

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2016

THESE 2016 TOU3 2095

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

CALVET Charlotte

TRICHINELLOSE ET VIRULENCE PARASITAIRE

Lundi 5 décembre 2016

Directeur de thèse : COSTE Agnès

JURY

Président : COSTE Agnès

1er assesseur : KARADJIAN Grégory

2ème assesseur : AUTHIER Hélène

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2015

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R.	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
Mme FOURASTÉ I.	Pharmacognosie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CHATELUT E.	Pharmacologie	Mme BARRE A.	Biologie
M. FAVRE G.	Biochimie	Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G.	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A.	Physiologie	M. BENOIST H.	Immunologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B.	Biochimie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie	M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S.	Biochimie
M. SIÉ P.	Hématologie	M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. VALENTIN A.	Parasitologie	M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
		M. SALLES B.	Toxicologie
		M. SÉGUI B.	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
		Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maitres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P	Pharmacie Clinique	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie	Mme AUTHIER H	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique	M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique	Mme BON C	Biophysique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie	M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F	Pharmacologie	Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
		M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C	Physiologie
		Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
		Mme COSTE A (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N	Biochimie
		Mme DERAÈVE C	Chimie Thérapeutique
		Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
		Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A	Toxicologie
		Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
		Mme LEFEVRE L	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A	Biochimie
		M. MARTI G	Pharmacognosie
		Mme MIREY G (*)	Toxicologie
		Mme MONTFERRAN S	Biochimie
		M. OLICHON A	Biochimie
		M. PERE D	Pharmacognosie
		Mme PORTHE G	Immunologie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D	Hématologie
		Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELENDT M	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires	
Mme COOL C	Physiologie
Mme FONTAN C	Biophysique
Mme KELLER L	Biochimie
Mme PALUDETTO M.N. (**)	Chimie thérapeutique
M. PÉRES M.	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2015

Remerciements

Aux membres du jury,

A ma directrice de thèse et présidente du jury, Madame **A. Coste**, je vous remercie d'avoir accepté d'encadrer ma thèse d'exercice et pour vos conseils.

A Monsieur **Grégory Karadjian**, merci d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Je ne saurais te remercier assez pour ton encadrement, tes conseils et ton implication lors de mon stage de M2. Merci de m'avoir aidée à trouver ma voie.

A Madame **H. Authier**, merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

A l'ANSES et à l'équipe PARALIM,

A **Isabelle, Sylvain, les Aurélie, Mohammed, Tamara, Vitomir, Myriam, Dany** et tous les autres, merci pour ces 6 mois de stage en votre compagnie, et ces belles rencontres.

Aux autres stagiaires : **Maëllys, Nicolas et Véronique**, qui ont participé à la bonne ambiance pendant ce stage. Je vous souhaite bonne continuation.

Aux gens formidables que j'ai rencontrés en stage de 5^e année,

Zoubeir, merci de m'avoir formé, de ta confiance et pour ton soutien.

Au MEDES, **Marie-Claude, Marie-Pierre, Pascale, Véronique, Patrick, Audrey, François, et Laurent**, à ces 4 mois passés avec vous, merci pour votre aide et vos conseils.

A mes grands-parents et ma famille,

A **Guy et Josette**, pour tous les moments passés avec vous à Cazères et en Espagne, à jouer aux cartes et à discuter.

A **Janine**, tu n'es plus là mais je sais que tu aurais été fière d'avoir une pharmacienne dans la famille.

A **François**, tu nous as quittés trop tôt, je pense à tous les bons moments passés avec toi, ceux à Font-Romeu et tous les autres, lorsque tu m'aidais à réviser le BAC de Français. J'aurais tant aimé que cela continue.

A **Déborah**, en souvenir des 3 années à Auzeville, de notre colloc et notre année commune à Paris, tu es superbe, reste comme tu es.

A tous les **membres de ma famille**, mes cousins, mes oncles et tantes, pour tous les repas de famille, les bons moments partagés avec vous et ceux à venir.

A **Sandrine, Marc et les petits**, aux bons moments passés avec vous à la montagne, la plage, la piscine, sans oublier la construction et destruction des châteaux de sable.

A **Alex**, pour ta bonne humeur et ta gentillesse immense.

A **Monique**, pour partager tes passions avec nous à la montagne, au ski... et l'initiation au ski de rando, toujours là pour nous.

A mes chers amis,

A mes amis de fac, **Milena, Daphné, Marine et Gaëlle**, à ces 6 années d'études ensemble, aux moments inoubliables comme l'inté mais aussi les exams et le stress.

A mes amies de master, **Adélie et Sophie**, je suis très contente de vous avoir rencontré l'année dernière, on a passé de très bons moments ensemble et j'espère que ça va continuer.

A mes bons copains, **Marie, Mathilde, Hélène, Ambre, Hugo, Quentin, Olivier, Simon, Louis, Mathilde** et les autres, merci pour les moments partagés avec vous et votre bonne humeur.

A **Manèle**, à toutes ces années passées ensemble, à l'orchestre, l'Udem, à nos fou-rires et aux moments de stress partagés lors des concerts et des auditions.

A mes amies d'enfance, **Lise, Cécile, Marine et Marie**, les premières rencontres ne s'oublient pas.

A **Anne et Pacou, Domi et Pierre**, qui m'accompagnez depuis mes premiers pas.

A mon ancienne nounou et amie **Edith, et sa famille**, tu es comme une grande sœur pour nous.

A mes deux familles adoptives, les Orch et les Oix-Timsit,

Aux **Orch, Dadou, Maga, Idriss et Kenza**, on se connaît depuis toujours, on se voit peu, pas assez, mais chaque retrouvaille est formidable.

Aux **Oix-Timsit, Patouche, Oliv, Emma, Juju et Paloma**, le temps passe vite, on grandit/vieillit mais on trouve toujours le temps de se retrouver.

A mes fidèles amies **Séverine et Isabelle**,

Merci d'être là quand j'ai besoin de vous, de me supporter, d'être à mes côtés, merci pour tout. On a encore tellement de bons moments à partager.

A **ma famille**,

Papa, Maman, Go et Lou, je ne serai pas là aujourd'hui sans vous, merci d'être là pour moi et de m'accompagner. Ceci n'est qu'une étape, encore 4 ans de thèse !

A **Tony**,

Au chemin que nous avons parcouru ensemble, et celui qui nous reste à parcourir. Merci pour ton soutien, de m'écouter et de m'apaiser quand ça ne va pas.

Table des matières

Introduction.....	- 12 -
Première Partie : <i>Trichinella</i> spp.....	- 14 -
1. Classification.....	- 14 -
2. Répartition géographique des différentes espèces.....	- 15 -
3. Phylogénie.....	- 17 -
4. Morphologie des différents stades parasitaires	- 20 -
a. Larves musculaires.....	- 20 -
b. Adultes	- 20 -
c. Larves nouveau-nées.....	- 22 -
5. Développement parasitaire	- 22 -
a. Cycle auto-hétéroxène	- 22 -
b. Formation de la cellule nourricière.....	- 25 -
c. Développement de la capsule	- 27 -
Deuxième partie : La trichinellose.....	- 28 -
1. Historique.....	- 28 -
2. Epidémiologie	- 29 -
a. Cycle sauvage et domestique	- 29 -
b. Répartition géographique des cas de trichinellose Humaine.....	- 31 -
3. Relation hôte - pathogène	- 34 -
a. Pathogénèse	- 34 -
b. Stratégies d'échappement au système immunitaire de l'hôte.....	- 36 -
4. Diagnostic.....	- 38 -
a. Diagnostic clinique et biologique	- 38 -
b. Diagnostic différentiel	- 40 -
5. Clinique.....	- 40 -
a. Signes cliniques chez les animaux.....	- 40 -
b. Signes cliniques chez l'Homme.....	- 41 -
c. Complications.....	- 43 -
6. Prise en charge.....	- 45 -
a. Traitement	- 45 -
b. Conduite à tenir	- 46 -
7. Prophylaxie.....	- 47 -
a. Systèmes de surveillance.....	- 47 -
b. Contrôle de la viande.....	- 48 -

c. Prévention individuelle.....	- 49 -
Troisième partie : La virulence de <i>Trichinella</i>	- 51 -
1. Etat des lieux	- 51 -
a. Introduction.....	- 51 -
b. Différences de virulence entre les espèces de <i>Trichinella</i>	- 51 -
c. Classification des antigènes de <i>Trichinella</i>	- 54 -
d. Protéines et antigènes spécifiques de <i>Trichinella</i>	- 55 -
e. Cibles diagnostiques et vaccinales.....	- 62 -
2. Travail de recherche : identification de protéines impliquées dans la virulence de <i>Trichinella</i>	- 64 -
a. Contexte	- 64 -
b. Introduction.....	- 64 -
c. Objectifs	- 65 -
d. Matériel et méthodes	- 65 -
e. Résultats et discussion.....	- 71 -
f. Conclusion.....	- 84 -
Conclusion générale.....	- 86 -
Références (153).....	- 88 -
Annexes.....	- 104 -

Liste des figures

Figure 1 Distribution géographique des espèces et géotypes de <i>Trichinella</i>	15 -
Figure 2 Taxa de <i>Trichinella</i> et principaux hôtes..	18 -
Figure 3 Phylogénie des espèces et géotypes de <i>Trichinella</i>	19 -
Figure 4 Larve musculaire (L1M) (1 mm x 40 µm).....	20 -
Figure 5 Vers adultes..	21 -
Figure 6 Larve nouveau-née (L1NN) (115 à 140 µm x 9 à 13 µm).....	22 -
Figure 7 Développement de <i>Trichinella spiralis</i>	24 -
Figure 8 Développement de la cellule nourricière dans le muscle de l'hôte	25 -
Figure 9 Evolution du nombre de cas de trichinelloses Humaines en Europe de 2007 à 2014	33 -
Figure 10 Signes cliniques de la trichinellose Humaine.....	43 -
Figure 11 Méthode de digestion artificielle pour la récupération des larves musculaires (L1M)	66 -
Figure 12 Récupération des vers adultes au niveau de l'intestin.....	67 -
Figure 13 Schéma représentatif du succès parasitaire à différentes étapes du cycle de <i>T. spiralis</i> (en rouge) et <i>T. nativa</i> (en bleu)	72 -
Figure 14 SDS-PAGE à une dimension d'extraits protéiques totaux de <i>Trichinella</i> colorée au nitrate d'argent.....	74 -
Figure 15 Protéines spécifiques ou communes à différents stades de <i>Trichinella</i> . 1) ...	74 -
Figure 16 Diagramme de Venn représentant les protéines retrouvées spécifiquement chez les L1NN de <i>T. spiralis</i> et/ou <i>T. nativa</i>	78 -
Figure 17 Peptides identifiés par SM/SM pour confirmer la présence de la Chymotrypsine-C dans les échantillons de <i>T. spiralis</i>	81 -
Figure 18 Alignement des séquences de la Chymotrypsine-C, putative trypsine, NBL-1 SS2 and SS2-1 sur multalin.....	81 -
Figure 19 Western Blot pour détecter la présence de NBL-1 dans des extraits totaux de différents stades de <i>Trichinella</i>	82 -

Liste des tableaux

Tableau 1 Classification du genre <i>Trichinella</i>	14 -
Tableau 2 Caractéristiques des différentes espèces de <i>Trichinella</i>	16 -
Tableau 3 Cas de trichinellose rapportés à l'ECDC en Europe entre 2007 et 2014.	32 -
Tableau 4 Algorithme pour diagnostiquer la probabilité d'infection de l'Homme par <i>Trichinella</i>	39 -
Tableau 5 Différences d'infectiosité des <i>Trichinella</i>	52 -
Tableau 6 Index des capacités reproductives (RCI) de <i>T. spiralis</i> , <i>T. pseudospiralis</i> et <i>T. papuae</i> chez 4 espèces de rongeurs.....	52 -
Tableau 7 Liste des protéines identifiées et étudiées chez <i>Trichinella</i>	60 -
Tableau 8 Protéines retrouvées spécifiquement dans le stade larve nouveau-née (L1NN) de <i>T. nativa</i> et <i>T. spiralis</i>	77 -

Liste des abréviations

ADCC : antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
ADN : acide désoxyribonucléique
ALAT : Alanine aminotransférase
ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARS : Agence Régionale de Santé
ASAT : aspartate aminotransférase
ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation
CDC : Centers for Disease Control and Prevention
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CNR : Centre National de Référence
CPK : créatine phosphokinase
CSS : cellule striée squelettique
DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales
DDCSPP : Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations
DDSV : Direction Départementale des services vétérinaires
ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
ECF-A : eosinophil chemotactic factor
ECG : électrocardiogramme
EFSA : European Food Safety Authority
ES : excrétée(s) - sécrétée(s)
FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations
GST : glutathione-S-transférase
HRP : horseradish peroxidase
HSP : Heat Shock Protein
ICT : International Commission on Trichinellosis
IGF-1 : insulin-like growth factor-1 (facteur de croissance 1)
IL : Interleukine
InVS : Institut national de Veille Sanitaire
IRM : imagerie à résonance magnétique
IRTC : International *Trichinella* Reference Centre
IV : Intraveineuse

L1M : larve musculaire
L1NN : larve nouveau-née
LB : Lymphocyte B
LDH : lactate déshydrogénase
LNR : laboratoire national de référence
LT : Lymphocyte T
MAC : complexe d'attaque membranaire
MAP kinase : Mitogen Activated Proteins kinase
MIF : migration inhibitory factor
NK : natural killer
NO : oxyde nitrique
OIE : Organisation mondiale de la santé animale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAF : platelet activating factor
p-i : post-infection
RCI : Reproductive Capacity Index (Index des capacités reproductives)
Serpine : serine proteinase inhibitor
TBST : Tris–Borate Saline–Tween
TGF : Transforming Growth Factor
TIAC : toxi-infections alimentaires collectives
TNF : tumor necrosis factor
TRACES : TRAdE Control and Expert System
TSL-1 : *Trichinella spiralis* larvae group 1
TsNd : *T. spiralis* nudix hydrolase
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
WHO : World Health Organization (OMS)

Introduction

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) estiment que 50 nouveaux pathogènes sont apparus durant les 30 dernières années. Récemment, l'émergence de l'encéphalopathie spongiforme bovine, du syndrome respiratoire aigu sévère, des grippes H5N1 et H1N1 à engendrer des coûts économiques importants (Bank 2010). 60% des maladies émergentes sont des zoonoses, maladies transmissibles entre l'Homme et les animaux (Clements et Casani 2016). Les zoonoses ont donc un impact à la fois économique mais aussi sur la santé publique animale et Humaine. Dans les pays développés, l'impact de ces maladies sur la santé humaine reste limité, les maladies infectieuses et parasitaires représentent 3,2% de la mortalité avant 65 ans. Ces maladies nécessitent une approche globale de santé publique permettant une surveillance épidémiologique des cas animaux et Humains. Les systèmes de surveillance et de contrôle permettent de maîtriser ces maladies. Mais l'Homme peut s'infecter en consommant des produits d'origine animale qui ne sont pas soumis au contrôle (« InVS », s. d.).

Dans les années 1900, les maladies d'origine alimentaire étaient à l'origine de nombreux décès. Les principaux agents en cause étaient *Brucella*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella typhi*, *Trichinella*, et *Vibrio cholerae*. Depuis 1990, avec la mise en place de mesures de surveillance et de contrôle de ces agents infectieux, ils sont responsables de 0,01% des maladies d'origine alimentaire. La mise en place de mesures de sécurité alimentaire permet de maîtriser progressivement les maladies d'origine alimentaire (Morse 2007). Cependant, l'OMS estime qu'une personne sur 10 est contaminée chaque année et que ces maladies sont à l'origine de 420 000 décès par an dans le monde. Ces maladies touchent essentiellement l'Afrique et l'Asie du Sud Est (« OMS | Organisation mondiale de la Santé », s. d.).

La trichinellose est une zoonose d'origine alimentaire causée par le parasite nématode *Trichinella*. Dans le monde, 11 millions le nombre de personnes auraient été exposées à la maladie (d'après des analyses sérologiques) et 10 000 nouveaux cas sont rapportés chaque année au CDC (« Centers for Disease Control and Prevention » 2016). La trichinellose est responsable de centaines de cas par an en Europe, essentiellement en Roumanie et en Bulgarie. Depuis 2007, le nombre de cas de trichinellose humaine a diminué (« Centers for Disease Control and Prevention » 2016). Les sources de contamination de l'Homme sont

essentiellement les animaux domestiques comme le porc ou le cheval. Des cas de contamination sont rapportés après consommation de viande d'animaux sauvages comme le sanglier ou l'ours (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015). La trichinellose fait partie des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), elle est donc soumise à une déclaration obligatoire des cas auprès de l'Agence Régionale de Santé (ARS) (« InVS », s. d.). Des mesures prophylaxiques sont en place pour contrôler la maladie. L'éducation du consommateur est essentielle, notamment pour les voyageurs et dans les pays où le contrôle de la viande n'est pas satisfaisant. Cette maladie a un impact économique important, le contrôle des porcs à faible risque de trichinellose coute 570 millions d'euros chaque année en Europe (Kapel 2005).

Le diagnostic de la maladie est généralement établi tardivement, alors que les traitements disponibles actuellement ne sont que partiellement efficaces lorsque les larves sont enkystées dans le muscle (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009). L'identification de protéines antigéniques permettrait le développement d'outils diagnostic précoces et de nouveaux traitements. De nombreuses études se sont focalisées sur l'étude des larves musculaires (L1M). Face à la nécessité de mettre en place un diagnostic précoce pour une prise en charge rapide, l'étude des stades pré-adulte et adulte, stades précoces de l'infection, s'est développée depuis quelques années (Zocevic *et al.* 2011; R. D. Liu *et al.* 2015; Bien, Cabaj, et Moskwa 2015; J. Yang *et al.* 2015).

Dans un premier temps, nous aborderons la biologie de *Trichinella*. Nous verrons ensuite la maladie, la trichinellose et sa prise en charge. La dernière partie sera consacrée à l'état des lieux sur la virulence parasitaire et un travail de recherche sur la différence de virulence entre *T. spiralis* et *T. nativa*, deux espèces aux infectiosités divergentes chez la souris.

1. Classification

Les parasites du genre *Trichinella* sont des Helminthes, vers parasites du tube digestif, et appartiennent à la classe des nématodes ou vers ronds (Tableau 1). 9 espèces et 3 génotypes ont été identifiés. Le genre peut être divisé en deux groupes : les espèces encapsulées et les espèces non encapsulées (Edoardo Pozio *et al.* 2009). Les espèces encapsulées ont une capsule de collagène qui se forme autour de la larve dans le muscle, parmi-elles on retrouve : *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, T6, *T. nelsoni*, T8, T9 et *T. patagoniensis*. Les espèces non encapsulées sont *T. pseudospiralis*, *T. papuae* et *T. zimbabwensis*.

La première espèce à avoir été identifiée est *Trichinella spiralis* par Paget et Owen en 1835 (Edoardo Pozio *et al.* 2009). La dernière espèce identifiée est *T. patagoniensis* en 2012 (Krivokapich *et al.* 2008; Krivokapich *et al.* 2012). Les dates, les auteurs des découvertes, la distribution géographique et les principaux hôtes de chaque espèce sont reportés dans le Tableau 2. Tableau 2 Distribution et hôtes des différentes espèces de *Trichinella*, d'après (E. Pozio et Zarlenga 2005).

Tableau 1 Classification du genre Trichinella modifié d'après (Ripert 1998).

Règne	Animalia
Sous-règne	Euméthazoa (métazoaires supérieurs)
Clade	Bilatéria
Embranchement (phylum)	Nématodes
Classe	Enoplea
Ordre	Trichocéphalida
Famille	Trichinellidae
Genre	<i>Trichinella</i>

2. Répartition géographique des différentes espèces

Les espèces encapsulées (Figure 1) :

L'Homme est responsable des mouvements d'animaux dans le monde, ce qui pourrait expliquer que *T. spiralis* soit présente sur tous les continents (Edoardo Pozio 2014). Cette espèce est le principal agent responsable de trichinellose Humaine. *T. nativa* est résistante aux basses températures, elle est retrouvée dans les zones arctiques et subarctiques. *T. britovi* est la seconde espèce la plus répandue, elle est présente sur tous les continents à l'exception de l'Océanie et l'Amérique du Sud. *T. murrelli* est retrouvée dans les régions tempérées du continent Américain. Le génotype T6 est retrouvé en Amérique du Nord. *T. nelsoni* est particulièrement résistante aux hautes températures ce qui peut expliquer sa répartition sur le continent Africain. Le génotype T8 est retrouvé en Afrique du Sud. Le génotype T9 se trouve en Asie (Nouvelle Guinée, Thaïlande, Malaisie). *T. patagoniensis* est retrouvée en Amérique du Sud (Feidas *et al.* 2014; J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

Les espèces non-encapsulées (Figure 1) :

T. papuae est retrouvée en Papouasie. *T. zimbabwensis* est retrouvée en Afrique du Sud. *T. pseudospiralis* est largement distribuée, mais n'est pas retrouvée en Afrique et dans le Pacifique.

En Europe, quatre espèces sont présentes et responsables de trichinelloses Humaines : *T. spiralis* et *T. britovi* sont les plus courantes puis *T. nativa* et *T. pseudospiralis*.

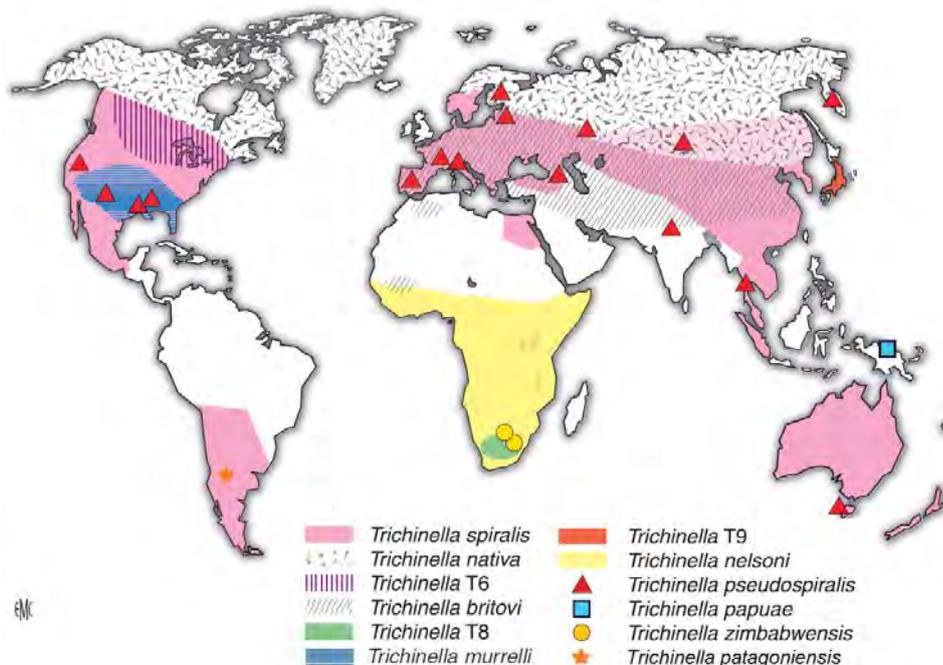


Figure 1 Distribution géographique des espèces et génotypes de *Trichinella* (A. De Bruyne *et al.* 2006), modifié.

Tableau 2 Distribution et hôtes des différentes espèces de *Trichinella*, d'après (E. Pozio et Zarlenga 2005).

Espèces	Découverte	Distribution géographique	Principaux hôtes
<i>T. spiralis</i> - T1	(Paget et Owen, 1835)	Cosmopolite	Porcs, animaux sauvages
<i>T. nativa</i> - T2	Britov and Boev, 1972	Régions arctiques et subarctiques	Carnivores sauvages sauf rat
<i>T. britovi</i> - T3	Pozio, La Rosa, Murrell and Lichtenfels, 1992	Régions paléarctiques	Animaux domestiques et sauvages
<i>T. pseudospiralis</i> - T4	Garkavi, 1972	Cosmopolite	Mammifères, oiseaux
<i>T. murrelli</i> - T5	Pozio and La Rosa, 2000	Régions néarctiques	Animaux sauvages
T6	Pozio, La Rosa, Murrell and Lichtenfels, 1992	Régions néarctiques	Animaux sauvages
<i>T. nelsoni</i> - T7	Pozio, La Rosa, Murrell and Lichtenfels, 1992	Afrique équatoriale	Animaux sauvages
T8	Pozio, La Rosa, Murrell and Lichtenfels, 1992	Ethiopie, régions subtropicales	Animaux sauvages
T9	Nagano, Wu, Matsuo, Pozio, and Takahashi, 1999	Japon	Animaux sauvages
<i>T. papuae</i> - T10	Pozio, Kapel, and Gamble, 1999	Papouasie Nouvelle Guinée	Mammifères, reptiles
<i>T. zimbabwensis</i> - T11	Pozio, Foggin, Marucci, La Rosa, Sacchi, Corona, Rossi, and Mukaratirwa, 2002	Zimbabwe	Mammifères, reptiles
<i>T. patagoniensis</i> - T12	Krivokapich and Pozio, 2012	Argentine	Puma

3. Phylogénie

A l'exception de l'existence d'une capsule chez certaines espèces et une différence de taille chez les espèces non-encapsulées, les parasites du genre *Trichinella* ne peuvent pas se différencier par leur morphologie quel que soit le stade (E. Pozio et Zarlenga 2005). La phylogénie permet d'étudier les liens existants entre différentes espèces. Les premières études dans les années 1980 se sont basées sur les caractères génétiques et biochimiques, elles ont permis de distinguer les espèces encapsulées des espèces non-encapsulées (Edoardo Pozio et Zarlenga 2013) (Figure 2). En 2006, une équipe Américaine a étudié les relations phylogénétiques entre les espèces en se basant sur les séquences d'ADN de chaque espèce ou génotype. Cette étude a confirmé la présence de 2 clades qui auraient divergé durant le Miocène moyen, il y a 10 à 15 millions d'années. Les espèces encapsulées infectent les mammifères et auraient une origine Eurasienne, les espèces non-encapsulées infectent aussi les reptiles, crocodiles et oiseaux (Zarlenga *et al.* 2006). Le génome de *T. spiralis* a été séquencé en 2011 (Mitreva *et al.* 2011). Ce séquençage a permis une étude phylogénique basée sur la génomique et la transcriptomique en 2015 (Korhonen *et al.* 2016). Cette étude permet la distinction des espèces encapsulées de celles non-encapsulées mais les relations phylogénétiques retrouvées sont différentes de celles effectuées précédemment grâce à de l'ADN ribosomal et mitochondrial (Figure 3).

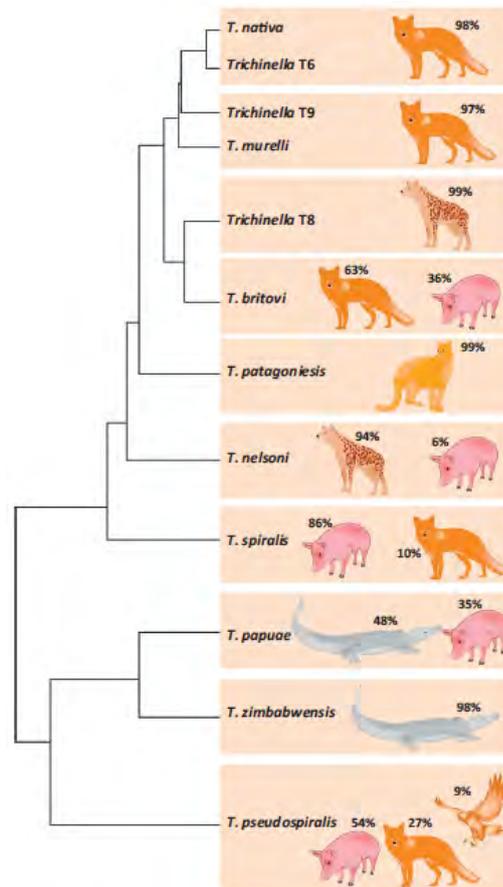


Figure 2 Taxa de *Trichinella* et principaux hôtes. Le renard et la hyène sont représentatifs des carnivores des continents Américain, Asiatique et Européen ou Africain respectivement. Le cochon représente les espèces et races de porcs domestiques et sauvages. Le crocodile représente le crocodile du Nile pour *T. zimbabwensis* et le crocodile des eaux salées pour *T. papuae*. L'oiseau représente les oiseaux carnivores. Les pourcentages se réfèrent à la probabilité de détecter un taxon de *Trichinella* dans le groupe d'hôtes. Les groupes d'hôtes dont l'importance épidémiologique est faible ne sont pas représentés. Les données sur les relations entre les *Trichinella* spp. et les hôtes et l'arbre du maximum de vraisemblance du genre *Trichinella* proviennent de (Edoardo Pozio et Zarlenga 2013). D'après (Edoardo Pozio 2014).

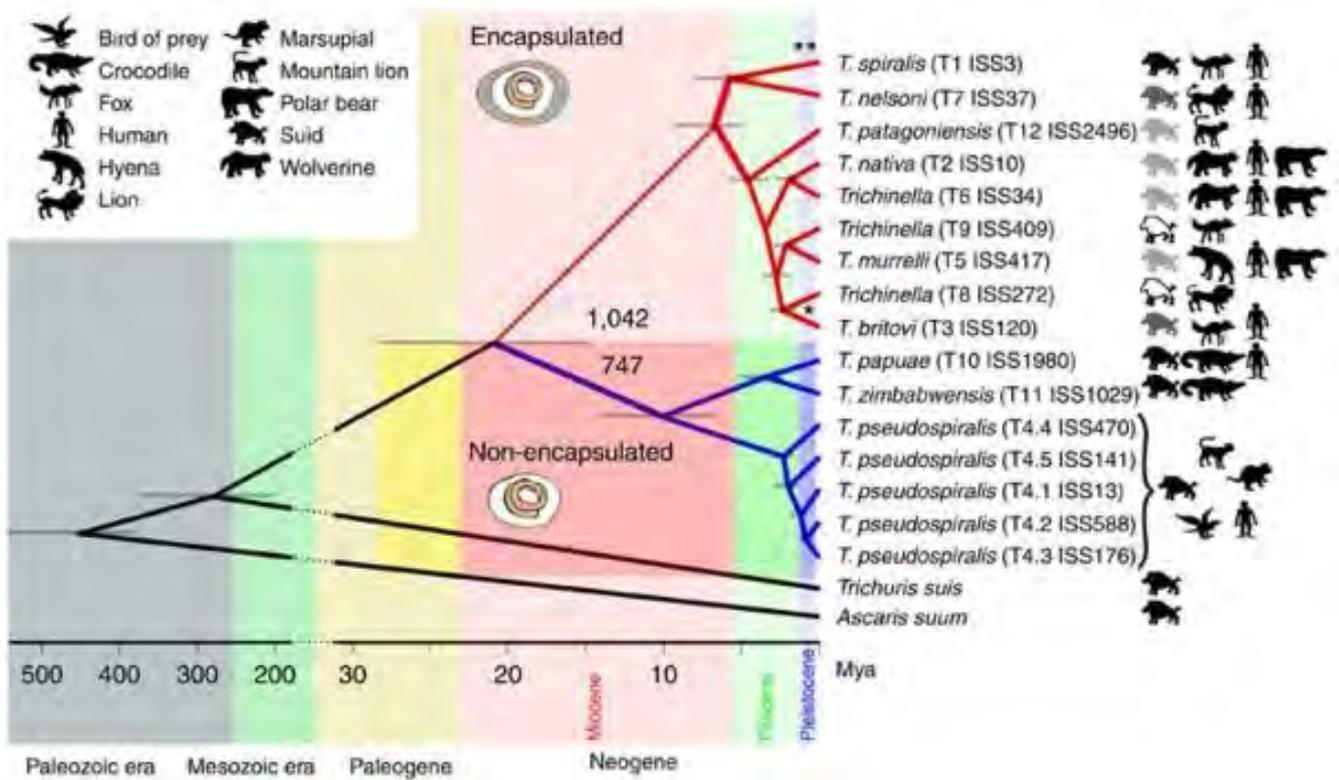


Figure 3 Phylogénie des espèces et génotypes de *Trichinella* basée sur l'analyse de séquences en acides-aminés en utilisant différentes méthodes : l'inférence Bayésienne, le maximum de vraisemblance, le maximum de parcimonie. *Trichuris suis* et *Ascaris suum* sont les groupes extérieurs. 1042 et 747 groupes de gènes orthologues sont uniques dans les espèces encapsulées (en rouge) et non-encapsulées (en bleu) respectivement. La topologie des arbres construits par les 3 méthodes était la même. La barre grise sur les nœuds représente l'intervalle de confiance à 95% pour l'estimation des branches d'espèces dans le temps. *T. spiralis* ISS 195 partage la même position phylogénétique que *T. spiralis* ISS 3 (**). Les animaux hôtes (sur la droite) : 1) les suidés (*Sus scrofa*) représentent à la fois les porcs sauvages et domestiques, le potentiel reproducteur d'un taxon particulier de *Trichinella* chez *Sus scrofa* est indiqué par une échelle de couleurs : blanc : pas d'accès aux données, gris clair : faible, gris foncé : intermédiaire, noir : élevé. 2) les autres animaux représentent des exemples d'animaux sauvages carnivores dans différentes régions géographiques, ils incluent les renards, les lions, les lions des montagnes, les marsupiaux, les crocodiles, les oiseaux de proie et l'homme (hôte accidentel). D'après (Korhonen et al. 2016).

4. Morphologie des différents stades parasitaires (ex *T. spiralis*)

a. Larves musculaires

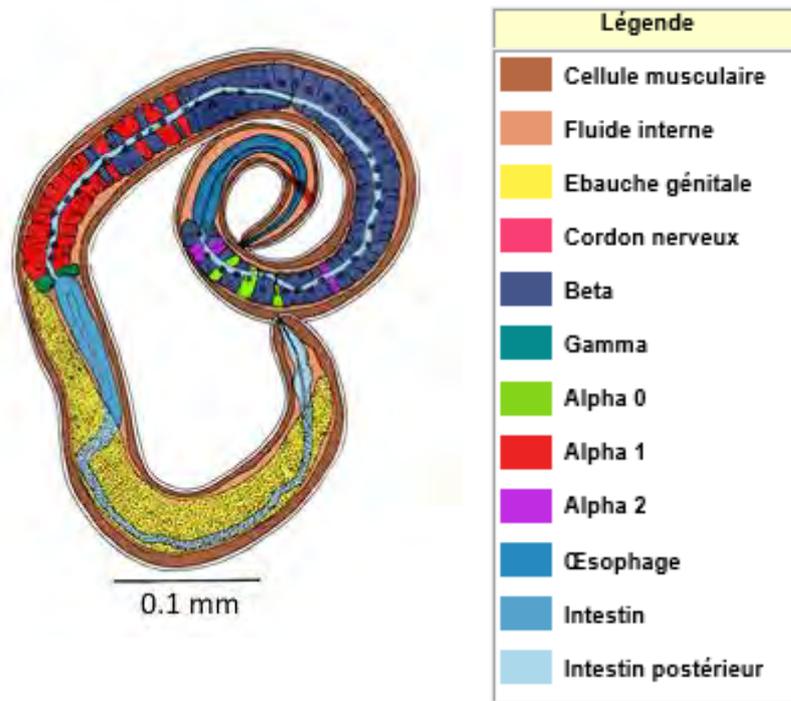


Figure 4 Larve musculaire (L1M) (1 mm x 40 µm). D'après (Vilella 1970).

La larve musculaire (L1M) mesure environ 1 mm de long et son diamètre est de 40 µm. La L1M est sexuée, on peut différencier les mâles qui possèdent une ébauche génitale émoussée et un rectum long aux femelles qui ont une ébauche génitale pointue et un rectum court. Le stichosome dans la partie antérieure est formé de stichocytes qui possèdent des granules denses contenant des enzymes antigéniques qui peuvent être sécrétées par le parasite. La L1M est plus épaisse en partie postérieure, c'est une apomorphie (caractère ancestral) des Trichinellidae (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015) (Figure 4).

b. Adultes

Les adultes sont aussi plus épais en partie postérieure. L'extrémité antérieure est plus étroite et possède la bouche suivie d'un œsophage tubulaire, entouré des stichocytes, qui s'étend sur la moitié du corps. Ensuite on retrouve un intestin à paroi fine et dilaté à l'origine qui s'abouche sur un rectum musculueux renforcé par de la chitine (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

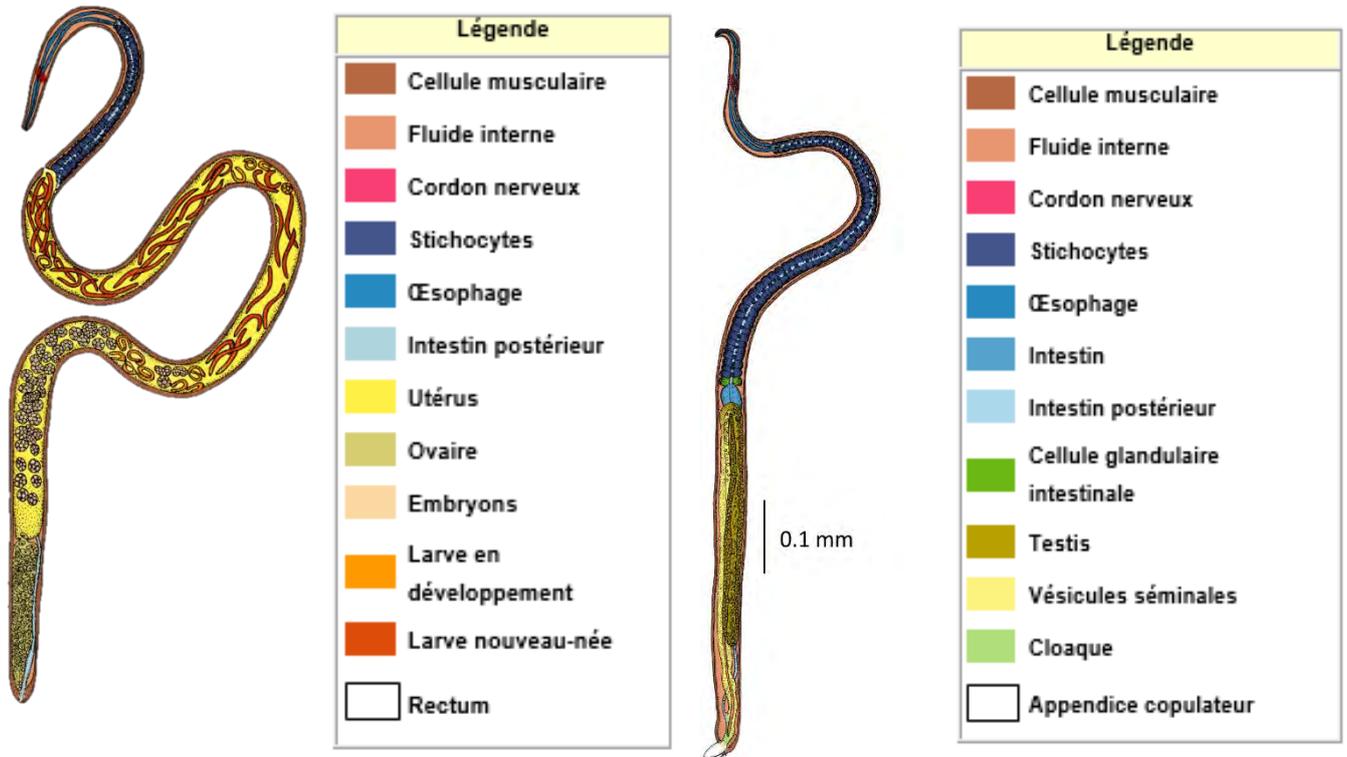


Figure 5 Vers adultes. D'après (Villella 1970).

a. Vers femelle (3 à 4 mm x 60 µm).

b. Vers mâle (1.4 à 1.6 mm x 40 µm).

Le vers femelle est vivipare, il mesure 3 à 4 mm de long et 60 µm de large. La vulve est en position centrale. Les œufs intra-utérins sont sphériques, leur membrane vitelline est très fine et ils mesurent 30 à 40 µm de diamètre. Les embryons mesurent 100 à 160 µm de long et 9 µm de large. Les oocystes ont des tailles variables : les plus petits sont dans la portion ventrale de l'ovaire, les plus grands sont dans la portion dorsale. Le rectum du vers femelle est plus court que celui du mâle (environ 25 µm) (Kozek 1975; J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

Le vers mâle est long de 1.4 à 1.6 mm et large de 40 µm. Il se distingue par ses deux appendices copulateurs de 10 µm autour de l'orifice du cloaque. Son rectum mesure 50 µm de long environ. Les spermatozoïdes sont tous de même taille. (Kozek 1975; J. Dupouy-Camet *et al.* 2015) (Figure 5).

c. Larves nouveau-nées

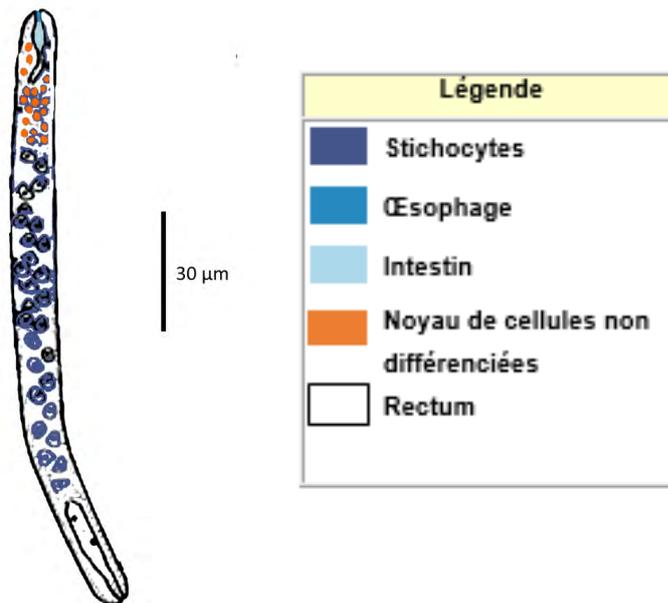


Figure 6 Larve nouveau-née (L1NN) (115 à 140 µm x 9 à 13 µm) provenant du muscle de souris 7 jours après infestation par des L1M. D'après (Khan 1966), modifié.

La larve nouveau-née (L1NN) mesure 0.08 mm de long et 7 µm de diamètre (D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001). Les structures rectales apparaissent dès le 3^e jour de développement de la larve et l'anus au 12^e jour. Au 12^e jour, la larve mesure 270 µm de long et 21 µm de large. Elle va s'accroître pour atteindre 252 à 705 µm de long et un diamètre de 24 à 29 µm 17 jours après infestation, elle est alors infestante pour l'hôte (Khan 1966) (Figure 6).

5. Développement parasitaire

a. Cycle auto-hétéroxène

Le développement des différents stades parasites de *Trichinella* s'effectue chez le même hôte. Le cycle est de type auto-hétéroxène, il se réalise sans passage par une forme intermédiaire dans le milieu extérieur. Il nécessite la présence d'un seul hôte qui est à la fois hôte définitif en hébergeant les vers adultes dans la muqueuse intestinale, puis hôte intermédiaire qui loge les L1M. L'infection s'effectue après ingestion de viande contaminée crue ou peu cuite. Les L1M encapsulées sont libérées au niveau de l'estomac et exposées à l'action de l'acide gastrique et de la pepsine qui vont libérer les L1M de leur capsule. Ensuite, les L1M vont pénétrer dans la muqueuse intestinale et entrer dans les entérocytes. Les L1M vont creuser des tunnels dans la muqueuse intestinale. Durant les 30 à 40 premières heures elles vont subir 4 mues successives (L2 à adulte) pour devenir des vers

adultes sexués. Les adultes mâles et femelles vont s'accoupler rapidement après la dernière mue. 2 jours après l'accouplement, les femelles vont libérer les premières L1NN. La ponte dure 5 à 6 semaines et chaque femelle libère 500 à 2000 L1NN. Une fois libérées, les L1NN vont migrer par les vaisseaux lymphatiques et sanguins de l'hôte jusqu'au cœur et aux poumons. Le cœur gauche les disperse dans la circulation générale. Elles vont être transportées essentiellement au niveau des muscles striés squelettiques les plus oxygénés (diaphragme, langue et muscles des membres). Cependant elles peuvent migrer vers l'encéphale, les poumons, le foie et le cœur et provoquer des complications (confère page 43). Les L1NN quittent les vaisseaux sanguins pour entrer dans les cellules striées squelettiques (CSS). Elles vont dédifférencier les CSS et les redifférencier en cellules nourricières. Dans la cellule nourricière, la L1NN va s'accroître et se transformer en L1M sans subir de mues. Les L1M sont infectieuses à partir du 14^e jour post-infection (p-i) mais la larve continue à s'accroître jusqu'au 20^e jour p-i. Dans la cellule nourricière, les L1M peuvent survivre plusieurs années (jusqu'à 40 ans chez l'Homme et 20 ans chez l'ours polaire). Chez les espèces encapsulées, la capsule est composée de la cellule nourricière et d'une paroi fibreuse contenant du collagène, ce qui leur confère une meilleure résistance (Ripert 1998; D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009) (Figure 7).

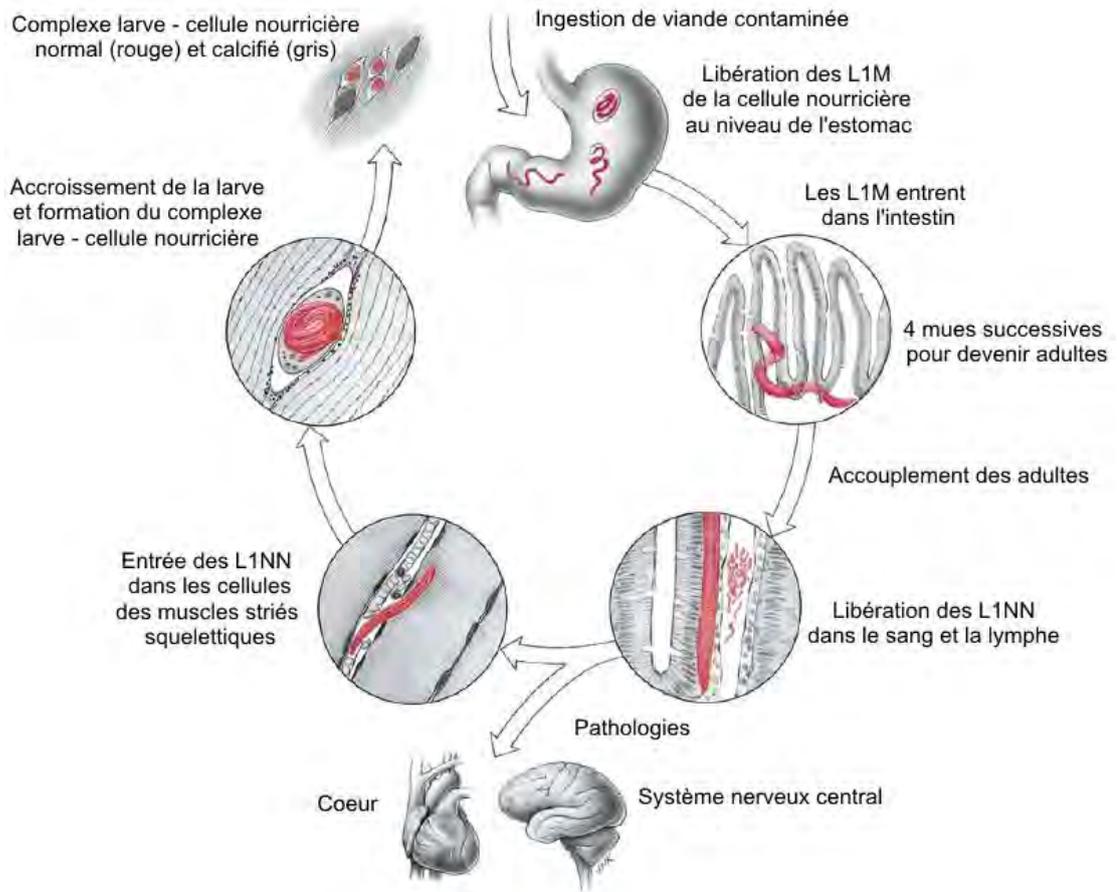


Figure 7 Développement de *Trichinella spiralis*. D'après (D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001) modifié. Larve musculaire : L1M, Larve nouveau-née : L1NN.

b. Formation de la cellule nourricière

Le mécanisme de formation des cellules nourricières n'est pas totalement connu. La formation de la cellule nourricière se fait grâce à une interaction entre le parasite et l'hôte. *Trichinella* tire parti de l'hôte pour sa survie en utilisant le système de régénération des cellules musculaires de l'hôte (Figure 8).

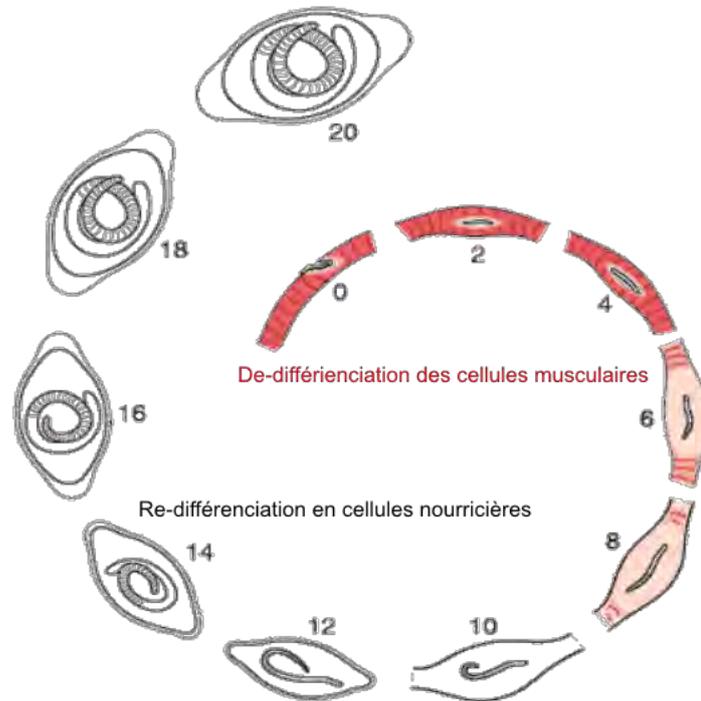


Figure 8 Développement de la cellule nourricière dans le muscle de l'hôte. D'après (D. Despommier et Racaniello 2004), modifié.

1) Activation des cellules satellites, prolifération et différenciation

L'accroissement des L1M endommage les cellules infectées. Un processus similaire à la régénération des cellules musculaires se met en place, des cellules satellites sont activées : les myoblastes. Les facteurs de régulation myogénique, ayant un rôle dans la myogenèse et la régénération musculaire, sont surexprimés ainsi que des gènes associés à la différenciation des cellules satellites et des marqueurs de l'activation des cellules satellites. Les cellules satellites vont donc permettre le remplacement des fibres musculaires endommagées. Des différences au niveau de l'expression des cadhérines ont été observées entre *T. spiralis* et *T. pseudospiralis* (Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013), pouvant expliquer la différence de virulence entre les deux espèces. L'IGF-1 permet la prolifération et la différenciation de cellules satellites lors de la régénération du muscle (Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

2) Dédifférenciation des cellules musculaires infectées et différenciation ratée des cellules satellites

Les cellules musculaires infectées n'arrivent pas à se régénérer. Des gènes de dédifférenciation sont surexprimés ce qui entraîne la production de facteurs myogéniques (Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

3) Pro-apoptose et anti-apoptose liées à l'accroissement de la larve et à sa survie

Le cytoplasme basophile des cellules musculaires va devenir éosinophile au cours du développement des cellules nourricières. Ce nouveau cytoplasme est métaboliquement actif (activité phosphatase alcaline). Le changement de cytoplasme suggère des mécanismes de pro-apoptose et anti-apoptose. Les mécanismes d'apoptose sont visibles morphologiquement et ont été montrés au niveau moléculaire, ils sont p-53 indépendants. Des gènes liés à l'apoptose sont présents dans le cytoplasme des cellules musculaires infectées. Le parasite exerce un stress cellulaire au niveau du cytoplasme éosinophile, des gènes d'apoptose sont donc exprimés. Mais des gènes anti-apoptotiques sont aussi présents dans le cytoplasme éosinophile. L'activité cytoplasmique est donc régulée par la balance entre l'expression des gènes apoptotiques et anti-apoptotiques. L'IGF-1 semble jouer un rôle dans la survie des cellules nourricières par l'activation de protéines anti-apoptotiques et l'inhibition de protéines pro-apoptotiques (Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

4) Cycle cellulaire

Les cellules musculaires infectées sont des cellules différenciées en phase G0. Après l'invasion par les L1NN, elles vont entrer à nouveau dans le processus du cycle cellulaire jusqu'en phase G2/M. Des gènes impliqués dans la prolifération, la réentrée et l'arrêt du cycle cellulaire des cellules musculaires infectées sont exprimés. IGF-1 joue aussi probablement un rôle dans la réentrée des cellules musculaires infectées dans le cycle cellulaire lors de la formation de la cellule nourricière par la voie des MAP kinases (Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

5) Les larves utilisent les systèmes métaboliques des cellules hôtes pour satisfaire leurs besoins nutritionnels

La cellule nourricière apporte les nutriments nécessaires à la croissance rapide de la larve et permet la gestion des déchets. Durant la formation du kyste, les besoins métaboliques de la larve sont importants, ce qui entraîne une augmentation de l'angiogenèse autour du

kyste. Il semblerait que la larve utilise le système métabolique de l'hôte ce qui expliquerait l'augmentation des taux d'insuline. Les gènes liés à la voie de signalisation de l'insuline sont surexprimés dans la cellule nourricière. La cellule nourricière synthétise du VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui favorise l'angiogenèse et la néovascularisation autour de la cellule nourricière (V. A. Capó, Despommier, et Polvere 1998).

6) Les protéines excrétées-sécrétées (ES) messagers instruisant les cellules musculaires pour qu'elles se transforment en cellules nourricières

Le processus de la formation des cellules nourricières semble être le résultat d'un conflit entre les signaux des cellules musculaires et des larves. Les protéines ES sont produites par les larves et permettent la cohabitation des cellules musculaires et des larves. Certaines protéines produites par les L1NN semblent jouer un rôle dans la formation de la cellule nourricière. Certaines protéines ES sont spécifiques d'un stade donné, mais la plupart des études ont été réalisées chez les L1M (Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

c. Développement de la capsule

Le kyste (ou capsule) est constitué d'une paroi fibreuse et de la cellule nourricière qui sont formées grâce à des cellules de l'hôte. Le terme capsule est alors souvent préféré car un kyste est formé à partir de cellules parasitaires. La paroi de la capsule comporte deux couches : une intérieure produite par la cellule nourricière et une extérieure produite par les fibroblastes autour de la capsule. Les cellules satellites sont localisées à l'intérieur de la paroi fibreuse et permettent une régénération constante des cellules. Ceci explique pourquoi la cellule nourricière reste intacte plusieurs années. La capsule est constituée de collagène de type IV et de type VI synthétisés par la cellule nourricière (Polvere *et al.* 1997; D. D. Despommier 1998; Zhiliang Wu *et al.* 2008; Z. Wu, Nagano, et Takahashi 2013).

1. Historique

L'origine du cycle domestique de *Trichinella* pourrait être liée à la domestication des porcs par l'*Homo sapiens* qui est passé du mode chasseur-cueilleur à la domestication et l'élevage après la dernière période glaciaire (après le 11^e millénaire avant Jésus Christ) (E. Pozio et Zarlenga 2005).

Les Juifs se sont aperçus du danger que pouvait présenter un animal qui, en apparence, était en bonne santé. Les maladies comme la trichinellose pourraient expliquer, en partie, l'interdiction de consommer de la viande de porc dans certaines religions, notamment juive et musulmane (Neghina *et al.* 2012). Au 20^e siècle, après l'autopsie d'une momie, des chercheurs ont trouvé un kyste de *Trichinella*, indiquant l'existence de la maladie depuis l'antiquité (de Boni, Lenczner, et Scott 1977). Cependant, Jean Dupouy-Camet remet en cause cette découverte, selon lui la momie présenterait plus probablement une cysticercose (Jean Dupouy-Camet 2015). Des larves de *Trichinella* ont été mises en évidence dans l'estomac d'Ötzi, chasseur préhistorique retrouvé momifié dans les Alpes (Lamoureux 2012).

Du 15^e au 19^e siècle, plusieurs épidémies de « grandes fièvres » se sont déroulées en Europe, d'abord en Angleterre et en Irlande puis en Allemagne et dans d'autres pays. Les personnes touchées présentaient les signes caractéristiques de la trichinellose. La maladie est apparue sur le continent Américain au 18^e siècle.

En 1835, Paget et Owen ont annoncé la découverte d'un parasite enkysté dans les muscles suite à une autopsie, et l'ont nommé « Trichina ». En 1846, Joseph Leidy, parasitologue, s'est aperçu que le porc pouvait être contaminé par le parasite. Entre 1855 et 1860, Zenker, Leuckart et Virchow ont mis en évidence le cycle évolutif de *T. spiralis*. Friedrich Zenker en 1860 a publié les signes cliniques de la maladie et a fait la connexion entre la maladie et la consommation de viande de porc peu cuite ou crue. En 1897, Thomas Brown a associé l'éosinophilie à la maladie. Le parasite a été renommé « *Trichinella spiralis* » par Louis-Joseph Alcide Railliet parce que le nom « Trichina » était déjà attribué à un insecte (Ripert 1998; Neghina *et al.* 2012).

Les nombreuses épidémies de trichinellose ayant eu lieu au 19^e siècle en Europe ont abouti à la mise en place de la trichinelloscopie pour le contrôle des porcs. Par mesure de sécurité,

l'Allemagne a interdit l'importation de porcs Américains dans les années 1880. En suivant, ces mesures ont été adoptées par plusieurs pays Européens. Suite à ces événements, le gouvernement Américain a mis en place le contrôle des porcs destinés à l'exportation par trichinelloscopie en 1890. A cette époque, la maladie était connue et reconnue dans le monde entier. Les cas de trichinellose ont diminué après les années 1950 aux Etats-Unis suite à l'interdiction de nourrir les animaux avec des déchets de viande de porc crue. A la fin du 19^e siècle, la maladie a été retrouvée en Inde et dans les régions arctiques. En 1945 en Irlande du Nord la maladie toucha 705 prisonniers Allemands, et plus de 1000 personnes ont été infectées en Pologne en 1960 (Ripert 1998; Neghina *et al.* 2012).

La mondialisation, c'est-à-dire l'échange de personnes, animaux, ressources et autres, contribue à la dissémination des parasites alimentaires. Ce phénomène crée par l'Homme a aussi des conséquences négatives au niveau de la sécurité alimentaire et au niveau économique. La distribution de *Trichinella* pourrait s'expliquer par deux phénomènes (Robertson *et al.* 2014) :

- le mouvement de personnes comme la dissémination des rats voyageant avec l'Homme ou la contamination de voyageurs qui consomme de la viande peu cuite ou crue comme l'ours.
- le mouvement de nourriture, par exemple, l'exportation et l'importation de porcs, essentiellement les échanges avec les pays où le contrôle de la viande est insuffisant.

2. Epidémiologie

a. Cycle sauvage et domestique

Trichinella peut se transmettre entre les animaux et l'Homme. La contamination s'effectue après ingestion de viande contaminée par des L1M. Les animaux sauvages sont les réservoirs principaux. Mais des transmissions peuvent avoir lieu entre la faune sauvage et domestique. Ces transmissions surviennent essentiellement dans les fermes où les pratiques sont à haut risque : nutrition intentionnelle des animaux avec des déchets alimentaires contenant des restes de porc, exposition non intentionnelle des animaux domestiques à des carcasses de porcs morts ou des animaux sauvages contaminés, élevage en plein air. Ces pratiques se retrouvent essentiellement dans les pays défavorisés où les services vétérinaires sont absents. Les hôtes de *Trichinella* spp. sont les mammifères omnivores monogastriques, les oiseaux et les reptiles (Edoardo Pozio 2014).

Des co-infections à plusieurs espèces de *Trichinella* ont été retrouvées chez des animaux sauvages en Finlande : *T. nativa* avec *T. britovi*, *T. nativa* avec *T. spiralis*, *T. nativa* avec *T. pseudospiralis* (Airas *et al.* 2010). En Afrique du Sud, un lion (*Panthera leo*) était co-infecté par *Trichinella* T8 et *T. nelsoni* (Marucci *et al.* 2009).

1. Sauvage

Le cycle sauvage se retrouve sur tous les continents à part l'Antarctique. En fonction de la localisation, différentes espèces animales et parasites sont présentes. Les mammifères monogastriques sont les réservoirs principaux de *Trichinella*. *T. pseudospiralis* touche aussi les oiseaux. *T. papuae* et *T. zimbabwensis* sont aussi retrouvées chez les reptiles. *T. spiralis* et *T. britovi* sont essentiellement retrouvées dans les zones tempérées chez les sangliers, les renards, les coyotes, les loups... Les rongeurs entretiennent le cycle sauvage par cannibalisme. *T. nelsoni* infecte les carnivores des zones tropicales comme les hyènes et les phacochères. *T. nativa* se retrouve dans les zones arctiques et subarctiques et infecte essentiellement les renards, les ours, les loups, les chiens et les morses (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015). Le raton laveur est un réservoir de *Trichinella*, il a été importé en Russie au 20^e siècle et participe à la dissémination des espèces de *Trichinella* en Europe (Edoardo Pozio 2015).

2. Domestique

Le porc et le cheval sont source de contamination chez l'Homme. Le chien provoque aussi des infections chez l'Homme, notamment en Chine (M. Liu et Boireau 2002). Le porc peut se contaminer par l'ingestion de déchets contaminés, par le biais des rongeurs présents dans les fermes ou par caudophagie. Il peut aussi se contaminer lors d'exposition à des carcasses d'animaux sauvages contaminés. Le contrôle de la viande de porc permet de limiter les contaminations mais des cas persistent en Europe de l'Est, Asie et Amérique du Sud car la surveillance n'est pas suffisante. Des cas de trichinellose Humaine ont été rapportés en entre 1975 et 2005 en France et en Italie après consommation de viande de cheval contaminée par *T. spiralis*, *T. murrelli* ou *T. britovi*. Ces contaminations sont attribuables aux habitudes alimentaires, la consommation de viande crue ou peu cuite. La viande de cheval à l'origine de ces épidémies a été importée d'Europe de l'Est ou du continent Américain. 5 patients sont décédés en 1985 en France (Boireau *et al.* 2000; Edoardo Pozio 2014; J. Dupouy-Camet *et al.* 2015; Edoardo Pozio 2015). Le cheval est vecteur de la maladie mais n'est pas un réservoir de *Trichinella* (E. Pozio 2005).

b. Répartition géographique des cas de trichinellose Humaine

1. Au niveau mondial

La trichinellose est une zoonose importante au niveau mondial. 10 000 nouveaux cas par an sont rapportés au CDC. Entre 1986 et 2009, plus de 65 000 cas ont été rapportés dans le monde. La majorité des cas ont été rapportés en Europe dont plus de 50% en Roumanie. Sur le continent Américain, la majorité des cas de trichinellose est due à la consommation de viande d'ours et de morse. Aux Etats-Unis 12 cas ont été rapportés entre 1997 et 2001. En Amérique du Sud et en Amérique centrale, la trichinellose porcine est toujours un problème.

En Afrique, de rares cas de trichinellose ont été rapportés suite à la consommation de porc dans les communautés non soumises aux interdits religieux. Des cas de trichinellose ont été rapportés suite à la consommation de phacochère, de sanglier et de chacal.

En Asie, des cas de trichinellose ont été rapportés suite à la consommation de sanglier et de porc. En Chine la maladie est un véritable problème de santé publique, entre 1964 et 2002 plus de 500 épidémies ont eu lieu. Cependant le nombre de cas est sous-estimé puisque la maladie n'est pas à déclaration obligatoire. Le chien est source de contamination. Au Japon des cas ont été rapportés suite à la consommation d'ours. En Corée et en Thaïlande des contaminations ont eu lieu chez des consommateurs de tortues.

En Océanie on retrouve des cas de trichinellose Humaine suite à la consommation de viande de porc (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

2. Au niveau Européen

Entre 1986 et 2010, 65818 infections et 42 morts ont été rapportés dans 41 pays dont 87% des cas en Europe (K. Darwin Murrell et Pozio 2011). 175 cas ont été rapportés en 2005, 776 en 2006 et 867 en 2007 en Europe. L'augmentation du nombre de cas pourrait s'expliquer par l'entrée de la Roumanie et de la Bulgarie dans l'Union Européenne (Jean Dupouy-Camet, Talabani, et Ancelle 2010). Selon le Centre Européen pour la prévention et le contrôle des maladies (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)) entre 2008 et 2012, 2289 cas ont été rapportés en Europe dont 51% des cas en Roumanie (1177 cas) et 23% en Bulgarie. 537 cas ont été rapportés en 2013 et 2014 en Europe. Depuis 2007 on observe une diminution du nombre de cas de trichinelloses Humaines (Tableau 3, Figure 9).

Tableau 3 Cas de trichinellose rapportés à l'ECDC en Europe entre 2007 et 2014
 (« European Centre for Disease Prevention and Control », s. d.).

Pays	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007
	Cas rapportés		Cas confirmés	Cas rapportés				
Allemagne	1	14	2	3	3	1	1	10
Autriche	0	0	0	1	5	0	0	0
Belgique	16	1	0	0	3	0	5	3
Bulgarie	60	36	30	27	14	407	67	62
Chypre	0	0	0	0	0	0	0	0
Croatie	3	0	-	-	-	-	-	-
Danemark	-	-	-	-	-	-	-	-
Espagne	1	23	10	18	10	7	27	36
Estonie	0	0	0	0	0	0	0	0
Finlande	0	0	0	0	0	0	0	0
France	0	0	0	2	0	9	3	1
Grèce	0	0	0	0	4	2	0	0
Hongrie	0	0	0	0	0	9	5	2
Irlande	0	0	0	0	0	0	0	2
Italie	-	-	33	6	0	1	0	1
Lettonie	5	11	41	50	9	9	4	4
Lituanie	5	6	28	29	77	20	31	8
Luxembourg	0	0	0	0	0	0	0	0
Malte	0	0	0	0	0	0	0	0
Pays-Bas	0	0	0	1	0	1	1	0
Pologne	6	4	1	10	14	18	4	217
Portugal	0	0	0	0	0	0	0	0
République Tchèque	0	0	1	0	0	0	0	0
Roumanie	221	116	149	107	82	265	503	432
Royaume-Unis	1	0	0	0	0	0	0	0
Slovaquie	0	5	5	13	2	0	18	8
Slovénie	0	1	1	1	0	1	1	0
Suède	1	0	0	0	0	0	0	1
Total UE	320	217	301	268	223	750	670	787
Islande	0	0	-	-	-	-	-	-
Liechtenstein	-	-	-	-	-	-	0	-
Norvège	0	0	0	0	0	0	0	0

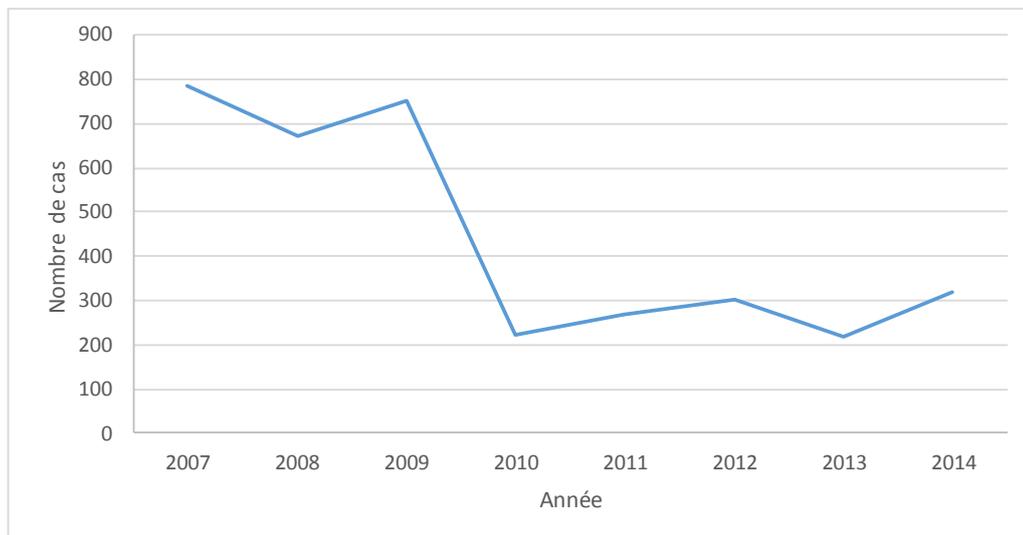


Figure 9 Evolution du nombre de cas de trichinelloses Humaines en Europe de 2007 à 2014 (« European Centre for Disease Prevention and Control », s. d.)

3. En France

En France, 2538 cas ont été rapportés entre 1975 et 2005 (« Centre national de référence des *Trichinella* », s. d.) et 14 cas entre 2008 et 2012 (« European Centre for Disease Prevention and Control », s. d.). Des cas de trichinellose ont été rapportés après consommation de viande provenant de Corse en 2015 (Peignaud et Orsoni 2015). Trois Français se sont contaminés suite à la consommation de viande d'Ours Polaire infestée par *T. nativa* (« ProMED - the Program for Monitoring Emerging Diseases » 2016). Les cas de trichinellose Humaine en France sont dus à des viandes contaminées importées et non contrôlées. Aucun cas de trichinellose Humaine n'a été déclaré sur de la viande contrôlée depuis 1998 (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

4. Les cas récents de trichinellose

En aout 2016, 4 cas de trichinellose ont été rapportés en Ukraine suite à la consommation de viande achetée sur un marché. Les personnes ont été hospitalisées.

20 personnes se sont contaminées en Sibérie (Russie) suite à la consommation de viande d'ours et ont été hospitalisées.

3 Français se sont contaminés suite à la consommation de viande d'ours polaire (*Ursus maritimus*) lors d'un voyage au Groenland en février. L'un des consommateurs, âgé de 55 ans s'est présenté à l'hôpital Cochin pour des douleurs musculaires et une forte fièvre. Un autre consommateur, âgé de 56 ans, était totalement asymptomatique. Le dernier consommateur, âgé de 59 ans, a présenté des diarrhées, une forte fièvre, des myalgies et

un léger œdème facial. Des tests sanguins ont été effectués sur tous les patients et ont montré des taux d'enzymes musculaires et d'éosinophiles élevés. Les tests sérologiques se sont révélés positifs pour les trois patients. Ils ont été traités par albendazole pendant 10 jours.

49 personnes se sont contaminées suite à la consommation de viande de porc en Argentine (« ProMED - the Program for Monitoring Emerging Diseases » 2016).

3. Relation hôte - pathogène

a. Pathogénèse

La pathogénèse est un processus basé sur des mécanismes physiologiques, biochimiques ou moléculaires, et qui conduit à des effets nocifs pour l'hôte : l'épuisement de ses ressources, la destruction des tissus, des altérations du comportement, une diminution de la fécondité, la mort prématurée...(Schmid-Hempel 2009).

Le pouvoir pathogène des adultes est essentiellement dû aux femelles par une action mécanique et irritative en perforant la muqueuse intestinale, une action toxique et antigénique par libération de produits ES, une action bactéricide limitée. Les larves sont aussi pathogènes par leur action toxique et irritative lors de l'enkystement dans le muscle et une action antigénique qui active le système immunitaire de l'hôte (Ripert 1998).

La réponse de l'hôte à l'infection par *Trichinella* est très variable, elle serait liée au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Différents mécanismes d'activation du système immunitaire de l'hôte se mettent en place lors de la phase intestinale et de la phase parentérale. Les anticorps sont les effecteurs majeurs de l'immunité contre *Trichinella*.

Lors de la phase intestinale, le système immunitaire permet l'élimination des vers adultes et limite la durée de la phase intestinale (Wakelin 1993). L'infestation provoque une infiltration de cellules inflammatoires (lymphocytes, mastocytes et éosinophiles) au niveau de la *lamina propria*. La réponse immunitaire est dépendante des lymphocytes T (LT) CD4+, qui sont spécifiques du parasite et activés dans les 2 à 4 jours p-i, au niveau de la *lamina propria* de la muqueuse intestinale. Les LT migrent vers les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques. L'intégrine VLA-4 permet aux LT de franchir l'endothélium vasculaire pour se déplacer de l'intestin vers la circulation sanguine et ré-entrer dans l'intestin au site de l'infection. Elle est aussi impliquée dans la migration des macrophages et des éosinophiles et à travers l'endothélium veineux. Une réponse de type Th1 se met en place durant la phase intestinale, les cellules des ganglions mésentériques libèrent de l'interféron γ et des

interleukines (IL) 2 et 3. L'interleukine 2 stimule la prolifération des lymphocytes T et B, l'interleukine 3 permet de stimuler l'hématopoïèse. Sous l'action de l'IL 3, les mastocytes vont libérer des médiateurs (protéinases à activité chymotrypsique, « platelet activating factor » (PAF), « eosinophil chemotactic factor » (ECF-A), leukotriènes, histamine et sérotonine) qui permettent l'expulsion des vers adultes de l'intestin en modifiant la motricité intestinale. L'interféron γ permet l'activation des macrophages. D'autres cellules jouent un rôle dans l'élimination des vers adultes au niveau intestinal : les cellules caliciformes par l'hypersécrétion de mucus empêchent le contact entre le parasite et l'épithélium intestinal (Soulé *et al.* 1991; Bell 1998; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2012).

Lors de la phase musculaire, l'entrée du parasite produit une inflammation chronique au niveau du muscle de l'hôte. Une réponse de type Th2 se met en place avec la libération des IL 4, 5, 6, 10 et 13. Cette phase dure pendant toute la phase chronique de l'infection. Durant cette phase, des anticorps IgG et IgE spécifiques sont produits en grande quantité, les taux d'IgM et IgA sont plus faibles. Les anticorps produits contre le β -tyvelose (sucre inhabituel, partie immunodominante des principaux antigènes des glycoprotéines larvaires de *Trichinella spiralis* (Goyal, Wheatcroft, et Wakelin 2002)) participent à l'expulsion des vers adultes de l'intestin en empêchant l'interaction entre le parasite et les entérocytes de l'hôte (Sofronic-Milosavljevic *et al.* 2015).

Les IL 4 et 13 sont produites par les cellules Th2 et les cellules natural killer (NK).

Les IL 4 et 10 stimulent la synthèse d'IgE, l'IL 4 participe aussi au transport de l'IgE au niveau intestinal. L'IL 4 joue un rôle dans l'expulsion des vers au niveau de l'intestin par son action sur les IgE et en stimulant la prolifération des mastocytes au niveau de la muqueuse intestinale, la réponse des cytokines de type Th2, la croissance des LT, en augmentant l'expression de VCAM-1 (récepteur des cellules endothéliales pour l'intégrine VLA-4). L'IL 10 et le TGF β (Transforming Growth Factor) sont des cytokines régulatrices. Elles participent au contrôle de l'inflammation au niveau musculaire (Aranzamendi *et al.* 2012). Le TGF β pourrait favoriser l'enkystement des larves au niveau musculaire pour protéger le parasite du système immunitaire de l'hôte (Picherot *et al.* 2007).

Les IL 5 et 6 favorisent le développement des éosinophiles, leur quantité et leur vitesse d'apparition sont fonction de l'intensité de l'infection. Les éosinophiles apparaissent lors de la migration des L1NN, et permettent leur élimination (Fabrizio Bruschi 2002; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2011).

L'IL 3 stimule la synthèse de mastocytes à partir du 7^e jour p-i. La dégranulation des mastocytes libère des protéases qui vont augmenter la perméabilité intestinale et faciliter le passage des anticorps au niveau du site de l'infection. Les mastocytes permettent le recrutement des éosinophiles sur le site de l'infection. Les mastocytes produisent de l'IL 4 et du TNF α (tumor necrosis factor). Ils sont donc impliqués à la fois dans la phase aiguë de l'infection pour l'expulsion des vers intestinaux mais aussi lors de la phase chronique. Le TNF α est une cytokine pro-inflammatoire. Les taux de TNF α sont plus élevés au niveau de la muqueuse intestinale (Picherot *et al.* 2007). Cette cytokine participerait à l'inflammation de la muqueuse et à la production d'oxyde nitrique (NO) pour l'élimination du parasite. Les antigènes du groupe TSL-1 pourraient avoir un effet de régulation sur la dégranulation des mastocytes (Fabrizio Bruschi 2002; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2011).

Les éosinophiles et les neutrophiles participent à la destruction des L1NN par ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity). L'infiltrat cellulaire autour de la cellule nourricière est composé de macrophages, LT CD4+, CD8+ et quelques lymphocytes B (Finkelman *et al.* 1997; Bell 1998; Fabrizio Bruschi 2002; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2011).

b. Stratégies d'échappement au système immunitaire de l'hôte

La possibilité de s'établir avec succès au niveau du muscle de l'hôte dépend principalement de la capacité de *Trichinella* à échapper au système immunitaire de l'hôte. Différentes stratégies sont adoptées par le parasite (Fabrizio Bruschi 2002; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2012).

1. Les mécanismes antigène dépendants

Après la migration des L1NN au niveau des systèmes lymphatiques et sanguins, les larves vont atteindre les muscles striés squelettiques de l'hôte. Un moyen de s'isoler du système immunitaire l'hôte est la formation de la cellule nourricière et de la capsule de collagène. Le parasite est alors protégé des anticorps et des cellules effectrices de l'immunité de l'hôte. Lors de la formation de la cellule nourricière, un dialogue entre l'hôte et le parasite est nécessaire pour une relation au long terme. Le maintien de la cellule nourricière est possible grâce aux échanges entre les 2 entités. Ces échanges dépendent essentiellement de molécules signalétiques sécrétées comme les cytokines. Les cellules de l'hôte répondent aux signaux moléculaires en participant à la formation de la cellule nourricière (D. D. Despommier 1998; Fabrizio Bruschi 2002; Fabrizio Bruschi et Chiumiento 2012).

Par ailleurs la modification des antigènes de surface parasitaire permet à *Trichinella* d'échapper à l'action des cellules effectrices de l'immunité de l'hôte. La cuticule de *T. spiralis* est un organe dynamique qui subit des changements protéiques pendant le processus de mues et pendant la croissance. Chaque stade exprime des molécules de surface spécifiques (Philipp, Parkhouse, et Ogilvie 1980). Mais des changements d'expression des protéines de surface s'observent aussi au sein d'un même stade. Durant leur développement, les L1NN subissent des modifications au niveau de l'expression des protéines de surface qui permettent l'échappement au système immunitaire de l'hôte (Jungery, Clark, et Parkhouse 1983). Un même stade peut exprimer des profils protéiques différents pour s'adapter à l'environnement local (Fabrizio Bruschi 2002).

2. Les modulations du système immunitaire de l'hôte

Au niveau central

Lors de la production des L1NN, une immunosuppression apparaît, ce qui suggère que les L1NN libèrent des facteurs lymphocytotoxiques.

Le parasite stimule l'activation polyclonale de lymphocytes, ce qui pourrait participer à l'augmentation des IgE non spécifiques au profit des IgE spécifiques. Le rôle des IgE n'est pas clair, ces anticorps pourraient participer aux mécanismes d'échappement au système immunitaire de l'hôte ou avoir un rôle protecteur contre *Trichinella*.

Le parasite stimule aussi la production d'éosinophiles ce qui diminue la réponse immunitaire Th1, néfaste pour le parasite.

Au niveau périphérique

Les antigènes sécrétés par le parasite pourraient aussi empêcher la maturation des cellules dendritiques présentatrices d'antigène, favorisant ainsi une réponse Th2. Ils pourraient aussi stimuler la production de lymphocytes T régulateurs qui inhibent la production des autres lymphocytes T effecteurs (Aranzamendi *et al.* 2012).

Trichinella produirait des MIF (migration inhibitory factor), cytokines impliquées dans l'inflammation. Les MIF modulent la production des cytokines et la migration des monocytes et permettent l'activation des lymphocytes T (Vermeire *et al.* 2008).

Trichinella peut moduler les fonctions des leucocytes de l'hôte. Certaines protéines ES des L1M inhibent le chimiotactisme des neutrophiles de l'hôte. Des produits ES de *T. spiralis* pourraient moduler les fonctions des macrophages notamment en diminuant leur capacité

à exprimer des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL 1, IL 6 et IL 12) en présence de LPS (Lipopolysaccharide) (Bai *et al.* 2012).

Trichinella produirait des anticorps spécifiques capables de bloquer la réaction d'ADCC des éosinophiles et des neutrophiles contre les L1NN.

Chez l'Homme et les animaux infectés, les taux de complexes immuns circulants sont augmentés, ce qui pourrait être lié au parasite.

Il semble que *Trichinella* puisse produire des composés capables d'inhiber l'assemblage et la polymérisation du complexe d'attaque membranaire (MAC), empêchant les dommages liés au système du complément. Les différents stades de *T. spiralis* et *T. nativa* ont la capacité d'activer le système du complément et d'échapper à son attaque mais les mécanismes en jeu ne sont pas encore clairs (Anu Näreaho *et al.* 2009).

4. Diagnostic

a. Diagnostic clinique et biologique

Le diagnostic précoce est difficile puisque les signes cliniques ne sont pas spécifiques de la maladie. Le diagnostic est souvent posé lors de la phase musculaire quand les larves sont déjà installées dans le muscle. La capsule de collagène leur permet alors de résister aux traitements. Le diagnostic de la trichinellose se base sur les critères suivants (Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009; Bourée et Dupouy-Camet 2014) :

- Les signes cliniques : les signes les plus évocateurs sont la fièvre, les myalgies, l'œdème de périorbitaire. D'autres symptômes peuvent apparaître comme les troubles gastro-intestinaux ou les hémorragies sub-conjonctivales, sublinguales ou rétiniennes.
- Les signes biologiques, non spécifiques, sont les suivants : une éosinophilie qui peut être très élevée ($> 10\ 000$ éosinophiles/mm³), une hyperleucocytose (15 000 à 20 000 globules blancs/ mm³). La vitesse de sédimentation et la CRP sont élevées. L'ionogramme est aussi perturbé avec une hypoprotidémie (et une hypoalbuminémie), augmentation des alpha 1, alpha 2 et gammaglobulines, augmentation des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT). Une hypokaliémie et une augmentation des enzymes musculaires (CPK, LDH, aldolase) peuvent apparaître,
- Le diagnostic parasitologique : l'identification des larves de *Trichinella* par biopsie musculaire au niveau du deltoïde peut être réalisée 1 mois après infestation, une fois

que les larves sont enkystées dans le muscle. Les méthodes utilisées sont la trichinelloscopie et l'histologie.

- Le diagnostic immunologique : détection des anticorps spécifiques dans le sérum par différentes méthodes sérologiques : test ELISA, hémagglutination, immunofluorescence, agglutination au latex ou Western Blot. En pratique, les tests les plus utilisés sont l'ELISA ou l'immunofluorescence et la confirmation se fait par Western Blot qui est un test plus spécifique. Les IgM spécifiques sont détectables dès le 15^e jour après l'infestation, les IgG apparaissent plus tardivement mais persistent plusieurs années.
- Les investigations épidémiologiques permettent d'identifier la source et l'origine de l'infection.

Un algorithme peut être utilisé pour diagnostiquer la maladie (Tableau 4) (Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002).

*Tableau 4 Algorithme pour diagnostiquer la probabilité d'infection de l'Homme par Trichinella. La maladie est très peu probable : 1 A ou 1 B ou 1 C, suspectée si 1 A ou 2 B + 1 C, probable si 3 A + 1 C, très probable si 3 A + 2 C, confirmée si 3 A + 2 C + 1D ou >1 A ou B + 1C + 1D. D'après (Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002)*

Groupe	Caractéristiques
A	Fièvre Œdème de la face et/ou des paupières Myalgies
B	Signes neurologiques Signes cardiologiques Conjonctivite Hémorragies sub-linguales Rash cutané Diarrhées
C	Eosinophilie (> 1000 cellules / mm ³) et/ ou augmentation des taux d'IgE Augmentation des enzymes musculaires
D	Sérologie positive (avec un test très spécifique) Séroconversion Biopsie musculaire positive

b. Diagnostic différentiel

Les erreurs de diagnostic sont fréquentes car les signes cliniques de la trichinellose ne sont pas spécifiques. En hiver, la trichinellose est confondue avec la grippe à cause des douleurs musculaires. Les infections du tube digestif comme la salmonellose ou la shigellose provoquent aussi des troubles gastro-intestinaux. Certains syndromes peuvent provoquer des douleurs musculaires et des éosinophilies : syndrome de choc toxique, prise de tryptophane, fasciite à éosinophiles (ou syndrome de Shulman). D'autres parasitoses comme les fascioloses, toxocaroses et schistosomiasés provoquent des éosinophilies associées à de la fièvre. Des œdèmes périorbitaires ou faciaux peuvent être associés à de la fièvre dans les glomérulonéphrites, les réactions allergiques, les maladies sériques (hypersensibilités), les polymyosites (maladies musculaires inflammatoires), les dermatomyosites, la périarthrite noueuse (vascularite systémique nécrosante). Les signes cliniques des méningites et encéphalopathies sont similaires aux troubles neurologiques retrouvés dans la trichinellose : maux de tête, confusion, irritabilité ou somnolence. La leptospirose, les endocardites bactériennes et le typhus exanthématique peuvent provoquer des hémorragies conjonctivales ou des pétéchies associées à de la fièvre. La fièvre typhoïde provoque des troubles neurologiques associés à des fièvres élevées mais sans œdème péri-orbitaire. La confirmation de la trichinellose se fait par test sérologique ou biopsie musculaire (Jean Dupouy-Camet et al. 2002).

5. Clinique

a. Signes cliniques chez les animaux

L'animal est généralement asymptomatique, ce qui explique qu'il puisse être réservoir de la maladie. Après de fortes infestations (expérimentales), l'animal peut présenter des symptômes, ils sont souvent modérés et régressent en quelques jours. Les signes cliniques de l'infection à *Trichinella* sont dose-dépendants. Des infestations fortes peuvent entraîner la mort en quelques semaines. La plus haute infection naturelle a été évaluée à plus de 8 000 larves par gramme dans le diaphragme d'un porc qui ne présentait aucun signe clinique. Le terme de trichinellose est donc utilisé seulement chez l'Homme. Chez l'animal on parle d'infection à *Trichinella* (Edoardo Pozio et Zarlenga 2013; Bourée et Dupouy-Camet 2014).

Dans une étude réalisée chez le porc, certains animaux ont présenté des signes cliniques de la trichinellose après infestation par *T. spiralis* : dyspnée, œdème périorbitaire et troubles respiratoires (Ribicich et al. 2007).

Airas *et al.* (2012) ont observé une diminution de la prise alimentaire chez le rat après une infection par *Trichinella*. Aucun effet sur le poids n'a été observé. Cependant, une dose infestante supérieure à 4 000 larves par rat pourrait avoir un effet sur la prise de poids (Airas *et al.* 2012).

Le raton laveur présente peu de signes cliniques dus à l'infection par *Trichinella*, faisant de lui un animal réservoir potentiel. Une étude a montré que certains animaux infectés expérimentalement ont perdu l'appétit, un seul animal a vomi. Des diarrhées ont été observées dans le groupe contrôle et le groupe infecté. La perte de poids chez les animaux infectés a été plus prononcée et plus longue que dans le groupe contrôle. Aucun animal n'a présenté de fièvre. Concernant la biologie : le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite étaient significativement plus bas dans le groupe infecté (A. Näreaho *et al.* 2000).

Les chevaux peuvent présenter des signes cliniques typiques de la trichinellose. A forte dose, ils peuvent avoir des troubles musculaires avec une augmentation des enzymes musculaires : lactate déshydrogénase (LDH), créatine phosphokinase (CPK) et aldolase (Soule *et al.* 1989).

Des infections expérimentales ont été réalisées chez des singes vervets et des babouins avec *T. zimbabwensis*. Des signes cliniques pouvant être graves ont été rapportés : fièvre élevée, diarrhées, œdème périorbitaire et douleurs musculaires. Un babouin est devenu aveugle. Les taux de CPK et LDH étaient élevés, une éosinophilie a été retrouvée. 2 singes et 2 babouins sont morts durant l'expérience (Mukaratirwa *et al.* 2008).

Après des infections naturelles, les animaux sont généralement asymptomatiques. Des signes cliniques peuvent apparaître après de fortes doses infestantes expérimentalement et provoquer la mort.

b. Signes cliniques chez l'Homme

La sévérité de l'infection dépend de plusieurs critères (Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002) :

- La dose infestante (nombre de larves ingérées)
- La fréquence de consommation de viande infectée
- La cuisson de la viande
- La quantité d'alcool consommée en même temps que la viande contaminée, l'alcool peut augmenter la résistance à l'infection
- L'espèce de *Trichinella* impliquée

- La susceptibilité individuelle.

L'infection par *Trichinella* chez l'Homme se divise en deux phases : la première phase est intestinale (ou entérale), la seconde est musculaire (parentérale ou systémique). Ces deux étapes s'expliquent par le développement parasitaire (confère page 22). Les infections de faible intensité peuvent être asymptomatiques. Les infections plus importantes sont à l'origine de diarrhées, nausées et douleurs abdominales dans les 2 jours p-i. Ces signes cliniques sont dus à la pénétration des L1M au niveau de la muqueuse intestinale et durent plusieurs jours. Ils peuvent être associés à des vomissements et de la fièvre. Au niveau biologique, une éosinophilie est observée. Les premiers signes cliniques ne sont pas spécifiques de la maladie et peuvent donc aboutir à une erreur diagnostique (Figure 10) (V. Capó et Despommier 1996; D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

La phase parentérale débute une semaine après l'infestation. La migration des L1NN dans les systèmes lymphatique et sanguin provoque de la fièvre, des œdèmes faciaux péri orbitaux et des conjonctivites. La pénétration des L1NN dans les cellules musculaires striées squelettiques peut entraîner des myalgies, des paralysies, des difficultés à avaler, des migraines, des éruptions cutanées, des insomnies, des pertes de poids, des troubles visuels... Les myalgies sont plus fréquentes et douloureuses au moment où les L1NN commencent à s'enkyster dans le muscle. Au niveau biologique, ces signes sont corrélés à l'élévation de la CPK. La pénétration des L1NN au niveau du diaphragme et des muscles respiratoires accessoires peut entraîner des dyspnées.

Lors de la période d'état, les kystes musculaires peuvent entraîner des troubles généraux secondaires : asthénie, crampes fréquentes, troubles vasculaires (artérite, troubles trophiques).

La phase chronique se caractérise par la destruction des kystes par l'hôte au bout de plusieurs années. Cette phase est très lente et variable en fonction de l'espèce de *Trichinella* et de l'hôte. Le kyste dégénère et la larve meure. Le complexe devient alors marron foncé avec un résidu noir au centre (larve). Une calcification peut se produire mais reste exceptionnelle.

(V. Capó et Despommier 1996; Ripert 1998; D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

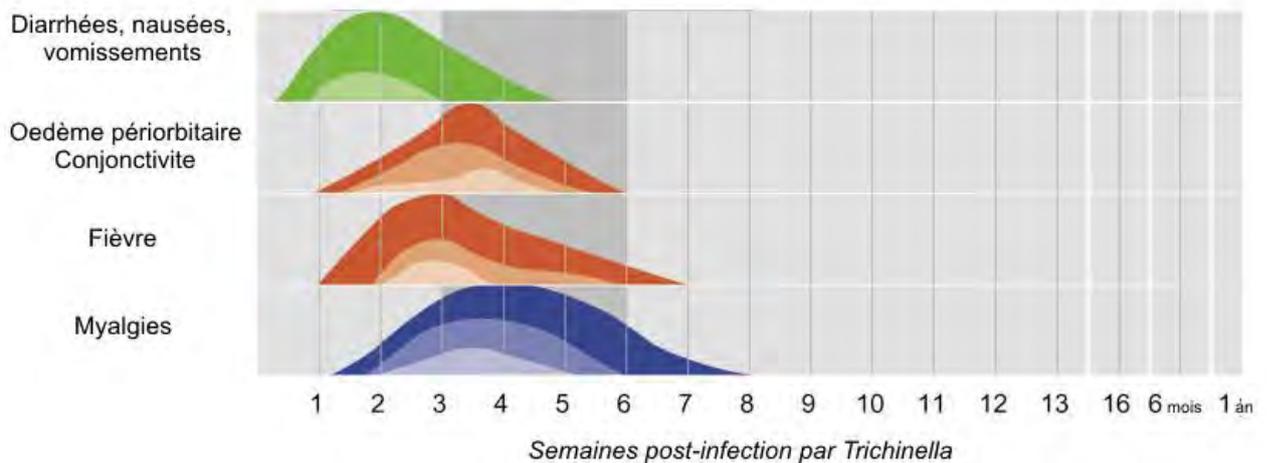


Figure 10 Signes cliniques de la trichinellose Humaine. L'intensité des symptômes est dépendante de la dose de L1M ingérée. D'après (D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001), modifié.

c. Complications

Les complications se développent généralement dans les 2 semaines suivant l'infection. Elles surviennent essentiellement pour des fortes doses ingérées. Mais cela peut dépendre de l'espèce de *Trichinella*, comme *T. spiralis* est plus prolifique, les infections sont souvent plus sévères qu'avec des espèces moins prolifiques.

La migration des L1NN vers le cœur et le cerveau est à l'origine de complications comme des encéphalites et myocardites lors de la phase parentérale (V. Capó et Despommier 1996; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009). Ces complications sont potentiellement mortelles et sont souvent présentes simultanément.

Les complications neurologiques se manifestent chez 3 à 46% des personnes infectées, en fonction des épidémies. Elles se présentent sous la forme de troubles de la conscience, excitation, somnolence ou apathie. Dans les cas sévères on peut observer une anisocorie (différence de taille entre les deux pupilles), une parésie du nerf facial, un signe de Babinsky (reflexe cutané plantaire) anormal. Ces symptômes peuvent être le signe d'une méningite ou d'une encéphalopathie. Des lésions sont visibles par tomodensitométrie (scanner) ou imagerie à résonance magnétique (IRM), elles régressent dans les 4 à 8 semaines suivant l'infection. D'autres séquelles ont été rapportées chez certains patients comme des confusions, des dépressions et des troubles de la marche. Les complications neurologiques peuvent être prévenues si le traitement est initié précocement (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Les troubles cardiovasculaires se manifestent dans les 3 à 4 semaines suivant l'infection. Dans 5 à 20% des cas, une myocardite est associée à des douleurs péricardiques, une tachycardie et des anomalies sur l'électrocardiogramme (ECG). Il en découle une hypokaliémie qui peut être compensée pour normaliser l'ECG. D'autres complications peuvent avoir lieu : des maladies thromboemboliques (thrombophlébites, embolies pulmonaires), des endocardites. Ces complications peuvent entraîner la mort dans les 3 à 5 semaines suivant l'infection (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Des lésions oculaires peuvent se manifester durant la phase aigüe de la maladie, elles sont dues aux troubles de la microcirculation : œdèmes et lésions vasculaires au niveau de la conjonctive, de l'uvéa, de la rétine et parfois du nerf optique. Une invasion importante au niveau des muscles du bulbe oculaire peut provoquer des mouvements des paupières, des paralysies musculaires, des diplopies (perception simultanée de 2 images d'un simple objet) ou des troubles de l'accommodation (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Les troubles respiratoires peuvent survenir comme la dyspnée causée par l'invasion parasitaire et l'inflammation des muscles respiratoires comme le diaphragme. Les autres troubles sont peu fréquents : pneumonie ou bronchite obstructive. Le traitement par glucocorticoïdes permet la régression des symptômes en quelques jours (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Les complications digestives se manifestent durant la phase aigüe de l'infection sous forme d'œdèmes localisés et d'hypo-albuminémie, nécrose gastro-intestinale aigüe, diarrhées prolongées. Les populations Inuit qui mangent de la viande infectée régulièrement présentent un syndrome de diarrhées chroniques dû à une forte réaction immunitaire gastro-intestinale qui permet d'évacuer les vers adultes au niveau de l'intestin et de prévenir la phase musculaire (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

L'existence d'une forme chronique de trichinellose est controversée mais supportée par la persistance des larves au niveau musculaire provoquant des troubles musculaires et par la présence d'IgG dans le sérum des patients. Certains symptômes peuvent persister jusqu'à 10 ans après la guérison : myalgies, troubles oculaires (conjonctivites) et neuropathies (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Les décès suite à une infection par *Trichinella* spp. sont rares et surviennent essentiellement chez des personnes âgées de plus de 65 ans (V. Capó et Despommier 1996; Jean Dupouy-Camet *et al.* 2002; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

6. Prise en charge

a. Traitement

L'efficacité du traitement dépend de la rapidité de la prise en charge. Les médicaments antiparasitaires sont efficaces durant la phase entérale en agissant sur les vers adultes. Après 4 semaines, le parasite est établi au niveau musculaire et le traitement n'est que partiellement efficace. Le traitement repose sur l'administration d'antihelminthiques, non spécifiques de la maladie : le mébendazole ou l'albendazole est associé à des glucocorticoïdes. Le déficit en protéines et électrolytes devra être compensé. En phase musculaire, des antipyrétiques et analgésiques peuvent être utilisés (V. Capó et Despommier 1996; Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009; J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

L'albendazole (Zentel®) est rapidement absorbé dans la lumière gastro-intestinale. Chez l'adulte, la dose recommandée est de 800 mg par jour, répartie en 2 doses de 400 mg par jour pendant 10 à 15 jours. Le traitement peut être répété au bout de 5 jours dans les cas d'infections sévères. Le nombre de globules blancs et les transaminases doivent être surveillés. L'albendazole est bien toléré chez les personnes atteintes de trichinellose (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009). Il peut provoquer des troubles digestifs, maux de tête et vertiges. Des rashes cutanés et de la fièvre ont été rapportés (« Vidal.fr - La base de données en ligne des prescripteurs libéraux », s. d.; « OMS | Organisation mondiale de la Santé », s. d.).

Le mebendazole (Vermox®) est mal absorbé dans la lumière gastro-intestinale. La dose recommandée est de 200 à 400 mg trois fois par jour pendant 3 jours puis 400 à 500 mg trois fois par jour pendant 10 jours. Le traitement peut être répété au bout de 5 jours dans les cas d'infections sévères. Les taux plasmatiques de mebendazole doivent être contrôlés (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009). Ce médicament n'est pas commercialisé en France, il est sous ATU nominative (Autorisation Temporaire d'Utilisation nominative). Il peut provoquer des troubles digestifs et des céphalées. (« Vidal.fr - La base de données en ligne des prescripteurs libéraux », s. d.; « OMS | Organisation mondiale de la Santé », s. d.).

L'albendazole et le mebendazole sont contre-indiqués chez la femme enceinte et les enfants de moins de 2 ans (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Le pyrantel (Combantirn®) peut être utilisé chez les femmes enceintes et les enfants mais il n'agit pas sur les vers adultes intestinaux. La dose recommandée est de 10 à 20 mg/kg/jour pendant 2 à 3 jours (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Des stéroïdes comme la prednisolone sont administrés de 30 mg à 60 mg par jour pendant 10 à 15 jours dans les cas graves de trichinellose. Les glucocorticoïdes sont utilisés lors de la phase intestinale pour limiter les symptômes d'hypersensibilité immédiate dus à la dégranulation des mastocytes (Kociecka 2000). La corticothérapie pourrait limiter les complications neurologiques et cardiaques (J. Dupouy-Camet *et al.* 2015).

b. Conduite à tenir

Pour les formes modérées à sévères :

- Une hospitalisation est nécessaire.
- Administration d'antihelminthiques et monitoring de la pharmacocinétique.
- Administration de glucocorticoïdes.
- Compensation du déficit en eau et électrolytes.
- Administration d'analgésiques (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Pour les formes légères :

- L'hospitalisation n'est pas toujours nécessaire.
- Administration d'antihelminthiques.
- Administration de salicylates (Kociecka 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).

Pour les formes asymptomatiques :

- Administration d'antihelminthiques seulement.
- Monitoring du nombre de globules blancs et éosinophiles (Kociecka 2000).

Pour les femmes enceintes :

- Hospitalisation quelle que soit la sévérité de la maladie.
- Administration d'antihelminthiques non absorbés dans la lumière intestinale (pyrantel).
- Dans les formes sévères, administration de prednisolone avec diminution progressive de la dose, les salicylates ne sont pas utilisés en raison des effets indésirables sur le fœtus (Kociecka 2000).

7. Prophylaxie

a. Systèmes de surveillance

1. Maladie à déclaration obligatoire

La trichinellose fait partie des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Une TIAC se définit par « la survenue d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire ». Une TIAC est une maladie à déclaration obligatoire (DO) (Décret n° 86-770. 10 juin 1986). La déclaration est une procédure d'urgence et d'alerte.

Avant 2010, cette déclaration se faisait auprès du Médecin Inspecteur de santé publique de la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) qui engageait ensuite une investigation avec la Direction Départementale des services vétérinaires (DDSV). Depuis 2010, la DDASS a été supprimée. Le médecin qui fait la déclaration doit remplir une fiche spécifique (Annexe 1) qu'il transmet à l'ARS (Agence Régionale de Santé) ou à la DDCSPP (Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations) qui transmettra ensuite les données à l'InVS.

La procédure de déclaration peut faire intervenir d'autres acteurs comme : les épidémiologistes en Cire ou du siège national de l'InVS, les Centres nationaux de référence (CNR), les administrations centrales de l'Etat, les agences sanitaires (Anses) (« InVS », s. d.).

Les déclarations peuvent être faites aux DDSV qui notifieront à la Direction Générale de l'Alimentation (Direction Générale de la Santé, s. d.).

2. Acteurs du système de surveillance

Plusieurs acteurs entrent en jeu dans la surveillance de la trichinellose. Leurs objectifs généraux sont de décrire les tendances évolutives de la maladie, de caractériser les éventuelles zones à risque, de favoriser l'étude des souches isolées de *Trichinella*, d'améliorer la prévention et de sensibiliser les acteurs du système à la nécessité d'une alerte rapide. Les systèmes de surveillance mis en place visent à dénombrer le nombre de cas et de décès chaque année, à identifier les sources de contamination et la provenance des viandes infectées.

En France, le CNR des *Trichinella* a été mis en place en 2002 suite aux épidémies ayant eu lieu depuis 1975. Le CNR est conventionné par l'InVS pour la surveillance des cas humains de trichinellose. Par ailleurs les mesures de santé publique ont été renforcées notamment

les contrôles vétérinaires (« InVS », s. d.). Le CNR a une mission d'expertise par l'aide au diagnostic, une mission de surveillance épidémiologique, une mission d'alerte auprès des autorités sanitaires et de conseil thérapeutique. (« Centre national de référence des *Trichinella* », s. d.; Aymeric De Bruyne *et al.* 2006).

En Europe, le Centre Européen de prévention et contrôle des maladies (ECDC) a été créé en 2005, son rôle est de renforcer les moyens de lutte contre les maladies infectieuses. Ses missions sont d'identifier, évaluer et communiquer les menaces actuelles et émergentes pour la santé humaine posées par les maladies infectieuses (« European Centre for Disease Prevention and Control », s. d.).

L'EFSA (European Food Safety Authority) vise à la sécurité alimentaire des aliments en Europe. Ses missions sont l'évaluation des risques (collecte et analyse de données, recommandations) et la gestion des risques (mesures législatives, objectifs de réduction). Les mesures mises en œuvre peuvent faire appel à différents acteurs : les États membres de l'UE, la Commission européenne, le Parlement européen, le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) et les opérateurs économiques (« Autorité européenne de sécurité des aliments », s. d.).

Au niveau international, la FAO (Food and Agriculture Organisation), l'OMS ou WHO (World Health Organisation) et l'OIE (World Organisation for Animal Health) collaborent pour établir des lignes directrices (guidelines) pour la surveillance, la gestion, la prévention et le contrôle de la trichinellose. Un des buts est de contrôler les risques liés aux mouvements d'animaux par exemple pour le contrôle des porcs saisis à l'abattoir (Robertson *et al.* 2014).

La commission internationale sur la trichinellose (International Commission on Trichinellosis (ICT)) est une organisation internationale qui collabore avec la FAO, l'OMS et l'OIE. Elle a pour rôle de favoriser l'échange d'informations entre les scientifiques, elle établit des lignes directrices (guidelines) sur la prévention et le contrôle de la maladie. Une conférence internationale est organisée tous les 4 ans durant laquelle sont présentés les différents travaux scientifiques (« International Commission on Trichinellosis », s. d.).

b. Contrôle de la viande

Un dépistage systématique des viandes est réalisé à l'abattoir. Le règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixe les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. Le règlement d'exécution (UE) n° 2015/1375 du 10 août 2015

établit les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de *Trichinella* dans les viandes.

La réglementation stipule que tout animal de boucherie ou tout gibier sensible à *Trichinella* doit être soumis à la recherche de larves de trichine par l'une des méthodes décrites (« Office des publications de l'Union européenne », s. d.) : la méthode de référence qui est la digestion d'échantillons collectifs en utilisant un agitateur magnétique ou une des méthodes jugées équivalentes.

Les pays Européens et la Russie contrôlent la viande de porc importée des Etats-Unis. Le réseau transeuropéen, TRAdE Control and Expert System (TRACES) (<http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/traces/>) permet une traçabilité des animaux dans le monde (Robertson *et al.* 2014).

En France, le laboratoire de santé animale de l'ANSES héberge le laboratoire national de référence (LNR) des parasites transmis par les aliments dont *Trichinella*. Il est chargé de la surveillance des cas animaux et de la formation du personnel impliqué dans le contrôle obligatoire de la viande (« Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail », s. d.).

c. Prévention individuelle

1. Education du consommateur et contrôle des viandes

L'éducation du consommateur est essentielle pour prévenir la maladie. Il doit être conscient du risque que représente la consommation de viande non contrôlée crue ou peu cuite d'animaux domestiques ou sauvages qui peuvent être porteurs de *Trichinella*. L'éducation du consommateur encore plus importante dans les pays où il n'y a pas de système de contrôle des viandes et pour les voyageurs qui se rendent dans ces pays (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009; « International Commission on Trichinellosis », s. d.).

Le contrôle des animaux dans les élevages permet de réduire le risque de cas humains. Il repose sur le contrôle de leur environnement pour éviter le contact avec des animaux contaminés, le contrôle de leur nourriture, la dératisation des bâtiments, le maintien de l'hygiène, le contrôle de l'entrée de nouveaux animaux (exempts de *Trichinella*), l'identification des animaux pour tracer leur origine (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009; « International Commission on Trichinellosis », s. d.). La prévention des maladies d'origine alimentaire dépendra de plus en plus du contrôle de l'alimentation et de l'eau consommées par les animaux (Robertson *et al.* 2014).

Comme mentionné dans le paragraphe précédent, les animaux destinés à la consommation sont contrôlés à l'abattoir par la méthode standardisée de digestion artificielle. Les sangliers et les porcs plein air sont inspectés par les services vétérinaires, cependant la viande, consommée par le chasseur, qui n'est pas commercialisée n'est pas soumise à cette règle. Le contrôle des sangliers est recommandé, il est à la charge et sous la responsabilité du chasseur. De nombreux sangliers ne sont pas contrôlés et peuvent être à l'origine de cas de trichinellose. Une information sur le risque de trichinellose est diffusée aux fédérations de chasse. L'éducation du consommateur est alors essentielle pour ne pas consommer cette viande crue ou peu cuite (Aymeric De Bruyne *et al.* 2006; « Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail », s. d.).

2. Méthodes d'inactivation des larves

3 méthodes permettent d'inactiver les larves de *Trichinella* dans la viande :

- Une cuisson à cœur > 71°C pendant au moins 1 minute.
- La congélation de pièces de 15 cm d'épaisseurs à -15°C pendant 3 semaines minimum ou des pièces de 50 cm d'épaisseurs pendant 4 semaines permet d'inactiver les larves de *T. spiralis* dans la viande de porc. Cependant des espèces sont résistantes à la congélation comme *T. nativa* et les infestations longues dans la faune sauvage peuvent augmenter la résistance à la congélation de *T. britovi*. Cette méthode n'est donc pas conseillée pour l'assainissement.
- L'irradiation est recommandée pour les colis de nourriture scellée uniquement.

La cuisson au four à micro-ondes et le salage, le séchage et le fumage ne permettent pas de tuer les larves de *Trichinella* (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009; « International Commission on Trichinellosis », s. d.).

1. Etat des lieux

a. Introduction

La virulence peut être considérée comme une diminution du fitness de l'hôte suite à l'infection par un parasite. Une autre définition se réfère à une augmentation de la mortalité de l'hôte (Schmid-Hempel 2009).

Les facteurs de virulence sont des éléments génétiques du parasite (ou bactérie ou virus) qui codent pour des protéines ou des molécules de surface cellulaire, dont la présence est associée à des effets pathogènes. Ces facteurs aident à l'invasion et à la propagation tissulaire du parasite chez l'hôte. Ces facteurs peuvent être (Schmid-Hempel 2009) :

- des adhésines : facteurs qui permettent au parasite de s'attacher aux surfaces de l'hôte
- des facteurs de colonisation : ils permettent la survie de l'hôte dans des environnements hostiles
- des invasives : elles aident à la propagation parasitaire chez l'hôte
- des toxines : ce sont souvent des enzymes hautement antigéniques qui ont des effets secondaires importants chez l'hôte. Elles peuvent cibler des cellules spécifiques de l'hôte.

b. Différences de virulence entre les espèces de *Trichinella*

Une différence de virulence existe entre les différentes espèces de *Trichinella*. Mais cette différence est aussi due à la dose infestante et à l'hôte. L'équipe de Pozio *et al.*, 1992 (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992) a comparé différentes espèces de *Trichinella* chez le rat. L'étude a montré des différences au niveau du RCI¹ chez les rats Wistar et de la production de L1NN par les femelles *in vitro*. Le développement de la cellule nourricière est aussi plus ou moins long selon les espèces, allant de 16 jours à 60 jours. Une différence d'infectiosité est aussi retrouvée chez le porc (E. Pozio, La Rosa, Murrell, *et al.* 1992) (Tableau 5).

¹ RCI : Reproductive Capacity Index = nombre de larves récupéré/ nombre de larves inoculé

Tableau 5 Différences d'infectiosité des différentes espèces de *Trichinella*.

	<i>T. spiralis</i>	<i>T. nativa</i>	<i>T. britovi</i>	<i>T. pseudospiralis</i>	<i>T. murrelli</i>	T6	<i>T. nelsoni</i>	T8
Production de L1NN en 72h <i>in vitro</i>	110	30	47	48	31	60	47	26
Développement de la cellule nourricière (jour p-i)	16-37	20-30	24-42	-	24-70	18-32	34-60	20-42
Index des capacités reproductives (RCI) chez le rat	158-237	0,02-0,2	0,2-1	47-62	0,7-1,2	0,1	0,4-0,8	0,5
Infectiosité chez le porc (larve/gramme de muscle)	171,5	0,15	30,6	23,9	2,4	ND	58,6	ND

Sadaow *et al.*, 2013 ont comparé les RCI de 3 espèces de *Trichinella* chez la souris, le rat, le hamster et la gerbille après inoculation de 100 L1M. *T. spiralis*, *T. pseudospiralis* et *T. papuae* semblent plus infectieuses chez le hamster et la gerbille que chez la souris et le rat (Sadaow *et al.* 2013) (Tableau 6).

Tableau 6 Index des capacités reproductives (RCI) de *T. spiralis*, *T. pseudospiralis* et *T. papuae* chez 4 espèces de rongeurs.

RCI	<i>T. spiralis</i>	<i>T. pseudospiralis</i>	<i>T. papuae</i>
Souris	78,8	56,4	36,1
Rat	63,6	10,3	9,8
Hamster	247	211	60
Gerbille	528	432	241

La différence de RCI chez le rat entre les deux études pourrait s'expliquer par la dose infestante mais aussi par une différence entre les souches de *Trichinella* utilisées ou par une différence dans les lignées animales.

- *T. spiralis* est la seule ayant une infectiosité élevée chez le porc, le rat et la souris. *T. spiralis* est aussi infectieuse chez les animaux sauvages : les ours, les sangliers, les renards, les coyotes et les rongeurs. Les femelles *T. spiralis* ont la plus haute

production de L1NN *in vitro* (E. Pozio, La Rosa, Murrell, *et al.* 1992; E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; K. D. Murrell *et al.* 2000).

- *T. nativa* est infectieuse chez les animaux sauvages vivant dans des régions Arctiques et subarctique : les ours, les renards, les chiens, les sangliers. Cette espèce est très peu infectieuse chez le rat et le porc. La production de L1NN par les femelles *in vitro* est l'une des plus faible (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; K. D. Murrell *et al.* 2000).
- *T. britovi* est infectieuse chez les animaux sauvages d'Eurasie comme les ours. Elle est peu infectieuse chez le rat, et modérément chez le porc. La production de L1NN par les femelles *in vitro* est faible (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; K. D. Murrell *et al.* 2000).
- *T. pseudospiralis* est la seule espèce qui infecte à la fois les oiseaux et les mammifères. Elle est modérément infectieuse chez le porc et le rat (K. D. Murrell *et al.* 2000).
- *T. murrelli* est retrouvée chez les animaux sauvages en Amérique du Nord. Des cas de trichinelloses Humaines ont été rapportés suite à la consommation d'ours noir. Elle est très peu infectieuse chez le porc et le rat. La production de L1NN par les femelles *in vitro* est faible (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; K. D. Murrell *et al.* 2000; Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).
- T6 est biologiquement et génétiquement proche de *T. nativa*. Elle a été retrouvée chez des mammifères carnivores en Amérique du Nord. Elle est très peu infectieuse chez le rat. Elle a une production de L1NN par les femelles *in vitro* qui est intermédiaire (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; K. D. Murrell *et al.* 2000).
- *T. nelsoni* infecte les hyénidés et félidés. Elle est peu infectieuse chez le porc et le rat. La production de L1NN par les femelles *in vitro* est faible (K. D. Murrell *et al.* 2000).
- T8 est génétiquement proche de *T. britovi*. Elle a été retrouvée chez des mammifères carnivores en Afrique (K. D. Murrell *et al.* 2000). Elle est peu infectieuse chez le rat. La production de L1NN par les femelles *in vitro* est l'une des plus faible (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992).
- T9 a été retrouvée chez des mammifères carnivores au Japon. Des croisements réalisés en laboratoire avec *T. britovi* suggèrent une proximité entre les deux espèces (K. D. Murrell *et al.* 2000). Mais une étude génomique a montré une identité forte avec *T. murrelli* (Krivokapich *et al.* 2012).

- *T. papuae* affecte les reptiles (crocodiles) et les mammifères (cochons sauvages) de Nouvelle Guinée et Thaïlande (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009). Elle semble moins infectieuse chez la souris et le rat que *T. pseudospiralis* (Sadaow *et al.* 2013).
- *T. zimbabwensis* affecte les reptiles et les mammifères en Afrique (Gottstein, Pozio, et Nöckler 2009).
- *T. patagoniensis* a été identifiée chez un Puma en Patagonie (Krivokapich *et al.* 2008). Elle a une infectiosité modérée chez la souris, faible chez le porc et le rat. Les femelles produisent en moyenne 26 L1NN en 72 heures *in vitro* (Krivokapich *et al.* 2012).

c. Classification des antigènes de *Trichinella*

Chez *Trichinella*, on distingue les protéines excrétées-sécrétées (ES), produites par les stichocytes, leur forte antigénicité induit une réponse immunitaire chez l'hôte, les protéines somatiques jouent plutôt un rôle dans les réactions internes du parasite et les protéines de surface permettant une adaptation à l'environnement local et l'échappement au système immunitaire de l'hôte (Dea-Ayuela et Bolas-Fernández 1999; Nagano, Wu, et Takahashi 2009).

Appleton *et al.* (1991) ont classé les antigènes de *Trichinella* en 9 groupes, TSL-1 à TSL-8 et TSA-1, ces antigènes sont reconnus par des anticorps différents. La majorité des antigènes des groupes TSL-1 à TSL-8 est spécifique des L1M. Les antigènes du groupe TSL-1 (45 à 100 kDa) sont les plus abondants, ils sont produits par le stichosome et sont présents dans les produits ES au niveau de la cuticule. Ces antigènes sont spécifiques des L1M et disparaissent pendant le processus de mue. D'après Boireau *et al.* (1997) ces antigènes sont présents au niveau de la cuticule de différents stades parasitaires. Les antigènes du groupe TSL-2 (40 à 50 kDa) et les antigènes du groupe TSL-3 (45 kDa) sont présents dans les produits ES et au niveau de la cuticule. Les antigènes du groupe TSL-4 (35 à 45 kDa) sont présents au niveau de la cuticule seulement. Les antigènes du groupe TSL-5 (30 à 36 kDa) et les antigènes du groupe TSL-6 (17 kDa) sont présents dans les produits ES seulement. Les antigènes du groupe TSL-7 (32 à 45 kDa) et les antigènes du groupe TSL-8 (40 à 45 kDa) ne sont pas présents dans les produits ES ni au niveau de la cuticule. Les antigènes du groupe TSA-1 (40 kDa) sont des antigènes présents chez les vers adultes dans les produits ES (Appleton *et al.* 1991).

Boireau *et al.* (1997) ont établi 11 groupes distincts d'antigènes en fonction de leur localisation parasitaire. Ils ont utilisé l'immunofluorescence indirecte pour caractériser les différents antigènes.

Takahashi (1997) propose de classer les antigènes en deux groupes. Les antigènes du groupe I sont porteurs de phosphorylcholine et induisent une réponse humorale dans les 2 semaines p-i, ils sont dits répondeurs rapides. Les antigènes du groupe II sont présents essentiellement dans les produits ES, sont porteurs de sucres antigéniques (fucose, tyvelose) et induisent une réponse humorale plus tardive (4 à 5 semaines p-i) (Takahashi 1997; Dea-Ayuela et Bolas-Fernández 1999).

d. Protéines et antigènes spécifiques de *Trichinella* (Tableau 7)

Les protéines impliquées dans le développement parasitaire et dans le processus de mues

Des protéines impliquées dans les interactions entre l'hôte et le parasite ont été identifiées par R. D. Liu *et al.* (2015). La putative scavenger receptor cysteine-rich domain protein (363 kDa) permettrait le développement et la survie du parasite en liant le LDL, les phospholipides et le cholestérol de l'hôte. L'onchocystatine (22 kDa) appartient à la famille des cystatines et pourrait réguler la production des protéases à cystéine pendant le processus de mue du parasite (R. D. Liu *et al.* 2015).

Fu *et al.* (2005) ont cloné le gène codant pour la protéine FYZE contenant des domaines en doigts de zinc (55 kDa), ce gène est présent dans tous les stades parasitaires, suggérant son implication dans le développement de *Trichinella*.

La MyoD est un facteur de transcription impliqué dans la différenciation des cellules musculaires striées. Deux protéines ont été identifiées comme régulatrices myogéniques. La protéine Tsmyd-1 (35 kDa) et la protéine TsJ5 (100 kDa) se lient à la MyoD empêchant sa liaison avec l'ADN. Ces protéines seraient impliquées dans le développement des muscles des L1M et des adultes (Connolly, Trenholme, et Smith 1996; Lindh *et al.* 1998).

La cavéoline-1 (26 kDa) joue un rôle dans la maturation des oocystes et l'embryogénèse durant le développement parasitaire (Hernández-Bello *et al.* 2008).

Les protéines impliquées dans l'invasion intestinale et musculaire

Les antigènes du groupe TSL-1 ont été très étudiés. Ils induisent des réponses immunes qui protègent l'hôte de l'infection. Ces antigènes sont sécrétés par les L1M au niveau intestinal puis une fois qu'elles sont installées dans le muscle. Ils sont impliqués dans l'invasion de l'épithélium intestinal et le maintien de la cellule nourricière. Ces protéines sont des glycoprotéines associées à un sucre, le β -tyvelose, qui leur confère leur antigénicité (Bolás-Fernandez et Corral Bezara 2006; Yépez-Mulia *et al.* 2007).

La glycoprotéine gp 53 (53 kDa) fait partie des protéines du groupe TSL-1. Cette protéine est produite par les β stichocytes. Elle est très hétérogène, son poids moléculaire diffère d'une espèce à l'autre en fonction du nombre de glycosylations (Romarís *et al.* 2003). La glycoprotéine de 43 kDa est produite par les α stichocytes (Yépez-Mulia *et al.* 2007). Elle aurait une activité désoxyribonucléase II α . La glycoprotéine de 45 kDa est présente dans les stichocytes β et γ des L1M (Nagano, Wu, et Takahashi 2009). *In vitro*, cette protéine est capable d'inhiber les fonctions des neutrophiles, ce qui suggère qu'elle diminuerait la réponse inflammatoire autour du kyste parasitaire lors de la phase musculaire (Sofronic-Milosavljevic *et al.* 2015).

L'énolase (48 kDa) fait partie des antigènes du groupe TSL-1. Elle est présente dans les extraits totaux de L1M et des adultes. Elle contribue à l'invasion tissulaire du parasite, la fibrinolyse et la dégradation de la matrice extracellulaire grâce à l'activation du plasminogène (Dea-Ayuela et Bolás-Fernández 2005; Bien, Cabaj, et Moskwa 2015). L'énolase est impliquée dans la glycolyse et la gluconéogenèse, qui sont des voies de signalisation importantes pour la virulence de *Trypanosoma* et *Leishmania*, ce qui fait d'elle une cible d'intérêt pour la lutte antiparasitaire (Day, Peshavaria, et Quinn 1993; Avilán *et al.* 2011).

L'antigène P49 (49 kDa) appartient aussi au groupe TSL-1, il possède des activités hydrolase et catalytique intéressantes pour le développement de vaccins et l'immunodiagnostic (Cui *et al.* 2013).

La nudix hydrolase de *T. spiralis* (TsNd) est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de dérivés nucléosides diphosphates. La TsNd serait présente dans tous les stades parasitaires mais sécrétée par *Trichinella* à un stade précoce de l'infection (S. R. Long *et al.* 2015). Elle serait importante au développement parasitaire et aurait un rôle dans l'invasion de l'épithélium intestinal (Shao Rong Long *et al.* 2014).

Les protéines de choc thermique, les « Heat Shock Proteins » (HSP) sont produites dans des conditions de stress et confère une résistance au parasite (S. Wang *et al.* 2009). Elles seraient impliquées dans l'invasion tissulaire et la survie intracellulaire du parasite (Nagano, Wu, et Takahashi 2009).

La glutathione-S-transférase (GST) est produite par les stichocytes, elle est retrouvée dans tous les stades parasitaires. Elle serait impliquée dans l'invasion des cellules épithéliales intestinales (Cui, Li, *et al.* 2015).

Des protéines impliquées dans la phase précoce de la maladie ont été identifiées par J. Yang *et al.* (2015) : la Ts14-3-3, l'HSP-70, et une cystéine protéase. La protéine 14-3-3 a été identifiée chez plusieurs parasites helminthes, elle joue un rôle dans la transduction de signaux, le transport, la régulation, la différenciation et la survie cellulaire (J. Yang *et al.* 2015).

Les protéases sont impliquées dans diverses fonctions et jouent un rôle dans la virulence de nombreux parasites. Quatre classes de protéases existent chez *Trichinella* : les protéases à cystéine, sérine, aspartate et les métallo-protéases. Elles sont impliquées dans la pénétration tissulaire, la migration larvaire, l'immuno-évasion, le retard de la coagulation sanguine, la digestion, le processus de mue, et dégradation de la matrice cellulaire. Ces protéinases peuvent également servir d'antigènes immuno-dominants (immunogènes) en stimulant une réponse immunitaire protectrice. Elles sont retrouvées dans tous les stades parasitaires (Nagano, Wu, et Takahashi 2009).

Les sérines protéases sont les plus étudiées. Elles sont impliquées dans l'invasion et dans le processus de mue. La TspSP-1 est spécifique du stade L1M et produite par les stichocytes α . Cette protéine pourrait faciliter le mouvement des larves en dégradant des protéines cytoplasmiques et intracellulaires. TspSP-1.2 contribue à l'invasion intestinale et pourrait être une cible vaccinale intéressante contre l'infection à *Trichinella*. TppSP-1 est une protéine similaire retrouvée chez *T. pseudospiralis* mais son rôle n'est pas connu. TsSerP est exprimée dans tous les stades parasitaires et pourrait jouer un rôle dans le processus de mues (Trap *et al.* 2006). NBL-1 est spécifique du stade L1NN et jouerait un rôle dans l'invasion musculaire (Yong Yang, Wen, *et al.* 2015).

Des cystéines protéases ont été identifiées chez de nombreux nématodes, pour le moment peu d'études ont été réalisées chez *Trichinella*. Dans cette famille on retrouve les cathépsines. Une cathépsine F-like a été caractérisée chez *T. spiralis*. Elle est retrouvée au niveau de la cuticule et du stichosome de tous les stades parasitaires. La cathépsine F est impliquée dans la virulence de plusieurs helminthes, ce qui fait d'elle une cible intéressante chez *Trichinella* (Qu *et al.* 2015).

Les métallo-protéases seraient impliquées dans l'invasion tissulaire en dégradant le fibrinogène et le plasminogène. Chez *Caenorhabditis elegans*, une métallo-protéase participe à l'hydrolyse du collagène de type I (Sofronic-Milosavljevic *et al.* 2015). Les métallo-protéases ayant une activité collagénase seraient impliquées dans le processus de mues chez certains nématodes et participeraient à l'invasion tissulaire (Malagón *et al.* 2010).

(Radoslavov *et al.* 2010) ont identifié une métallo-protéase Ts-PCHTP, dans plusieurs stades de *T. spiralis*, impliquée dans le transport et le stockage des métaux. Cette protéine est spécifique de la superfamille des Trichinelloidea ce qui fait d'elle une cible diagnostic ou thérapeutique intéressante. Lun, Mak, et Ko (2003) ont trouvé une protéine du stade L1M de *T. spiralis* appartenant à la famille des metallo-protéinases, l'astacine qui serait impliquée dans la dégradation de la matrice extracellulaire, nécessaire aux vers adultes pour se nourrir et pour l'invasion de l'épithélium intestinal.

Chez les nématodes, les protéases à aspartate sont impliquées dans la dégradation de l'hémoglobine de l'hôte et l'invasion tissulaire (Park *et al.* 2012).

Les protéines impliquées dans la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte

Les inhibiteurs de protéases appelés « serpin » pour « serine proteinase inhibitor » inactivent les protéases en formant des complexes avec elles. Elles joueraient un rôle dans la modulation et l'inhibition des réponses immunitaires de l'hôte. Les cystatines font partie de cette famille, elles sont sécrétées par le parasite (Nagano, Wu, et Takahashi 2009). Chez les nématodes, les cystatines sont des protéines inhibitrices des protéases à cystéine. Elles inhibent les protéases parasitaires durant le processus de mues. Chez l'hôte, elles inhibent les protéases impliquées dans la présentation des antigènes ce qui diminue la production des lymphocytes T. Elles préviennent la formation du complexe peptide-CMH de classe II pour diminuer la présentation des antigènes aux cellules présentatrices d'antigène. La cystatine S intervient au niveau des lymphocytes B et les cellules dendritiques, la cathépsine L est active au niveau des cellules épithéliales du thymus et la cathépsine F dans les macrophages. Elles ont une autre fonction qui est la modulation de la production des cytokines de l'hôte (IL-10, IL 12, TNF α) pour diminuer l'inflammation et la prolifération des cellules de l'immunité et donc favoriser la survie du parasite (Hartmann et Lucius 2003).

Les HSP ont un rôle dans la présentation des antigènes, l'activation des lymphocytes et la maturation des cellules dendritiques (Fang *et al.* 2014).

La fonction des antigènes nucléaires est peu connue mais ils semblent réguler le phénotype des cellules infectées (Yao et Jasmer 1998). La protéine I20h-Ts3 (13 kDa) semble aussi moduler le phénotype des cellules musculaires de l'hôte (Zocevic *et al.* 2014).

Chez les nématodes, les macrophage migration inhibitory factors (MIF) altèrent l'expression des cellules immunitaires et donc la production des cytokines pour favoriser la survie parasitaire (Vermeire *et al.* 2008).

Les protéines impliquées dans la formation et le maintien de la cellule nourricière

Les antigènes du groupe TSL-1 de 4,3, 45 et 53 kDa sont impliqués dans le maintien de la cellule nourricière (Bolás-Fernandez et Corral Bezara 2006). Certaines sérines protéases comme TspSP-1/ Ts32-2 sont impliquées dans la formation de la cellule nourricière (Romaris *et al.* 2002).

La prolactine (23 kDa) stimule la production de VEGF lors de la formation de la cellule nourricière. Elle participe donc à la formation de néo-vaisseaux autour du complexe larve-cellule nourricière (Quintanar *et al.* 2007).

Autres protéines essentielles à la survie parasitaire

La GST catalyse les réactions de détoxifications. Elle participe à la défense contre les métabolites toxiques, à la réparation de molécules endommagées par le stress oxydatif, et à la biosynthèse de métabolites. Elle serait essentielle à la survie du parasite chez l'hôte (Cui, Li, *et al.* 2015).

Les nucléosides diphosphates kinases ont une activité catalytique, elles participent au maintien des pools intracellulaires de désoxynucléosides triphosphates et de nucléosides triphosphates. Certaines de ces enzymes ont aussi un rôle dans la différenciation, la prolifération et la suppression des métastases (Gounaris *et al.* 2001).

Tableau 7 Liste (non exhaustive) des protéines identifiées et étudiées chez *Trichinella*.

Stade	Protéine - antigène	Poids moléculaire (kDa)	Fonctions	Références
L1M	Protéines TSL-1	43, 45, 53	Invasion épithélium intestinal, maintien cellule nourricière	(Bolás-Fernandez et Corral Bezara 2006)
L1M	Protéine de 49 kDa (P49), protéine TSL-1	49	Intérêt pour l'immunodiagnostic et comme cible vaccinale	(Zheng <i>et al.</i> 2007)
L1M	Antigènes nucléaires	71, 79, 86, et 97	Peu connue, régulation du phénotype des cellules infectées	(Yao et Jasmer 1998)
L1M	NDPK Nucléoside diphosphate kinase, protéine ES	17	Régulation de la prolifération et différenciation des cellules de l'hôte	(Gounaris <i>et al.</i> 2001)
L1M	Ts23-2, protéase plasmin-like	42.3	Activité sérine protéase	(Nagano <i>et al.</i> 2003)
L1M	TspSP-1/ Ts32-2	45	Invasion, formation cellule nourricière	(Romaris <i>et al.</i> 2002; Yépez-Mulia <i>et al.</i> 2007)
L1M	Prolactine, protéine ES	23	Modifications chimiques, protéolyse, stimulation de la sécrétion de VEGF, néoformation vasculaire lors de la formation de la cellule nourricière, modulation de la réponse immunitaire	(Quintanar <i>et al.</i> 2007)
L1M	Superoxide dismutase, metallo-protéine	36	Défense contre les radicaux super-oxyde créés par l'oxydation ou le système immunitaire de l'hôte	(Rhoads 1983)
L1M	Ts31 – ES – cuticule, stichocytes	31	Trypsine-like serine protéase, développement de la larve	(Cui, Wang, <i>et al.</i> 2015)
L1M	TppSP-1	51	Non connue	(Yong Yang, Wen, <i>et al.</i> 2015)
L1M	Ts-PMY (paramyosine)	97	Composant des muscles, induit des réponses immunes humorale et cellulaire, échappement au système du complément de l'hôte	(J. Yang <i>et al.</i> 2008; Gu <i>et al.</i> 2013)
L1M	Ts21, cuticule	63.5	Protéine testée en immunodiagnostic	(R. Wang, Wang, et Cui 2009)
L1M	aspartic protéase – Ts Asp	45	Chez les nématodes, dégradation de l'hémoglobine de l'hôte et invasion tissulaire	(Park <i>et al.</i> 2012)
L1M	Metallo-protéase, famille des astacines, protéine ES	58	Invasion de l'épithélium intestinal	(Lun, Mak, et Ko 2003)
L1M, adultes	Tsmyd-1	35	Régulateur myogénique, lie le site de liaison à l'ADN de la MyoD, développement des muscles parasitaires	(Connolly, Trenholme, et Smith 1996)
L1M, adultes	TsJ5, protéine ES, cuticule, paroi	100	Répresseur myogénique, interaction avec la MyoD <i>in vitro</i> , rôle potentiel dans le développement des muscles parasitaires	(Lindh <i>et al.</i> 1998)

L1M, adultes	Enolase, protéine TSL-1	48.3	Invasion tissulaire, fibrinolyse, dégradation de la matrice extracellulaire	(Bien, Cabaj, et Moskwa 2015)
L1M, adultes	Prosaposin, antigène TSL-1, stichocytes ou cellules intestinales du parasite	56	Invasion des cellules épithéliales intestinales	(Selkirk <i>et al.</i> 2004)
L1M, adultes	Ts14-3-3	28.3	Relation hôte-parasite pendant la phase précoce de l'infection	(J. Yang <i>et al.</i> 2015)
L1M, adultes	Putative scavenger receptor cysteine-rich domain protein, cuticule	363.3	Rôle dans l'interaction hôte- parasite par l'utilisation du LDL, phospholipides et cholestérol de l'hôte pour le développement et la survie parasitaire	(R. D. Liu <i>et al.</i> 2015)
L1M, adultes	Ts-ES-1, stichocytes	20	Fonction non connue, induit une réponse immune protectrice chez des souris vaccinées	(Bi <i>et al.</i> 2015)
L1M, adultes	L20h-Ts3	13	Invasion, modification du phénotype des cellules musculaires de l'hôte	(Zocevic <i>et al.</i> 2014)
L1M, adultes	Putative onchocystatin, cuticule	21.8	Régulation de la production des protéases lors du processus de mues	(R. D. Liu <i>et al.</i> 2015)
L1M, adultes	Inhibiteurs de sérine protéases - Tsp03044 et TspAd5	28 et 42.5	Homéostasie, survie cellulaire, développement, défense de l'hôte	(Zhang <i>et al.</i> 2016)
Adultes	Ts87	40	Induit une réponse immune protectrice chez des souris vaccinées	(Yaping Yang <i>et al.</i> 2013)
Adultes	Cavéoline-1	26	Maturation des oocystes, embryogénèse	(Hernández-Bello <i>et al.</i> 2008)
Adultes	Cystéine protéase	47.5	Relation hôte-parasite pendant la phase précoce de l'infection	(J. Yang <i>et al.</i> 2015)
L1M, Adultes, L1NN	Macrophage migration inhibitory factor (MIF)	12.3	Inflammation, modification de l'activité des monocytes/macrophages, retardement de la reconnaissance par les lymphocytes	(Vermeire <i>et al.</i> 2008)
L1M, Adultes, L1NN	Protéine FYZE zinc finger domain	55	Développement parasitaire, Le domaine FYZE joue un rôle dans l'adressage des protéines transductrices de signaux aux membranes	(Fu <i>et al.</i> 2005)
L1M, Adultes, L1NN	HSP 70	71.8	Activation des cellules dendritiques, stimulation de la réponse immunitaire	(S. Wang <i>et al.</i> 2009; Fang <i>et al.</i> 2014)
L1NN	NBL-1, cuticule	48	Invasion tissulaire, franchissement de la barrière intestinale et invasion musculaire	(M. Y. Liu <i>et al.</i> 2007)
Plusieurs stades	Ts-PCHTP, metallo-protéase, protéines non ES	47.7	Stockage et transport de métaux, spécifique de la superfamille Trichinelloidea	(Radoslavov <i>et al.</i> 2010)
Tous les stades	rTsNd – Nudix hydrolase, cuticule, stichocytes	46	Développement de <i>T. spiralis</i> et invasion de l'épithélium intestinal	(S. R. Long <i>et al.</i> 2015)
Tous les stades	rTsGST	24	Invasion de l'épithélium intestinal, détoxification	(Cui, Li, <i>et al.</i> 2015)
Tous les stades	TsSP-1.2, cuticule et organes internes	35	Invasion intestinale	(B. Wang <i>et al.</i> 2013)

Tous les stades	TsSerP, œsophage	72	Nutrition, mues	(Trap <i>et al.</i> 2006)
Tous les stades	cathépsine F-like, cystéine protéase, stichosome, cuticule	41.9	Virulence de nombreux helminthes	(Qu <i>et al.</i> 2015)

e. Cibles diagnostiques et vaccinales

3. Cibles diagnostiques

Le test ELISA est utilisé pour détecter la présence de *Trichinella* chez le porc. Différents antigènes sont utilisés : des antigènes totaux, des antigènes ES, des antigènes purifiés, des antigènes glucidiques synthétiques (Yong Yang *et al.* 2016).

Des réactions croisées avec des anticorps dirigés contre d'autres parasites apparaissent avec les tests ELISA basés sur des antigènes somatiques (Yong Yang *et al.* 2016).

Les antigènes du groupe TSL-1 sont très conservés d'une espèce de *Trichinella* à l'autre. Les tests ELISA basés sur la détection des antigènes du groupe TSL-1 peuvent reconnaître des infections à différentes espèces de *Trichinella*. La protéine ES de 55kDa est reconnue par les sérums de tous les patients atteints de la trichinellose (Yong Yang *et al.* 2016). Les tests utilisant des antigènes ES des L1M sont les plus utilisés car ils sont plus spécifiques et sensibles que les précédents. Cependant, ils ne permettent pas un diagnostic précoce, les anticorps anti-*Trichinella* ne peuvent pas être détectés avant 2 à 3 semaines p-i, ils ne permettent pas non plus de distinguer les espèces de *Trichinella* (Sun *et al.* 2015; Yong Yang *et al.* 2016).

Les tests ELISA basés sur les antigènes purifiés comme les glycoprotéines de 45, 49, et 53 kDa ou le β -tyvelose sont utilisés pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre *Trichinella* (Yong Yang *et al.* 2016).

La spécificité des tests ELISA utilisant des protéines recombinantes comme NBL-1 ou T-411 est élevée mais la sensibilité est moins importante qu'avec les antigènes ES. Cependant ils permettent une détection précoce de la maladie. Ces protéines sont donc de bons candidats pour améliorer les outils sérologiques pour la détection de *Trichinella* chez le porc (Yong Yang *et al.* 2016). Cui, Wang, *et al.* (2015) ont étudié la protéine Ts31, qui possède plusieurs isoformes. L'ARN qui code pour cette protéine a été retrouvé à tous les stades du développement parasitaire. Cette protéine pourrait être sécrétée à un stade précoce. L'utilisation de la protéine Ts31 recombinante dans un test ELISA a montré une

bonne spécificité et sensibilité pour la détection des anticorps anti-*Trichinella* (L. Wang *et al.* 2015). S. R. Long *et al.* (2015) ont comparé une protéine recombinante, la nudix hydrolase (rTsNd), à des antigènes ES de L1M pour le diagnostic de la trichinellose par test ELISA. Les anticorps anti-*Trichinella* ont été détectés à 14 p-i pour la rTsNd chez la souris, suggérant que cette protéine induit une réponse antigénique précoce (S. R. Long *et al.* 2015). La protéine P49 recombinante a été testée par Western Blot, elle est reconnue par les sérums de souris infectées par *Trichinella* (Zheng *et al.* 2007).

Le Western Blot est plus cher, il est utilisé pour confirmer le diagnostic. Il permet de différencier les infections à *Trichinella* de celles dues à d'autres Helminthes (Yong Yang *et al.* 2016).

Il semblerait que la sensibilité et la spécificité des tests ELISA soient meilleures avec les protéines ES des vers adultes qu'avec les protéines ES des L1M ou les protéines totales des vers adultes. Les antigènes ES des vers adultes permettraient la mise en place d'un diagnostic précoce (Sun *et al.* 2015).

4. Cibles vaccinales

Des essais ont été réalisés avec différents adjuvants, des extraits totaux, des protéines ES, des antigènes purifiés, des protéines recombinantes, des épitopes synthétiques (Ortega-Pierres *et al.* 2015).

Les antigènes TSL-1 induisent des réponses immunes humorale et cellulaire chez l'hôte permettant de réduire la charge parasitaire (Yépez-Mulia *et al.* 2007). Ils confèrent une protection partielle contre le parasite (Ortega-Pierres *et al.* 1989) comme les produits ES.

Plusieurs protéines recombinantes ont été testées comme l'HSP-70 qui induit une réponse immune précoce (J. Yang *et al.* 2015). Des souris vaccinées avec une HSP-70 recombinante sont partiellement protégées contre *Trichinella* (réduction de la charge parasitaire de 37%). L'HSP-70 induit une réponse immune médiée par l'activation des cellules dendritiques (Fang *et al.* 2014). La vaccination de souris avec la protéine recombinante rTsNd induit une réponse immune de type Th2 et confère une protection partielle contre *Trichinella* (réduction de la charge parasitaire de 57%) (Shao Rong Long *et al.* 2014). La vaccination de souris avec la protéine recombinante rTsGST induit une protection partielle contre *Trichinella* (Cui, Li, *et al.* 2015). La protéine 14-3-3 est présente à la surface des L1M et des adultes. La protéine recombinante a été utilisée dans un vaccin

et induit des réponses immunes humorale et cellulaire, elle pourrait donc être utilisée comme traitement vaccinal (J. Yang *et al.* 2015).

L'utilisation d'antigènes totaux semble plus efficace que l'utilisation d'un antigène unique pour réduire la charge parasitaire dans les modèles animaux. Ils permettent une réduction de 50 à 80% de la charge parasitaire. Cependant ils induisent une réponse Th2 importante qui pourrait s'avérer toxique (Ortega-Pierres *et al.* 2015).

Des vaccins à ADN ont été testés. Ils sont constitués de plasmides contenant des séquences codant pour des protéines étrangères, qui lors de l'injection et l'accès aux cellules de l'hôte sont exprimés à leur surface, favorisant des réponses d'anticorps, l'activation des lymphocytes T cytotoxiques et des cytokines de type Th1. Ils permettent une réduction de la charge parasitaire d'environ 30% (Ortega-Pierres *et al.* 2015).

De nombreux essais vaccinaux ont été réalisés avec des extraits protéiques totaux, des protéines ES, de l'ADN ou des protéines recombinantes, conférant une protection partielle dans les modèles animaux. Le développement de vaccins basés sur plusieurs épitopes (parties antigéniques) provenant de différents stades parasitaires pourrait permettre une protection totale contre *Trichinella* (Gu *et al.* 2013; Ortega-Pierres *et al.* 2015). Ces vaccins pourraient empêcher l'installation des L1M au niveau intestinal, empêcher le développement des vers adultes et donc la production de L1NN et prévenir la migration des L1NN au niveau des muscles.

2. Travail de recherche : identification de protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella*

a. Contexte

Ce travail de recherche a été effectué dans le cadre de mon stage de Master 2 Recherche, à l'ANSES (agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) au sein de l'Unité Mixte de Recherche BIPAR (Biologie moléculaire et immunologie parasitaires).

b. Introduction

T. spiralis et *T. nativa* sont deux espèces qui diffèrent par leur infectiosité, notamment chez le porc, le rat et la souris. Des différences biologiques ont été observées chez le rat entre les 2 espèces. *T. spiralis* est plus infectieuse que *T. nativa*, la charge parasitaire est plus importante chez les rats infectés par *T. spiralis* que par *T. nativa* (Airas *et al.* 2012). Le nombre de L1NN libérées par femelle *in vitro* est supérieur pour *T. spiralis* (E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* 1992; Airas *et al.* 2012). Le succès parasitaire de *T. spiralis* et *T. nativa* chez la souris à différentes étapes du développement parasitaire a été étudié.

La différence de virulence de ces 2 espèces pourrait reposer sur des différences qualitatives et/ou quantitatives au niveau de l'expression des protéines. Nous avons étudié des extraits protéiques totaux de 5 stades différents : les L1M, les adultes 62 heures p-i (H62), les adultes 5 jours p-i (J5) et après 2 jours de culture (J5+2), et les L1NN. D'après l'étude de Gagliardo, McVay, et Appleton (2002) chez le rat, les femelles sont inséminées 30 heures p-i, les œufs ne sont pas encore fécondés. Les embryons sont présents dès le 4e jour p-i. L'expression des protéines pourrait différer avant (H62) et après (J5) la fécondation. Le contenu des embryons et larves pourrait changer le profil protéique des adultes femelles. Le profil protéique pourrait aussi être différent entre les adultes J5 et J5+2 puisque les femelles ont libéré les L1NN après 2 jours de culture.

Nous avons montré que la production de L1NN par les femelles est plus importante pour *T. spiralis* que pour *T. nativa in vitro* et les L1NN de *T. spiralis* s'installent mieux dans les muscles de la souris que celles de *T. nativa* après inoculation intra-veineuse (IV) de L1NN. Des protéines qui pourraient être impliquées dans la virulence des 2 espèces ont été identifiées : des cathépsines, la GST, des cystatines, des antigènes du groupe TSL-1. Une analyse quantitative de ces protéines pourrait mettre en évidence des différences d'expression entre les 2 espèces de *Trichinella*.

L'identification de protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella* permettrait le développement d'outils diagnostic précoces et de nouveaux traitements.

c. Objectifs

Les objectifs de ce travail de recherche étaient :

- de déterminer à quelle(s) étape(s) du développement parasitaire se fait la différence de virulence entre *T. spiralis* et *T. nativa* chez la souris.
- de déterminer les protéines pouvant être impliquées dans la virulence de *Trichinella* grâce à de la spectrométrie de masse en tandem.

d. Matériel et méthodes

Parasite

T. spiralis ISS 004 a été isolé d'un sanglier en 1950 aux Etats-Unis et fourni au laboratoire en 2003. *T. nativa* ISS 042 a été isolé d'un ours en 1985 en Alaska et fourni au laboratoire en 1992. Des souris OF-1 ont été infestées avec 350 L1M de *T. spiralis* ou *T. nativa*. 6 semaines plus tard, les souris ont été euthanasiées pour récupérer des L1M. Pour la collecte des vers adultes 62 heures ou 5 jours après l'infestation, les souris ont été inoculées avec 1500 L1M de *T. spiralis* ou *T. nativa*.

Collecte des L1M

Les L1M de *T. spiralis* et *T. nativa* ont été récupérées à partir de souris infestées. Une digestion artificielle à $45^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ a été réalisée pendant 30 minutes (Gamble 1996; Gamble *et al.* 2000). Pour une carcasse de souris, 1 litre d'eau à $45^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, 8 mL d'acide chlorhydrique à 25 % et 15 mL de pepsine liquide (660 units European Pharmacopoeia/ mL, Panreac) ont été ajoutés. Le mélange a ensuite été filtré sur un tamis de $180\ \mu\text{m}$ dans des ampoules à décanter en verre et laissé 30 minutes à décanter. 40 mL d'éluat ont été récupérés dans un tube conique de 50 mL. Après une nouvelle décantation de 10 minutes, 30 mL de surnageant ont été retirés et 30 mL d'eau ajoutés. Cette étape a été répétée une fois et le nombre de L1M a été compté à l'aide d'un microscope binoculaire (Figure 11).

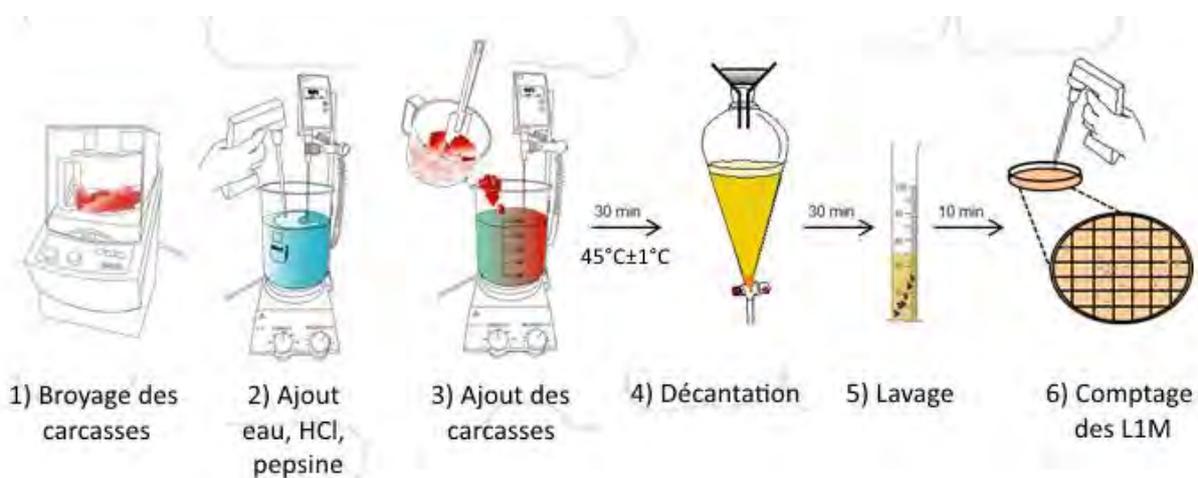


Figure 11 Méthode de digestion artificielle pour la récupération des larves musculaires (L1M)

Collecte des vers adultes et L1NN

62 heures ou 5 jours après l'infection expérimentale, les vers adultes ont été récupérés au niveau de l'intestin grêle des souris. Les intestins ont été coupés à 2 reprises, dans leur longueur pour libérer la lumière intestinale et en morceaux de 3 centimètres pour faciliter la libération des vers adultes, puis placés dans des boîtes de Pétri contenant du PBS 1X (Invitrogen, France) avec 2% de glutamine et 2% de pénicilline / streptomycine. Le surnageant (PBS sans les intestins) a été transféré dans un cristalliseur de $200\ \mu\text{m}$ contenant du PBS 1X. Les morceaux d'intestin ont été transférés dans un cristalliseur de $315\ \mu\text{m}$ contenant du PBS 1X. Après 1h30 d'incubation à 37°C et 5% de CO_2 , le mélange a été filtré à nouveau sur des gazes ($10\times 10\ \text{cm}$) dans une ampoule à décanter en verre et laissé à décanter pendant 30 minutes. 40 mL d'éluat ont été récupérés dans un tube conique de 50 mL. Après une nouvelle décantation de 10 minutes, 30 mL de surnageant ont été retirés et

30 mL d'eau ajoutés. Cette étape a été répétée une fois et le nombre de vers adultes a été compté à l'aide d'un microscope binoculaire (Figure 12).

Pour la collecte des vers adultes et des L1NN après 2 jours de culture, les vers adultes ont été incubés à 37°C et 5% de CO₂ pendant 48 heures dans des flasques de culture de 25 cm² contenant du RPMI, 1% de glutamine, 2% de pyruvate, 1% de pénicilline / streptomycine. Les vers adultes et les L1NN ont été séparés après 2 jours de culture avec un tamis cellulaire de 40 µm.

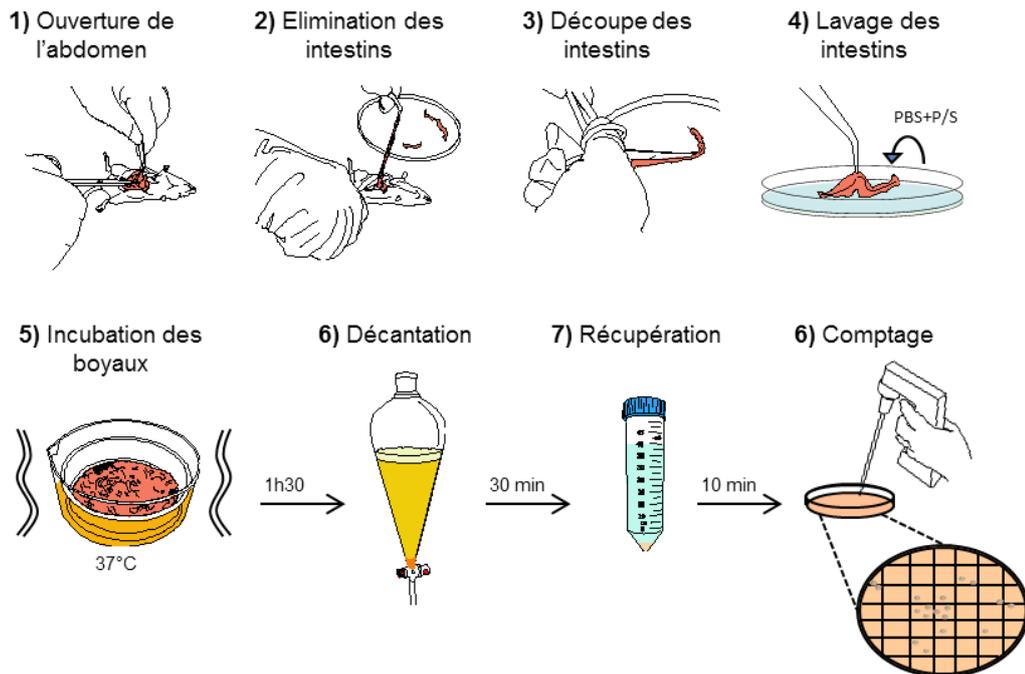


Figure 12 Récupération des vers adultes au niveau de l'intestin

Les L1NN de chaque espèce de *Trichinella* ont été injectées à des souris. Des vers femelles sélectionnés sur des critères morphologiques (bonne mobilité, alignement des œufs, non cassées) ont été placés dans des puits individuels avec le même milieu de culture que celui décrit précédemment et supplémenté avec 5 % de sérum de veau foetal et incubés à 37°C et 5% de CO₂ pendant 48 heures. Le nombre de L1NN libérées a été relevé à 24 heures et 48 heures pour chaque vers femelle.

Injections intraveineuses

Les L1NN ont été récupérées après 2 jours de culture en flasque. 50 µl de solution ont été injectés dans la veine latérale de la queue avec une seringue (Terumo Myjector U-100 Insulin-Spritzen 27G, needle 12x0.4mm). 11 000 L1NN de *T. spiralis* ou *T. nativa* ont été injectées.

Conservation des parasites avant l'extraction des protéines

Après la collecte, chaque stade parasitaire (L1M, adultes à 62 heures ou 5 jours, adultes après 2 jours de culture et L1NN) a été transféré dans un microtube de 1.5 mL et congelé à sec à -80°C avant la procédure d'extraction des protéines.

Extraction des protéines totales et dosage

Un choc thermique a été réalisé avec du Tris-HCl pH 8, 20 mM et 1 % de SDS à température ambiante sur les culots sortis du congélateur. Les culots ont été broyés par ultrasonication (9 cycles de 10 secondes avec 10 secondes de break) avec l'appareil (Sonopuls, Bandelin). Des inhibiteurs de protéases (Complete, Mini, Roche) ont été ajoutés. Une centrifugation a été réalisée à 15 000 g à 4°C pendant 1 heure et les surnageants ont été récupérés. La concentration en protéines a été mesurée avec le kit BCA protein assay reagent (Pierce) et les densités optiques acquises avec le spectrophotomètre Multiskan™ GO Microplate (Thermo Fisher Scientific) à 562 nm.

SDS-PAGE et Western Blot

La concentration en protéines était limitée après l'extraction pour certains échantillons. Ainsi, selon la disponibilité, 5 ou 10 µg de protéines ont été séparés sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) avec des gels de séparation d'acrylamide à 10% et des gels de concentration d'acrylamide à 5% dans des cuves d'électrophorèse Mini-Protean (Bio-Rad) à 140 V pendant 1 heure. Les gels ont été colorés au bleu de Coomassie (Sigma) ou au nitrate d'argent (Bio-Rad).

Après 20 à 30 minutes de coloration au bleu de Coomassie, le gel a été lavé avec de l'eau et placé au four à micro-ondes jusqu'à décoloration (environ 10 minutes à 800W).

La coloration au nitrate d'argent a été réalisée avec le kit silver stain plus™ (Bio-Rad) selon la procédure du fabricant.

Un Western Blot a été réalisé sur tous les stades de *T. spiralis* et *T. nativa* pour détecter la protéine NBL-1. L'électrophorèse des protéines a été faite dans les mêmes conditions que celles mentionnées plus haut. Les protéines totales ont été transférées sur des filtres de nitrocellulose avec Trans-Blot Turbo (Bio-Rad), selon le mode « Standard » pendant 30 minutes à 1A ; 25V. Les filtres de nitrocellulose ont été bloqués avec du lait écrémé 5% dans du Tris-Borate Saline-Tween 1X (TBST, 50 mM Tris, pH 8.0, 150 mM NaCl, 1% Tween 20) à 4°C durant la nuit et lavés 3 fois avec du TBST 1X. Les filtres de nitrocellulose

ont été incubés 1 heure à température ambiante avec une dilution au 1/1000^e de sérum de souris contenant un anticorps monoclonal anti NBL-1 (partie C terminale) et lavés 3 fois avec du TBST 1X. Les filtres ont été incubés 1 heure avec une dilution au 1/2000^e d'anticorps IgG de lapin anti-souris couplé avec la HRP (horseradish peroxidase, Serotec, Star13B) et lavés 3 fois avec du TBST 1X. Les bandes de protéines réactives ont été révélées avec le substrat Clarity Western ECL (Bio-Rad) pendant 5 minutes dans le noir.

Les gels et le Western Blot ont été visualisés sur un système ChemiDoc™ XRS (Bio-Rad) et les images analysées avec le logiciel Image Lab™ version 5.2 (Bio-Rad).

Analyse protéomique

Après une courte migration (5 mm) sur SDS-PAGE (NuPAGE 4-12% Bis Tris gel, Invitrogen) et coloration au bleu de Coomassie (Simply blue safe stain, Invitrogen), les morceaux de gel ont été découpés et lavés pendant 15 minutes avec un mélange d'acétonitrile (100 mM) et de bicarbonate d'ammonium (1:1). Une digestion a été réalisée toute la nuit à 37°C avec du bicarbonate d'ammonium 50 mM, pH 8 et 100 ng de trypsine modifiée (Promega, sequencing grade) par échantillon. Le surnageant a été conservé. Les peptides ont été extraits par de l'acide formique 0.5% dans un mélange eau/acétonitrile (v/v). Le surnageant et les peptides tryptiques ont été séchés et re-suspendus dans 50 µl de tampon de lyse (2% d'acétonitrile, 0.08% d'acide trifluoroacétique)

Les protéines ont été identifiées avec un spectromètre de masse Orbitrap Fusion Lumos Tribrid (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) couplé à un UltiMate3000 RSLCnano (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA). Chaque échantillon (4 µL) a été injecté sur une nano colonne (3 µm, 75 µm x 20 mm, Thermo Fisher Scientific) en phase inversée PepMap C18 puis séparé sur une nano colonne PepMap C18 (3 µm, 75 µm x 50 cm, Thermo Fisher Scientific) et élué pendant 80 minutes sur un gradient d'acétonitrile (ACN) et d'acide formique (AF).

Le spectromètre de masse a été utilisé en mode « ion positif » avec une tension de pulvérisation de 1,4 kV et la source de température à 275°C. Le spectromètre de masse a été utilisé en mode d'acquisition de données dépendant (ADD). Dans toutes les expériences, les scans des spectres de masse ont été acquis sur une plage de masse de 400-1500 m/z, avec une résolution de la détection de l'analyseur de masse de l'Orbitrap réglée à 120000. Les spectres de fragmentation d'ions produits par CID (énergie de collision

de 35%) ont été acquis dans l'analyseur de masse. Toutes les données ont été acquises avec le logiciel Xcalibur 3.1 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA).

Analyse des données

Pour l'assignation des peptides de MS/MS, une base de données contenant les séquences protéiques, disponible sur UniProtKB, contenant les séquences annotées codant pour les protéines (CDS) de chaque espèce de *Trichinella* a été utilisée. Cette base de données contient 16806 entrées pour *T. nativa* et 33857 entrées pour *T. spiralis*. Les listes de pics ont été générées avec X!Tandem pipeline (version 3.3.5) développé par la plateforme PAPPSO (<http://pappso.inra.fr/>) en utilisant X!Tandem (Piledriver version 2015.04.01.1) (<http://www.thegpm.org/TANDEM/>).

Les paramètres suivants ont été fixés : une erreur de clivage a été autorisée par protéine, les carboxyamidométhylations des cystéines sont fixées comme modifications fixes et les oxydations des méthionines comme possibles. Les paramètres suivants ont été appliqués : la coupure enzymatique au niveau des trypsines, la tolérance de masse peptidique a été fixée à 10 ppm et la tolérance de la fragmentation de masse à 0.5 Da. La recherche a été affinée en ajoutant des paramètres similaires, les peptides semi-tryptiques et les acétylations en partie N terminale des protéines ont été cherchés. Les échantillons ont été analysés en mode combiné, les fichiers de résultats de SM/SM sont combinés en un seul fichier de résultats ce qui permet la comparaison des résultats. Les peptides avec des e-values inférieures à 0.05 ont été retenus dans l'analyse. Une protéine était considérée comme valide lorsqu'au moins 2 différents peptides ont été identifiés.

Des réseaux d'interactions de gènes ont été obtenus sur la base de données STRING (version 10.0) (<http://string-db.org/>). L'analyse des voies KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) a été réalisée sur la base de données STRING disponible pour un nombre limité d'organismes (*T. spiralis* était disponible mais pas *T. nativa*). Chaque protéine a un code d'identification (ID) qui est différent pour *T. spiralis* et *T. nativa*. Pour comparer les protéines des 2 espèces sur la base de données STRING, les protéines ayant le même nom pour *T. spiralis* et *T. nativa* ont été nommées avec les ID de *T. spiralis*.

Les séquences des protéines ont été comparées en utilisant la fonction BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) sur UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>) et alignées grâce au logiciel multalin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/>).

e. Résultats et discussion

1. Etude du succès parasitaire

La différence de virulence entre les deux espèces pourrait s'expliquer par une différence de succès parasitaire lors d'une étape du cycle parasitaire. Pour évaluer le succès parasitaire de *T. spiralis* et *T. nativa*, le nombre de L1M récupérées chez la souris après une inoculation de L1M par voie orale a été comparé. 6 semaines après l'infestation, la médiane était de 27 800 L1M par souris pour *T. spiralis* (n=4 souris) et de 10 100 L1M par souris pour *T. nativa* (n=8 souris). Le nombre de L1M récupérées était significativement plus grand chez *T. spiralis* que chez *T. nativa* (Test de Wilcoxon, p-value<0.01). Par la suite, le nombre d'adultes récupérés 5 jours après infestation avec 1500 L1M a été comparé. Les médianes suivantes ont été obtenues : 385 adultes J5 par souris pour *T. spiralis* (n=4 lots de 5 souris) et 495 adultes J5 par souris pour *T. nativa* (n=4 lots de 5 souris). Le nombre d'adultes J5 récupéré n'était pas significativement différent entre *T. spiralis* et *T. nativa* (Test de Wilcoxon, p-value=0.2). Le nombre de L1NN libérées par femelle *in vitro* après 24 heures et 48 heures de culture a ensuite été comparé. Les médianes obtenues sont de 70 L1NN et 88 L1NN par femelle *T. spiralis* en 24 et 48 heures respectivement (n=58, 3 expériences) et 25 L1NN et 39 L1NN par femelle *T. nativa* en 24 et 48 heures respectivement (n=28, 2 expériences). Le nombre de L1NN libérées par femelle était significativement plus grand pour *T. spiralis* que pour *T. nativa* (Test de Wilcoxon, p-value<0.0001). Pour *T. spiralis*, environ 32% des L1NN se sont installées dans les cellules musculaires 6 semaines après inoculation IV (n=3 souris) et pour *T. nativa* environ 17% (n=4 souris). La différence observée est significative (Test de Student, p-value<0.01) (Figure 13).

Les résultats ont montré que le nombre de L1M récupérées est 2.7 fois plus élevé pour *T. spiralis*. Le nombre de L1NN produites par femelle est 2.3 fois plus élevé pour *T. spiralis*, et 1.8 fois plus de L1NN se sont installées dans le muscle pour *T. spiralis* après inoculation IV. Ces résultats pourraient expliquer la différence de virulence entre les deux espèces.

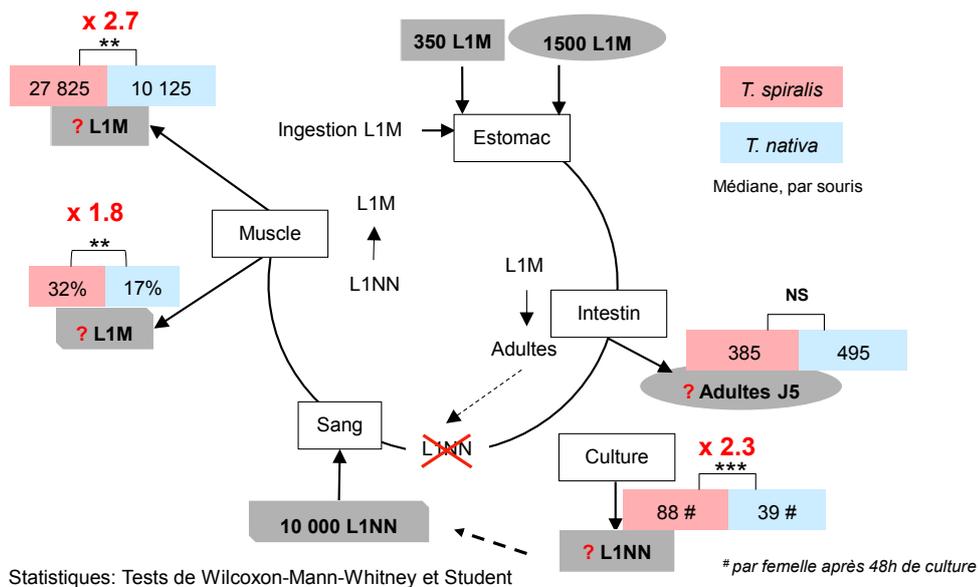


Figure 13 Schéma représentatif du succès parasitaire à différentes étapes du cycle de *T. spiralis* (en rouge) et *T. nativa* (en bleu) après inoculation de larves musculaires (L1M) par voie orale ou de larves nouveau-nées (L1NN) par voie intraveineuse. Les chiffres dans les carrés de couleur représentent le nombre de parasites récupérés à chaque étape du cycle parasitaire. Pour les L1NN, ces chiffres représentent le nombre de L1NN libérées par femelle après 48 heures de culture.

Nos résultats montrent un RCI plus élevé pour *T. spiralis* que pour *T. nativa* chez la souris, ce qui est cohérent avec l'étude de E. Pozio, La Rosa, Rossi, et al. (1992) chez le rat. Après l'inoculation de 2000 L1M, Airas et al. (2012), ont récupéré 9700 L1M pour *T. spiralis* et 140 pour *T. nativa*. En comparant ces résultats aux nôtres, il semblerait que *T. nativa* soit plus infectieuse chez la souris que chez le rat.

Airas et al. (2012) ont montré que les femelles *T. spiralis* originaires de souris, produisaient 57 L1NN par femelle *in vitro* en 24 heures, et 29 pour *T. nativa*. Une autre étude a montré que les femelles récupérées chez des rats Wistar produisaient 110 L1NN par femelle *in vitro* en 72 heures pour *T. spiralis* et 30 pour *T. nativa* (E. Pozio, La Rosa, Rossi, et al. 1992). La différence observée entre les deux espèces est similaire à celle obtenue chez la souris en 48 heures dans notre étude. Par ailleurs, dans notre étude, les femelles ont été récupérées 5 jours après l'infestation des souris et sélectionnées sur des critères morphologiques. Les adultes ont été récupérés 6 jours après l'infestation dans les études de E. Pozio, La Rosa, Rossi, et al. (1992) et Airas et al. (2012). La sélection des femelles n'a pas été faite dans les autres études. Les milieux de culture utilisés sont différents entre les études : du DMEM

(Dulbecco's Modified Eagles Medium) a été utilisé par Airas *et al.* (2012) et du BME (Basal Medium Eagle) supplémenté a été utilisé par E. Pozio, La Rosa, Rossi, *et al.* (1992). Nous avons utilisé un milieu de culture à base de RPMI dans notre étude. Ces éléments peuvent influencer la production de L1NN *in vitro*.

Après une inoculation de L1NN en IV chez le rat, Airas *et al.* (2012) ont montré que 20 % des L1NN atteignaient le muscle pour *T. spiralis* et 1.7 % pour *T. nativa*. La différence observée entre les espèces semble donc plus importante chez le rat (différence de 11.7) que chez la souris (différence de 1.8 dans notre étude). Cependant, cette différence pourrait être due à la différence du nombre de L1NN injecté en IV (5000 dans l'étude de Airas *et al.* (2012) et 10 000 dans notre étude). D'après Airas *et al.* (2012), la phase intestinale aurait une plus grande influence sur la réduction de la production de L1M que la phase musculaire.

Les différences observées entre les deux espèces pourraient s'expliquer par le fait que les vers adultes de *T. spiralis* se reproduisent mieux dans l'intestin que ceux de *T. nativa*, le succès d'entrée des L1NN de *T. spiralis* dans les vaisseaux sanguins pourrait être meilleur, les vers adultes de *T. nativa* pourraient mourir pendant la phase intestinale, le succès d'entrée des L1M dans l'épithélium intestinal et des L1NN dans le muscle pourraient aussi être meilleurs pour *T. spiralis*.

2. Etude protéomique

i. Identification de protéines spécifiques de stade

Profils protéiques des différents stades

Pour comparer les profils protéiques des différents stades de chaque espèce de *Trichinella*, nous avons séparé les extraits protéiques totaux de chaque stade par SDS-PAGE à une dimension. L'électrophorèse 1D a révélé des bandes majeures communes à tous les stades de *T. spiralis* : 2 bandes proches entre elles autour de 100-150 kDa, 3 bandes près de 70 kDa, une bande à 50 kDa environ, 2 bandes autour de 25 kDa (Figure 14). Pour *T. nativa*, l'électrophorèse 1D a révélé une bande autour de 250 kDa, 5 bandes entre 75 et 100 kDa, 2 bandes proches entre elles autour de 50 kDa, une bande autour de 40 kDa, une bande à 25 kDa environ (Figure 14). Autour de 25 kDa, seulement une bande a été détectée pour les L1NN de *T. nativa* alors que 2 bandes étaient visibles chez les L1NN de *T. spiralis*. En ce qui concerne les L1M, la bande entre 130 et 250 kDa semblait plus intense chez *T. nativa* que chez *T. spiralis*. Les profils protéiques entre 35 et 55 kDa semblaient diverger entre les 2 espèces de *Trichinella*. En conclusion, les profils protéiques des 2 espèces ne diffèrent pas de façon importante mais certaines protéines semblent divergentes entre les 2 espèces.

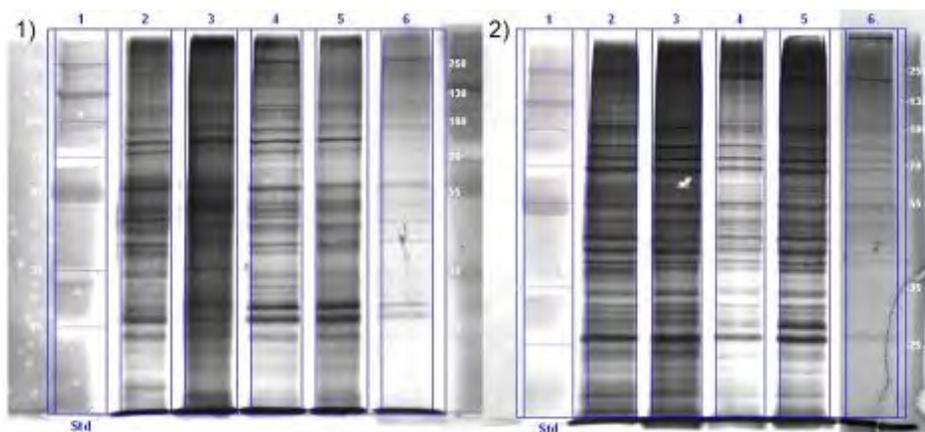


Figure 14 SDS-PAGE à une dimension d'extraits protéiques totaux de *Trichinella* colorée au nitrate d'argent. 1) *T. spiralis* et 2) *T. nativa*. Lignes 1 : marqueurs de taille, lignes 2 : L1M (10µL), lignes 3 : Adultes H62 (10µL), lignes 4 : Adultes J5 (5µL), lignes 5 : Adultes J5+2 (10µL), lignes 6 : L1NN (4µL).

Pour identifier les protéines spécifiques de chaque stade, une analyse par chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse en tandem a été réalisée. Elle a permis d'identifier 3544 protéines pour *T. spiralis* et 2294 protéines pour *T. nativa*. Seulement 1987 protéines ont été étudiées pour *T. spiralis* et 1516 protéines pour *T. nativa*. Parmi ces protéines, 747 sont partagées par tous les stades de *T. spiralis* et 337 pour *T. nativa* (Figure 15).

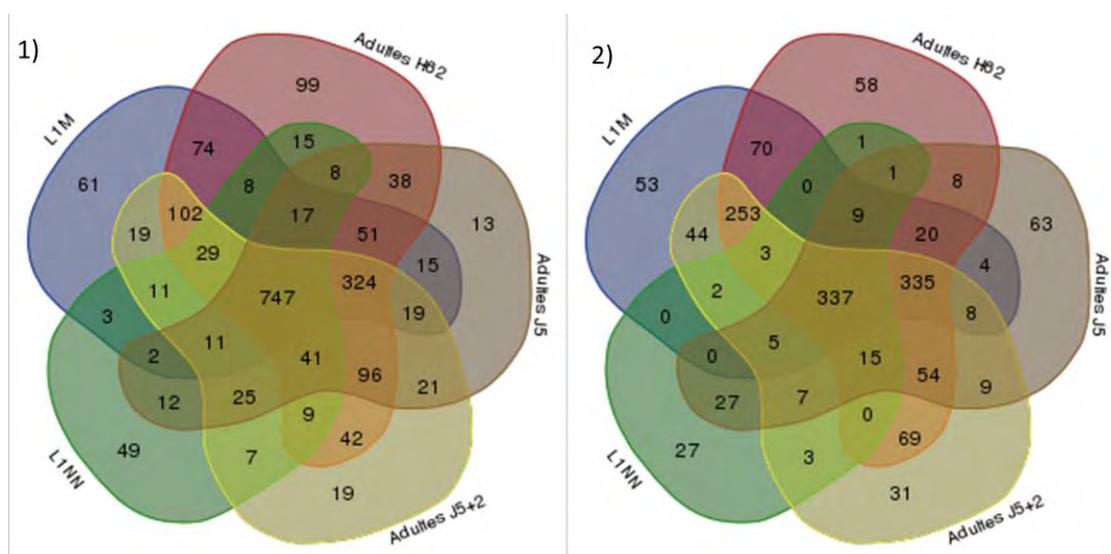


Figure 15 Protéines spécifiques ou communes à différents stades de *Trichinella*. 1) *T. spiralis* et 2) *T. nativa*. Le diagramme de Venn représente un cercle par stade parasite : larve musculaire (L1M), adultes à H62, J5 ou J5+2 et larve nouveau-née (L1NN).

Le génome de *T. spiralis* (ISS 195) a été séquencé en 2011 par (Mitreva *et al.* 2011). Il fait 60 millions de paires de bases (pb) et codes pour 16 000 protéines. Le génome de *T. nativa*, séquencé en 2013 mais n'a pas encore été publié, il fait 49 millions de pb et code pour au moins 10 175 protéines. Une étude plus récente estime le génome de *T. spiralis* (ISS 3) à 50 millions de pb et celui de *T. nativa* (ISS 10) à 48 millions de pb (Korhonen *et al.* 2016). La différence entre les nombres de protéines identifiées entre les deux espèces pourrait s'expliquer par un manque d'informations pour *T. nativa*, 16 806 protéines sont connues dans la base de données, par rapport à *T. spiralis*, 33 857 protéines sont connues. Les souches de *T. spiralis* et *T. nativa* utilisées pour implémenter la base de données UniProt sont différentes de celles utilisées dans notre étude. Ces souches peuvent présenter des différences génomiques pouvant se répercuter sur les séquences des protéines prédites. Pour harmoniser les études, des souches de références peuvent être utilisées. La différence de séquences protéiques entre les différentes souches peut aboutir à des erreurs d'identification protéiques. La majorité des séquences protéiques disponible sur UniProt proviennent du shotgun du génome entier (whole genome shotgun) et seulement 13 protéines ont été confirmées pour *T. spiralis*, aucune pour *T. nativa*. L'annotation des protéines est donc peu fiable, le score d'annotation étant de 1 sur 5 pour la majorité des protéines. Et les redondances dans la base de données ne peuvent pas être exclues. Une méthode pour améliorer l'identification des protéines dans notre étude serait d'appliquer des filtres directement à la base de données pour éviter les redondances. L'identification des protéines pourra être améliorée lorsque les bases de données seront complétées et les protéines confirmées.

La SM/SM couplée à l'HPLC permet d'identifier des protéines en se basant sur les séquences peptidiques, les peptides sont générés par digestion à la trypsine. Un des inconvénients de cette technique est que les petites protéines contenant peu de lysines et d'arginine dans leurs séquences ne sont pas détectées. Cette technique génère une grande quantité de données, mais aucun logiciel n'est disponible pour une analyse complète des données à l'heure actuelle. Les logiciels utilisés dans cette étude sont limités en termes de connaissances sur le parasite et sur les protéines. La comparaison des deux espèces de *Trichinella* a été difficile à cause du manque de données dans les bases de données et des connaissances limitées des logiciels (STRING).

Certains peptides sont partagés par plusieurs protéines parce qu'elles appartiennent à une même famille mais peuvent avoir des épissages alternatifs ou provenir de différents allèles ou de gènes proches (famille multigénique). X!Tandem Pipeline utilise le principe de

Parcimonie pour exclure les protéines qui n'ont pas un peptide spécifique. X !Tandem Pipeline retient la première protéine (qui apparaît par ordre alphabétique) dans chaque sous-groupe, les autres ne sont donc pas sujettes à l'analyse. La SM/SM couplée à de l'HPLC permet d'identifier une protéine avec la présence de 2 peptides minimum. Chez les nématodes, il est fréquent de retrouver des protéines ayant des séquences très proches. Par exemple, *T. spiralis* possède une famille de gènes codant pour des DNases II. Ces protéines ont donc des séquences proches (M. Y. Liu *et al.* 2007). Ceci pourrait expliquer que nous n'avons pas identifié certaines protéines. *Trichinella* peut posséder plusieurs isoformes d'une protéine, des épissages alternatifs peuvent avoir lieu pendant la transcription, les protéines peuvent subir des modifications post-traductionnelles. Ces modifications (phosphorylations, acétylations...) seraient essentielles pour les fonctions biologiques de la protéine, participant à la survie parasitaire, l'échappement au système immunitaire de l'hôte et à la pathogénèse (Bien *et al.* 2012; L. Wang *et al.* 2013). L'analyse de gels d'électrophorèse à 2 dimensions pourrait permettre d'identifier ces modifications. En effet, les modifications post-traductionnelles modifient les propriétés de migration des protéines sur gel d'électrophorèse.

Protéines spécifiques des L1NN

Cibler les protéines spécifiques des L1NN permettrait d'empêcher leur installation au niveau musculaire, ces protéines sont donc des protéines de choix pour la mise en place d'un traitement ou d'un vaccin.

Les protéines spécifiques du stade L1NN de *T. spiralis* (49 protéines) et *T. nativa* (27 protéines) ont été étudiées (

Figure 15, Annexe 4, Annexe 5). La majorité de ces protéines a une activité hydrolase ou peptidase. Chez *T. spiralis*, nous avons identifié 19 protéines de la famille des désoxyribonucléases II (DNases II) dont 2 Plancitoxin-1 et 14 protéines pour *T. nativa* dont 4 Plancitoxin-1. Les DNases II sont des endonucléases qui catalysent la dégradation de l'ADN en oligonucléotides. 125 gènes codant pour des protéines de la famille des désoxyribonucléases II ont été identifiés (Liao *et al.* 2014).

Nous avons identifié 4 protéines spécifiques des L1NN de *T. spiralis* et *T. nativa* dont 2 protéines de la famille des DNases II ayant une activité hydrolase et impliquées dans le métabolisme de l'ADN, une métalloendopeptidase ayant des activités peptidase et hydrolase, et une fonction de liaison d'ions qui est impliquée dans le processus de mues et

dans la protéolyse, et une protéine contenant des domaines répétés riches en leucine donc les fonctions ne sont pas connues (Tableau 8, Figure 16).

Tableau 8 Protéines retrouvées spécifiquement dans le stade larve nouveau-née (L1NN) de T. nativa et T. spiralis, leurs fonctions et implications dans des processus biologiques sont indiqués ainsi que le pourcentage d'identité entre les protéines des 2 espèces. Les ID sont les numéros d'accèsion UniProt, les PM sont les poids moléculaires en kDa.

Protéines spécifiques des L1NN de <i>T. nativa</i>			Protéines homologues spécifiques des L1NN chez <i>T. spiralis</i>			Fonctions	Processus biologique	% d'identité
ID	Nom	PM	ID	Nom	PM			
A0A0V1KM30	Deoxyribonuclease-2-alpha	37.1	E5SPQ5	Deoxyribonuclease II superfamily	37	activité hydrolase	métabolisme de l'ADN	91,70%
A0A0V1L1F7	Leucine-rich repeat-containing protein let-4	81.1	A0A0V1BIV6	Leucine-rich repeat-containing protein let-4 (Fragment)	83.8	ND	ND	98,20%
A0A0V1L951	Metalloendopeptidase	64.6	A0A0V1C0C0	Metalloendopeptidase	64.4	activités peptidase et hydrolase, liaison d'ions zinc	mues, protéolyse	86,60%
A0A0V1LFH7	Deoxyribonuclease-2-alpha	170.6	A0A0V1B6X3	Deoxyribonuclease-2-alpha	139.3	activité hydrolase	métabolisme de l'ADN	72,6% sur une partie

Sept protéines spécifiques des L1NN de *T. nativa* ont été identifiées (Annexe 2). Une protéine appartenant au complexe du pore nucléaire, impliquée dans le transport de molécules a été retrouvée dans les L1M de *T. spiralis* (92.8% d'identité entre les protéines). D'autres protéines appartenant au complexe nucléaire ont été identifiées, elles sembleraient moduler le phénotype des cellules musculaires infectées (Yao et Jasmer 1998). Une synapsine a été identifiée, elle possède une activité catalytique et de liaison des nucléotides et nucléosides, et est impliquée dans de nombreux processus biologiques dont le transport de neurotransmetteurs. Elle a été retrouvée dans les adultes J5 et les L1NN de *T. spiralis* (98.4 % d'identité entre les protéines). Les synapsines jouent un rôle dans la régulation de la neurotransmission et la synaptogenèse (Humeau *et al.* 2011).

Trois protéines spécifiques des L1NN de *T. spiralis* ont été identifiées (Annexe 3). Une DNA-directed RNA polymerase impliquée dans la transcription a été identifiée ainsi que deux protéines non caractérisées dont les fonctions ne sont pas connues.

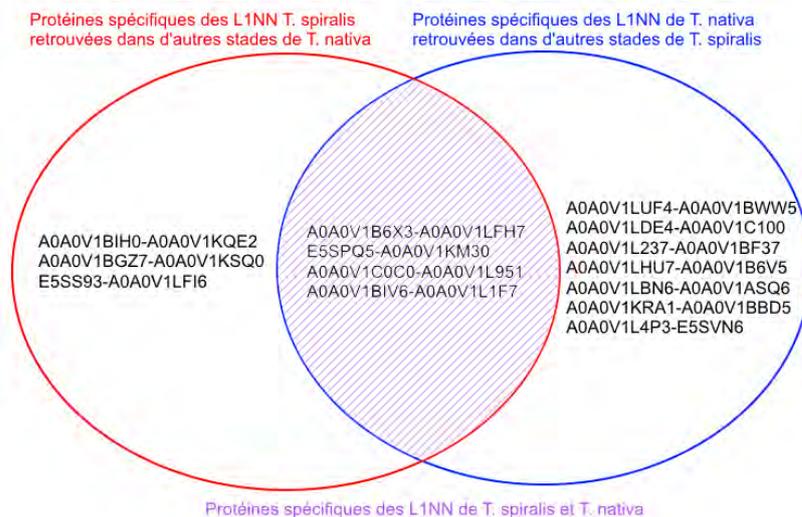


Figure 16 Diagramme de Venn représentant les protéines retrouvées spécifiquement chez les L1NN de *T. spiralis* et/ou *T. nativa*. Le cercle bleu représente les protéines spécifiques des L1NN de *T. nativa* (ID de gauche) avec leurs homologues chez *T. spiralis* (ID de droite) qui ont été retrouvés dans d'autres stades chez *T. spiralis*. Le cercle rouge représente les protéines spécifiques des larves nouveau-nées (L1NN) de *T. spiralis* (ID de gauche) avec leurs homologues chez *T. nativa* (ID de droite) qui ont été retrouvés dans d'autres stades chez *T. nativa*. L'intersection des deux cercles représente les protéines spécifiques des L1NN de *T. spiralis* et *T. nativa* avec leurs homologues respectifs (l'ID de gauche est le numéro d'accèsion Uniprot de *T. spiralis* et l'ID de droite est le numéro d'accèsion Uniprot de *T. nativa*).

Les stades adultes J5 et J5+2 pourraient contenir des protéines qui sont spécifiques des L1NN. En effet, si certaines protéines sont exprimées fortement au stade L1NN, elles pourraient être détectées en SM/SM dans les échantillons adultes J5 et J5+2. Dans notre étude, ces protéines auraient été identifiées comme communes aux stades J5, J5+2 et L1NN. Ces protéines ne seraient cependant pas présentes dans les échantillons d'adultes H62. D'autres études seraient nécessaires pour confirmer la spécificité de stade de certaines protéines et déterminer leur abondance. Cependant, les protéines de surface semblent évoluer rapidement lors du développement parasitaire, même dans un stade donné (Jungery, Clark, et Parkhouse 1983). Les protéines spécifiques des L1NN pourraient être différentes avant la ponte par les femelles (dans les échantillons d'adultes J5 et J5+2) et une fois libérées (dans les échantillons L1NN). Un moyen pour savoir si certaines protéines communes aux stades J5, J5+2 et L1NN sont spécifiques des L1NN serait d'extraire les L1NN du ventre des vers femelles.

A l'heure actuelle, une seule protéine spécifique du stade L1NN a été étudiée, NBL-1. Elle permet une détection précoce de l'infection (15 jours p-i). Par ailleurs, cette protéine confère une protection partielle chez le porc après vaccination, permettant de réduire la charge parasitaire de 72% (communication personnelle).

ii. Identification de protéines impliquées dans la virulence

L'étude de la différence des profils protéiques de *T. spiralis* et *T. nativa* pourrait aider à l'identification de protéines impliquées dans la virulence du parasite.

Des protéines impliquées dans la virulence ont déjà été identifiées :

- les antigènes du groupe TSL-1 : l'énolase, la protéine P49 et la glycoprotéine gp53
- les protéases : cathépsines, protéases à sérine
- les cystatines
- la nudix hydrolase
- la Glutathione-S-transférase (GST)
- les protéines de choc thermique (HSPs)

Ces protéines ont été comparées dans les 2 espèces de *Trichinella*.

1) Les antigènes du groupe TSL-1

L'énolase a été retrouvée parmi les protéines les plus abondantes de tous les stades de *T. spiralis* et *T. nativa*. Nos résultats sont cohérents avec l'étude de (Bien, Cabaj, et Moskwa 2015) la protéine a été identifiée dans les L1M et les adultes de *T. spiralis* par spectrométrie de masse. La protéine P49 n'a pas été retrouvée dans nos échantillons mais existe à la fois chez *T. spiralis* et *T. nativa*. (Bien, Cabaj, et Moskwa 2015) ont identifié cette protéine dans les produits ES des L1M mais pas dans ceux des adultes ni dans les extraits protéiques totaux. Cette protéine est sécrétée par le parasite, ce qui pourrait expliquer que nous ne l'avons pas identifiée dans les extraits totaux. Cependant, cette protéine a été retrouvée dans les extraits totaux de L1M de *T. britovi* et T8 (Dea-Ayuela et Bolás-Fernández 2005). La méthode d'extraction des protéines utilisée pourrait influencer le type de protéines extraites. La glycoprotéine gp53 a été retrouvée dans 4 stades de *T. spiralis* : en quantité abondante dans les L1M et en moins grande quantité dans les stades adultes. La gp 53 n'a pas été identifiée chez *T. nativa*. Cependant, elle existe dans les bases de données de *T. nativa* (Consortium 2015) et a été identifiée par (Romarís *et al.* 2003). La glycoprotéine gp53 est un antigène stocké dans les β -stichocytes, ce qui expliquerait qu'elle est retrouvée en quantité abondante dans les L1M. Elle est sécrétée durant la phase intestinale par les L1M,

ce qui expliquerait la diminution de sa quantité dans les stades adultes et que nous ne l'avons pas identifié dans le stade L1NN (Romarís *et al.* 2003). Cependant une étude quantitative est nécessaire pour confirmer ces résultats.

2) Les protéases

Ces protéases à cystéine ont été identifiées : des cathépsines, la sentrin-specific protéase 1 ; des métallo-protéases, la CAAX prenyl protéase 1 ; des protéases aspartiques, lysosomale, superfamille des protéases aspartiques eucaryotes, intra-membranaire ; des protéases à sérine, la protéase à sérine putative, transmembranaire, la protéase lon, sérine protéase hespique, des chymotrypsines.

Dans les échantillons de *T. nativa*, les cathépsines B, Z et L ont été identifiées. Dans les échantillons de *T. spiralis*, les cathépsines X, F, B, Z, L, L1 et E-A ont été retrouvées. La cathépsine E-A existe dans les bases de données de *T. nativa* (Consortium 2015). Ces cathépsines ont 98.1 % d'homologie entre les deux espèces. D'après notre étude, l'abondance des cathépsines dans les échantillons est faible, ce qui pourrait expliquer que certaines cathépsines n'ont pas été identifiées chez *T. nativa*. Les cathépsines F et L1 n'existent pas dans les bases de données de *T. nativa* (Consortium 2015). Les bases de données laissent penser qu'il y ait une plus grande diversité de cathépsines chez *T. spiralis*. Cependant, la différence entre les deux espèces pourrait plutôt être d'ordre quantitatif. La mise en évidence des différences d'expression des cathépsines entre les 2 espèces pourrait expliquer, en partie, la différence de virulence et demande des études quantitatives supplémentaires. La cathépsine F est impliquée dans la virulence de nombreux helminthes (Qu *et al.* 2015). D'autres études sont nécessaires pour confirmer l'absence de cette protéine chez *T. nativa* qui pourrait expliquer, en partie, la différence de virulence entre les deux espèces.

La chymotrypsine-C a été identifiée dans les stades L1NN, adultes J5 et adultes J5+2 de *T. spiralis*. Cette protéine n'existe pas dans les bases de données de *T. nativa*. Cette protéine a une séquence très proche d'une sérine protéase spécifique des L1NN appelée NBL-1 (96.8% d'homologie) qui possède 2 isoformes (SS2 (Q9BJL7) et SS2-1 (Q6RUJ3)) et d'une putative trypsine (E5S9P5) (100% d'homologie sur une partie de la protéine). 13 peptides ont confirmé la présence de la chymotrypsine-C dans les échantillons de *T. spiralis* avec un taux de recouvrement de 25% (Figure 17 17). Les protéines NBL-1 et la putative trypsine n'ont pas été identifiées à cause du principe de Parcimonie. Ces 3 protéines appartiennent au même groupe de protéines parce qu'elles ont des peptides communs. Mais des peptides

spécifiques à la chymotrypsine-C ont permis de l'identifier. NBL-1 et la putative trypsine sont écartées par X ! Tandem Pipeline. Les séquences de la putative trypsine, la chymotrypsine-C et les 2 isoformes de NBL-1 divergent par quelques acides aminés (Figure 18), ces protéines pourraient donc provenir de différents gènes ou de différents allèles d'un même gène. Elles pourraient aussi provenir d'épissages alternatifs et donc être des isoformes d'une seule protéine. La mutation de la séquence d'ADN est peu probable car le changement d'acide aminé porterait sur la mutation de 2 nucléotides successifs.

MIRRLFQYTSMTFAWILLFLSAASPSLGEFECGVPHFKPYIWKSGRIVGGTDVRPHS
HPWQIQLLKSETGGYSSLCGGSLVHFGEPSNGTRFVLTAAHCITTSNMYPRTSRFT
VVTGAHNIKMHEKEKRRIPITSYYVQHWNPVMTTNDIALLRLAETVYYNKYTRPVCL
 PEPNEELTPGDICVVTGWGDTTENGTTSNLTKQVDVKIMKKGTCANVRSEVITFCA
 GAMEGGKDSCQGDSSGGLICKKNGKSVQFGVVSYGTGCARKGYPGVYAKVPSY
VTWLNKAAKELENSPEGTVKWASKEDSPVDLSTTSRPTNPYTGSRPTSPSSGSR
 PTPSSGSRPTSPSSGSRPTYPSSGSRPTSPSSGSRPTYPSSGSRPTYPTGSRP
TPQKPVFPSYQKYPPAVQKYIDSLPSGTQGTLEYTVTQNGVTTTTYYHFSKTLH
 CFSSMSRTDVEKLVNSHKVVVFMKGIPEQPLCGFNSLVVQILKMHEVPFQAYNVLE
 DESLRQGIKDYTDWQTIPQVFVNGKFIGGADILLEMHNRELEKVVWQENGVKKESV

Figure 17 Peptides identifiés par SM/SM pour confirmer la présence de la Chymotrypsine-C dans les échantillons de T. spiralis. Ces peptides (en bleu et souligné) recouvrent 25% de la séquence de la protéine.

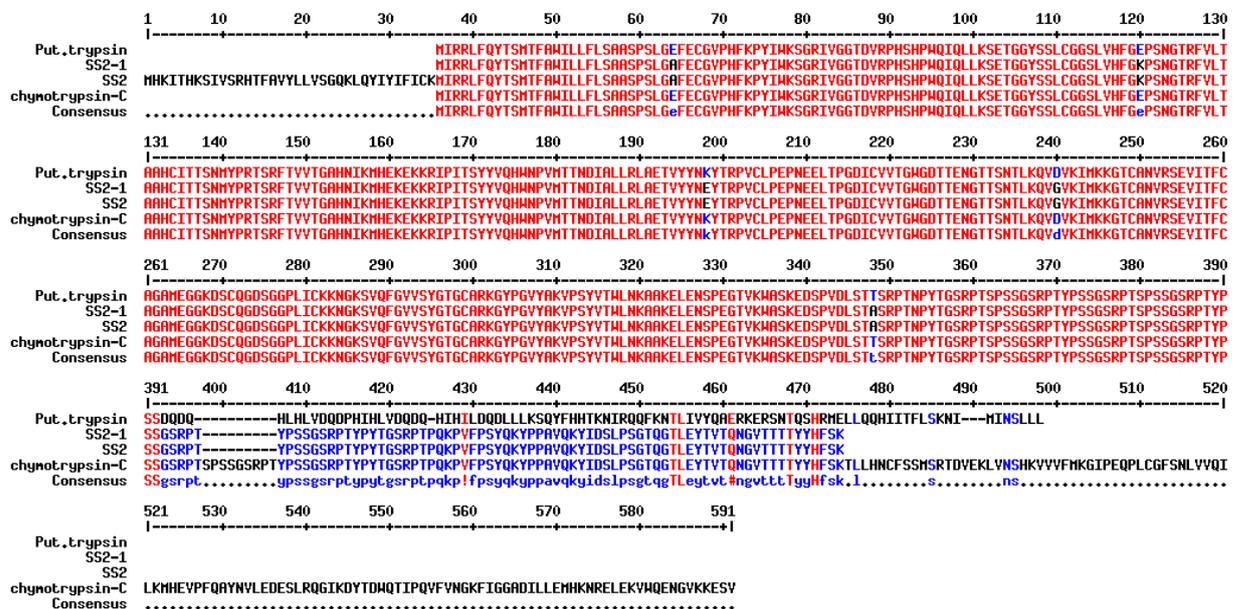


Figure 18 Alignement des séquences de la Chymotrypsine-C, putative trypsine, NBL-1 SS2 and SS2-1 sur multalin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/>). Ces protéines appartiennent au même sous-groupe de protéines.

Le Western Blot sur NBL-1 (Figure 19) a identifié la protéine dans les L1NN des deux espèces à 48.7 kDa pour *T. spiralis* et 47 kDa pour *T. nativa* et dans les adultes J5+2 de *T. spiralis* à 48.3 kDa. Elle n'a pas été identifiée dans les adultes J5 de *T. spiralis*, ce résultat pourrait s'expliquer par une plus petite quantité de protéines déposées sur le gel. L'identification de NBL-1 était attendue dans les échantillons adultes J5 et J5+2 car les femelles n'ont pas libéré tout leur stock de L1NN *in vitro*. L'anticorps monoclonal utilisé cible la séquence PSSGSRPTYP (Yong Yang, Lacour, *et al.* 2015). Cependant cette séquence est aussi présente chez la chymotrypsine-C et la putative trypsine. Les bandes détectées autour de 48 kDa semblent correspondre à NBL-1 mais celles autour de 80-85 kDa n'ont pas pu être identifiées.

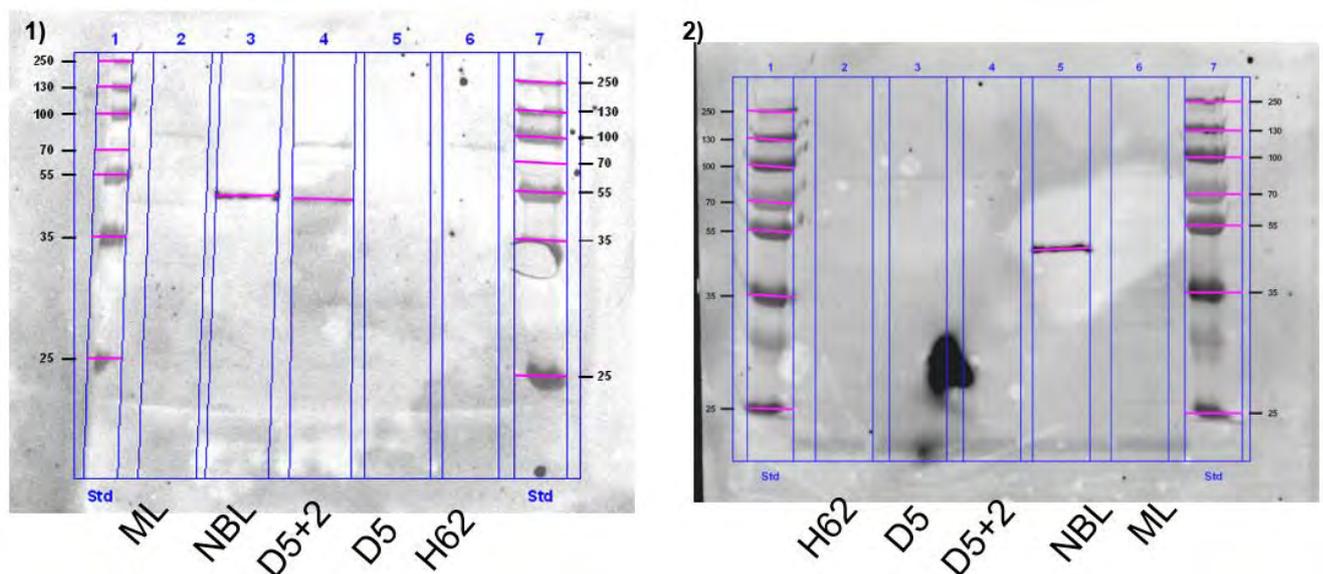


Figure 19 Western Blot pour détecter la présence de NBL-1 dans des extraits totaux de différents stades de *Trichinella*. 1) *T. spiralis* L1M (11.1 μ g), L1NN (1.8 μ g), adultes J5+2 (10.3 μ g), adultes J5 (4.6 μ g) et adultes H62 (9.9 μ g). 2) *T. nativa* L1M (12 μ g), L1NN (5 μ g), adultes J5+2 (5.6 μ g), adultes J5 (9.6 μ g) et adultes H62 (9.7 μ g).

3) les cystatines

Une protéine ayant un domaine multi cystatine-like a été identifiée comme faisant partie des protéines les plus abondantes des L1M de *T. spiralis* et dans les échantillons adultes. Cette protéine est aussi connue sous le nom de NBL-2. Elle n'existe pas dans les bases de données de *T. nativa* (Consortium 2015) mais partage 92.1% d'homologie avec une protéine non caractérisée (A0A0V1LLL7). Une protéine cystatin-like a été identifiée dans les L1M et les adultes de *T. spiralis*, cette protéine n'existe pas dans les bases de données de *T. nativa* (Consortium 2015) mais partage 92.4% d'homologie avec une partie d'une protéine non

caractérisée (A0A0V1LTX6). Les cystatines A et L ont été identifiées chez *T. spiralis*, dans les L1M et les adultes. Les cystatines B (dans les L1M et les adultes H62) et L (dans les L1M et les adultes) ont été identifiées chez *T. nativa*. Les cystatines L des 2 espèces ont 97.4% d'homologie. Les cystatines présentent différentes isoformes, qui diffèrent en taille, probablement dû à des épissages alternatifs. Les cystatines sont clivées par protéolyse et vont libérer des peptides bioactifs qui inhibent les cystéines protéases parasitaires et de l'hôte favorisant la survie du parasite (Dubin 2005).

4) la nudix hydrolase

Une putative nudix hydrolase a été identifiée dans les L1M et les adultes de *T. spiralis*. Cette protéine n'existe pas dans les bases de données de *T. nativa*. Une putative nudix hydrolase 6 a été identifiée dans les L1M, adultes J5 et J5+2 de *T. spiralis* et dans les L1M de *T. nativa*. Les protéines des deux espèces ont 95.9% d'homologie sur une partie de la protéine. La nudix hydrolase, localisée au niveau de la cuticule et dans les stichocytes, serait présente dans tous les stades parasitaires. Elle serait sécrétée à un stade précoce de l'infection. Elle devrait être présente dans les extraits totaux et les produits ES de *Trichinella* (S. R. Long *et al.* 2015). Il semblerait donc, que la putative nudix hydrolase 6 aurait dû être identifiée dans les échantillons adultes de *T. nativa*. La quantité de protéines disponible pour les échantillons de L1NN était faible, ce qui expliquerait que la nudix hydrolase n'a pas été identifiée dans ces échantillons. Cette enzyme serait importante au développement parasitaire et aurait un rôle dans l'invasion de l'épithélium intestinal (Shao Rong Long *et al.* 2014).

5) la Glutathione-S-transferase (GST)

La GST a été identifiée dans tous les stades de *T. spiralis* et *T. nativa*. D'un point de vue qualitatif, une différence entre les espèces ne peut pas être mise en évidence au niveau de l'expression de la GST. Cependant, une différence quantitative semble exister. Le gène codant pour la GST serait exprimé à tous les stades du développement de *T. spiralis*, mais serait sur-exprimé dans le stade adulte par rapport au stade L1M. La GST serait impliquée dans l'invasion des cellules épithéliales intestinales (Cui, Li, *et al.* 2015).

6) les protéines de choc thermique (HSPs)

Les HSP-60, HSP-70, HSP-83 et HSP- β 1 ont été identifiées dans tous les stades de *T. spiralis* et *T. nativa*. La HSP-60 est une protéine chaperonne exprimée dans divers stades du développement (Nagano, Wu, et Takahashi 2009). Plusieurs études ont permis

d'identifier la HSP-70 dans le stade L1M, les stades pré-adulte et adulte de *T. spiralis*. Cette protéine serait essentielle au parasite durant la phase intestinale (Zocevic *et al.* 2011; Bien, Cabaj, et Moskwa 2015). La HSP-70 a été identifiée en grande quantité dans les L1NN ce qui indique qu'elle joue probablement un rôle lors de la phase musculaire. La HSP-90 a été identifiée dans les échantillons de *T. spiralis* mais pas dans ceux de *T. nativa*. Cette protéine n'existe pas dans la base de données de *T. nativa* utilisée pour l'identification (UniProt). Cependant elle existe dans WormBase Parasite (version WBPS6-WS252) pour *T. nativa* (Howe *et al.* 2015). La HSP-90 de *T. nativa* possède 91.3% d'homologie sur une partie de la HSP-90 de *T. spiralis*. La HSP-90 de *T. spiralis* lie la geldanamycine, qui est un inhibiteur spécifique de la HSP-90. L'inhibition de la HSP-90 est létale pour le parasite, cette protéine chaperonne est donc essentielle à la survie de plusieurs nématodes, dont *T. spiralis* (Him *et al.* 2009).

f. Conclusion

Cette étude visait à identifier des différences au niveau biologique et protéomique entre *T. spiralis* et *T. nativa* pour mieux comprendre la virulence de *Trichinella*. L'analyse a été réalisée sur des extraits protéiques totaux de 5 stades parasitaires différents. L'étude des protéines ES pourrait aider à l'identification d'autres protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella* car les produits ES semblent moduler les fonctions cellulaires de l'hôte (Sofronic-Milosavljevic *et al.* 2015).

L'électrophorèse à une dimension a permis d'identifier des différences entre les 2 espèces. Cependant, une bande peut contenir plusieurs protéines, l'analyse par spectrométrie de masse en tandem a permis d'identifier des protéines pour chaque stade parasitaire. Cette approche qualitative peut être complétée par une approche quantitative à l'aide de répliques biologiques de chaque stade parasitaire. Chaque stade parasitaire exprime des protéines spécifiques permettant une adaptation à l'environnement rencontré chez l'hôte, mais la majorité des protéines identifiées sont communes à tous les stades.

Des protéines potentiellement impliquées dans la virulence de *Trichinella* ont été identifiées : des cathépsines, la GST, des cystatines et des protéines du groupe TSL-1. Des progrès sur l'identification des protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella* pourraient être la clé de la virulence d'autres nématodes. Les modifications post-traductionnelles n'ont pas été étudiées mais sont impliquées dans l'immunogénicité de *Trichinella*. Le β -tyvelose confère l'antigénicité à certaines protéines et induit une réponse humorale importante qui protège l'hôte d'une réinfection (Sofronic-Milosavljevic *et al.* 2015).

Des études protéomiques pourraient permettre l'analyse des phosphorylations, méthylations et acétylations.

Des protéines spécifiques au stade L1NN de *T. spiralis* et *T. nativa* ont été identifiées : 2 protéines de la famille des DNases II impliquées dans le métabolisme de l'ADN, une métalloendopeptidase impliquée dans le processus de mues et dans la protéolyse et une protéine contenant des domaines répétés riches en leucine donc les fonctions ne sont pas connues. Une approche quantitative permettra de confirmer ces résultats.

Cependant, le parasite n'est pas le seul acteur à considérer dans le processus de virulence, l'hôte est aussi impliqué et un dialogue s'installe entre les deux partenaires. Les interactions entre l'hôte et le parasite jouent un rôle dans le développement parasitaire et la résistance de l'hôte. L'analyse de l'expression des gènes au niveau de la muqueuse intestinale du rat par Airas *et al.* (2013) n'a pas montré de différence entre *T. spiralis* et *T. nativa*. L'analyse des protéomes intestinaux de souris infectées par *T. spiralis* ou *T. nativa* comparés à ceux de souris naïves pourrait révéler des différences et aider à la compréhension des mécanismes impliqués dans la virulence de *Trichinella*.

La séparation des mâles et des femelles pourrait aussi apporter des connaissances supplémentaires sur la virulence, les protéines des femelles pourraient être la cible de traitements pour empêcher la libération des L1NN.

Notre étude apporte une nouvelle approche pour l'identification de protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella*. Ces protéines pourraient être impliquées dans la virulence d'autres parasites.

Conclusion générale

La trichinellose est une maladie zoonotique transmise par le parasite nématode *Trichinella*. Les réservoirs parasitaires sont nombreux, le contrôle de la maladie chez les animaux domestiques semble envisageable, mais ne peut s'appliquer à la faune sauvage. Dans les années 1900, cette maladie était à l'origine de nombreux décès. Elle semble aujourd'hui mieux maîtrisée, mais touche 10 000 personnes par an et de nombreuses épidémies sont rapportées chaque année. Cette maladie est un problème de santé publique dans les pays en développement. Elle provoque des troubles digestifs et musculaires et peut entraîner la mort. Un diagnostic précoce est nécessaire pour traiter les malades et éviter l'enkystement des larves dans le muscle, organe cible des L1NN. Actuellement, aucun traitement n'est efficace lorsque les larves ont pénétré dans les muscles. Les mesures de prévention sont donc essentielles pour limiter la maladie chez les populations à risque comme les voyageurs et les chasseurs. Le contrôle des viandes susceptibles à *Trichinella* est obligatoire en Europe et aux Etats-Unis. Le parasite est détecté à l'abattoir par digestion artificielle de muscles pouvant contenir *Trichinella* (diaphragme et langue essentiellement). Actuellement, à cause du coup économique, le contrôle n'est pas ou pas correctement effectué dans les pays d'Europe de l'Est, en Asie et en Amérique Latine, pays endémiques. Une alternative à cette méthode serait de développer un vaccin pour les élevages porcins afin de protéger les animaux et l'Homme. Le coût de revient serait plus faible, notamment si ce vaccin peut être associé à un autre. Un vaccin basé sur l'association de 4 protéines recombinantes (NBL-1, NBL-2, TsGST24, 411) a permis de réduire la charge parasitaire de 95% chez le porc (Projet TrichiVac) (« ANR - Agence Nationale de la Recherche », s. d.). C'est le premier vaccin recombinant aussi efficace chez le porc mais des études supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une protection totale. L'étude des protéines impliquées dans la virulence de *Trichinella* est nécessaire pour le développement d'un vaccin pouvant protéger les animaux et donc indirectement l'Homme. *T. spiralis*, espèce la plus infectieuse et la plus répandue est aussi la plus étudiée. Plus de 6 millions de gènes ont été annotés pour cette espèce et 30 fois moins pour les autres espèces (Howe *et al.* 2015). Une annotation des génomes des autres espèces a été lancée par une équipe Australienne en 2016 (Korhonen *et al.* 2016) et devrait apporter des informations supplémentaires pour l'étude des protéines des différentes espèces. Les protéines du stade L1M ont largement été étudiées, celles du stade pré-adulte et adulte sont de plus en plus étudiées puisqu'elles pourraient être la clé pour un

diagnostic précoce. Les protéines du stade L1NN n'ont pas encore été étudiées mais pourraient aider au développement d'un vaccin chez le porc.

Références (153)

- Airas, Niina, Anu Näreaho, Jere Lindén, Karoliina Tuomola, et Antti Sukura. 2012. « The Different Infectivity of *Trichinella Spiralis* and *Trichinella Nativa* in Rat Does Not Solely Localize to Enteral or Parenteral Phase ». *Parasitology Research* 111 (6): 2281-88. doi:10.1007/s00436-012-3080-x.
- Airas, Niina, Anu Näreaho, Jere Lindén, Erkka Valo, Sampsa Hautaniemi, Pikka Jokelainen, et Antti Sukura. 2013. « Early *Trichinella Spiralis* and *Trichinella Nativa* Infections Induce Similar Gene Expression Profiles in Rat Jejunal Mucosa ». *Experimental Parasitology* 135 (2): 363-69. doi:10.1016/j.exppara.2013.07.024.
- Airas, Niina, Seppo Saari, Taina Mikkonen, Anna-Maija Virtala, Jani Pellikka, Antti Oksanen, Marja Isomursu, Seija-Sisko Kilpelä, Chae W. Lim, et Antti Sukura. 2010. « Sylvatic *Trichinella* Spp. Infection in Finland ». *The Journal of Parasitology* 96 (1): 67-76. doi:10.1645/GE-2202.1.
- « ANR - Agence Nationale de la Recherche ». s. d. <http://www.agence-nationale-recherche.fr/>.
- « Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ». s. d. <https://www.anses.fr/fr>.
- Appleton, J. A., R. G. Bell, W. Homan, et F. van Knapen. 1991. « Consensus on *Trichinella Spiralis* Antigens and Antibodies ». *Parasitology Today* 7 (8): 190-92. doi:10.1016/0169-4758(91)90135-B.
- Aranzamendi, C., F. Fransen, M. Langelaar, F. Franssen, P. Van Der LEY, J.p.m. Van PUTTEN, V. Rutten, et E. Pinelli. 2012. « *Trichinella Spiralis*-Secreted Products Modulate DC Functionality and Expand Regulatory T Cells in Vitro ». *Parasite Immunology* 34 (4): 210-23. doi:10.1111/j.1365-3024.2012.01353.x.
- « Autorité européenne de sécurité des aliments ». s. d. <https://www.efsa.europa.eu/fr>.
- Avilán, Luisana, Melisa Gualdrón-López, Wilfredo Quiñones, Limari González-González, Véronique Hannaert, Paul A. M. Michels, et Juan-Luis Concepción. 2011. « Enolase: A Key Player in the Metabolism and a Probable Virulence Factor of Trypanosomatid Parasites—Perspectives for Its Use as a Therapeutic Target ». *Enzyme Research* 2011 (avril): e932549. doi:10.4061/2011/932549.
- Bai, Xue, Xiuping Wu, Xuelin Wang, Zhenhong Guan, Fei Gao, Jianli Yu, Lu Yu, et al. 2012. « Regulation of Cytokine Expression in Murine Macrophages Stimulated by

- Excretory/Secretory Products from *Trichinella Spiralis* in Vitro ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 360 (1-2): 79-88. doi:10.1007/s11010-011-1046-4.
- Bank, The World. 2010. « Volume One : Towards a One Health Approach for Controlling Zoonotic Diseases ». 50833. The World Bank. <http://documents.worldbank.org/curated/en/214701468338937565/Volume-one-towards-a-one-health-approach-for-controlling-zoonotic-diseases>.
- Bell, R. G. 1998. « The Generation and Expression of Immunity to *Trichinella Spiralis* in Laboratory Rodents ». *Advances in Parasitology* 41: 149-217.
- Bi, Kuo, Jing Yang, Lei Wang, Yuan Gu, Bin Zhan, et Xinping Zhu. 2015. « Partially Protective Immunity Induced by a 20 kDa Protein Secreted by *Trichinella Spiralis* Stichocytes ». *PloS One* 10 (8): e0136189. doi:10.1371/journal.pone.0136189.
- Bien, Justyna, Wladyslaw Cabaj, et Bozena Moskwa. 2015. « Proteomic Analysis of Potential Immunoreactive Proteins from Muscle Larvae and Adult Worms of *Trichinella Spiralis* in Experimentally Infected Pigs ». *Folia Parasitologica* 62. doi:10.14411/fp.2015.022.
- Bien, Justyna, Anu Näreaho, Pekka Varmanen, Katarzyna Gozdzik, Bozena Moskwa, Wladyslaw Cabaj, Tuula A. Nyman, et Kirsi Savijoki. 2012. « Comparative Analysis of Excretory-Secretory Antigens of *Trichinella Spiralis* and *Trichinella Britovi* Muscle Larvae by Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis and Immunoblotting ». *Proteome Science* 10 (1): 10. doi:10.1186/1477-5956-10-10.
- Boireau, P, I Vallée, T Roman, C Perret, Liu Mingyuan, H.R Gamble, et A Gajadhar. 2000. « *Trichinella* in Horses: A Low Frequency Infection with High Human Risk ». *Veterinary Parasitology* 93 (3-4): 309-20. doi:10.1016/S0304-4017(00)00348-4.
- Boireau, P., M. Vayssier, J. F. Fabien, C. Perret, M. Calamel, et C. Soulé. 1997. « Characterization of Eleven Antigenic Groups in *Trichinella* Genus and Identification of Stage and Species Markers ». *Parasitology* 115 (Pt 6) (décembre): 641-51.
- Bolás-Fernandez, F., et L. Del Corral Bezara. 2006. « TSL-1 Antigens of *Trichinella*: An Overview of Their Potential Role in Parasite Invasion, Survival and Serodiagnosis of Trichinellosis ». *Research in Veterinary Science* 81 (3): 297-303. doi:10.1016/j.rvsc.2006.01.002.
- Boni, U. de, M. M. Lenczner, et J. W. Scott. 1977. « Autopsy of an Egyptian mummy. 6. *Trichinella spiralis* cyst. ». *Canadian Medical Association Journal* 117 (5): 472.

- Bourée, Patrice, et Jean Dupouy-Camet. 2014. « Diagnostic de la trichinellose ». *Revue Francophone des Laboratoires, Zoonoses*, 2014 (464, Part 1): 71-76. doi:10.1016/S1773-035X(14)72577-8.
- Bruschi, Fabrizio. 2002. « The Immune Response to the Parasitic Nematode *Trichinella* and the Ways to Escape It. From Experimental Studies to Implications for Human Infection ». *Current Drug Targets. Immune, Endocrine and Metabolic Disorders* 2 (3): 269-80.
- Bruschi, Fabrizio, et Lorena Chiumiento. 2012. « Immunomodulation in Trichinellosis: Does *Trichinella* Really Escape the Host Immune System? ». *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* 12 (1): 4-15. doi:10.2174/187153012799279081.
- Bruschi, Fabrizio, et Lorena Chiumiento. 2011. « *Trichinella* Inflammatory Myopathy: Host or Parasite Strategy? ». *Parasites & Vectors* 4: 42. doi:10.1186/1756-3305-4-42.
- Capó, V., et D. D. Despommier. 1996. « Clinical Aspects of Infection with *Trichinella* Spp ». *Clinical Microbiology Reviews* 9 (1): 47-54.
- Capó, Virginia A., Dickson D. Despommier, et Ramona I. Polvere. 1998. « *Trichinella spiralis*: Vascular Endothelial Growth Factor Is Up-Regulated within the Nurse Cell during the Early Phase of Its Formation ». *The Journal of Parasitology* 84 (2): 209-14. doi:10.2307/3284472.
- « Centers for Disease Control and Prevention ». 2016. *Centers for Disease Control and Prevention*. janvier 28. <http://www.cdc.gov>.
- « Centre national de référence des *Trichinella* ». s. d. <http://cnrdestrichinella.monsite-orange.fr/page8/index.html>.
- Clements, Bruce W., et Julie Ann P. Casani. 2016. « 10 - Emerging and Reemerging Infectious Disease Threats ». In *Disasters and Public Health (Second Edition)*, 245-65. Butterworth-Heinemann. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128019801000106>.
- Connolly, Bernadette, Katharine Trenholme, et Deborah F Smith. 1996. « Molecular cloning of a myoD-like gene from the parasitic nematode, *Trichinella spiralis* ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 81 (2): 137-49. doi:10.1016/0166-6851(96)02673-4.
- Consortium, The UniProt. 2015. « UniProt: A Hub for Protein Information ». *Nucleic Acids Research* 43 (D1): D204-12. doi:10.1093/nar/gku989.

- Cui, Jing, Ling Ge Li, Peng Jiang, Ruo Dan Liu, Xuan Yang, Li Na Liu, Pei Liu, Shuai Bing Zhang, et Zhong Quan Wang. 2015. « Biochemical and Functional Characterization of the Glutathione S-Transferase from *Trichinella Spiralis* ». *Parasitology Research* 114 (5): 2007-13. doi:10.1007/s00436-015-4410-6.
- Cui, Jing, Ruo Dan Liu, Li Wang, Xi Zhang, Peng Jiang, Ming Yuan Liu, et Zhong Quan Wang. 2013. « Proteomic Analysis of Surface Proteins of *Trichinella Spiralis* Muscle Larvae by Two-Dimensional Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry ». *Parasites & Vectors* 6: 355. doi:10.1186/1756-3305-6-355.
- Cui, Jing, Li Wang, Ge Ge Sun, Li Na Liu, Shuai Bing Zhang, Ruo Dan Liu, Xi Zhang, Peng Jiang, et Zhong Quan Wang. 2015. « Characterization of a *Trichinella spiralis* 31 kDa protein and its potential application for the serodiagnosis of trichinellosis ». *Acta Tropica* 142 (février): 57-63. doi:10.1016/j.actatropica.2014.10.017.
- D. D. Despommier, R. W. Gwadz, P. J. Hotez and C. A. Knirsch. 2001. « Parasitic Diseases, 4th edition. Apple Trees Productions, New York. » *Parasitology* 122 (2): 252-252. doi:10.1017/S0031182001007569.
- Day, I. N., M. Peshavaria, et G. B. Quinn. 1993. « A Differential Molecular Clock in Enolase Isoprotein Evolution ». *Journal of Molecular Evolution* 36 (6): 599-601.
- De Bruyne, A., I. Vallee, T. Ancelle, I. Brocheriou, A. Bonafe, P. Boireau, et J. Dupouy-Camet. 2006. *Trichinelloses*. EMC. Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses.
- De Bruyne, Aymeric, Nadia Delanos-Gregoire, Thierry Ancelle, et Jean Dupouy-Camet. 2006. « La trichinellose : un risque parasitaire persistant en France ». *Spectra biologie* 25 (153): 24-28.
- Dea-Ayuela, M. A., et F. Bolas-Fernández. 1999. « *Trichinella* Antigens: A Review ». *Veterinary Research* 30 (6): 559-71.
- Dea-Ayuela, M. A., et F. Bolás-Fernández. 2005. « Two-Dimensional Electrophoresis and Mass Spectrometry for the Identification of Species-Specific *Trichinella* Antigens ». *Veterinary Parasitology* 132 (1-2): 43-49. doi:10.1016/j.vetpar.2005.05.018.
- Despommier, D. D. 1998. « How Does *Trichinella Spiralis* Make Itself at Home? » *Parasitology Today (Personal Ed.)* 14 (8): 318-23.
- Despommier, Dickson, et Vincent R. Racaniello. 2004. « *Trichinella.org* ». <http://www.trichinella.org/>.

- Direction Générale de la Santé. s. d. « Ministère des Affaires sociales et de la Santé ». <http://social-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuses/article/trichinellose>.
- Dubin, G. 2005. « Proteinaceous Cysteine Protease Inhibitors ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 62 (6): 653-69. doi:10.1007/s00018-004-4445-9.
- Dupouy-Camet, J., S. Lacour, I. Vallée, H. Yera, et P. Boireau. 2015. « Trichinelloses », mars.
- Dupouy-Camet, Jean. 2015. « Atherosclerosis, Trichinellosis and Egyptian Mummies ». *Journal of Cardiology* 65 (4): 349. doi:10.1016/j.jjcc.2014.09.007.
- Dupouy-Camet, Jean, Wanda Kociecka, Fabrizio Bruschi, Francisco Bolas-Fernandez, et Edoardo Pozio. 2002. « Opinion on the Diagnosis and Treatment of Human Trichinellosis ». *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 3 (8): 1117-30. doi:10.1517/14656566.3.8.1117.
- Dupouy-Camet, Jean, Hana Talabani, et Thierry Ancelle. 2010. « [Trichinellosis]. » *La Revue du praticien* 60 (2): 159-64.
- « European Centre for Disease Prevention and Control ». s. d. <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>.
- Fang, Lei, Liang Sun, Jing Yang, Yuan Gu, Bin Zhan, Jingjing Huang, et Xiping Zhu. 2014. « Heat shock protein 70 from *Trichinella spiralis* induces protective immunity in BALB/c mice by activating dendritic cells ». *Vaccine* 32 (35): 4412-19. doi:10.1016/j.vaccine.2014.06.055.
- Feidas, Haralambos, Marc K. Kouam, Vaia Kantzoura, et Georgios Theodoropoulos. 2014. « Global Geographic Distribution of *Trichinella* Species and Genotypes ». *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 26 (août): 255-66. doi:10.1016/j.meegid.2014.06.009.
- Finkelman, F. D., T. Shea-Donohue, J. Goldhill, C. A. Sullivan, S. C. Morris, K. B. Madden, W. C. Gause, et J. F. Urban. 1997. « Cytokine Regulation of Host Defense against Parasitic Gastrointestinal Nematodes: Lessons from Studies with Rodent Models ». *Annual Review of Immunology* 15: 505-33. doi:10.1146/annurev.immunol.15.1.505.
- Fu, B. Q., M. Y. Liu, C. M. O. Kapel, X. P. Meng, Q. Lu, X. P. Wu, Q. J. Chen, et P. Boireau. 2005. « Cloning and Analysis of a Novel cDNA from *Trichinella Spiralis* Encoding a

- Protein with an FYVE Zinc Finger Domain ». *Veterinary Parasitology* 132 (1-2): 27-30. doi:10.1016/j.vetpar.2005.05.059.
- Gagliardo, L. F., C. S. McVay, et J. A. Appleton. 2002. « Molting, Ecdysis, and Reproduction of *Trichinella spiralis* Are Supported In Vitro by Intestinal Epithelial Cells ». *Infection and Immunity* 70 (4): 1853-59. doi:10.1128/IAI.70.4.1853-1859.2002.
- Gamble, H. R. 1996. « Detection of Trichinellosis in Pigs by Artificial Digestion and Enzyme Immunoassay ». *Journal of Food Protection* 59 (3): 295-98.
- Gamble, H. R, A. S Bessonov, K Cuperlovic, A. A Gajadhar, F van Knapen, K Noeckler, H Schenone, et X Zhu. 2000. « International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption ». *Veterinary Parasitology* 93 (3-4): 393-408. doi:10.1016/S0304-4017(00)00354-X.
- Gottstein, Bruno, Edoardo Pozio, et Karsten Nöckler. 2009. « Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis ». *Clinical Microbiology Reviews* 22 (1): 127-45. doi:10.1128/CMR.00026-08.
- Gounaris, Kleoniki, Simon Thomas, Pilar Najarro, et Murray E. Selkirk. 2001. « Secreted Variant of Nucleoside Diphosphate Kinase from the Intracellular Parasitic Nematode *Trichinella Spiralis* ». *Infection and Immunity* 69 (6): 3658-62. doi:10.1128/IAI.69.6.3658-3662.2001.
- Goyal, P. K., J. Wheatcroft, et D. Wakelin. 2002. « Tyvelose and protective responses to the intestinal stages of *Trichinella spiralis* ». *Parasitology International* 51 (1): 91-98. doi:10.1016/S1383-5769(02)00002-8.
- Gu, Yuan, Junfei Wei, Jing Yang, Jingjing Huang, Xiaodi Yang, et Xiping Zhu. 2013. « Protective Immunity against *Trichinella spiralis* Infection Induced by a Multi-Epitope Vaccine in a Murine Model ». *PLoS ONE* 8 (10). doi:10.1371/journal.pone.0077238.
- Hartmann, S., et R. Lucius. 2003. « Modulation of Host Immune Responses by Nematode Cystatins ». *International Journal for Parasitology* 33 (11): 1291-1302.
- Hernández-Bello, Romel, Rosa María Bermúdez-Cruz, Rocío Fonseca-Liñán, Patricia García-Reyna, Franck Le Guerhier, Pascal Boireau, et Guadalupe Ortega-Pierres. 2008. « Identification, molecular characterisation and differential expression of caveolin-1 in *Trichinella spiralis* maturing oocytes and embryos ». *International Journal for Parasitology* 38 (2): 191-202. doi:10.1016/j.ijpara.2007.07.009.

- Him, Nik AIN, Victoria Gillan, Richard D. Emes, Kirsty Maitland, et Eileen Devaney. 2009. « Hsp-90 and the biology of nematodes ». *BMC Evolutionary Biology* 9: 254. doi:10.1186/1471-2148-9-254.
- Howe, Kevin L., Bruce J. Bolt, Scott Cain, Juancarlos Chan, Wen J. Chen, Paul Davis, James Done, Thomas Down, Sibyl Gao, et Christian Grove. 2015. « WormBase 2016: expanding to enable helminth genomic research ». *Nucleic acids research*, gkv1217.
- Humeau, Yann, Simona Candiani, Mirella Ghirardi, Bernard Poulain, et Piergiorgio Montarolo. 2011. « Functional Roles of Synapsin: Lessons from Invertebrates ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 22 (4): 425-33. doi:10.1016/j.semcdb.2011.07.018.
- « International Commission on Trichinellosis ». s. d. *International Commission on Trichinellosis*. http://trichinellosis.org/Home_Page.html.
- « InVS ». s. d. <http://invs.santepubliquefrance.fr/>.
- Jungery, M., N. W. Clark, et R. M. Parkhouse. 1983. « A Major Change in Surface Antigens during the Maturation of Newborn Larvae of *Trichinella Spiralis* ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 7 (2): 101-9.
- Kapel, Christian MO. 2005. « Inspection for *Trichinella* in the EU-food safety or export concerns ».
- Khan, Zafer Ali. 1966. « The Postembryonic Development of *Trichinella spiralis* with Special Reference to Ecdysis ». *The Journal of Parasitology* 52 (2): 248-59. doi:10.2307/3276480.
- Kociecka, W. 2000. « Trichinellosis: Human Disease, Diagnosis and Treatment ». *Veterinary Parasitology* 93 (3-4): 365-83.
- Korhonen, Pasi K., Edoardo Pozio, Giuseppe La Rosa, Bill C. H. Chang, Anson V. Koehler, Eric P. Hoberg, Peter R. Boag, et al. 2016. « Phylogenomic and Biogeographic Reconstruction of the *Trichinella* Complex ». *Nature Communications* 7: 10513. doi:10.1038/ncomms10513.
- Kozek, Wieslaw J. 1975. « *Trichinella spiralis*: Morphological characteristics of male and female intestine-infecting larvae ». *Experimental Parasitology* 37 (3): 380-87. doi:10.1016/0014-4894(75)90007-7.
- Krivokapich, Silvio J., Edoardo Pozio, Graciana M. Gatti, Cinthia L. Gonzalez Prous, Mabel Ribicich, Gianluca Marucci, Giuseppe La Rosa, et Viviana Confalonieri. 2012. « *Trichinella Patagoniensis* N. Sp. (Nematoda), a New Encapsulated Species

- Infecting Carnivorous Mammals in South America ». *International Journal for Parasitology* 42 (10): 903-10. doi:10.1016/j.ijpara.2012.07.009.
- Krivokapich, Silvio J., Cinthia L. Gonzalez Prous, Graciana M. Gatti, Viviana Confalonieri, Viviana Molina, Hugo Matarasso, et Eduardo Guarnera. 2008. « Molecular Evidence for a Novel Encapsulated Genotype of *Trichinella* from Patagonia, Argentina ». *Veterinary Parasitology* 156 (3-4): 234-40. doi:10.1016/j.vetpar.2008.06.003.
- Lamoureux, Nathalie. 2012. « Les mystères de l'histoire - La malédiction d'Ötzi ». *Le Point*. août 13. http://www.lepoint.fr/culture/les-mysteres-de-l-histoire-la-malediction-d-otzi-13-08-2012-1495687_3.php.
- Liao, Chengshui, Mingyuan Liu, Xue Bai, Pan Liu, Xuelin Wang, Tingting Li, Bin Tang, et al. 2014. « Characterisation of a Plancitoxin-1-like DNase II Gene in *Trichinella Spiralis* ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (8): e3097. doi:10.1371/journal.pntd.0003097.
- Lindh, J. G., B. Connolly, D. L. McGhie, et D. F. Smith. 1998. « Identification of a Developmentally Regulated *Trichinella Spiralis* Protein That Inhibits MyoD-Specific Protein: DNA Complexes in Vitro ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 92 (1): 163-75.
- Liu, M. Y., X. L. Wang, B. Q. Fu, C. Y. Li, X. P. Wu, D. Le Rhun, Q. J. Chen, et P. Boireau. 2007. « Identification of Stage-Specifically Expressed Genes of *Trichinella Spiralis* by Suppression Subtractive Hybridization ». *Parasitology* 134 (Pt 10): 1443-55. doi:10.1017/S0031182007002855.
- Liu, Mingyuan, et Pascal Boireau. 2002. « Trichinellosis in China: Epidemiology and Control ». *Trends in Parasitology* 18 (12): 553-56.
- Liu, Ruo Dan, Jing Cui, Xiao Lin Liu, Peng Jiang, Ge Ge Sun, Xi Zhang, Shao Rong Long, Li Wang, et Zhong Quan Wang. 2015. « Comparative Proteomic Analysis of Surface Proteins of *Trichinella Spiralis* Muscle Larvae and Intestinal Infective Larvae ». *Acta Tropica* 150 (octobre): 79-86. doi:10.1016/j.actatropica.2015.07.002.
- Long, S. R., X. Y. Tian, Z. Q. Wang, R. D. Liu, L. N. Liu, P. Jiang, X. Zhang, et J. Cui. 2015. « Serodiagnosis of trichinellosis by ELISA using recombinant nudix hydrolase of *Trichinella spiralis* ». *ResearchGate* 32 (4): 669-75.
- Long, Shao Rong, Zhong Quan Wang, Ruo Dan Liu, Li Na Liu, Ling Ge Li, Peng Jiang, Xi Zhang, Zi Fang Zhang, Hai Ning Shi, et Jing Cui. 2014. « Molecular identification of *Trichinella spiralis* nudix hydrolase and its induced protective immunity against

- trichinellosis in BALB/c mice ». *Parasites & Vectors* 7: 600. doi:10.1186/s13071-014-0600-9.
- Lun, H. M., C. H. Mak, et R. C. Ko. 2003. « Characterization and Cloning of Metallo-Proteinase in the Excretory/Secretory Products of the Infective-Stage Larva of *Trichinella Spiralis* ». *Parasitology Research* 90 (1): 27-37. doi:10.1007/s00436-002-0815-0.
- Marucci, Gianluca, Louis J. La Grange, Giuseppe La Rosa, et Edoardo Pozio. 2009. « *Trichinella Nelsoni* and *Trichinella T8* Mixed Infection in a Lion (*Panthera Leo*) of the Kruger National Park (South Africa) ». *Veterinary Parasitology* 159 (3-4): 225-28. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.041.
- Mitreva, Makedonka, Douglas P. Jasmer, Dante S. Zarlenga, Zhengyuan Wang, Sahar Abubucker, John Martin, Christina M. Taylor, et al. 2011. « The Draft Genome of the Parasitic Nematode *Trichinella Spiralis* ». *Nature Genetics* 43 (3): 228-35. doi:10.1038/ng.769.
- Morse, Stephen S. 2007. « Silent Victories: The History and Practice of Public Health in Twentieth-Century America ». *Emerging Infectious Diseases* 13 (12): 1972. doi:10.3201/eid1312.071159.
- Mukaratirwa, S., B. M. Dzoma, E. Matenga, S. D. Ruziwa, L. Sacchi, et E. Pozio. 2008. « Experimental Infections of Baboons (*Papio Spp.*) and Vervet Monkeys (*Cercopithecus Aethiops*) with *Trichinella Zimbabweensis* and Successful Treatment with Ivermectin ». *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 75 (2): 173-80.
- Murrell, K. D., R. J. Lichtenfels, D. S. Zarlenga, et E. Pozio. 2000. « The Systematics of the Genus *Trichinella* with a Key to Species ». *Veterinary Parasitology* 93 (3-4): 293-307.
- Murrell, K. Darwin, et Edoardo Pozio. 2011. « Worldwide occurrence and impact of human trichinellosis, 1986–2009 ». *Emerg Infect Dis* 17 (12): 2194–2202.
- Nagano, Isao, Zhiliang Wu, et Yuzo Takahashi. 2009. « Functional Genes and Proteins of *Trichinella Spp* ». *Parasitology Research* 104 (2): 197-207. doi:10.1007/s00436-008-1248-1.
- Nagano, Isao, Zhiliang Wu, Takumi Nakada, Thidarut Boonmars, et Yuzo Takahashi. 2003. « Molecular Cloning and Characterization of a Serine Proteinase Gene of *Trichinella Spiralis* ». *The Journal of Parasitology* 89 (1): 92-98. doi:10.1645/0022-3395(2003)089[0092:MCACOA]2.0.CO;2.

- Näreaho, A., S. Sankari, T. Mikkonen, L. Oivanen, et A. Sukura. 2000. « Clinical Features of Experimental Trichinellosis in the Raccoon Dog (*Nyctereutes Procyonoides*) ». *Veterinary Parasitology* 91 (1-2): 79-91.
- Näreaho, Anu, Seppo Saari, Seppo Meri, et Antti Sukura. 2009. « Complement Membrane Attack Complex Formation and Infectivity of *Trichinella Spiralis* and *T. Nativa* in Rats ». *Veterinary Parasitology* 159 (3-4): 263-67. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.037.
- Neghina, Raul, Roxana Moldovan, Iosif Marincu, Crenguta L. Calma, et Adriana M. Neghina. 2012. « The Roots of Evil: The Amazing History of Trichinellosis and *Trichinella* Parasites ». *Parasitology Research* 110 (2): 503-8. doi:10.1007/s00436-011-2672-1.
- « Office des publications de l'Union européenne ». s. d. Website. <http://publications.europa.eu/fr/web/about-us/who-we-are>.
- « OMS | Organisation mondiale de la Santé ». s. d. *WHO*. <http://www.who.int/fr/>.
- Ortega-Pierres, G., E. Muñiz, R. Coral-Vázquez, et R. M. Parkhouse. 1989. « Protection against *Trichinella Spiralis* Induced by Purified Stage-Specific Surface Antigens of Infective Larvae ». *Parasitology Research* 75 (7): 563-67.
- Ortega-Pierres, G., A. Vaquero-Vera, R. Fonseca-Liñán, R. M. Bermúdez-Cruz, et R. Argüello-García. 2015. « Induction of protection in murine experimental models against *Trichinella spiralis*: an up-to-date review ». *Journal of Helminthology* 89 (5): 526-39. doi:10.1017/S0022149X15000140.
- Park, Jong Nam, Sang Kyun Park, Min Kyoung Cho, Mi-Kyung Park, Shin Ae Kang, Dong-Hee Kim, et Hak Sun Yu. 2012. « Molecular characterization of 45 kDa aspartic protease of *Trichinella spiralis* ». *Veterinary Parasitology* 190 (3-4): 510-18. doi:10.1016/j.vetpar.2012.06.029.
- Philipp, M., R. M. Parkhouse, et B. M. Ogilvie. 1980. « Changing Proteins on the Surface of a Parasitic Nematode ». *Nature* 287 (5782): 538-40.
- Picherot, Mélanie, Isabelle P. Oswald, Martine Cote, Karsten Noeckler, Franck Le Guerhier, Pascal Boireau, et Isabelle Vallée. 2007. « Swine Infection with *Trichinella Spiralis*: Comparative Analysis of the Mucosal Intestinal and Systemic Immune Responses ». *Veterinary Parasitology* 143 (2): 122-30. doi:10.1016/j.vetpar.2006.08.003.
- Polvere, R. I., C. A. Kabbash, V. A. Capó, I. Kadan, et D. D. Despommier. 1997. « *Trichinella Spiralis*: Synthesis of Type IV and Type VI Collagen during Nurse Cell Formation ». *Experimental Parasitology* 86 (3): 191-99. doi:10.1006/expr.1997.4180.

- Pozio, E. 2005. « The Broad Spectrum of Trichinella Hosts: From Cold- to Warm-Blooded Animals ». *Veterinary Parasitology* 132 (1-2): 3-11. doi:10.1016/j.vetpar.2005.05.024.
- Pozio, E., G. La Rosa, K. D. Murrell, et J. R. Lichtenfels. 1992. « Taxonomic Revision of the Genus Trichinella ». *The Journal of Parasitology* 78 (4): 654-59.
- Pozio, E., G. La Rosa, P. Rossi, et K. D. Murrell. 1992. « Biological Characterization of Trichinella Isolates from Various Host Species and Geographical Regions ». *The Journal of Parasitology* 78 (4): 647-53.
- Pozio, E., et D. S. Zarlenga. 2005. « Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of Trichinella ». *International Journal for Parasitology, Parasitic Zoonoses - Emerging Issues*, 35 (11-12): 1191-1204. doi:10.1016/j.ijpara.2005.07.012.
- Pozio, Edoardo. 2014. « Searching for Trichinella: Not All Pigs Are Created Equal ». *Trends in Parasitology* 30 (1): 4-11. doi:10.1016/j.pt.2013.11.001.
- . 2015. « Trichinella Spp. Imported with Live Animals and Meat ». *Veterinary Parasitology* 213 (1-2): 46-55. doi:10.1016/j.vetpar.2015.02.017.
- Pozio, Edoardo, Eric Hoberg, Giuseppe La Rosa, et Dante S. Zarlenga. 2009. « Molecular Taxonomy, Phylogeny and Biogeography of Nematodes Belonging to the Trichinella Genus ». *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 9 (4): 606-16. doi:10.1016/j.meegid.2009.03.003.
- Pozio, Edoardo, et Dante S. Zarlenga. 2013. « New Pieces of the Trichinella Puzzle ». *International Journal for Parasitology* 43 (12-13): 983-97. doi:10.1016/j.ijpara.2013.05.010.
- « ProMED - the Program for Monitoring Emerging Diseases ». 2016. Consulté le septembre 14. <http://www.promedmail.org/>.
- Qu, Zi-gang, Xue-ting Ma, Wen-hui Li, Nian-zhang Zhang, Long Yue, Jian-min Cui, Jian-ping Cai, Wan-zhong Jia, et Bao-quan Fu. 2015. « Molecular Characterization of a Cathepsin F-like Protease in Trichinella Spiralis ». *Parasites & Vectors* 8: 652. doi:10.1186/s13071-015-1270-y.
- Quintanar, J. Luis, Eva Salinas, Raquel Guerrero, Rigoberto Gómez, Sergio Vidal, Jorge Aranda, et Carmen Clapp. 2007. « Prolactin-like hormone in the nematode Trichinella

- spiralis larvae ». *Experimental Parasitology* 116 (2): 137-41. doi:10.1016/j.exppara.2006.12.012.
- Radoslavov, Georgi, Rositsa Jordanova, Denitsa Teofanova, Katya Georgieva, Petar Hristov, Marco Salomone-Stagni, Eva Liebau, et Ilia Bankov. 2010. « A Novel Secretory Poly-Cysteine and Histidine-Tailed Metalloprotein (Ts-PCHTP) from *Trichinella Spiralis* (Nematoda) ». *PloS One* 5 (10): e13343. doi:10.1371/journal.pone.0013343.
- Rhoads, Marcia L. 1983. « *Trichinella spiralis*: Identification and purification of superoxide dismutase ». *Experimental Parasitology* 56 (1): 41-54. doi:10.1016/0014-4894(83)90095-4.
- Ribicich, M., H. R. Gamble, A. Rosa, I. Sommerfelt, A. Marquez, G. Mira, N. Cardillo, M. L. Cattaneo, E. Falzoni, et A. Franco. 2007. « Clinical, Haematological, Biochemical and Economic Impacts of *Trichinella Spiralis* Infection in Pigs ». *Veterinary Parasitology* 147 (3-4): 265-70. doi:10.1016/j.vetpar.2007.04.017.
- Ripert, C. 1998. « Epidémiologie des maladies parasitaires. 2 Helminthoses ». *Editions médicales internationales*.
- Robertson, Lucy J., Hein Sprong, Ynes R. Ortega, Joke W. B. van der Giessen, et Ron Fayer. 2014. « Impacts of Globalisation on Foodborne Parasites ». *Trends in Parasitology* 30 (1): 37-52. doi:10.1016/j.pt.2013.09.005.
- Romarís, F., M. A. Dea-Ayuela, F. Bolás, A. R. Martínez-Fernández, M. L. Sanmartín, et F. M. Ubeira. 2003. « Heterogeneity and Immunogenicity of the *Trichinella* TSL-1 Antigen gp53 ». *Parasite Immunology* 25 (6): 297-305.
- Romaris, Fernanda, Simon J. North, Lucille F. Gagliardo, Barbara A. Butcher, Kaya Ghosh, Daniel P. Beiting, Maria Panico, et al. 2002. « A Putative Serine Protease among the Excretory-Secretory Glycoproteins of L1 *Trichinella Spiralis* ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 122 (2): 149-60.
- Sadaow, Lakkhana, Pewpan M. Intapan, Thidarut Boonmars, Nimit Morakote, et Wanchai Maleewong. 2013. « Susceptibility of Laboratory Rodents to *Trichinella papuae* ». *The Korean Journal of Parasitology* 51 (6): 629-32. doi:10.3347/kjp.2013.51.6.629.
- Schmid-Hempel, Paul. 2009. « Immune Defence, Parasite Evasion Strategies and Their Relevance for 'macroscopic Phenomena' such as Virulence ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 364 (1513): 85-98. doi:10.1098/rstb.2008.0157.

- Selkirk, Murray E., Ayman S. Hussein, Anne E. Chambers, David Goulding, Marie-Pierre Gares, Celia Vásquez-Lopez, Teresa Gárate, R. Michael E. Parkhouse, et Kleoniki Gounaris. 2004. « *Trichinella Spiralis* Secretes a Homologue of Prosaposin ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 135 (1): 49-56.
- Sofronic-Milosavljevic, Ljiljana, Natasa Ilic, Elena Pinelli, et Alisa Gruden-Movsesijan. 2015. « Secretory Products of *Trichinella Spiralis* Muscle Larvae and Immunomodulation: Implication for Autoimmune Diseases, Allergies, and Malignancies ». *Journal of Immunology Research* 2015: 523875. doi:10.1155/2015/523875.
- Soule, C., J. Dupouy-Camet, P. Georges, T. Ancelle, J. P. Gillet, J. Vaissaire, A. Delvigne, et E. Plateau. 1989. « Experimental Trichinellosis in Horses: Biological and Parasitological Evaluation ». *Veterinary Parasitology* 31 (1): 19-36.
- Soulé, Claude, J. Dupouy-Camet, T. Ancelle, P. Bouree, et L. Touratier. 1991. *La trichinellose : une zoonose en évolution*. Office International des Epizooties (OIE).
- Sun, Ge-Ge, Zhong-Quan Wang, Chun-Ying Liu, Peng Jiang, Ruo-Dan Liu, Hui Wen, Xin Qi, Li Wang, et Jing Cui. 2015. « Early Serodiagnosis of Trichinellosis by ELISA Using Excretory-Secretory Antigens of *Trichinella Spiralis* Adult Worms ». *Parasites & Vectors* 8: 484. doi:10.1186/s13071-015-1094-9.
- Takahashi, Y. 1997. « Antigens of *Trichinella Spiralis* ». *Parasitology Today (Personal Ed.)* 13 (3): 104-6.
- Trap, Catherine, Baoquan Fu, Franck Le Guerhier, Mingyuan Liu, Danielle Le Rhun, Thibault Romand, Catherine Perret, Radu Blaga, et Pascal Boireau. 2006. « Cloning and Analysis of a cDNA Encoding a Putative Serine Protease Comprising Two Trypsin-like Domains of *Trichinella Spiralis* ». *Parasitology Research* 98 (4): 288-94. doi:10.1007/s00436-005-0075-x.
- Vermeire, Jon J., Yoonsang Cho, Elias Lolis, Richard Bucala, et Michael Cappello. 2008. « Orthologs of Macrophage Migration Inhibitory Factor from Parasitic Nematodes ». *Trends in Parasitology* 24 (8): 355-63. doi:10.1016/j.pt.2008.04.007.
- « Vidal.fr - La base de données en ligne des prescripteurs libéraux ». s. d. <https://www.vidal.fr/>.
- Villella, J.B. 1970. *Life cycle and morphology in « Trichinosis in man and animals. »* (S.E. Gould, ed.). Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, pp. 19-60. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19720803139>.
- Wakelin, D. 1993. « *Trichinella Spiralis*: Immunity, Ecology, and Evolution ». *The Journal of Parasitology* 79 (4): 488-94.

- Wang, Bin, Zhong Quan Wang, Jing Jin, Hui Jun Ren, Li Na Liu, et Jing Cui. 2013. « Cloning, Expression and Characterization of a *Trichinella Spiralis* Serine Protease Gene Encoding a 35.5 kDa Protein ». *Experimental Parasitology* 134 (2): 148-54. doi:10.1016/j.exppara.2013.03.004.
- Wang, Li, Xiang Yu Tian, Ge Ge Sun, Ruo Dan Liu, Li Na Liu, Xi Zhang, Peng Jiang, Zhong Quan Wang, et Jing Cui. 2015. « The Use of Recombinant 31 kDa Antigens of *Trichinella Spiralis* for Serodiagnosis of Experimental Trichinellosis ». *Iranian Journal of Parasitology* 10 (2): 230-37.
- Wang, Li, Zhong Quan Wang, Dan Dan Hu, et Jing Cui. 2013. « Proteomic Analysis of *Trichinella Spiralis* Muscle Larval Excretory-Secretory Proteins Recognized by Early Infection Sera ». *BioMed Research International* 2013: 139745. doi:10.1155/2013/139745.
- Wang, Rui, Zhong-quan Wang, et Jing Cui. 2009. « [Immunodiagnostic value and immune protection of the recombinant Ts21 antigen of *Trichinella spiralis*] ». *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi = Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases* 27 (1): 17-21.
- Wang, Shaohua, Xinping Zhu, Yaping Yang, Jing Yang, Yuan Gu, Junfei Wei, Ran Hao, P. Boireau, et Shijuan Cui. 2009. « Molecular Cloning and Characterization of Heat Shock Protein 70 from *Trichinella Spiralis* ». *Acta Tropica* 110 (1): 46-51. doi:10.1016/j.actatropica.2009.01.003.
- Wu, Z., I. Nagano, et Y. Takahashi. 2013. « *Trichinella*: What Is Going on during Nurse Cell Formation? » *Veterinary Parasitology* 194 (2-4): 155-59. doi:10.1016/j.vetpar.2013.01.044.
- Wu, Zhiliang, Lj Sofronic-Milosavljevic, Isao Nagano, et Yuzo Takahashi. 2008. « *Trichinella spiralis*: nurse cell formation with emphasis on analogy to muscle cell repair ». *Parasites & Vectors* 1 (août): 27. doi:10.1186/1756-3305-1-27.
- Yang, Jing, Wei Pan, Ximeng Sun, Xi Zhao, Gu Yuan, Qing Sun, Jingjing Huang, et Xinping Zhu. 2015. « Immunoproteomic Profile of *Trichinella Spiralis* Adult Worm Proteins Recognized by Early Infection Sera ». *Parasites & Vectors* 8: 20. doi:10.1186/s13071-015-0641-8.
- Yang, Jing, Yaping Yang, Yuan Gu, Qiang Li, Junfei Wei, Shaohua Wang, P. Boireau, et Xinping Zhu. 2008. « Identification and characterization of a full-length cDNA encoding paramyosin of *Trichinella spiralis* ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 365 (3): 528-33. doi:10.1016/j.bbrc.2007.11.012.

- Yang, Yaping, Xiaodi Yang, Yuan Gu, Yunyun Wang, Xi Zhao, et Xinping Zhu. 2013. « Protective immune response induced by co-immunization with the *Trichinella spiralis* recombinant Ts87 protein and a Ts87 DNA vaccine ». *Veterinary Parasitology*, Special Issue: 13th International Conference on Trichinellosis, 194 (2-4): 207-10. doi:10.1016/j.vetpar.2013.01.057.
- Yang, Yong, Ya Nan Cai, Ming Wei Tong, Na Sun, Yin Hua Xuan, Yan Jun Kang, Isabelle Vallée, Pascal Boireau, Shi peng Cheng, et Ming Yuan Liu. 2016. « Serological tools for detection of *Trichinella* infection in animals and humans ». *One Health 2* (décembre): 25-30. doi:10.1016/j.onehlt.2015.11.005.
- Yang, Yong, Sandrine A. Lacour, Véronique Lainé-Prade, Nicolas Versillé, Aurélie Grasset-Chevillot, Shuang Feng, Ming Yuan Liu, Pascal Boireau, et Isabelle Vallée. 2015. « *Trichinella Spiralis* Newborn Larvae: Characterization of a Stage Specific Serine Proteinase Expression, NBL1, Using Monoclonal Antibodies ». *Parasitology* 142 (6): 783-90. doi:10.1017/S0031182014001851.
- Yang, Yong, Yun jun Wen, Ya Nan Cai, Isabelle Vallée, Pascal Boireau, Ming Yuan Liu, et Shi Peng Cheng. 2015. « Serine Proteases of Parasitic Helminths ». *The Korean Journal of Parasitology* 53 (1): 1-11. doi:10.3347/kjp.2015.53.1.1.
- Yao, C., et D. P. Jasmer. 1998. « Nuclear Antigens in *Trichinella Spiralis* Infected Muscle Cells: Nuclear Extraction, Compartmentalization and Complex Formation ». *Molecular and Biochemical Parasitology* 92 (2): 207-18.
- Yépez-Mulia, L., R. Hernández-Bello, N. Arizmendi-Puga, R. Fonseca-Liñán, et G. Ortega-Pierres. 2007. « Contributions to the Study of *Trichinella Spiralis* TSL-1 Antigens in Host Immunity ». *Parasite Immunology* 29 (12): 661-70. doi:10.1111/j.1365-3024.2007.00985.x.
- Zarlenga, D. S., B. M. Rosenthal, G. La Rosa, E. Pozio, et E. P. Hoberg. 2006. « Post-Miocene Expansion, Colonization, and Host Switching Drove Speciation among Extant Nematodes of the Archaic Genus *Trichinella* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (19): 7354-59. doi:10.1073/pnas.0602466103.
- Zhang, Zhaoxia, Yixian Mao, Da Li, Yvhan Zhang, Wei Li, Honglin Jia, Jun Zheng, Li Li, et Yixin Lu. 2016. « High-level expression and characterization of two serine protease inhibitors from *Trichinella spiralis* ». *Veterinary Parasitology* 219 (mars): 34-39. doi:10.1016/j.vetpar.2016.02.003.

- Zheng, B. L., L. H. Xiao, X. R. Wang, D. M. Li, Y. X. Lu, Y. Zhang, Q. B. Yan, et M. X. Song. 2007. « Study of the 49 kDa Excretory-Secretory Protein Gene of *Trichinella Nativa* and *Trichinella Spiralis* ». *Helminthologia* 44 (3): 120-25. doi:10.2478/s11687-007-0018-4.
- Zocevic, Aleksandar, Sandrine A. Lacour, Pauline Mace, Baldissera Giovani, Aurelie Grasset-Chevillot, Isabelle Vallee, et Pascal Boireau. 2014. « Primary Characterization and Assessment of a *T. Spiralis* Antigen for the Detection of *Trichinella* Infection in Pigs ». *Veterinary Parasitology* 205 (3-4): 558-67. doi:10.1016/j.vetpar.2014.09.004.
- Zocevic, Aleksandar, Pauline Mace, Isabelle Vallee, Radu Blaga, Mingyuan Liu, Sandrine A. Lacour, et Pascal Boireau. 2011. « Identification of *Trichinella Spiralis* Early Antigens at the Pre-Adult and Adult Stages ». *Parasitology* 138 (4): 463-71. doi:10.1017/S0031182010001526.

Annexes

Annexe 1 Fiche de déclaration des toxi-infections alimentaires collectives à remplir par le médecin ou le biologiste déclarant.

République française

Médecin ou biologiste déclarant (tampon) Nom : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____ Signature : _____	SI notification par un biologiste Nom du clinicien : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____	Maladie à déclaration obligatoire Toxi-infection alimentaire collective 12211 Important : cette maladie justifie une intervention urgente locale, nationale ou internationale. Vous devez la signaler par tout moyen approprié (téléphone, télécopie...) au médecin de l'ARS avant même confirmation par le CNR ou envoi de cette fiche.
---	--	--

Date de la notification : | | | | | | | | | |

Nombre de malades : | | | | Nombre de malades hospitalisés : | | | | Nombre de malades décédés : | | | |

Caractéristiques du/des malade(s) :								
Cas	Age	Sexe	Code postal du domicile	Date et heure de début des signes cliniques	Signes cliniques*	Analyses microbiologiques : faite, non faite, inconnu	Résultats : négatif ou positif (si +, préciser l'agent : Salmonelle, Staphylococcus, Campylobacter...)	Complications : DCD = décès, H = hospitalisation
exemple	51	M	42500	10/08/95 à 12 h	V D F A	faite	S. Enteritidis	H
n° 1								
n° 2								
n° 3								
n° 4								
n° 5								
n° 6								
n° 7								
n° 8								
n° 9								
n° 10								

*N = nausées, D = diarrhée, F = fièvre, V = vomissements, A = douleurs abdominales

Analyses microbiologiques dans les aliments (recherche de germes ou de toxines) :

positive négative non faite

Si analyses positives, préciser l'agent :

Si analyses négatives ou non faites chez les cas ou dans les aliments, quels sont les agents suspectés (le ou les 2 plus probables) ?

1/

2/

Origine de l'intoxication : Date du repas : Heure du repas : h Nombre de personnes ayant participé au repas : Lieu du repas : <input type="checkbox"/> familial <input type="checkbox"/> restaurant <input type="checkbox"/> collectivité : <input type="checkbox"/> scolaire <input type="checkbox"/> institut médico-social (hôpital, crèche, maisons de retraite, CAT, MAS) <input type="checkbox"/> restaurant d'entreprise <input type="checkbox"/> autre collectivité, préciser :	Toxi-infection alimentaire collective Critères de notification : survenue d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie, en général gastrointestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.
---	---

Aliment(s) consommé(s) suspecté(s) :

Origine de(s) aliment(s) suspecté(s) (ex. : supermarché, production locale, production familiale) :

Commentaires (circonstances) :

Annexe 2 Protéines spécifiques des larves nouveau-nées (L1NN) de *T. nativa* et leurs homologues retrouvés dans plusieurs stades de *T. spiralis*. Leurs fonctions et leurs implications dans les processus biologiques sont indiqués ainsi que le pourcentage d'identité entre les protéines des 2 espèces. ND : fonction ou processus biologique non déterminés, le PM et le poids moléculaire en kDa.

Protéines spécifiques des L1NN de <i>T. nativa</i>			Protéines homologues chez <i>T. spiralis</i>				Fonction	Processus biologique	% d'identité
ID	Nom	PM	ID	Nom	Stade	PM			
A0A0V1KRA1	Nuclear pore complex protein	120.6	A0A0V1BBD5	Nuclear pore complex protein	L1M	117.7	ND	Transport	92,80%
A0A0V1L237	Lipid phosphate phosphatase-related protein type 4	86	A0A0V1BF37	Lipid phosphate phosphatase-related protein type 4	L1M, L1NN	93.3	ND	ND	93,1% sur une partie
A0A0V1L4P3	Tryptase gamma	32.3	E5SVN6	Chymotrypsin-like elastase family member 2A (Putative trypsin)	Adultes J5, J5+2, L1NN	30	Activité peptidase	Protéolyse	90,50%
A0A0V1LBN6	Synapsin	56.8	A0A0V1ASQ6	Synapsin	Adultes J5, L1NN	57	Activité catalytique, liaison aux nucléosides et nucléotides	Transport des neurotransmetteurs, communication cellulaire, sécrétion, localisation cellulaire, régulation des attributs biologiques	98,40%
A0A0V1LDE4	Peptidase inhibitor 16	58.7	A0A0V1C100	Peptidase inhibitor 16 (Fragment)	Adultes J5, J5+2, L1NN	56.3	ND	ND	97,60%
A0A0V1LHU7	Deoxyribonuclease-2-alpha	32.4	A0A0V1B6V5	Deoxyribonuclease-2-alpha	Adultes J5+2, L1NN	76.8	Activité hydrolase	Métabolisme de l'ADN	80,5% sur une partie
A0A0V1LUF4	Proton myo-inositol cotransporter	69.1	A0A0V1BWW5	Proton myo-inositol cotransporter	Adultes J5+2, L1NN	69.1	Transporteur	Transport	99,50%

Annexe 3 Protéines spécifiques des larves nouveau-nées (L1NN) de *T. spiralis* et leurs homologues retrouvés dans plusieurs stades de *T. nativa*. Leurs fonctions et leurs implications dans les processus biologiques sont indiqués ainsi que le pourcentage d'identité entre les protéines des 2 espèces. ND : fonction ou processus biologique non déterminés, le PM et le poids moléculaire en kDa.

Protéines spécifiques des L1NN de <i>T. spiralis</i>			Protéines homologues chez <i>T. nativa</i>				Fonction	Processus biologique	% d'identité
ID	Nom	PM	ID	Nom	Stade	PM			
E5SS93	DNA-directed RNA polymerase subunit	200.6	A0A0V1LFI6	DNA-directed RNA polymerase subunit	Adultes H62 et J5+2	211.2	Liaison aux acides nucléiques, activité transférase	Transcription	95,10%
A0A0V1BGZ7	Uncharacterized protein	130.9	A0A0V1KSQ0	Uncharacterized protein	Tous	302.1	Liaison aux acides nucléiques et aux ions	ND	89,5% sur une partie
A0A0V1BIH0	Uncharacterized protein	138.6	A0A0V1KQE2	Uncharacterized protein	Adultes J5+2	143.5	Régulateur enzymatique	ND	84,30%

Annexe 4 Protéines spécifiques des larves nouveau-nées (L1NN) de *T. spiralis* et leurs fonctions associées. ID : numéro d'accèsion sur UniProt, ND : fonction non déterminée, taille : nombre d'acides aminés.

Protéines spécifiques des L1NN de <i>T. spiralis</i>			
ID	Nom	Fonction	Taille
A0A0V1B4F1	Amyloid beta A4 protein-binding family B member 2	Activité transférase, liaison aux nucléosides et nucléotides	1473
A0A0V1BWB8	Arrestin domain-containing protein 2	ND	456
A0A0V1B639	Carboxylic ester hydrolase	Activité hydrolase	595
A0A0V1BK39	Carboxypeptidase E	Activité peptidase, liaison aux ions	556
A0A0V1C1N0	Chymotrypsin-C	Activités hydrolase et peptidase	313
E5SL96	Cuticle collagen 7	Activité de structure des molécules	281
E5RZ95	Deoxyribonuclease II family protein	Activité hydrolase	347
E5SPN2	Deoxyribonuclease II superfamily	Activité hydrolase	323
E5SPQ5	Deoxyribonuclease II superfamily	Activité hydrolase	338
E5SYX7	Deoxyribonuclease II superfamily	Activité hydrolase	339
E5SZA4	Deoxyribonuclease II superfamily (Fragment)	Activité hydrolase	674
E5T3T6	Deoxyribonuclease II superfamily (Fragment)	Activité hydrolase	234
A0A0V1APD0	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	361
A0A0V1AQP6	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	889
A0A0V1AS34	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	2848
A0A0V1ASR1	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	178
A0A0V1B6X3	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	1257
A0A0V1B8G9	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	314
A0A0V1BYQ2	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	498
A0A0V1AQH3	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	661
A0A0V1AU49	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	850
A0A0V1B4Z1	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	939

A0A0V1BKV6	Deoxyribonuclease-2-beta	Activité hydrolase	783
E5SS93	DNA-directed RNA polymerase subunit	Liaison aux acides nucléiques, activité transférase	1816
A0A0V1AUI3	Endonuclease G, mitochondrial	Liaison aux acides nucléiques et aux ions, activités hydrolase et peptidase	1086
A0A0V1B3B0	Fibulin-1	Liaison aux ions	930
A0A0V1C2B2	Hunchback-like protein	Liaison aux acides nucléiques et aux ions, fonctions moléculaires	1209
E5RYB4	LBP / BPI / CETP family domain protein	Liaison aux lipides	550
A0A0V1B817	Leucine-rich repeat-containing protein let-4	ND	2312
A0A0V1BIV6	Leucine-rich repeat-containing protein let-4 (Fragment)	ND	756
A0A0V1BVA7	Lysine-specific histone demethylase 1B	Liaison aux acides nucléiques, activités oxydoréductase et transférase	1599
A0A0V1C0C0	Metalloendopeptidase	Activités hydrolase et peptidase, liaison aux ions	554
A0A0V1AY83	Neurobeachin	ND	803
A0A0V1BA38	Neuroendocrine convertase 2	Activités hydrolase et peptidase	672
E5SBX3	Nsp7 replicase family protein	ND	829
A0A0V1B1Q0	Plancitoxin-1 (Fragment)	Activité hydrolase	1181
A0A0V1B8D9	Plancitoxin-1 (Fragment)	Activité hydrolase	676
A0A0V1BKF2	Protein unc-1	ND	372
A0A0V1AVK9	Regulator of nonsense transcripts 2 (Fragment)	Liaison aux acides nucléiques	1238
A0A0V1AZK1	Solute carrier family 12 member 6	Transporteur	987
A0A0V1AVQ8	THO complex subunit 1	ND	683
A0A0V1AT49	Uncharacterized protein	ND	145
A0A0V1BC25	Uncharacterized protein	ND	301
A0A0V1BGZ7	Uncharacterized protein	Liaison aux acides nucléiques et ions	1144
A0A0V1BI12	Uncharacterized protein	ND	1237

A0A0V1BIH0	Uncharacterized protein	Régulateur enzymatique	1282
A0A0V1BL54	Uncharacterized protein	ND	315
A0A0V1BTZ9	WAP four-disulfide core domain protein 2	Régulateur enzymatique	147
E5S8N1	Zinc finger protein	ND	1680

Annexe 5 Protéines spécifiques des larves nouveau-nées (L1NN) de T. nativa et leurs fonctions associées. ID : numéro d'accèsion sur UniProt, ND : fonction non déterminée, taille : nombre d'acides aminés.

Protéines spécifiques des L1NN de <i>T. nativa</i>			
ID	Nom	Fonction	Taille
A0A0V1KJG5	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	171
A0A0V1KKL0	Plancitoxin-1	Activité hydrolase	341
A0A0V1KLK1	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	310
A0A0V1KLM0	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	605
A0A0V1KLV2	Plancitoxin-1	Activité hydrolase	320
A0A0V1KM27	Plancitoxin-1	Activité hydrolase	341
A0A0V1KM30	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	338
A0A0V1KM75	Deoxyribonuclease-2-alpha (Fragment)	Activité hydrolase	201
A0A0V1KN25	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	829
A0A0V1KNC7	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	521
A0A0V1KNP9	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	342
A0A0V1KRA1	Nuclear pore complex protein	ND	1039
A0A0V1KRF1	Chymotrypsin-like elastase family member 2A	Activités hydrolase et peptidase	290
A0A0V1L1F7	Leucine-rich repeat-containing protein let-4	ND	732
A0A0V1L237	Lipid phosphate phosphatase-related protein type 4	ND	749

A0A0V1L4P3	Tryptase gamma	Activité peptidase	292
A0A0V1L951	Metalloendopeptidase; (EC=3.4.24.-)	Activités hydrolase et peptidase, liaison d'ions	556
A0A0V1LBN6	Synapsin	Activité catalytique, liaison aux nucléosides et nucléotides	511
A0A0V1LCX5	Plancitoxin-1	Activité hydrolase	773
A0A0V1LDE4	Peptidase inhibitor 16	ND	530
A0A0V1LFH7	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	1525
A0A0V1LFM2	Uncharacterized protein	ND	524
A0A0V1LGS6	Uncharacterized protein	ND	187
A0A0V1LHU7	Deoxyribonuclease-2-alpha	Activité hydrolase	294
A0A0V1LPC9	Uncharacterized protein	Liaison	966
A0A0V1LR88	Warthog protein 1	Activité peptidase	596
A0A0V1LUF4	Proton myo-inositol cotransporter	Transporteur	630

TITLE:**Trichinellosis and parasitic virulence****ABSTRACT:**

Trichinellosis is a zoonotic disease transmitted by the parasitic nematode *Trichinella*. The disease can be asymptomatic or causes digestive and muscular disorders. In some cases, following high infestations, this disease can cause death. The symptoms depend on the dose ingested, *Trichinella* and host species. The first clinical signs are not specific to the disease which often leads to misdiagnosis or delayed diagnosis. When the parasite reaches the muscle, treatments are no longer effective. Preventive measures are important, they are based on consumer education and meat control for human consumption. 9 species and 3 genotypes of *Trichinella* are known to date, they have different geographical distributions and show distinct virulence depending on the infected host. The study of the difference in virulence between species and identification of proteins involved in virulence could help in the development of early diagnostic tools, treatments and vaccines.

TRICHINELLOSE ET VIRULENCE PARASITAIRE

RESUME en français

La trichinellose est une maladie zoonotique transmise par le parasite nématode, *Trichinella*. La maladie peut être asymptomatique ou se manifester sous la forme de troubles digestifs et musculaires. Dans certains cas, suite à des infestations massives, elle peut entraîner la mort. La symptomatologie dépend de la dose ingérée, de l'espèce de *Trichinella* et de l'hôte. Les premiers signes cliniques ne sont pas spécifiques de la maladie ce qui entraîne souvent des erreurs diagnostiques ou des diagnostics tardifs. Lorsque le parasite atteint le muscle, les traitements ne sont plus efficaces. Les mesures préventives sont donc importantes, elles reposent sur l'éducation du consommateur et le contrôle des viandes destinées à la consommation humaine. 9 espèces et 3 géotypes de *Trichinella* sont connus à ce jour, elles ont des répartitions géographiques différentes et montrent des virulences distinctes en fonction de l'hôte infesté. L'étude de la différence de virulence entre espèce et l'identification de protéines impliquées dans cette virulence pourraient aider au développement d'outils diagnostic précoces, de traitements et de vaccins.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : *Trichinella*, virulence, antigènes

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE : Faculté des Sciences
Pharmaceutiques, Toulouse III, 35 chemin des Maraîchers 31062 TOULOUSE
Cedex

Directeur de thèse : COSTE Agnès