crucial reste inconnu pour pouvoir évaluer l'exposition réelle, soit la viabilité des parasites présents dans la viande au moment de la consommation. En regard de ces estimations, il apparaît pertinent de procéder à une analyse quantitative du risque le plus exhaustivement possible pour les trois types de viandes.

Plusieurs éléments devront être considérés si de telles analyses du risque sont entreprises. En voici les principaux : la fréquence de consommation des différentes coupes de viande, la viabilité des parasites au moment de l'ingestion (en lien avec les habitudes de cuisson, la survie du parasite à travers la chaîne de production) et la relation dose-réponse de *T. gondii* chez l'humain. Ce dernier englobe plusieurs facteurs tels que la souche parasitaire trouvée dans la viande au Canada, l'immunité de la population et ses caractéristiques sociodémographiques.

Plusieurs éléments parmi cette liste ne sont pas décrits au Canada. À défaut d'investigations les concernant, de futurs modèles quantitatifs d'évaluation du risque comprendraient de nombreuses suppositions et simplifications qui affecteraient leur validité et précision. Ce projet de maîtrise fournit non seulement les données les plus près de données d'exposition jamais produites au Canada, mais contribue également à de futures études sur le plan technique. En effet, les échantillons conservés et la méthode MC-PCR utilisée pourraient servir à un éventuel génotypage des parasites détectés. Cette analyse était d'ailleurs comprise dans les objectifs initiaux du projet, mais a dû être retirée par respect des échéances alloués. Le gène GRA6 peut être extrait et amplifié par MC-PCR. Son polymorphisme permet de distinguer les trois principaux génotypes de *T. gondii*. Pour la viande provenant du Canada, le résultat risquerait d'être assez uniformément de type II et III, selon ce qui a été identifié jusqu'à maintenant chez les animaux de production et chez l'humain en Amérique du Nord. Considérant cette homogénéité attendue au niveau du type génétique de *T. gondii* chez les animaux de production au Canada, une technique ayant une plus grande profondeur d'analyse devrait être envisagée pour vraiment lier le profil génomique de *T. gondii* chez les animaux de production à celui chez l'humain. L'exercice de la MC-PCR sur le gène GRA6 risquerait d'être plus informatif concernant la viande en provenance de Nouvelle-Zélande, de par sa localisation géographique éloignée, son climat distinct et sa structure phylogéographique originale (Wallis et al., 2009).

La structure populationnelle de *T. gondii* en Nouvelle-Zélande n'a jamais été décrite et pourrait potentiellement expliquer pourquoi les agneaux y étant élevés sont plus à risque d'arborer des kystes parasites dans leurs tissus que ceux élevés au Canada.

La seule méthode permettant d'évaluer la viabilité de *T. gondii* dans la viande est le bio-essai sur le chat ou la souris. Une RT-PCR sur acide ribonucléique messager (ARNm) parasite pourrait en théorie être développée, mais présente de nombreux obstacles techniques, entre autres pour la préservation de l'ARNm. La viabilité pourrait également être évaluée à l'aide d'un modèle mathématique qui estimerait la probabilité de survie du parasite à chaque étape de la chaîne de production, de la ferme à l'assiette, en se basant sur la littérature scientifique. Cela a d'ailleurs été partiellement complété dans des études antérieures (Miao Guo et al., 2016; M. Opsteegh et al., 2011).

5.4.2 Doit-on ajuster le modèle de l'ACIA?

À la lumière des résultats obtenus dans cette étude, il serait injustifié de recommander des modifications immédiates au modèle utilisé par l'ACIA pour évaluer les risques alimentaires. Une évaluation quantitative du risque basée sur les données de prévalences mesurées dans cette étude permettrait de fournir des données d'attribution de la toxoplasmose au Canada parmi les types de viandes. Le fait de comparer celles-ci avec les données utilisées dans le modèle ERE (communication personnelle avec l'ASPC) serait intéressant et pourrait permettre de poser un jugement sur quelle source d'entre les deux représente le mieux la réalité canadienne. L'avantage certain des données fournies par cette étude réside dans le fait qu'elles sont tirées directement de la matrice concernée, soit la viande vendue au détail au Canada. La méthodologie derrière les données fournies par l'ASPC n'est pas publiée, donc n'est pas disponible pour en débattre dans ce mémoire.

La viande d'agneau hachée et/ou provenant de Nouvelle-Zélande ont été identifiés comme des facteurs de risque liés à la présence de *T. gondii*. Cela suggère qu'un risque initial plus élevé devrait être attribué aux établissements qui traitent ce type de viande. Cela ne veut pas nécessairement dire que le risque final attribué à cet établissement sera accru, car certaines mesures telles que la congélation peuvent amenuiser le risque que représente le parasite. La grande majorité de l'agneau importé au Canada en provenance de la Nouvelle-Zélande est

constituée de pièces de viande et a donc été transformée (MAPAQ, 2014). Il serait intéressant d'en savoir davantage sur la façon dont cette viande est transformée avant son arrivée au Canada afin d'évaluer si le risque de contenir des parasites viables peut être amplifié et/ou atténué.

5.4.3 Investigation d'autres sources potentielles de *T. gondii*

L'estimation de la quantité de viande contaminée consommée par année peut sembler inquiétante, surtout considérant que l'infection peut rester dormante durant plusieurs années avant de créer des symptômes. Toutefois, le nombre de portions de viande contaminée par des parasites vivants au moment de l'ingestion est sans doute moindre, car ceux-ci sont souvent tués soit par la congélation ou la cuisson domestique. Il est possible que la consommation de viande crue ou insuffisamment cuite ne représente pas la principale source d'infection au pays. Il serait important d'estimer la séroprévalence de la population générale, mais surtout l'occurrence de toxoplasmose clinique chez les canadiens pour pouvoir évaluer l'étendue de cette maladie, et par le fait même, la part de responsabilité que la viande, et même que les aliments en général, peuvent assumer statistiquement. L'investigation de sources alternatives de transmission de *T. gondii*, en commençant par celles décrites ci-après, m'apparaît pertinente considérant les résultats obtenus.

L'eau est une source de *T. gondii* dont on connaît très peu l'impact au Canada et ailleurs dans le monde. Elle a été liée à de nombreuses éclosions, dont une en Colombie-Britannique en 1995 (Bowie et al., 1997). La consommation d'eau potable et l'ingestion accidentelle d'eau récréative sont des voies impliquées dans la transmission à l'humain. Les aliments végétaux frais, tels que les fruits et les légumes, sont aussi une source potentielle de *T. gondii* dont on connaît très mal l'étendue et l'impact. À ma connaissance, aucune étude épidémiologique n'a encore décelé de cas lié à la consommation de fruits et/ou de légumes. L'étude de ces sources alternatives comporte des obstacles techniques importants, car aucune méthode n'est standardisée pour détecter les oocystes de *T. gondii* dans l'environnement. Le principal enjeu concernant ces matrices consiste en la présence d'une grande concentration de matériel inhibiteur combiné à une faible concentration d'ADN de *T. gondii* (Jones et al., 2010). L'extraction d'ADN par capture magnétique pourrait être une méthode prometteuse de par sa capacité à concentrer et à isoler l'ADN cible.

6. Conclusion

Ces travaux constituent une première étape dans l'évaluation de l'exposition humaine à *T. gondii* par la consommation de viande au Canada. En effet, nous avons pu décrire et même caractériser la présence du parasite dans la viande au détail vendue au Canada sous plusieurs aspects. Les principales conclusions tirées de nos travaux sont :

- Une infime proportion (< 1%) de la viande de porc et de bœuf vendue au Canada est contaminée par *T. gondii*.
- Entre 4,3 % et 11,1% de la viande d'agneau est contaminée par *T. gondii* selon la province de vente.
- La viande hachée comparée aux autres coupes de viande d'agneau est plus à risque de contenir *T. gondii*.
- L'origine néo-zélandaise de la viande d'agneau par rapport à l'origine australienne a été identifiée comme un facteur de risque pour le statut positif de *T. gondii*. Une tendance statistique a été trouvée pour l'origine néo-zélandaise de l'agneau comme facteur de risque par rapport à la viande canadienne.
- Lorsque détecté dans une portion d'agneau, *T. gondii* semble présent en quantité suffisante pour infecter l'humain (> 4000 parasites).
- La popularité de la viande de bœuf et de porc auprès des canadiens étant élevée, il semblerait que davantage de portions de ces viandes contenant *T. gondii* (viable ou non) soient consommées annuellement comparativement à la viande d'agneau.
- Une évaluation quantitative du risque de toxoplasmose par la consommation de viande au Canada serait pertinente pour chacune des denrées étudiées dans le but de préciser et/ou valider les données utilisées par le modèle ERE de l'ACIA.

Bibliographie

- ACIA. (2016a, 2013-07-02). Base de données de référence pour l'identification des dangers. Récupéré à partir de <http://active.inspection.gc.ca/rdhi-bdrid/francais/rdhi-bdrid/introf.aspx?i=5>
- ACIA. (2016b, 2015-11-16). Modèle amélioré d'inspection des aliments, 3. Surveillance axée sur les risques. Récupéré à partir de <http://www.inspection.gc.ca/au-sujet-de-l-acia/responsabilisation/modernisation-de-l-inspection/modele-definitif/fra/1372168382925/1372178578738?chap=5#archived>
- Agriculture Canada. (2016). *Consommation de viande et protéine animale*. Gouvernement du Canada Récupéré à partir de <http://www.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/statistiques-et-information-sur-les-marches/par-produit-secteur/secteur-des-viandes-rouges-et-betail/information-sur-le-marche-des-viandes-rouges/consommation-de-viande-et-proteine-animale/?id=1415860000022>.
- Ajioka, J. W., & Soldati, D. (2007). *Toxoplasma: Molecular and Cellular Biology*: Horizon Bioscience.
- Ajzenberg, D., Bañuls, A. L., Su, C., Dumètre, A., Demar, M., Carme, B., & Dardé, M. L. (2004). Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, 34(10), 1185-1196. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.06.007>
- Aldebert, D., Hypolite, M., Cavailles, P., Touquet, B., Flori, P., Loeuillet, C., & Cesbron-Delauw, M. F. (2011). Development of high-throughput methods to quantify cysts of *Toxoplasma gondii*. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*, 79(11), 952-958. doi:10.1002/cyto.a.21138
- Assadi-Rad, A., New, J. C., & Patton, S. (1995). Risk factors associated with transmission of *Toxoplasma gondii* to sows kept in different management systems in Tennessee. *Veterinary Parasitology*, 57(4), 289-297.
- Bahia-Oliveira, L. M. G., Jones, J. L., Azevedo-Silva, J., Alves, C. C., Oréface, F., & Addiss, D. G. (2003). Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 9(1), 55.
- Balasundaram, M. B., Andavar, R., Palaniswamy, M., & Venkatapathy, N. (2010). Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Archives of Ophthalmology*, 128(1), 28-32.
- Barragan, A., & Hitziger, N. (2008). Transepithelial migration by *Toxoplasma* *Molecular Mechanisms of Parasite Invasion* (pp. 198-207): Springer.
- Beaver, P. C., Jung, R. C., Cupp, E. W., & Craig, C. F. (1984). *Clinical parasitology*: Lea & Febiger Philadelphia.
- Belleste, B., Flori, P., Hafid, J., Raberin, H., & Tran Manh Sung, R. (2003). Influence of the quantity of nonspecific DNA and repeated freezing and thawing of samples on the quantification of DNA by the Light Cycler®. *Journal of Microbiological Methods*, 55(1), 213-219. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012\(03\)00141-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012(03)00141-6)

- Belluco, S., Mancin, M., Conficoni, D., Simonato, G., Pietrobelli, M., & Ricci, A. (2016). Investigating the Determinants of *Toxoplasma gondii* Prevalence in Meat: A Systematic Review and Meta-Regression. *PloS One*, *11*(4), e0153856. doi:10.1371/journal.pone.0153856
- Bierly, A. L., Shufesky, W. J., Sukhumavasi, W., Morelli, A. E., & Denkers, E. Y. (2008). Dendritic cells expressing plasmacytoid marker PDCA-1 are Trojan horses during *Toxoplasma gondii* infection. *The Journal of Immunology*, *181*(12), 8485-8491.
- Boothroyd, J. C., & Dubremetz, J.-F. (2008). Kiss and spit: the dual roles of *Toxoplasma* rhoptries. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(1), 79-88.
- Boughattas, S., Ayari, K., Sa, T., Aoun, K., & Bouratbine, A. (2014). Survey of the parasite *Toxoplasma gondii* in human consumed ovine meat in Tunis City. *PloS One*, *9*(1), e85044. doi:10.1371/journal.pone.0085044
- Bowie, W. R., King, A. S., Werker, D. H., Isaac-Renton, J. L., Bell, A., Eng, S. B., & Marion, S. A. (1997). Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *The Lancet*, *350*(9072), 173-177.
- Boyer, K., Hill, D., Mui, E., Wroblewski, K., Karrison, T., Dubey, J. P., . . . McLeod, R. (2011). Unrecognized ingestion of *Toxoplasma gondii* oocysts leads to congenital toxoplasmosis and causes epidemics in North America. *Clinical Infectious Diseases*, *53*(11), 1081-1089. doi:dx.doi.org/10.1093/cid/cir667
- Butler, A. J., Thomas, M. K., & Pintar, K. D. (2015). Expert elicitation as a means to attribute 28 enteric pathogens to foodborne, waterborne, animal contact, and person-to-person transmission routes in Canada. *Foodborne Pathogens and Disease*, *12*(4), 335-344. doi:10.1089/fpd.2014.1856
- Buxton, D., Thomson, K., Maley, S., Wright, S., & Bos, H. (1991). Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenge when pregnant. *The Veterinary Record*, *129*(5), 89-93.
- Carne, B., Bissuel, F., Ajzenberg, D., Bouyne, R., Aznar, C., Demar, M., . . . Peneau, C. (2002). Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(11), 4037-4044.
- Carolyn Dimitri, C. G. (2002). *Recent Growth Patterns in the U.S. Organic Foods Market* (Bulletin Number 777). Récupéré à partir de https://www.ers.usda.gov/webdocs/publications/42455/12915_aib777_1_.pdf?v=41055
- Carter, C. (2013). Toxoplasmosis and polygenic disease susceptibility genes: extensive *Toxoplasma gondii* host/pathogen interactome enrichment in nine psychiatric or neurological disorders. *Journal of Pathogens*, *2013*.
- Castano, P., Fuertes, M., Ferre, I., Fernandez, M., Ferreras, M. C., Moreno-Gonzalo, J., . . . Benavides, J. (2014). Placental thrombosis in acute phase abortions during experimental *Toxoplasma gondii* infection in sheep. *Veterinary Research*, *45*(9).
- Chevalier (2017, 21-04-2017). [Coordonnateur de la mise en marché à la Fédération des producteurs d'agneau du Québec].
- Conrad, P., Miller, M., Kreuder, C., James, E., Mazet, J., Dabritz, H., . . . Grigg, M. (2005). Transmission of *Toxoplasma*: Clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. *International Journal for Parasitology*, *35*(11), 1155-1168.

- Cook, A., Gilbert, R., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P., . . . Holliman, R. (2000). Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study, Commentary: Congenital toxoplasmosis—further thought for food. *The British Medical Journal*, 321(7254), 142-147.
- Cornu, C., Bissery, A., Malbos, C., Garwig, R., Cocherel, C., Ecochard, R., . . . Wallon, M. (2009). Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: an experience with toxoplasmosis screening in France. *Euro surveillance : bulletin européen sur les maladies transmissibles*, 14(9), 21-25.
- Cortina-Borja, M., Tan, H. K., Wallon, M., Paul, M., Prusa, A., Buffolano, W., . . . Petersen, E. (2010). Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study. *PLoS Medicine*, 7(10), 1274.
- Crotta, M., Limon, G., Blake, D. P., & Guitian, J. (2016). Knowledge gaps in host-parasite interaction preclude accurate assessment of meat-borne exposure to *Toxoplasma gondii*. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.010
- da Silva, D. S., Bahia-Oliveira, L. M., Shen, S. K., Kwok, O. C., Lehman, T., & Dubey, J. P. (2003). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *Journal of Parasitology*, 89(2), 394-396. doi:10.1645/0022-3395(2003)089[0394:potgic]2.0.co;2
- Dardé, M. L. (2008). *Toxoplasma gondii*, “new” genotypes and virulence. *Parasite Journal*, 15(3), 366-371.
- Darde, M. L., Bouteille, B., & Pestre-Alexandre, M. (1988). Isoenzymic characterization of seven strains of *Toxoplasma gondii* by isoelectrofocusing in polyacrylamide gels. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39(6), 551-558.
- Darde, M. L., Bouteille, B., & Pestre-Alexandre, M. (1992). Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *Journal of Parasitology*, 78(5), 786-794.
- Derouin, F., Bultel, C., & Roze, S. (2005). *Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation*. Récupéré à partir de <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-Toxoplasmose.pdf>
- Desmonts, G., & Remington, J. S. (1980). Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *Journal of Clinical Microbiology*, 11(6), 562-568.
- Di Mario, S., Basevi, V., Gagliotti, C., Spettoli, D., Gori, G., D'Amico, R., & Magrini, N. (2013). Prenatal education for congenital toxoplasmosis. *Cochrane Database Systematic Reviews*(2), Cd006171. doi:10.1002/14651858.CD006171.pub3
- Diderrich, V., New, J. C., Noblet, G. P., & Patton, S. (1996). Serologic survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in free-ranging wild hogs (*Sus scrofa*) from the Great Smoky Mountains National Park and from sites in South Carolina. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 43(5), 122s.
- dos Santos, T. R., Nunes, C. M., Luvizotto, M. C., de Moura, A. B., Lopes, W. D., da Costa, A. J., & Bresciani, K. D. (2010). Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2), 53-57. doi:10.1016/j.vetpar.2010.02.045

- Dubey, J. (1988). Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *American Journal of Veterinary Research*, 49(6), 910-913.
- Dubey, J. (1995). Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *The Journal of Parasitology*, 410-415.
- Dubey, J. (1996). Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *The Journal of Parasitology*, 957-961.
- Dubey, J. (1998). *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *The Journal of Parasitology*, 862-865.
- Dubey, J. (2001). Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. *Journal of Parasitology*, 87(1), 215-219.
- Dubey, J. (2002). Tachyzoite-induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. *Journal of Parasitology*, 88(4), 713-717.
- Dubey, J. (2005). Unexpected oocyst shedding by cats fed *Toxoplasma gondii* tachyzoites: In vivo stage conversion and strain variation. *Veterinary Parasitology*, 133(4), 289-298.
- Dubey, J. (2006). Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. *Veterinary Parasitology*, 140(1), 69-75.
- Dubey, J. (2010). *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health*, 57(1), 60-73.
- Dubey, J., Cortes-Vecino, J., Vargas-Duarte, J., Sundar, N., Velmurugan, G., Bandini, L., . . . Kwok, O. (2007). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Veterinary Parasitology*, 145(1), 45-50.
- Dubey, J., Desmonts, G., McDonald, C., & Walls, K. (1985). Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma gondii*: Comparison of Sabin-Feldman dye test and other agglutination tests. *American Journal of Veterinary Research*, 46(5), 1085-1088.
- Dubey, J., & Frenkel, J. (1972). Cyst-Induced toxoplasmosis in cats. *The Journal of protozoology*, 19(1), 155-177.
- Dubey, J., & Frenkel, J. (1976). Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *The Journal of protozoology*, 23(4), 537-546.
- Dubey, J., Hoover, E., & Walls, K. (1977). Effect of age and sex on the acquisition of immunity to toxoplasmosis in cats. *The Journal of protozoology*, 24(1), 184-186.
- Dubey, J., & Jones, J. (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 38(11), 1257-1278.
- Dubey, J., Kotula, A., Sharar, A., Andrews, C., & Lindsay, D. (1990). Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *The Journal of Parasitology*, 201-204.
- Dubey, J., Lindsay, D., & Speer, C. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2), 267-299.
- Dubey, J., Lunney, J., Shen, S., Kwok, O., Ashford, D., & Thulliez, P. (1996). Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *The Journal of Parasitology*, 438-443.

- Dubey, J., Rajapakse, R., Wijesundera, R., Sundar, N., Velmurugan, G., Kwok, O., & Su, C. (2007). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Sri Lanka and genetic characterization of the parasite isolates. *Veterinary Parasitology*, *146*(3), 341-346.
- Dubey, J., Rajendran, C., Ferreira, L., Martins, J., Kwok, O., Hill, D., . . . Jones, J. (2011). High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. *International Journal for Parasitology*, *41*(8), 827-833.
- Dubey, J., Speer, C., Shen, S., Kwok, O., & Blixt, J. (1997). Oocyst-induced murine toxoplasmosis: Life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *The Journal of Parasitology*, *83*(5), 870-882.
- Dubey, J., Sundar, N., Hill, D., Velmurugan, G., Bandini, L., Kwok, O., . . . Su, C. (2008). High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. *International Journal for Parasitology*, *38*(8), 999-1006.
- Dubey, J., & Thulliez, P. (1993). Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *American Journal of Veterinary Research*, *54*(2), 270-273.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health*, *57*(1), 60-73. doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans*: CRC press.
- Dubey, J. P. (2011). Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In O. Oxford (Ed.), *Oxford Textbook of Zoonoses: Biology, Clinical Practice, and Public Health Control* (2nd edition ed.): Oxford University Press.
- Dubey, J. P., Hill, D. E., Jones, J. L., Hightower, A. W., Kirkland, E., Roberts, J. M., . . . Gamble, H. R. (2005). Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *Journal of Parasitology*, *91*(5), 1082-1093. doi:dx.doi.org/10.1645/GE-683.1
- Dubey, J. P., Humphreys, J. G., & Thulliez, P. (1995). Prevalence of Viable *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts and Antibodies to *T. gondii* by Various Serologic Tests in Black Bears (*Ursus americanus*) from Pennsylvania. *The Journal of Parasitology*, *81*(1), 109-112. doi:10.2307/3284018
- Dubey, J. P., Patitucci, A. N., Su, C., Sundar, N., Kwok, O. C., & Shen, S. K. (2006). Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America. *Veterinary Parasitology*, *140*(1-2), 76-82. doi:10.1016/j.vetpar.2006.03.023
- Dubey, J. P., Thulliez, P., Weigel, R. M., Andrews, C. D., Lind, P., & Powell, E. C. (1995). Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *American Journal of Veterinary Research*, *56*(8), 1030-1036.
- Dubey, J. P., Velmurugan, G. V., Rajendran, C., Yabsley, M. J., Thomas, N. J., Beckmen, K. B., . . . Su, C. (2011). Genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* in wildlife from North America revealed widespread and high prevalence of the fourth clonal type. *International Journal for Parasitology*, *41*(11), 1139-1147. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.06.005>

- Dubremetz, J. F., Garcia-Reguet, N., Conseil, V., & Fourmaux, M. N. (1998). Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa. *International Journal for Parasitology*, 28(7), 1007-1013.
- Dumas, C. R. (2017). Organic food sales jump 8.4 percent in 2016 [Press release]. Retrieved from <http://www.capitalpress.com/Organic/20170702/organic-food-sales-jump-84-percent-in-2016>
- Dumètre, A., Ajzenberg, D., Rozette, L., Mercier, A., & Dardé, M.-L. (2006). *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Veterinary Parasitology*, 142(3-4), 376-379. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.005>
- Dunn, D., Wallon, M., Peyron, F., Petersen, E., Peckham, C., & Gilbert, R. (1999). Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *The Lancet*, 353(9167), 1829-1833.
- Eckert, J. (1996). Workshop summary: food safety: meat-and fish-borne zoonoses. *Veterinary Parasitology*, 64(1), 143-147. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017\(96\)00981-8](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017(96)00981-8)
- EFSA. (2011). Technical specifications on harmonised epidemiological indicators for public health hazards to be covered by meat inspection of swine. *EFSA Journal*, 9(10).
- Elbez-Rubinstein, A., Ajzenberg, D., Dardé, M.-L., Cohen, R., Dumètre, A., Yera, H., . . . Thulliez, P. (2009). Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *Journal of Infectious Diseases*, 199(2), 280-285.
- Esch, K. J., & Petersen, C. A. (2013). Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 58-85. doi:10.1128/cmr.00067-12
- Eskild, A., & Magnus, P. (2001). Commentary: Little evidence of effective prenatal treatment against congenital toxoplasmosis-the implications for testing in pregnancy. *International Journal of Epidemiology*, 30(6), 1314-1315.
- Esteban-Redondo, I., Maley, S. W., Thomson, K., Nicoll, S., Wright, S., Buxton, D., & Innes, E. A. (1999). Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. *Veterinary Parasitology*, 86(3), 155-171.
- European Food Safety, A. (2007). Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals - scientific opinion of the panel on biological hazards. *EFSA Journal*, 5(12), 583-n/a. doi:10.2903/j.efsa.2007.583
- Farm & Food Care Ontario. (2011). Facts and figures about Canadian sheep.
- Figueredo, L. A., Dantas-Torres, F., de Faria, E. B., Gondim, L. F. P., Simões-Mattos, L., Brandão-Filho, S. P., & Mota, R. A. (2008). Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, 157(1), 9-13.
- Flegr, J., Prandota, J., Sovičková, M., & Israili, Z. H. (2014). Toxoplasmosis—A global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. *PloS One*, 9(3), e90203.
- Foudrinier, F., Villena, I., Jaussaud, R., Aubert, D., Chemla, C., Martinot, F., & Pinon, J. M. (2003). Clinical value of specific immunoglobulin E detection by enzyme-linked immunosorbent assay in cases of acquired and congenital toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1681-1686. doi:10.1128/JCM.41.4.1681-1686.2003

- Foulon, W., Naessens, A., & Derde, M. P. (1994). Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *American Journal of Perinatology*, 11(1), 57-62. doi:10.1055/s-2007-994537
- Frenkel, J., Dubey, J., & Miller, N. (1970). *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*, 167(3919), 893-896.
- Frenkel, J., & Smith, D. D. (1982). Immunization of cats against shedding of *Toxoplasma* oocysts. *The Journal of Parasitology*, 744-748.
- Freyre, A., Dubey, J., Smith, D., & Frenkel, J. (1989). Oocyst-induced *Toxoplasma gondii* infections in cats. *The Journal of Parasitology*, 750-755.
- Gamble, H. R., Dubey, J. P., & Lambillotte, D. N. (2005a). Comparison of a commercial ELISA with the modified agglutination test for detection of *Toxoplasma* infection in the domestic pig. *Veterinary Parasitology*, 128(3), 177-181. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.019>
- Gamble, H. R., Dubey, J. P., & Lambillotte, D. N. (2005b). Comparison of a commercial ELISA with the modified agglutination test for detection of *Toxoplasma* infection in the domestic pig. *Veterinary Parasitology*, 128(3-4), 177-181. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.019>
- Garcia JL, I. E., Katzer F. (2014). Current progress toward vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Vaccine: Development and Therapy, Dove Press Journal*, 2014 (4), 23-37. doi:<https://dx.doi.org/10.2147/VDT.S57474>
- Gavinet, M., Robert, F., Firtion, G., Delouvrier, E., Hennequin, C., Maurin, J., . . . Dupouy-Camet, J. (1997). Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(5), 1276-1277.
- Ginsbourger, M., Guinard, A., Villena, I., King, L. A., El-Eid, N., & Schwoebel, V. (2012). Collective outbreak of food poisoning due to *Toxoplasma gondii* associated with the consumption of lamb meat, Aveyron (France), November 2010. *Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire*, 16(17), 195-197.
- Glor, S. B., Edelhofer, R., Grimm, F., Deplazes, P., & Basso, W. (2013). Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in serum, plasma and meat juice from experimentally and naturally infected sheep. *Parasites & Vectors*, 6, 85. doi:10.1186/1756-3305-6-85
- Gollub, E. L., Leroy, V., Gilbert, R., Chene, G., & Wallon, M. (2008). Effectiveness of health education on *Toxoplasma*-related knowledge, behaviour, and risk of seroconversion in pregnancy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 136(2), 137-145.
- Gouvernement du Canada. (2004, 2004/07/15). Section des incidents transfusionnels (IT). Récupéré à partir
- Gouvernement du Canada. (2015, 2015-05-07). Tableau des températures sécuritaires de cuisson interne. Récupéré à partir de <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/conseils-generaux-salubrite/tableau-temperatures-securitaires-cuisson-interne.html>
- Gras, L., Gilbert, R. E., Wallon, M., Peyron, F., & Cortina-Borja, M. (2004). Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiology and Infection*, 132(3), 541-548.

- Grillo, R., Gross, U., Hayde, M., Holliman, R., Ho-Yen, D., Janitschke, K., . . . Thulliez, P. (1999). The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(11).
- Guo, M., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Lambertini, E., Ying, Y., . . . Pradhan, A. K. (2015). Qualitative assessment for *Toxoplasma gondii* exposure risk associated with meat products in the United States. *Journal of Food Protection*, 78(12), 2207-2219. doi:10.4315/0362-028x.jfp-15-270
- Guo, M., Lambertini, E., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Gamble, H. R., . . . Pradhan, A. K. (2017). Quantifying the risk of human *Toxoplasma gondii* infection due to consumption of fresh pork in the United States. *Food Control*, 73, Part B, 1210-1222. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.038>
- Guo, M., Mishra, A., Buchanan, R., Dubey, J., Hill, D., Gamble, H., . . . Pradhan, A. (2016). Development of dose-response models to predict the relationship for human *Toxoplasma gondii* infection associated with meat consumption. *Risk Analysis*, 36(5), 926-938. doi:10.1111/risa.12500
- Guo, M., Mishra, A., Buchanan, R. L., Dubey, J. P., Hill, D. E., Gamble, H. R., & Pradhan, A. K. (2016). Quantifying the risk of human *Toxoplasma gondii* infection due to consumption of domestically produced lamb in the United States. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1181-1187. doi:10.4315/0362-028x.jfp-15-591
- Hall, S., Pandit, A., Golwilar, A., & Williams, T. (1999). How do Jains get toxoplasma infection? *The Lancet*, 354(9177), 486-487.
- Halos, L., Thébault, A., Aubert, D., Thomas, M., Perret, C., Geers, R., . . . Dardé, M.-L. (2010). An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *International Journal for Parasitology*, 40(2), 193-200.
- Haritani, M., Shimura, K., Iwabuchi, I., Kobayashi, M., & Narita, M. (1988). Demonstration of *Toxoplasma gondii* antigen in stillborn piglets using immunoperoxidase technique. *The Japanese journal of veterinary science*, 50(4), 954-956.
- Havelaar, A. H., Haagsma, J. A., Mangen, M.-J. J., Kemmeren, J. M., Verhoef, L. P. B., Vijgen, S. M. C., . . . van Pelt, W. (2012). Disease burden of foodborne pathogens in the Netherlands, 2009. *International Journal of Food Microbiology*, 156(3), 231-238. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.029>
- Hennequin, C., Dureau, P., N'guyen, L., Thulliez, P., Gagelin, B., & Dufier, J. L. (1997). Congenital toxoplasmosis acquired from an immune woman. *The Pediatric infectious disease journal*, 16(1), 75-77.
- Herry, H. (2014). *Abattage et commercialisation du boeuf au Québec*
Récupéré à partir de
<https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Regions/SaguenayLacStJean/AbattagecommercialisationboeufQc.pdf>
- Hide, G., Morley, E., Hughes, J., Gerwash, O., Elmahaishi, M., Elmahaishi, K., . . . Murphy, R. (2009). Evidence for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*, 136(14), 1877-1885.
- Hill, D., Coss, C., Dubey, J., Wroblewski, K., Sautter, M., Hosten, T., . . . Boyer, K. (2011). Identification of a sporozoite-specific antigen from *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Parasitology*, 97(2), 328-337.

- Hill, D., & Dubey, J. (2013). *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 107-113.
- Hill, D., Haley, C., Wagner, B., Gamble, H., & Dubey, J. (2010). Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in the US swine herd using sera collected during the National Animal Health Monitoring Survey (Swine 2006). *Zoonoses Public Health*, 57(1), 53-59.
- Hill, D. E., Chirukandoth, S., Dubey, J., Lunney, J. K., & Gamble, H. (2006). Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Veterinary Parasitology*, 141(1), 9-17.
- Hill, D. E., & Dubey, J. P. (2013). *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 107-113. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.09.012>
- Hippe, D., Gais, A., Gross, U., & Lüder, C. G. K. (2009). Modulation of Caspase Activation by *Toxoplasma gondii*. In S. Rupp & K. Sohn (Eds.), *Host-Pathogen Interactions: Methods and Protocols* (pp. 275-288). Totowa, NJ: Humana Press.
- Hofhuis, A., Van Pelt, W., Van Duynhoven, Y., Nijhuis, C., Mollema, L., Van der Klis, F., . . . Kortbeek, L. (2011). Decreased prevalence and age-specific risk factors for *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in The Netherlands between 1995/1996 and 2006/2007. *Epidemiology and Infection*, 139(4), 530-538.
- Hohlfeld, P., Daffos, F., Costa, J.-M., Thulliez, P., Forestier, F., & Vidaud, M. (1994). Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *New England Journal of Medicine*, 331(11), 695-699.
- Howe, D. K., & Sibley, L. D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *Journal of Infectious Diseases*, 172(6), 1561-1566.
- Jacobs, L., Remington, J. S., & Melton, M. L. (1960). The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Parasitology*, 11-21.
- Jones, J. L., Dargelas, V., Roberts, J., Press, C., Remington, J. S., & Montoya, J. G. (2009). Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 878-884.
- Jones, J. L., & Dubey, J. (2012). Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, cis508. doi:10.1093/cid/cis508
- Jones, J. L., & Dubey, J. P. (2010). Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Experimental Parasitology*, 124(1), 10-25. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.013>
- Jones, J. L., Kruszon-Moran, D., Rivera, H. N., Price, C., & Wilkins, P. P. (2014). *Toxoplasma gondii* seroprevalence in the United States 2009–2010 and comparison with the past two decades. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(6), 1135-1139.
- Jones, J. L., Kruszon-Moran, D., Sanders-Lewis, K., & Wilson, M. (2007). *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999–2004, decline from the prior decade. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(3), 405-410.
- Jones, J. L., Ogunmodede, F., Scheftel, J., Kirkland, E., Lopez, A., Schulkin, J., & Lynfield, R. (2003). Toxoplasmosis-related knowledge and practices among pregnant women in the United States. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 11(3), 139-145. doi:10.1080/10647440300025512

- Jones, J. L., Parise, M. E., & Fiore, A. E. (2014). Neglected parasitic infections in the United States: Toxoplasmosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *90*(5), 794-799. doi:10.4269/ajtmh.13-0722
- Kennedy, M. J., Wu, J. T. Y., Chow, E. Y. W., & Rajic, A. (2003). The prevalence of *Toxoplasma gondii* in finishing swine in Alberta. *Advances in Pork Production* (Vol. 14). Edmonton: Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta.
- Khan, A., Dubey, J., Su, C., Ajioka, J. W., Rosenthal, B. M., & Sibley, L. D. (2011). Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. *International Journal for Parasitology*, *41*(6), 645-655.
- Khan, A., Jordan, C., Muccioli, C., Vallochi, A. L., Rizzo, L. V., Belfort Jr, R., . . . Sibley, L. D. (2006). Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infectious Diseases*, *12*(6), 942-949.
- Khan, A., Taylor, S., Su, C., Mackey, A. J., Boyle, J., Cole, R., . . . Sibley, L. D. (2005). Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. *Nucleic Acids Research*, *33*(9), 2980-2992. doi:10.1093/nar/gki604
- Kijlstra, A., Eissen, O. A., Cornelissen, J., Munniksma, K., Eijck, I., & Kortbeek, T. (2004). *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production systems. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, *45*(9), 3165-3169.
- Kijlstra, A., & Jongert, E. (2008). Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *International Journal for Parasitology*, *38*(12), 1359-1370.
- Kirkbride, C. A., Dubey, J., & Libal, M. C. (1992). Effect of feeding lasalocid to pregnant ewes experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, *44*(3), 299-303.
- Kodjikian, L., Hoigne, I., Adam, O., Jacquier, P., Aebi-Ochsner, C., Aebi, C., & Garweg, J. G. (2004). Vertical transmission of toxoplasmosis from a chronically infected immunocompetent woman. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, *23*(3), 272-274.
- Kreuder, C., Miller, M., Jessup, D., Lowenstine, L., Harris, M., Ames, J., . . . Mazet, J. (2003). Patterns of mortality in southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*) from 1998-2001. *Journal of Wildlife Diseases*, *39*(3), 495-509.
- Krueger, W. S., Hilborn, E. D., Converse, R. R., & Wade, T. J. (2014). Drinking water source and human *Toxoplasma gondii* infection in the United States: a cross-sectional analysis of NHANES data. *BMC Public Health*, *14*(711).
- Kutz, S. J., Elkin, B., Gunn, A., & Dubey, J. P. (2000). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in muskox (*Ovibos moschatus*) sera from northern Canada. *Journal of Parasitology*, *86*(4), 879-882.
- Kutz, S. J., Elkin, B. T., Panayi, D., & Dubey, J. P. (2001). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*) from the Canadian Arctic. *Journal of Parasitology*, *87*(2), 439-442.
- Le Potier, M. F., Fournier, A., Houdayer, C., Hutet, E., Auvigne, V., Hery, D., . . . Toma, B. (1998). Use of muscle exudates for the detection of anti-gE antibodies to Aujeszky's disease virus. *The Veterinary Record*, *143*(14), 385-387.

- Lélu, M., Villena, I., Dardé, M.-L., Aubert, D., Geers, R., Dupuis, E., . . . Dumètre, A. (2012). Quantitative estimation of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5127-5132.
- Lindquist, H. D. A., Bennett, J. W., Hester, J. D., Ware, M. W., Dubey, J., & Everson, W. V. (2003). Autofluorescence of *Toxoplasma gondii* and related coccidian oocysts. *Journal of Parasitology*, 89(4), 865-867.
- Lindsay, D., Dubey, J., Upton, S., & Ridley, R. (1990). Serological prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Kansas. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 57(1), 86-88.
- Louis-Samuel Jacques, J. L., Catherine Lessard, Renaud Sanscartier. (2012). *Analyse du marché des produits biologiques en fonction du développement du secteur biologique au Québec*. Récupéré à partir de https://www.agrireseau.net/agriculturebiologique/documents/%C3%89coRessources%20Fili%C3%A8re%20bio%202012%20Analyse%20des%20march%C3%A9s_2012-03-06_VF.pdf
- Lunden, A., Lind, P., Engvall, E. O., Gustavsson, K., Ugglå, A., & Vagsholm, I. (2002). Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs slaughtered in Sweden. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 34(5), 362-365. doi:dx.doi.org/10.1080/00365540110080205
- Lundén, A., & Ugglå, A. (1992). Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *International Journal of Food Microbiology*, 15(3), 357-363.
- M, G., Mishra, A., Buchanan, R., Dubey, J., Hill, D., Gamble, H., . . . Pradhan, A. (2016). A systematic meta-analysis of *Toxoplasma gondii* prevalence in food animals in the United States. *Foodborne Pathogenes and Disease*, 13(3), 109-118. doi:10.1089/fpd.2015.2070
- Malik, M., Dreesen, D., & Cruz, A. (1990). Toxoplasmosis in sheep in northeastern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(2), 263-265.
- MAPAQ. (2014). *Monographie de l'industrie ovine du Québec*. Gouvernement du Québec.
- Meadows, S. (2014). *Coxiella burnetii seropositivity and associated risk factors in sheep, goats, their farm workers and veterinarians in Ontario, Canada*. (Doctor of Philosophy), University of Guelph, Ontario, Canada. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10214/8075> Available from University of Guelph The Atrium database.
- Mecca, J. N., & Meireles, L. R. (2011). Quality control of *Toxoplasma gondii* in meat packages: Standardization of an ELISA test and its use for detection in rabbit meat cuts. *Meat Science*, 88(3), 584-589.
- Meerburg, B., Riel, J. V., Cornelissen, J., Kijlstra, A., & Mul, M. (2006). Cats and goat whey associated with *Toxoplasma gondii* infection in pigs. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases*, 6(3), 266-274.
- Mercier, A., Devillard, S., Ngoubangoye, B., Bonhabau, H., Bañuls, A.-L., Durand, P., . . . Dardé, M.-L. (2010). Additional haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: Population structure and mouse-virulence of strains from Gabon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(11), e876. doi:10.1371/journal.pntd.0000876
- Messier, V., Levesque, B., Proulx, J. F., Rochette, L., Libman, M. D., Ward, B. J., . . . Dixon, B. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among Nunavik Inuit (Canada).

- Zoonoses Public Health*, 56(4), 188-197. doi:dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01177.x
- Mie, T., Pointon, A. M., Hamilton, D. R., & Kiermeier, A. (2008). A qualitative assessment of *Toxoplasma gondii* risk in ready-to-eat smallgoods processing. *Journal of Food Protection*, 71(7), 1442-1452.
- Miller, C. M., Boulter, N. R., Ikin, R. J., & Smith, N. C. (2009). The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, 39(1), 23-39.
- Miller, M., Gardner, I., Packham, A., Mazet, J., Hanni, K., Jessup, D., . . . Barr, B. (2002). Evaluation of an indirect fluorescent antibody test (IFAT) for demonstration of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sea otter (*Enhydra lutris*). *Journal of Parasitology*, 88(3), 594-599.
- Morley, E., Williams, R., Hughes, J., Thomasson, D., Terry, R., Duncanson, P., . . . Hide, G. (2008). Evidence that primary infection of Charollais sheep with *Toxoplasma gondii* may not prevent foetal infection and abortion in subsequent lambings. *Parasitology*, 135(02), 169-173.
- Moura, L. D., Oliveira, L. M. G. B., Wada, M. Y., Jones, J. L., Tuboi, S. H., Carmo, E. H., . . . Graça, R. M. (2006). Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerging Infectious Diseases*, 12(2). doi:10.3201/eid1202.041115
- Mousing, J., Jensen, P., Halgaard, C., Bager, F., Feld, N., Nielsen, B., . . . Bech-Nielsen, S. (1997). Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 29(4), 247-261.
- Munoz-Zanzi, C. A., Fry, P., Lesina, B., & Hill, D. (2010). *Toxoplasma gondii* oocyst-specific antibodies and source of infection. *Emerging Infectious Diseases*, 16(10), 1591-1593.
- Nascimento, F. S., Suzuki, L. A., & Rossi, C. L. (2008). Assessment of the value of detecting specific IgA antibodies for the diagnosis of a recently acquired primary *Toxoplasma* infection. *Prenatal Diagnosis*, 28(8), 749-752. doi:10.1002/pd.2052
- Neville, A. J., Zach, S. J., Wang, X., Larson, J. J., Judge, A. K., Davis, L. A., . . . Davis, P. H. (2015). Clinically available medicines demonstrating anti-*Toxoplasma* activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(12), 7161-7169. doi:10.1128/AAC.02009-15
- Nicole C, M. L. (1908). Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *Comptes Rendus de l'Académie des sciences*, 147(763).
- Nielsen, B., Ekeroth, L., Bager, F., & Lind, P. (1998). Use of muscle fluid as a source of antibodies for serologic detection of *Salmonella* infection in slaughter pig herds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10(2), 158-163.
- Nöckler, K., Serrano, F., Boireau, P., Kapel, C. M., & Pozio, E. (2005). Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. *Veterinary Parasitology*, 132(1), 85-90.
- Opsteegh, M., Langelaar, M., Sprong, H., Hartog, L., Craeye, S. D., GertieBokken, . . . Giessen, J. v. d. (2010). Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3), 193-201.
- Opsteegh, M., Prickaerts, S., Frankena, K., & Evers, E. G. (2011). A quantitative microbial risk assessment for meatborne *Toxoplasma gondii* infection in The Netherlands.

- International Journal of Food Microbiology*, 150(2/3), 103-114. doi:dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.022
- Opsteegh, M., Schares, G., Blaga, R., & van der Giessen, J. (2016). Experimental studies on *Toxoplasma gondii* in the main livestock species *EFSA Supporting Publications*, 13(2). doi:10.2903/sp.efsa.2016.EN-995
- Opsteegh, M., Teunis, P., Züchner, L., Koets, A., Langelaar, M., & van der Giessen, J. (2011). Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. *International Journal for Parasitology*, 41(3-4), 343-354. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.10.006>
- OSMA, O. S. M. A. (2017). Type of sheep farms. Récupéré à partir de <http://www.ontariosheep.org/SHEEPPRODUCTIONINFO/ResourceLibrary.aspx>
- Paquet, C., Yudin, M. H., Yudin, M. H., Allen, V. M., Bouchard, C., Boucher, M., . . . Senikas, V. (2013). Toxoplasmose pendant la grossesse: Prévention, dépistage et traitement. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 35(1), 80-81. doi:10.1016/S1701-2163(15)31054-9
- Paredes, G. F. D., Ortega-Pacheco, A., Rosado-Aguilar, J. A., Acosta-Viana, K. Y., Marín, E. G., & Jiménez-Coello, M. (2016). *Toxoplasma gondii* in Meat for Human Consumption – A Brief Review of the Most Described Strategies for Its Detection and Quantification. In H. A. Makun (Ed.), *Significance, Prevention and Control of Food Related Diseases* (pp. Ch. 08). Rijeka: InTech.
- Pascal Dubreuil, J. A. (2003). Les avortements chez les petits ruminants. *Le médecin vétérinaire du Québec*, 33(1).
- Patrick Buholzer, M. P., Pascal Schacher, Tina Haupt-Gerber, Adrian Hehl, Gereon Schares, Peter Deplazes, Alex J. Raeber. (2010). *Evaluation of the PrioCHECK® Toxoplasma AB Porcine ELISA for surveillance of Toxoplasma infections in pigs*. Communication présentée au AAVID Annual Conference, Minneapolis, MN, USA.
- Pawlowski, Z. S., Gromadecka-Sutkiewicz, M., Skommer, J., Paul, M., Rokossowski, H., Suchocka, E., & Schantz, P. M. (2001). Impact of health education on knowledge and prevention behavior for congenital toxoplasmosis: the experience in Poznan, Poland. *Health Education Research*, 16(4), 493-502.
- Pechere, J.-C., Letarte, R., Brindle, Y., Higgins, R., Turcotte, A., & Martin, M. (1977). La toxoplasmose dans un milieu rural québécois. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Santé Publique*, 425-429.
- Pena, H. F., Gennari, S. M., Dubey, J. P., & Su, C. (2008). Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *International Journal for Parasitology*, 38(5), 561-569. doi:10.1016/j.ijpara.2007.09.004
- Pena, H. F., Marvulo, M. F., Horta, M. C., Silva, M. A., Silva, J. C., Siqueira, D. B., . . . Gennari, S. M. (2011). Isolation and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* from a red-handed howler monkey (*Alouatta belzebul*), a jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), and a black-eared opossum (*Didelphis aurita*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*, 175(3-4), 377-381. doi:10.1016/j.vetpar.2010.10.015
- Pfaff, A., Abou-Bacar, A., Letscher-Bru, V., Villard, O., Senegas, A., Mousli, M., & Candolfi, E. (2007). Cellular and molecular physiopathology of congenital toxoplasmosis: the dual role of IFN- γ . *Parasitology*, 134(13), 1895-1902.

- Pires, S. M. (2013). Assessing the applicability of currently available methods for attributing foodborne disease to sources, including food and food commodities. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(3), 206-213. doi:dx.doi.org/10.1089/fpd.2012.1134
- Poljak, Z., Dewey, C. E., Friendship, R. M., Martin, S. W., Christensen, J., Ojkic, D., . . . Chow, E. (2008). Pig and herd level prevalence of *Toxoplasma gondii* in Ontario finisher pigs in 2001, 2003, and 2004. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 72(4), 303-310.
- Quesnel, A. D., Parent, J. M., McDonell, W., Percy, D., & Lumsden, J. H. (1997). Diagnostic evaluation of cats with seizure disorders: 30 cases (1991-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(1), 65-71.
- Quessy, S. (2016). *Surviv des systèmes d'inspection des aliments au Canada et ailleurs*. Communication présentée au Congrès vétérinaire québécois, Québec.
- Quessy, S. (2017). [Données d'attribution de source de *T. gondii* au niveau de la denrée selon les données non-publiées de l'ASPC].
- Reichard, M. V., Torretti, L., Garvon, J. M., & Dubey, J. P. (2008). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Wolverines from Nunavut, Canada. *Journal of Parasitology*, 94(3), 764-765.
- Robben, P. M., Mordue, D. G., Truscott, S. M., Takeda, K., Akira, S., & Sibley, L. D. (2004). Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. *The Journal of Immunology*, 172(6), 3686-3694. doi:10.4049/jimmunol.172.6.3686
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M.-L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264-296.
- Roghamann, M.-C., Faulkner, C. T., Lefkowitz, A., Patton, S., Zimmerman, J., & Morris, J. (1999). Decreased seroprevalence for *Toxoplasma gondii* in Seventh Day Adventists in Maryland. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60(5), 790-792.
- Sabin, A. B., & Feldman, H. A. (1948). Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science*, 108(2815), 660-663.
- Saeij, J., Collier, S., Boyle, J., Jerome, M., White, M., & Boothroyd, J. (2006). *Toxoplasma* co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature*, 445(7125), 324-327.
- Sampasa-Kanyinga, H., Levesque, B., Anassour-Laouan-Sidi, E., Cote, S., Serhir, B., Ward, B. J., . . . Dewailly, E. (2013). Zoonotic infections in communities of the James Bay Cree territory: an overview of seroprevalence. *Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*, 24(2), 79-84.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., . . . Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States -major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7-15.
- Shapiro, K., Largier, J., Mazet, J. A., Bernt, W., Ell, J. R., Melli, A. C., & Conrad, P. A. (2009). Surface properties of *Toxoplasma gondii* oocysts and surrogate microspheres. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 1185-1191.
- Sibley, L. D., & Ajioka, J. W. (2008). Population structure of *Toxoplasma gondii*: clonal expansion driven by infrequent recombination and selective sweeps. *Annual Review of Microbiology*, 62, 329-351. doi:dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162925

- Simon, A. (2012). *La toxoplasmose chez les Inuits: investigation de l'écologie de Toxoplasma gondii dans l'arctique canadien*. (Doctorat), Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire.
- Simon, A., Poulin, M. B., Rousseau, A. N., Dubey, J. P., & Ogden, N. H. (2013). Spatiotemporal dynamics of *Toxoplasma gondii* infection in Canadian lynx (*Lynx canadensis*) in western Quebec, Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 49(1), 39-48. doi:dx.doi.org/10.7589/2012-02-048
- Smith, D. D., & Frenkel, J. (1995). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. *Journal of Wildlife Diseases*, 31(1), 15-21.
- Smith, H. (1991). Seroprevalence of anti-*Toxoplasma* IgG in Canadian swine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 55(4), 380.
- Stojanovic, V., & Foley, P. (2011). Infectious disease prevalence in a feral cat population on Prince Edward Island, Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 52(9), 979-982.
- Tan, T. G., Mui, E., Cong, H., Witola, W. H., Montpetit, A., Muench, S. P., . . . McLeod, R. (2010). Identification of *T. gondii* epitopes, adjuvants, and host genetic factors that influence protection of mice and humans. *Vaccine*, 28(23), 3977-3989. doi:10.1016/j.vaccine.2010.03.028
- Tenter, A. M. (2009). *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(2), 364-369.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(12), 1217-1258.
- Thomas, M. K., Murray, R., Flockhart, L., Pintar, K., Pollari, F., Fazil, A., . . . Marshall, B. (2013). Estimates of the burden of foodborne illness in Canada for 30 specified pathogens and unspecified agents, circa 2006. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(7), 639-648. doi:dx.doi.org/10.1089/fpd.2012.1389
- Torgerson, P. R., Devleeschauwer, B., Praet, N., Speybroeck, N., Willingham, A. L., Kasuga, F., . . . de Silva, N. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: A data synthesis. *PLoS Medicine*, 12(12), e1001920. doi:10.1371/journal.pmed.1001920
- Tsai, Y.-J., Chung, W.-C., Fei, A. C., Hong, C.-L., Tsai, Y.-Y., Peng, S., & Wu, Y.-L. (2008). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray dogs in Taipei, Taiwan. *Journal of Parasitology*, 94(6), 1437-1437.
- Turcotte, M.-È. (2015). *Prévalence et facteurs de risque de l'infection par Coxiella Burnetii chez les ruminants d'élevage au Québec*. (Maîtrise Mémoire numérique), Université de Montréal, Montréal, Canada. Retrieved from <http://hdl.handle.net/1866/12985> Available from Université de Montréal Papyrus database.
- Udonsom, R., Buddhironawat, R., & Sukthana, Y. (2010). Is Sabin-Feldman dye test using *T. gondii* tachyzoites from animal inoculation still the best method for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies? *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 41(5), 1059-1064.
- van der Giessen, J., Fonville, M., Bouwknecht, M., Langelaar, M., & Vollema, A. (2007). Seroprevalence of *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* in pigs from different housing systems in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 148(3), 371-374.

- Verhelst, D., De Craeye, S., Vanrobaeys, M., Czaplicki, G., Dorny, P., & Cox, E. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic sheep in Belgium. *Veterinary Parasitology*, 205(1–2), 57-61. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.07.001>
- Veronesi, F., Ranucci, D., Branciarri, R., Miraglia, D., Mammoli, R., & Fioretti, D. P. (2011). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection on Finishing swine reared in the Umbria Region, Central Italy. *Zoonoses Public Health*, 58(3), 178-184. doi:dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01336.x
- Vesco, G., Buffolano, W., La Chiusa, S., Mancuso, G., Caracappa, S., Chianca, A., . . . Petersen, E. (2007). *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. *Veterinary Parasitology*, 146(1), 3-8.
- Viens, P., Auger, P., Villeneuve, R., & Stefanescu-Soare, I. (1977). Serological survey for congenital toxoplasmosis among 4,136 pregnant women. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(2), 136-139. doi:[dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(77\)90080-3](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(77)90080-3)
- Villena, I., Ancelle, T., Delmas, C., Garcia, P., Brezin, A., Thulliez, P., . . . Goulet, V. (2010). Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro surveillance : bulletin européen sur les maladies transmissibles*, 15(25), 19600.
- Villena, I., Durand, B., Aubert, D., Blaga, R., Geers, R., Thomas, M., . . . Thébault, A. (2012). New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Veterinary Parasitology*, 183(3), 203-208.
- Villeneuve, A. (2003). *Les zoonoses parasitaires: l'infection chez les animaux et chez l'homme*: Les Presses de l'Université de Montréal (PUM).
- Vitale, M., Tumino, G., Partanna, S., Chiusa, S. I., Mancuso, G., Giglia, M. I., & Presti, V. d. M. I. (2014). Impact of traditional practices on food safety: a case of acute toxoplasmosis related to the consumption of contaminated raw pork sausage in Italy. *Journal of Food Protection*, 77(4), 643-646.
- Wallis, G. P., & Trewick, S. A. (2009). New Zealand phylogeography: evolution on a small continent. *Molecular Ecology*, 18(17), 3548-3580. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04294.x
- Waltner-Toews, D., Mondesire, R., & Menzies, P. (1991). The seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Ontario sheep flocks. *The Canadian Veterinary Journal*, 32(12), 734.
- Weese, J. S., & Fulford, M. B. (2011). *Companion animal zoonoses*: Wiley Online Library.
- Weigel, R., Dubey, J., Siegel, A., Kitron, U., Mannelli, A., Mitchell, M., . . . Kwok, O. (1995). Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *The Journal of Parasitology*, 736-741.
- Weiss, L. M., & Kim, K. (2000). The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 5, D391.
- Welte, V. (2016). *Analyse des risque et l'OIE*. Récupéré à partir de <http://www.fao.org/docrep/003/x7354f/x7354f0c.htm>
- Wingstrand, A., Lind, P., Haugegaard, J., Henriksen, S. A., Bille-Hansen, V., & Sorensen, V. (1997). Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, 72(2), 129-140.

- Wingstrand, A., Lind, P., Haugegaard, J., Henriksen, S. A., Bille-Hansen, V., & Sørensen, V. (1997). Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, *72*(2), 129-140.
- Yan, C., Fu, L., Yue, C., Tang, R., Liu, Y., Lv, L., . . . Zheng, K. (2012). Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii* distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in China. *Parasites and Vectors*, *5*(5).
- Yang, R., Paparini, A., Monis, P., & Ryan, U. (2014). Comparison of next-generation droplet digital PCR (ddPCR) with quantitative PCR (qPCR) for enumeration of *Cryptosporidium* oocysts in faecal samples. *International Journal for Parasitology*, *44*(14), 1105-1113.
- Yuan, Z. G., Zhang, X. X., Lin, R. Q., Petersen, E., He, S., Yu, M., . . . Zhu, X. Q. (2011). Protective effect against toxoplasmosis in mice induced by DNA immunization with gene encoding *Toxoplasma gondii* ROP18. *Vaccine*, *29*(38), 6614-6619. doi:10.1016/j.vaccine.2011.06.110
- Zhang, N.-Z., Chen, J., Wang, M., Petersen, E., & Zhu, X.-Q. (2013). Vaccines against *Toxoplasma gondii*: new developments and perspectives. *Expert Review of Vaccines*, *12*(11), 1287-1299. doi:10.1586/14760584.2013.844652
- Zia-Ali, N., Fazaeli, A., Khoramizadeh, M., Ajzenberg, D., Dardé, M., & Keshavarz-Valian, H. (2007). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from different hosts in Iran. *Parasitology Research*, *101*(1), 111-115.

Annexe

Estimation du nombre moyen de portions contenant *T. gondii* consommées chaque année par un canadien.

Équation générale :

$$NCC = \frac{\text{Prévalence} \times \text{Qté. consommée (g)}}{100g}$$

où NCC= nombre moyen de portions contaminées consommées annuellement

En 2015, le canadien moyen a consommé 17,8 kg de bœuf, 17,2 kg de porc et 0,92 kg d'agneau et/ou de mouton (Agriculture Canada, 2016).

La limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95% de chacune des données de prévalence ont été utilisées pour représenter le pire scénario possible selon les données obtenues. La prévalence du Québec a été utilisée pour estimer le nombre de portions d'agneau contaminées. Une portion a été définie dans ce cas-ci par 100g de viande désossée et dégraissée, ce qui correspond au volume des échantillons analysés dans cette étude et se rapproche de ce qui est recommandé comme étant une portion de viande selon le Guide alimentaire canadien. Aucune donnée sur la portion de viande moyenne consommée par un canadien n'est disponible à ce jour.

Tel que décrit ci-dessous, ces informations combinées avec nos données de prévalence nous permette d'estimer que dans le pire scénario, environ quatre portions de bœuf, 2,5 portions de porc et 1,5 portions d'agneau consommées annuellement par un canadien contiendrait *T. gondii*.

Bœuf :

$$NCC = \frac{0,022 \times 17800g}{100g} = 3,92$$

Agneau :

$$NCC = \frac{0,168 \times 920g}{100g} = 1,55$$

Porc :

$$NCC = \frac{0,015 \times 17200g}{100g} = 2,58$$