



**227THV-2**

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES**

Mémoire de Fin d'Etude pour l'obtention du Diplôme de  
**DOCTEUR VETERINAIRE**

**Thème :**

**Enquête séroépidémiologique de la néosporose**  
**Bovine dans la wilaya de Blida**

**Présenté par :**

**BELAGOUN Amel**

**LOUNIS Salima**

**Soutenu le :**

**06/07/09**

**Membres du Jury :**

- |  |                   |
|--|-------------------|
| ▪ <b>M. Rahal. K</b> (MC) DSV-USDB                   | <b>Président</b>  |
| ▪ <b>M. Triki Yamani R. R</b> (MAT) +(CC) DSV-USDB   | <b>Examineur</b>  |
| ▪ <b>M. Akloul. K</b> (Docteur Vétérinaire) DSV-USDB | <b>Examineur</b>  |
| ▪ <b>M<sup>me</sup> Dechicha. A</b> (MAT) DSV-USDB   | <b>Promotrice</b> |

**Promotion : 2008/2009**

## Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidé et donner la foi et la force pour achever ce projet.

Au terme de cette étude, nous voudrions remercier tous ceux qui ont contribués à ce projet de fin d'étude.

Nous exprimons notre gratitude à notre promotrice **Mme DECHICHA A**, pour nous avoir fait l'honneur de guider et de diriger cette étude, pour nous avoir consacré son temps et pour avoir mis à notre disposition les conditions et les moyens de réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à monsieur le président et messieurs les membres du jury qui nous ont consacré leur temps et nous avoir accepté d'évaluer et d'examiner notre travail.

Nous remercions également pour toutes les aides qui nous ont été fournies par :

Les enseignants et tout le personnel du département vétérinaire de l'université Saad Dahleb Blida.

Le personnel du laboratoire de la faculté agrovétérinaire et biologique de Blida.

Le personnel de la bibliothèque de l'école national supérieur vétérinaire d'Alger.

Tous les vétérinaires et les éleveurs qui ont accepté de participer à cette étude.

Tous ceux qui ont contribué de pré ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

## Dédicaces

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à tous ceux qui ont cru en moi spécialement à ceux qui ont été mes anges gardiens et mes guides dans ma vie : mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur soutien, leur patience et leurs encouragements durant toute la période de mes études.

A la mémoire de mes grands parents absents mais toujours présents dans mes pensées.

A ma grand-mère maternelle pour sa tendresse et ses prières pour ma réussite.

A mon grand frère **DJAMAL**, son épouse **CHAFIKA** et leurs enfants : **MOHAMED**, **IMANE** et la petite **DJOHRA**.

A ma grande sœur **TASSADIT**, son mari **MOHAMED** et leurs enfants : **ABDERREZAK**, **SOFIANE**, **ABDELWAHAB**, **MARWA** et **BASMA**.

A mon frère **SAMIR** et sa femme **ZEHOR**.

A mon frère **ABDELAZIZ** et sa fiancée **HANIA**.

A tous je souhaite beaucoup de bonheur et réussite dans leurs objectifs.

A ma très chère sœur **YASMINA**, qui m'a apporté son soutien moral dans les moments difficiles avec tant d'amour et d'affection, ses conseils précieux et ses encouragements durant mes études, à qui je souhaite bonne santé, bonheur et réussite dans sa vie.

A mes oncles et mes tantes.

A mes cousins et mes cousines.

A mon binôme **AMEL** et sa famille.

A tous mes amis sans exception qui m'ont aidé de près ou de loin.

A mes collègues de la promotion 2009.

A tous mes enseignants qui ont participé à ma formation pour le goût du travail et le plaisir d'apprendre qu'ils m'ont communiqué.

A tous ceux qui m'ont donné le savoir.

A l'association **IBN-EL-BAYTAR**, président et membres, qui m'ont donné l'honneur de participer dans ses activités scientifiques et culturelles.

A tous ceux-là je leurs dis merci.

*salima*

## Dédicaces

A mes parents :

L'offre ce travail, résultats de mes efforts et fruits de votre éducation. A toi ma chère maman, source du plus précieux soutien, pour ta douceur, ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma reconnaissance et ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi depuis ma naissance.

A toi mon cher papa, merci infiniment pour tout. Pour l'éducation que tu m'as donnée, pour l'enseignement de la vie, pour ton dévouement et pour les sacrifices que tu t'es imposé pour m'assurer la belle vie et la réussite.

« Mon père, ma mère, je ne vous remercierai jamais assez, que dieu vous garde ».

A mes meilleurs frères : Mohamed najib, Aboubaker Sadik, et Ahmed Ben Yousef.

A mes deux grands-mères, mes oncles et leurs épouses, à mes tantes, mes cousins, mes cousines, et à toute ma famille sans exception.

A docteur : Benhadda Khaled, pour m'avoir accueillie de nombreuses fois en stage, toujours dans la bonne humeur.

A mon binôme Salima pour sa patience, ses aides tout au long de notre travail ensemble.

A mes amies : Naima, Hadda, Wahida, Fatima, Shahra, Bessma, Lilia, sans oublier les biologistes Amel et Siham, merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

A mes collègues de stage : Hassiba, Imene (H), Imene (K), et docteurs : Amina et Mounia.

Aux membres du groupe (5) : Mimi, Anissa, Radia, Djamila, Nadjia et Assia.

A mes camarades de promotion 2008/2009 que j'apprécie beaucoup.

A vous tous, merci de votre amitié.

**Belagoun Amel.**

# Sommaire

## Résumé

### Résumé en Anglais

### Résumé en Arabe

### Liste des Abréviations

### Liste des tableaux

### Liste des figures

## Partie bibliographique

Introduction.....	1
<b>Chapitre 1. Généralités</b>	
1- Définition de la néosporose.....	2
2- Historique.....	2
3- Répartition géographique.....	3
4- Importance.....	4
4-1- Importance médicale.....	4
4-2- Importance économique.....	4
4-3- Importance zoonotique.....	4
<b>Chapitre 2. Biologie du parasite</b>	
1- Taxonomie du parasite.....	6
2- Morphologie et structure du parasite.....	7
3- Cycle évolutif de <i>Neospora caninum</i> .....	9
4- Culture in vitro.....	10
5- Résistance du parasite.....	11
<b>Chapitre 3. Epidémiologie</b>	
1- Réceptivité.....	12
1-1- Facteurs intrinsèques.....	12
1-2- Facteurs extrinsèques.....	13
2- Sources.....	13
3- Modes d'infection.....	15
4- Transmission.....	15
4-1-Transmission verticale (transplacentaire).....	16
4-2-Transmission horizontale.....	16
<b>Chapitre 4. Pathologie</b>	
1- Symptomatologie.....	18
1-1- Signes cliniques chez le bovin adulte.....	18
1-2- Signes cliniques chez les veaux.....	19
2- Pathogénie de l'avortement.....	19
3- Lésions.....	20
3-1- Lésions nerveuses.....	20
3-2- Lésions des autres tissus.....	20
4- Réponse immunitaire.....	20
4-1- Chez l'animal non gestant.....	20
4-2- Chez l'animal gestant.....	21
<b>Chapitre 5. Diagnostic et prophylaxie</b>	
1- Diagnostic.....	23
1-1- Diagnostic clinique et épidémiologique.....	23
1-2- Diagnostic de laboratoire.....	23
1-3- Diagnostic différentiel.....	26
2- Traitement.....	26
3- Prophylaxie.....	27
3-1- Sanitaire.....	27

3-2- Médicale.....	28
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
1- Zone d'étude.....	29
2- Echantillonnage.....	29
3- Matériel.....	29
3-1- Matériel de prélèvements et de récolte des sérums.....	29
3-2- Matériel nécessaire pour la technique ELISA.....	30
4-Méthodes.....	31
4-1- Questionnaire.....	31
4-2- Méthode de prélèvements et de récolte des sérums.....	32
4-3- La technique ELISA.....	33
<b>Résultats</b>	
1- Calcul de l'échantillonnage nécessaire.....	36
2- Séroprévalence individuelle.....	36
3- Séroprévalence d'élevage.....	36
4- Séroprévalence individuelle de chaque élevage.....	37
5- Ratio du sexe femelle.....	38
6- Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe.....	38
7- Répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge.....	39
8- Répartition de la séroprévalence en fonction de certains paramètres d'élevage.....	39
8-1- Présence de chiens.....	40
8-2- Présence de volaille.....	40
8-3- Présence d'équidés.....	41
8-4- Présence d'ovins et/ou caprins.....	41
8-5- Mode de reproduction.....	42
8-6- Hygiène de l'élevage.....	42
8-7- Superficie de l'élevage.....	43
8-8- Présence d'aire d'exercice.....	44
<b>Discussion</b>	
1- L'échantillonnage.....	45
2- La séroprévalence individuelle.....	45
3- La séroprévalence d'élevage.....	45
4- Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe.....	46
5- L'influence de l'âge.....	46
6- L'influence du chien.....	46
7- L'influence de volaille.....	47
8- L'influence des équidés, d'ovins et de caprins.....	47
9- L'influence du mode de la reproduction.....	47
10-L'influence de l'hygiène.....	48
11-L'influence de la possession d'aire d'exercice.....	48
12-L'influence de la superficie d'élevage.....	48
<b>Conclusion.....</b>	<b>49</b>
<b>Recommandations.....</b>	<b>50</b>
<b>Glossaire</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Résumé

La néosporose est une nouvelle parasitose qui touche les bovins et d'autres espèces animales dont la principale symptomatologie chez la vache est l'avortement. La transmission s'effectue par la voie verticale de génération en génération impliquant ainsi des pertes économiques considérables aux élevages.

La maladie a été retrouvée partout dans le monde ou elle a été recherchée, par contre très peu d'informations existent sur la situation en Algérie.

Dans le but de vérifier son existence dans notre pays, nous avons effectué une enquête séro-épidémiologique sur 22 élevages localisés dans la wilaya de Blida.

L'analyse de 249 sérums à l'ELISA a montré une séroprévalence individuelle de 31,32% [25,72 36,92], et une séroprévalence d'élevage de 86,36% [72,06 100].

L'analyse de certains paramètres d'élevage pouvant constituer des facteurs de risque pour la maladie tels que la présence de Chien, de volaille, de petits ruminants, d'équidés, le mode de reproduction, l'hygiène de l'étable et la présence d'aire d'exercice n'ont montré aucun effet significatif.

Par ailleurs, la superficie de l'étable a montré un effet légèrement significatif sur la séropositivité des élevages.

### **Mots clés:**

Néosporose, bovins laitiers, ELISA, séroprévalence, facteurs de risque

## Summary

Neosporosis is a new parasitosis that affects cattles and other animal species, the main symptomatology among cows is abortion. Transmission is made by vertical way from generation to generation implying considerable economic losses in the breeding.

The disease was found all around the world where it was looked for; on the other hand little information exists on it in Algeria.

In order to verify its existence in our country, we made a sero-epidemiological investigation on 22 breedings located in Blida area.

The analysis of 249 serums by ELISA showed an individual seroprevalence of 31,32 % [25,72 36,92], and a breeding seroprevalence of 86,36% [ 72,06 100 ].

The analysis of some parameters of breeding that may constitute risk factors for the disease such as the presence of dog, poultry, small ruminants, horses, the mode of reproduction, the hygiene, and the presence of area of exercise or pasture showed no significant effect. Besides, the surface of the cowshed showed a slightly significant effect on the seropositivity of the breedings.

### **Keywords:**

Neosporosis, dairy cattle, ELISA, seroprevalence, risk factors.

## المخلص

النيوسبوروز هي مرض طفيلي جديد يصيب البقر و أصناف أخرى من الحيوانات، حيث العرض الأسامي عند البقرة هو الإجهاض، الانتشار يتم بطريقة عمودية من جيل إلى جيل فيحدث خسائر اقتصادية معتبرة في المواشي.

يوجد هذا المرض في جميع أنحاء العالم أين اجري البحث عليه، و لكن هناك معلومات قليلة جدا عن وضعيته في الجزائر.

بهدف التحقق من وجوده في بلادنا، قمنا بإجراء بحث وبائي مصلي على 22 مزرعة تقع في ولاية البليدة. إن تحليل 249 مصل بواسطة ELISA يظهر أن نسبة الانتشار المصلي الفردي هي 31.32% [36,92 25,72]

ونسبة الانتشار المصلي للمزرعة 86,36% [100 72,06] تحليل بعض المعالم الموجودة بأماكن تربية الحيوانات التي قد تكون عوامل خطر لهذا المرض مثل وجود الكلاب، الدواجن، الحيوانات المجترة الصغيرة، الخيول، طريقة التكاثر، نظافة الإسطبل و وجود منطقة للمرعى، لم يبين أي اثر له معنى.

و زيادة على ذلك، فان مساحة الحظيرة أثبتت بعض الأثر على ايجابية المصل في المزارع.

### كلمات المفتاح :

نيوسبوروز، البقر الحلوب، الانتشار المصلي، عوامل الخطر. ELISA

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Espèces hôtes de <i>Neospora caninum</i> .....	<b>p9</b>
<b>Tableau II:</b> Séroprévalence individuelle.....	<b>p36</b>
<b>Tableau III :</b> Séroprévalence d'élevage.....	<b>p36</b>
<b>Tableau IV :</b> La séroprévalence individuelle au niveau de chaque élevage.....	<b>p37</b>
<b>Tableau V :</b> Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe.....	<b>p38</b>
<b>Tableau VI:</b> Répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge.....	<b>p39</b>
<b>Tableau VII:</b> Taux de présence ou d'absence de chiens.....	<b>p40</b>
<b>Tableau VIII:</b> Taux de présence ou d'absence de volaille.....	<b>p40</b>
<b>Tableau IX :</b> Taux de présence ou d'absence d'équidés.....	<b>p41</b>
<b>Tableau X:</b> Taux de présence ou d'absence des Ov et/ou Cp.....	<b>p41</b>
<b>Tableau XI:</b> Répartition du statut sérologique des élevages en fonction du mode de reproduction.....	<b>p42</b>
<b>Tableau XII:</b> Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de l'hygiène.....	<b>p43</b>
<b>Tableau XIII :</b> Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de la superficie de l'étable.....	<b>p43</b>
<b>Tableau XIV:</b> Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de leur Possession ou non d'aire d'exercice.....	<b>p44</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Arbre phylogénétique des sporozoa.....	<b>p6</b>
<b>Figure 2:</b> Ultrastructure de tachyzoïtes.....	<b>p7</b>
<b>Figure 3:</b> Kyste à bradyzoïtes isolé de la moelle épinière d'un veau infecté naturellement.....	<b>p8</b>
<b>Figure 4:</b> Oocyste de <i>Neospora caninum</i> après sporulation.....	<b>p9</b>
<b>Figure 5:</b> Cycle évolutif de <i>Neospora caninum</i> .....	<b>p10</b>
<b>Figure 6:</b> Avortement d'un veau presque à terme suite à une néosporose.....	<b>p18</b>
<b>Figure 7 :</b> Matériel nécessaire à la récupération des sérums.....	<b>p30</b>
<b>Figure 8 :</b> Les différentes composantes du kit ELISA.....	<b>p31</b>
<b>Figure 9 :</b> Prélèvement sanguin à partir de la veine coccygienne.....	<b>p32</b>
<b>Figure 10 :</b> Centrifugation des sérums.....	<b>p32</b>
<b>Figure 11 :</b> Séparation des sérums.....	<b>p32</b>
<b>Figure 12 :</b> Aliquotement du sérum dans les tubes eppendorf.....	<b>p32</b>
<b>Figure 13 :</b> Représentation de la séroprévalence des élevages.....	<b>p37</b>
<b>Figure 14 :</b> Représentation de la séroprévalence en fonction du sexe.....	<b>p38</b>

***PARTIE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

# ***INTRODUCTION***

# Introduction

---

La néosporose, maladie provoquée par *Neospora caninum*, protozoaire récemment identifié chez les bovins, les chiens, et les équidés, très proche de *Toxoplasma gondii*, est particulière par son implication récente comme agent abortif entraînant des pertes économiques importantes par les avortements.

Le seul hôte définitif actuellement identifié expérimentalement est le chien mais il n'est pas exclu que d'autres espèces interviennent dans le cycle (renard, rongeurs, etc.).

Depuis sa première description en 1984, la néosporose a fait l'objet de nombreuses études épidémiologiques et cliniques. Plus de 250 publications scientifiques lui ont été consacrés. Les interrogations en font un sujet d'actualité et de controverses, qui ont révélé l'émergence de ce parasite à travers le monde entier.

Malgré que de nombreuses études récentes (Dubey et al., 2007; Ghalmi et al., 2007; Beck et al., 2008) ont fait une synthèse sur les dernières découvertes sur les aspects cliniques, épidémiologiques et diagnostiques, la néosporose n'est pas encore totalement maîtrisée.

En Algérie, les informations relatives à la situation de nos élevages sont très rares et insuffisantes, limitées à des mémoires de projet de fin d'étude.

Nous avons voulu par la présente étude contribuer à apporter quelques éléments de réponses à la situation de cette parasitose dans la wilaya de Blida, en visant les objectifs suivants:

- 1- Estimation de la séroprévalence de la néosporose dans nos élevages bovins.
- 2- Détermination quelques paramètres d'élevages pouvant constituer des facteurs de risque pour la maladie.

# ***CHAPITRE 1***

## 1- Définition de la néosporose :

La néosporose est une protozoose affectant de nombreux mammifères (les bovins, les chevaux, et les chiens), de répartition cosmopolite, à tropisme génitale et nerveux, due à la présence et à la multiplication au sein de diverses cellules d'un protozoaire *Apicomplexa* voisin de *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*.

Le parasite se révèle pathogène chez des nouveau-nés de diverses espèces: chiots, chatons, veaux, agneaux, poulains (Baussiéras et Chermette, 1992); dont le seul hôte définitif actuellement identifié expérimentalement est le chien. Il n'est pas exclu que d'autres espèces interviennent dans le cycle (renard, rongeurs, etc.) (Journel et Pitel, 2001).

## 2- Historique :

*Neospora caninum* est un protozoaire récemment identifié chez le chien, les bovins et les équidés. Son implication comme agent abortif des bovins est connue depuis peu et fait l'objet de nombreuses études épidémiologiques et cliniques. Les interrogations en font un sujet d'actualité et de controverse (Losson et Bourdoiseau, 2000).

La chronologie de cette nouvelle découverte est la suivante:

- En 1984, en Norvège, Bjerkas et al., décrivent chez six chiens de race boxer issus de la même mère et atteints de paralysie progressive un protozoaire morphologiquement très voisin de *Toxoplasma gondii*, l'agent de la toxoplasmose. Néanmoins, les six animaux furent sérologiquement négatifs vis-à-vis de *T.gondii* et ce protozoaire sembla non infectieux pour la souris (Losson et Bourdoiseau, 2000).
- En 1988, Bjerkas et Presthus utilisèrent l'immunohistochimie et la microscopie photonique et électronique pour tenter d'identifier le protozoaire énigmatique. Ils démontrèrent qu'en microscopie photonique, le parasite apparut comme identique à *T.gondii* mais s'en différençia nettement sur les plans antigénique et ultrastructural (Losson et Bourdoiseau, 2000).
- La même année, Dubey et al., aux U.S.A examinèrent les prélèvements tissulaires issus de 30 chiens de races multiples. Les prélèvements eurent eu lieu entre 1947 et 1987 et un diagnostic de toxoplasmose eut été établi sur base de l'examen histopathologique. Cette étude permit d'identifier chez dix de ces chiens un nouveau protozoaire nettement différent de *T.gondii*. Dubey et al., nommèrent ce nouveau parasite *Neospora caninum* (Losson et Bourdoiseau, 2000).
- La culture *in vitro* des tachyzoïtes de *N.caninum* eut été réalisée pour la première fois en 1989 par Lindsay et Dubey sur des monocytes et des cellules endothéliales vasculaires bovines (Losson et De Meerschman, 2000).

- Dès 1974, des infections par des parasites inconnus eurent été décrites dans l'espèce équine. Un avortement dû à un parasite "Toxoplasma-like" eut été décrit pour la première fois en 1986 chez une femelle appaloosa âgée de huit ans; *Toxoplasma gondii* ou un parasite du genre *Sarcocystis* eurent alors été exclus, mais ce ne fut qu'en 1990 que *Neospora caninum* eut pu être identifié chez cet avorton par immunohistochimie. Ces travaux eurent montré pour la première fois la transmission transplacentaire de *Neospora caninum* chez le cheval et le rôle de ce parasite dans les avortements équins (Pronost et al., 2000).
- Un cas sporadique de néosporose intestinale eut été rapporté en 1996 chez une jument appaloosa âgée de dix ans (Pronost et al., 2000).
- En 1998, enfin, Mc Allister et collègues démontrèrent que le chien constitue un hôte définitif pour *Neospora caninum* à l'instar du chat pour *T.gondii*. Ils n'exclurent pas pour autant l'intervention d'autres carnivores, voire omnivores domestiques ou sauvages (Losson, 2000).
- *N. caninum* est considéré à l'heure actuelle comme un agent important d'avortement chez les bovins aussi bien aux U.S.A que de nombreuses autres régions du globe (De Meerschman et Losson, 1998).

Les travaux précédents donnent une aperçue sur l'évolution des études concernant *Neospora caninum*. Il reste néanmoins de nombreux points à éclaircir ou des lacunes à combler sur celui que Bjerkas et Presthus ont appelé à l'époque le protozoaire énigmatique.

### 3- Répartition géographique:

Dans plusieurs pays, la néosporose est la cause la plus fréquemment diagnostiquée d'avortement chez les bovins (Paré et Fecteau, 1998) la moitié des avortements reste inexplicé après les analyses bactériologiques, mycologiques et sérologiques classiques (brucellose, chlamydie, fièvre Q, salmonellose, IBR, listériose, BVD, leptospirose...) (Tainturier et al., 2000). Des cas de néosporose bovine ont pu être mis en évidence dans pratiquement tous les pays où *N.caninum* a été recherché (Marquer et Chermette, 2000).

Elle touche aussi bien les bovins laitiers que ceux de boucherie, elle a été signalée en Europe, en Scandinavie, en Asie, en Australie, en Nouvelle-Zélande et dans les Amériques (Dubey, 2000).

Aux pays bas, elle représente la principale cause d'avortements des bovins laitiers, dans certaines régions, jusqu'à 100% des bovins sont infestés par *N.caninum*.

En Californie, sur 95 avortements de vaches (observés sur une période de 4 ans et demi), on a retrouvé la présence de *Neospora caninum* chez 88 d'entre elles (Bussiéras et Chermette, 1992).

En Angleterre, on estime à 12,5% la part d'avortements dus à *N.caninum* (Meyer, 2002).

En Belgique, *N.caninum* est responsable de 12% des avortements observés chez les vaches de plus de 24 mois en région Wallonne (De Meerschman et al., 2000).

#### **4- Importance:**

La néosporose bovine est une maladie importante d'un point de vu médical, économique et zoonotique:

##### **4-1- Importance médicale:**

Le *Neospora caninum* est un agent majeur d'avortement, de troubles nerveux, de malformations congénitales et de mortinatalité.

De nombreuses études ont montré que les vaches séropositives ont 2 à 7, 4 fois plus de risques d'avorter que les mères séronégatives (Meyer, 2002).

##### **4-2- Importance économique:**

La néosporose provoque un taux élevé d'avortement, plus de 42% de vaches, l'impact économique de ces avortements dépend des:

Coûts directs: il s'agit de la valeur des fœtus perdus.

Coûts indirects: ils comprennent les frais vétérinaires, les dépenses associées à l'établissement du diagnostic, à la nouvelle insémination, à la perte possible de production laitière, à l'augmentation des intervalles entre les vêlages ainsi que les coûts de remplacement si les vaches avortées sont réformées (Dubey 2000).

Ces pertes ont ainsi pu être estimées, pour l'industrie laitière, à environ 16 millions de dollars néo-zélandais par an en Nouvelle-Zélande, soit approximativement 58 millions de francs, 35 millions de dollars par an en Californie et 85 millions de dollars par an en Australie (Marquer et Chermette, 2000). Une étude californienne montre que la production laitière des génisses séropositives est inférieure d'un Kg environ à celle des vaches séronégatives (Dubey, 2000).

##### **4-3- Importance zoonotique:**

Les primates non humains sont des hôtes intermédiaires potentiels comme le montrent des études expérimentales sur les singes. L'infection de deux femelles macaques rhésus au 43<sup>ème</sup> jour de gestation par inoculation intramusculaire et intraveineuse de tachyzoïtes de *N.caninum* d'origine bovine s'est traduite par une néosporose congénitale.

Les deux fœtus, prélevés les 7ème et 70ème jours après l'infection des mères, montraient les lésions typiques multifocales, nécrotiques non suppuratives d'encéphalite avec présence de parasites isolés en rétro-culture, ainsi que la présence d'anticorps sériques anti-*N.caninum*.

Par ailleurs, l'infection du singe offre de nombreuses similitudes avec la toxoplasmose congénitale de l'homme (Chermette et Marquer, 2000).

Mais la néosporose n'est pas dans l'état actuel des connaissances une zoonose.

Différentes enquêtes épidémiologiques réalisées en Irlande du nord soit sur des sérums humains communs, soit sur des sérums de 76 femmes ayant avortés n'ont révélé aucune sérologie positive.

Une étude réalisée en Californie sur 1029 sérums humains montre que 69 de ces sérums sont positifs vis-à-vis de *N.caninum*. Parmi ceux-ci, 50 sont négatifs vis-à-vis de *T.gondii*. Ces résultats démontrent la réalité d'une exposition des humains à *N.caninum*, cependant la signification de ces sérologies positives demeure inconnue (Meyer, 2000).

# ***CHAPITRE 2***

1- Taxonomie du parasite:

*Neospora caninum* est un protozoaire parasite du groupe des coccidies, proche du toxoplasme. Il est classé selon le schéma suivant :

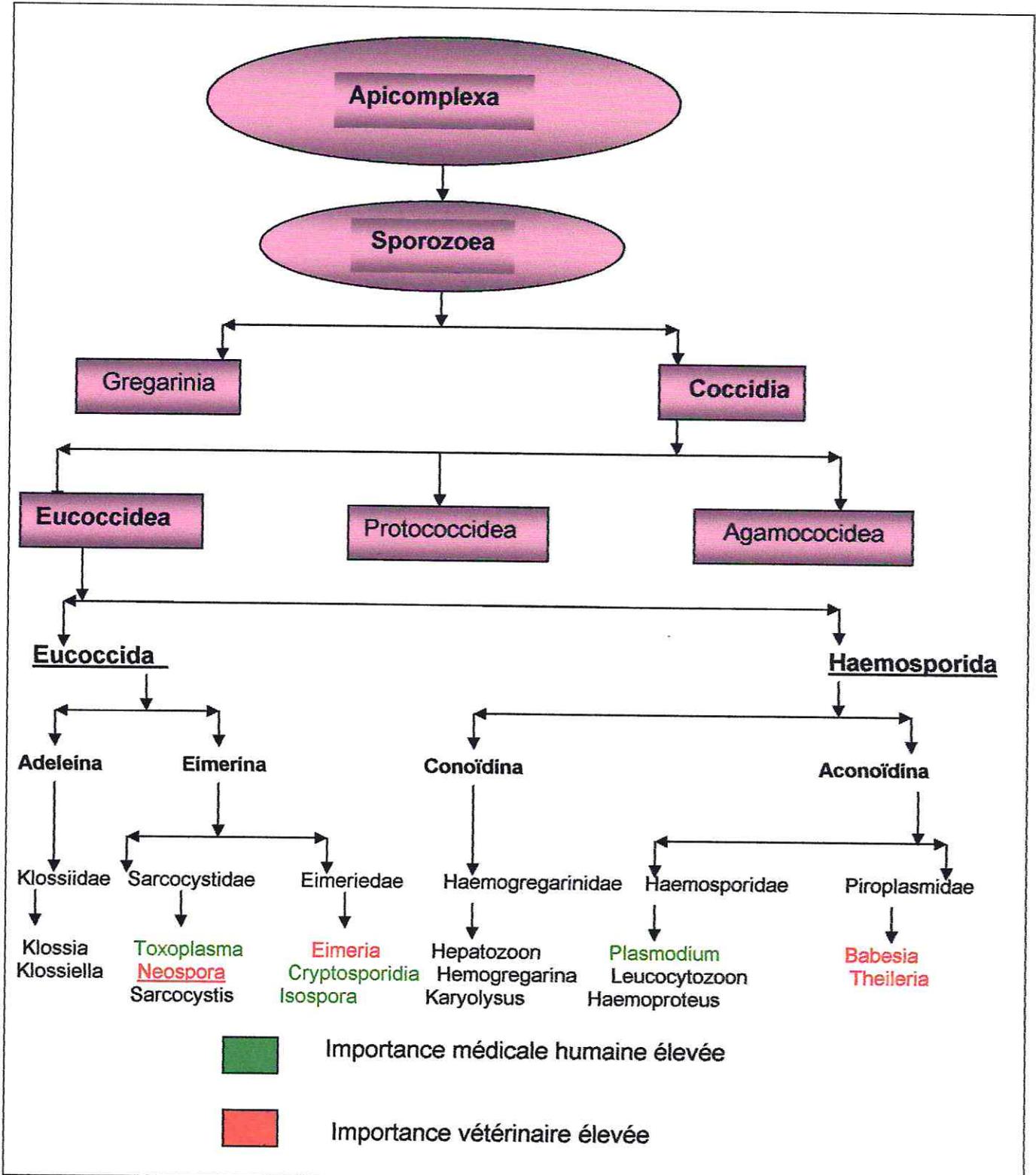


Figure:1. Arbre phylogénétique des sporozoa (Beck et al ., 2008).

## 2- Morphologie et structure du parasite:

Les stades connus du cycle vital de NC sont les tachyzoïtes, les kystes tissulaires et l'oocyste.

### • Les tachyzoïtes:

Ce sont les formes en multiplication, intracellulaires, infectantes et pathogènes (Journel et Pitel, 2001). Ils ont une forme ovoïde, en croissant ou globuleuse; de taille variable en fonction du stade de division (3-7x1-5 microns), ils se divisent par endodyogénie, ils peuvent être très nombreux par cellule (jusqu'à 100 tachyzoïtes dans un seul plan de section).

Dans une culture de cellules infectées, les tachyzoïtes sont trouvés le plus souvent dans une vacuole parasitophore, ils ont plus de 12 rhoptries qui peuvent s'étendre jusqu'à la terminaison postérieure du tachyzoïte. Les micronèmes sont nombreux et ils sont généralement arrangés perpendiculairement à la membrane plasmique (Dubey, 1989) (cf. Figure 2).

Ces tachyzoïtes ont été observés dans le tissu nerveux, les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales vasculaires, les cellules musculaires, les cellules épithéliales des tubules rénaux et les hépatocytes. Une cellule parasitée peut contenir jusqu'à cent tachyzoïtes qui se sont divisés (Journel et al., 1999).

Récemment, l'ADN de N.C a été retrouvé dans le sperme de taureaux séropositifs et attribué à la présence de tachyzoïtes (Raboisson et Schelcher, 2006).

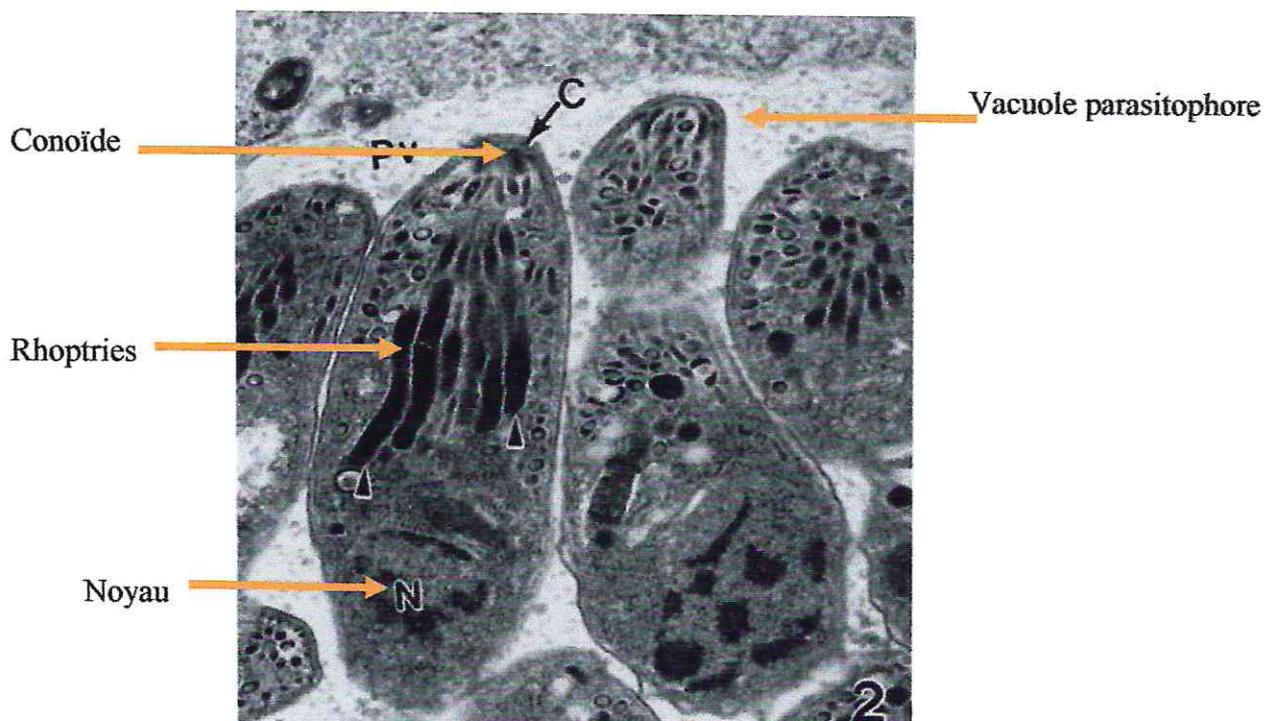


Figure 2 : Ultrastructure de tachyzoïtes (Dubey, 1992)

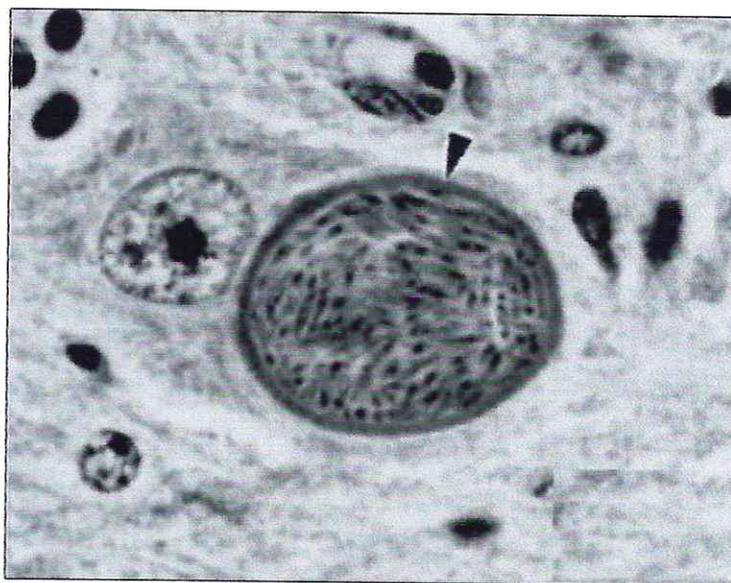
- Les bradyzoïtes:

Ce sont les formes quiescentes, organisées en kystes intracellulaires (Journel et Pitel, 2001).

Les kystes sont arrondis ou ovalaires atteignant jusqu'à 107 microns de longueur avec une paroi lisse et épaisse (1-2 microns le plus souvent, mais jusqu'à 4 microns d'épaisseur) (cf. Figure 3).

Les bradyzoïtes sont minces et allongés (7x2 microns), contenant les mêmes organites que les tachyzoïtes mais les rhoptries sont moins nombreuses, et les granules PAS-positifs sont plus abondants (Chermette et Marquer, 2000).

Ils sont retrouvés surtout dans le tissu nerveux, cerveau, moelle épinière, nerfs et rétine (Journel et al., 1999).



**Figure 3:** Kyste à bradyzoïtes isolé de la moelle épinière d'un veau infecté naturellement (Dubey, 1992).

- Les oocystes :

Ils sont de forme arrondie et de petite taille (10x11 microns), contenant une masse granuleuse. Ils sont émis non sporulés dans les excréments de l'hôte définitif (chien).

Après sporulation (dans le milieu extérieur), l'oocyste contiendra deux sporocystes avec chacun quatre sporozoïtes (oocyste de type-Isospora). L'apparence des oocystes de *N.caninum* est semblable à celle des oocystes de *Hammondia heydorni* retrouvés dans les fèces de chien, de celle de *Toxoplasma gondii* et de *Hammondia hammondi* du chat. On ne peut pas les distinguer morphologiquement (Chermette et Marquer, 2000) (cf. Figure 4).

Actuellement aucune information n'a été publiée sur la durée de vie de l'oocyste dans l'environnement; il a été admis qu'il est aussi résistant que celui de *T.gondii* vu la ressemblance morphologique étroite avec ce dernier (Dubey et al., 2007).

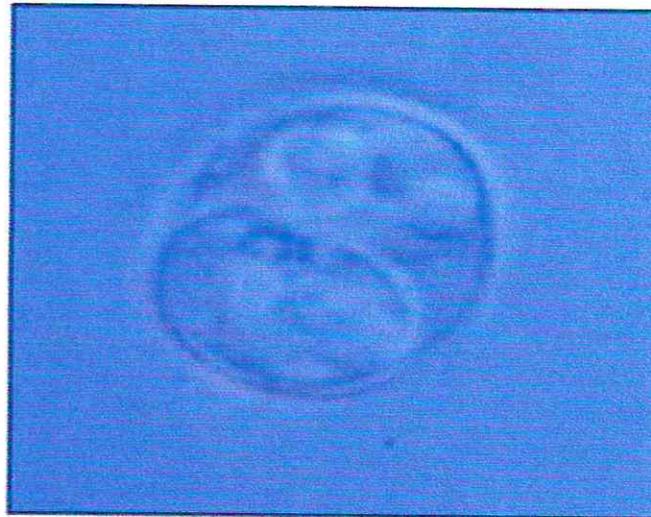


Figure 4: Oocyste de *N. caninum* après sporulation (Marquer et Chermette, 2000).

### 3- Cycle évolutif de *Neospora caninum*:

La compréhension du cycle de *N. caninum* est relativement récente. Actuellement, on connaît les grandes étapes du cycle évolutif qui se confirme être de type coccidien, ces étapes sont:

- Une phase chez un hôte intermédiaire (HI):

De nombreuses espèces d'hôtes intermédiaires peuvent intervenir (cf. Figure 5), parmi lesquelles le chien et les bovins (cf. Tableau I). Il s'y produit une multiplication asexuée sous forme de tachyzoïtes, que l'on trouve dans de multiples cellules, et de bradyzoïtes, localisés dans les kystes intracellulaires au sein du tissu nerveux (Chermette et Marquer, 2000).

Tableau I : Espèces hôtes de *N. caninum* (Chermette et Marquer, 2000)

Hôte définitif	Hôtes intermédiaires	
	Infection expérimentale	Infection naturelle
Chien	Souris, rat, chien, bovin, mouton, chèvre, chat, renard, coyote, porc, lapin, gerbille, singe, pigeon	Chien, bovin, mouton, chèvre, cheval, cervidés, renard*, coyote*, buffle*, dromadaire*

\*Infection décelée par présence d'anticorps.

• Une phase chez un hôte définitif (HD):

L'hôte définitif représenté par le chien se contaminerait en ingérant des avortons, des veaux morts et possiblement aussi des placentas; il excréterait par la suite des oocystes dans ses fèces ce qui contamineraient les aliments de l'hôte intermédiaire (Paré et Fecteau, 1998). Les oocystes sont émis cinq à huit jours après l'infection avec une durée d'excrétion d'une dizaine de jours (Chermette et Marquer, 2000).

• Une phase dans le milieu extérieur:

Les oocystes rejetés dans les excréments du chien ne sont pas immédiatement infectants. Ils le deviennent après la sporulation qui a lieu dans le milieu extérieur dans les 24 heures suivant l'émission, lors de conditions optimales (Chermette et Marquer, 2000).

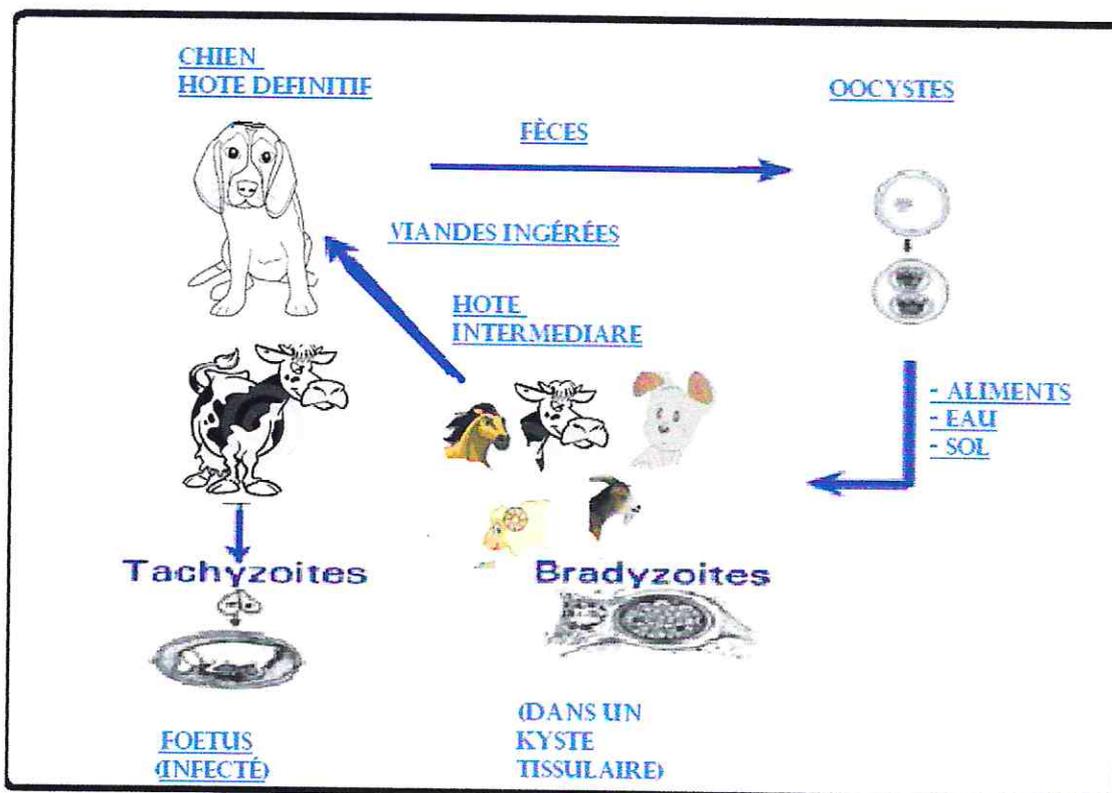


Figure: 5. Cycle évolutif de *Neospora caninum* (Dubey, 1999).

4-Culture in vitro:

La culture in vitro des tachyzoïtes de *N.caninum* a été réalisée pour la première fois sur des monocytes et des cellules endothéliales vasculaires bovines.

Depuis, la culture a été réalisée sur de nombreuses lignées (Madin-Darby bovine kidney, fibroblastes humains...) (Losson et Bourdoiseau, 2000).

La formation de kystes et par conséquent de bradyzoïtes n'a pas été observée in vitro. En revanche, les tachyzoïtes produits de cette manière sont infectieux pour l'animal même après huit années de passages continus.

La cryopréservation ne pose aucun problème particulier. La culture in vitro s'accompagne d'un effet cytopathogène marqué.

Cette action cytopathogène se retrouve in vivo et explique sans doute, du moins en partie, les lésions observées au niveau du système nerveux central et des autres tissus (De Meerschman et Losson, 1998).

### 5-Résistance du parasite:

- ❖ Les bradyzoïtes dans les kystes tissulaires sont résistants:
  - A une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine contrairement aux tachyzoïtes.
  - Dans les tissus même après de longues périodes.
- ❖ Les kystes tissulaires de *N. caninum* peuvent survivre:
  - Jusqu'à 14 jours à une température de 4°C mais ils ne sont plus infectieux après une incubation de 24 heures à -20°C. (De Meerschman et Losson, 1998).
  - plusieurs années chez un hôte infecté sans qu'on observe de manifestations clinique (Mc Guire et al., 1997).
  
- ❖ Les tachyzoïtes, ils sont sensibles à une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine, alors que cette épreuve devrait les inactiver, ils peuvent rester infectants pour la souris. L'hypothèse serait qu'ils peuvent traverser la muqueuse orale et/ou oesophagienne, court-circuiter l'estomac et infecter l'animal (surtout s'il existe des lésions des muqueuses) (Kuzniak, 2001).
  
- ❖ La résistance des ookystes, dans le milieu extérieur n'est pas connue (Lindsay et al., 1999).

# ***CHAPITRE 3***

## 1- Réceptivité:

Plusieurs facteurs aussi bien intrinsèques qu'extrinsèques ont une influence sur la réceptivité des animaux:

### 1-1- Facteurs intrinsèques:

#### ➤ Stade de gestation:

La période de gestation au cours de laquelle la réceptivité serait la plus élevée varie considérablement selon les auteurs, il semble que ce soit entre cinq et sept mois de gestation que l'on ait le plus de chances d'observer des avortements à *N.caninum* (Marquer et Charmette, 2000).

Le nombre de sérums positifs est plus important chez les vaches qui ont avorté entre six et huit mois de gestation. En revanche, rapporté au nombre total d'avortements déclarés au même stade, c'est parmi les vaches qui ont avorté entre quatre et cinq mois de gestation que la proportion de sérums positifs est la plus importante.

L'immaturation du système immunitaire du fœtus provoquerait une réceptivité supérieure à l'agent infectieux avant cinq mois. Certains auteurs ont remarqué que plus l'avorton était âgé, moins les lésions étaient sévères et plus il y'avait des formes enkystées, suspectées d'être des formes de résistance du parasite (Pitel et al., 2000).

#### ➤ Age:

Le risque abortif chez un animal séropositif semble diminuer avec le nombre de vêlages. Ces données sont à prendre avec prudence car la réforme prématurée des vaches après un avortement pourrait constituer un biais important (Losson et Bourdoiseau, 2000). La maladie est très grave lors d'infection du fœtus ou du nouveau-né (Bussiéras et Chermette, 1992).

#### ➤ Race:

Aucune prédisposition raciale n'a été mise en évidence, cependant une différence est observée dans certains pays, comme l'Espagne, entre la séroprévalence de la maladie chez le bétail laitier et allaitant (Quintanilla-Gazalo et al., 1999).

#### ➤ Espèce:

De nombreuses espèces sont réceptives à l'inoculation expérimentale de *N. caninum* : la souris, le rat, le chien, le renard bleu, *Alopex lagopus*, la chèvre, le chat, le coyote américain, la gerbille, *Meriones unguiculatus*, le lapin et le bovin.

Ils présentent une réceptivité variable en fonction de la souche utilisée, de l'utilisation éventuelle d'agents immunodépresseurs, de la voie d'inoculation, et en cas de néosporose congénitale, du moment de la gestation (Losson et Bourdoiseau, 2000).

### 1-2- Facteurs extrinsèques:

#### ➤ Saison:

Les avortements dus à *N.caninum* peuvent survenir durant toute l'année. Cependant, aux Pays-Bas, les avortements attribués semblent plus fréquents durant les mois d'été. Inversement, en Californie, les mois d'automne et d'hiver sont considérés comme les principales périodes à risque (Rettigner et al., 2004).

L'étude de l'influence de la saison révèle que le nombre de sérums positifs vis-à-vis de *Neospora* est significativement supérieur en été par rapport aux autres saisons.

Toutefois, rapporté au nombre total d'avortement, c'est au printemps et en été que l'on observe la proportion la plus importante de sérologies positives (Pitel et al., 2000).

#### ➤ Environnement:

Selon Marquer et Chermette (2000), le rôle de l'environnement pourrait être d'autant plus important que les ookystes seraient résistants dans le milieu extérieur, par ailleurs divers facteurs de réceptivité ont été avancés sans que l'on puisse réellement connaître leur rôle, tels que :

- Une déficience en sélénium ou une quantité excessive de nitrate dans l'alimentation
- La présence d'infections intercurrentes, telles que l'infection par le BVD, l'herpèsvirus bovin de type 4, l'IBR ou l'infection par *Actinomyces pyogènes*, et *Leptospira hardjo*.
- La présence de mycotoxines sur des aliments moisiss.
- Un traitement concomitant par des corticoïdes.

Selon une autre étude hollandaise, on associait la présence d'avortement à *Neospora* avec l'utilisation d'un parc de vèlage pour les animaux malades, de donner l'ensilage de maïs moisiss, de mettre les vaches au pâturage avec d'autres vaches et de participer à des expositions (Paré et Fecteau, 1998).

### 2- Sources:

Les sources d'infection des bovins sont multiples, la première source possible d'infection d'un troupeau est l'achat d'un bovin porteur, à la suite de l'introduction du bovin, dans le meilleur des cas la transmission est verticale et le nombre de bovins positifs augmente lentement dans l'élevage. Dans le pire des cas, à la faveur d'un avortement et de la présence conjointe de l'hôte définitif (Journel et Pitel, 2001) qui est principalement le chien, dont les ookystes fécaux

représentent une source d'infection et des études épidémiologiques antérieures ont déjà attiré l'attention sur le rôle épidémiologique majeur de cette espèce.

Par exemple des études en France et en Espagne ont révélé une association positive entre la séroprévalence chez le bétail et la présence et le nombre de chiens au sein des élevages (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Une étude réalisée au Québec suggère un rôle du chien dans la transmission de *Neospora* chez les bovins, dont la présence et le nombre de chiens sur une ferme étaient corrélés avec un plus grand risque d'infection.

De plus, une autre étude récente menée en Hollande établit également un lien entre l'avortement à *Neospora* et la présence de chiens (Paré et Fecteau, 1998).

Il est cependant clair que cette source n'est pas toujours impliquée, et que la voie transplacentaire peut à elle seule expliquer l'existence d'épisodes abortifs. Plusieurs études ont démontré que la séroprévalence était plus élevée chez les chiens de ferme que chez les chiens citadins (Losson et Bourdoiseau, 2000) sans oublier que la contamination des chiens se fait à partir des avortons et les annexes fœtales des vaches infectées qui viennent d'avorter ou de vêler normalement (Journel et Pitel, 2001).

L'intervention d'autres carnivores n'est pas exclue. En effet, plusieurs études américaines et européennes montrent une séroprévalence parfois élevée au sein de populations vulpines. D'autres données ont révélé une corrélation positive entre la présence de lapins et la présence d'anticorps spécifiques et/ou d'avortements chez le bétail (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Le rôle des oiseaux est étudié actuellement, car il a été démontré qu'il y a une relation linéaire entre le nombre de volailles présentes dans un élevage bovin laitier et le risque d'apparition d'avortements à *Neospora* chez les vaches. De plus, des expérimentations ont montré que les pigeons domestiques inoculés par des tachyzoïtes de *N. caninum* permettaient le développement des parasites, ce qui laisse envisager un possible rôle d'hôte intermédiaire.

La contamination par l'eau ou des aliments souillés tels que les fourrages produits sur l'élevage, le soja ou tout autre aliment acheté dans le commerce est possible.

Les élevages contaminés sont surtout des cheptels de taille importante, de bon niveau génétique et donc gros consommateurs de soja, vu que le soja provient en grande partie des États-Unis ou de nombreux cas d'avortements liés à *Neospora caninum* existent, on peut imaginer que l'hôte définitif est un animal sauvage présent uniquement sur le territoire américain, susceptible de s'introduire dans les silos ou de contaminer la plante sur pieds d'ookystes (Journel et al., 1999)

### 3- Mode d'infection:

Face à un cas de néosporose en élevage, il convient d'abord de déterminer le mode de contamination principal et de ne pas réformer trop rapidement les vaches infectées après la naissance (Journel et al., 2005).

L'infection d'un nouvel animal peut s'effectuer par ingestion de l'ocyste sporulé, ou encore par des tachyzoïtes ou des kystes tissulaires hébergés par les hôtes intermédiaires. La spécificité pour les hôtes intermédiaires n'est pas stricte, si bien que les sources et réservoirs animaux sont multiples, même si l'on ne peut actuellement attribuer un rôle épidémiologique prépondérant à une espèce plus qu'à une autre.

On sait que le pouvoir infectant des tachyzoïtes et des kystes à bradyzoïtes est variable en fonction des hôtes (carnivores, herbivores, rongeurs), de la voie d'infection (orale, transplacentaire), de la dose ingérée ou inoculée, mais aussi en fonction de l'isolat de *N. caninum*. (Chermette et Marquer, 2000).

Récemment, la présence de *Neospora caninum* a été démontrée dans le sperme de taureau, même en faible quantité et de manière ponctuelle, conduit à s'interroger sur le risque de contamination de la mère séronégative lors de l'insémination artificielle ou de la saillie, et le risque de transmission de la maladie au fœtus.

L'infectiosité de la semence contaminée par des tachyzoïtes a été démontrée à travers la parasitémie et la dissémination du parasite dans plusieurs organes (Raboisson et schelcher, 2006).

Certains primates sont réceptifs à l'infection expérimentale et l'affection induite est en tout point semblable à la toxoplasmose. le risque résiderait dans l'ingestion de viande ou de viscères de bovins crus ou peu cuits.

La souris constitue un modèle expérimental utile pour l'étude de la biologie, de l'immunologie et l'évaluation de molécules potentiellement actives tandis que la chèvre et le mouton représentent d'excellents modèles de néosporose congénitale (Dubey et Lindsay, 1996).

### 4- Transmission:

Les épisodes d'avortements survenant au sein d'une exploitation peuvent présenter un profil endémique ou épidémique. Dans le premier cas, le taux d'avortements au sein du troupeau est supérieur à 5% durant plusieurs années. Les épisodes épidémiques sont moins fréquents et se caractérisent par un taux d'avortements élevé sur une courte période. Dans certains cas, plus de 30% des vaches gestantes peuvent avorter en quelques mois. Il est également possible d'observer une forme endémique de néosporose au cours de laquelle surviennent occasionnellement des épisodes épidémiques (Rettigner et al, 2004).

L'épidémiologie de cette maladie est mal connue, mais les premières études ont permis de mettre en évidence deux types de transmission: une verticale et l'autre horizontale (Tainturier et al; 2000).

#### **4-1- Transmission verticale (transplacentaire) (80%) :**

Expliquant le passage du parasite de la mère au fœtus pendant la gestation (Chermette et Marquer, 2000). La vache porteuse a plus de 50 % de chances d'avorter, mais elle peut aussi donner naissance à un veau non viable ou un veau vivant et viable, qui transmettra la maladie à sa descendance (Tainturier et al; 2000), ce qui produit une infection du veau dite chronique ou congénitale à la naissance (Journel, 2005).

Cette transmission a été reconnue très rapidement chez la chienne et la vache dans les conditions naturelles, puis chez la chèvre, la jument, la brebis, et induite expérimentalement chez les bovins, les moutons, la chèvre, la souris, le chien, le chat, le singe (Chermette et Marquer, 2000).

Cette voie est apparue d'emblée comme le mode majeur de transfert chez le bétail. Elle est très efficace si l'on se fonde sur la présence d'anticorps spécifiques précolostraux chez les veaux nés de mères séropositives. Les taux de transfert de l'infection de la mère au fœtus varient ainsi de 81 à 95 % en fonction des études (Losson et Bourdoiseau, 2000).

L'induction de la néosporose congénitale s'effectue en général par inoculation sous cutanée ou intramusculaire de tachyzoïtes de culture aux femelles gestantes (Chermette et Marquer, 2000). Ce mode d'infection peut se répéter de génération en génération.

Cependant, la transmission transplacentaire n'a pas lieu dans tous les cas et les facteurs impliqués dans son déterminisme restent largement inconnus (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Lorsqu'on effectue des transferts d'embryons, si la donneuse est positive et les receveuses négatives, les veaux naissent vivants, viables et indemnes. Dans le cas contraire, si la donneuse est négative et les receveuses positives, ces dernières peuvent avorter, ou donner naissance à un veau porteur, rarement à un veau sain et indemne. La contamination de l'embryon s'effectue après l'âge de 8 jours et la contamination des troupeaux remonte à plusieurs années, par fois plus de 10 ans (Tainturier et al., 2000).

Raboisson et Schelcher, (2006) rapportent que la fertilité peut être diminuée par la présence de grandes quantités de tachyzoïtes dans l'utérus.

#### **4-2- Transmission horizontale:**

Une autre voie importante de contamination des bovins jouant un rôle primordial lors d'épisodes abortifs de type épidémique est la transmission horizontale. Elle a également été identifiée au sein de troupeaux où la néosporose sévissait de façon endémique (Rettigner et al., 2004).

Elle a lieu suite à l'ingestion soit de kystes tissulaires à bradyzoïtes, soit de tachyzoïtes par la consommation de délivrances et/ou d'avortons (Chermette et Marquer, 2000). Cette modalité de transmission paraît cependant peu probable pour expliquer l'infection d'animaux herbivores. Chez ces derniers elle est plutôt consécutive à l'ingestion d'oocystes sporulés de *N.caninum* (Chermette et Marquer, 2000) présents dans l'environnement (nourriture, eau) et provenant d'un hôte définitif excréteur (Journel, 2005).

Les souillures des aliments par les excréments entraîneraient la contamination d'autres vaches (Joly, 2000).

Par ailleurs, des veaux ont pu être infectés par voie orale à partir de lait enrichi de tachyzoïtes et un passage par voie galactogène a été démontré chez le souriceau à partir de la mère inoculée en sous-cutanée. En effet cette possibilité de transmission par le lait semble tout à fait accessoire (Chermette et Marquer, 2000).

La transmission horizontale apparaît dans un troupeau où ne sévissait aucun trouble de gestation, brutalement plusieurs vaches avortent, sans aucun lien de parenté entre elles (Tainturier et al., 2000).

Afin de déterminer si une transmission horizontale existe dans un troupeau, il est nécessaire de disposer des sérologies de l'ensemble des bovins et de les confronter aux généalogies. Si de nombreux bovins sont infectés alors que leur mère ou leur descendance ne l'est pas, ces bovins se sont probablement infectés après la naissance (Journel, 2005).

Les deux modes de transmission verticale et horizontale sont en effet parfois observés successivement. Pendant quelques années, une transmission uniquement verticale s'observe, puis sans que l'on en détermine la cause, on retrouve des génisses séropositives alors que leurs mères n'étaient pas infectées. Il semble qu'un hôte définitif soit apparu (chien ou renard) il a permis la fermeture du cycle du parasite et la contamination horizontale de plusieurs vaches (nouvelles infections) (Journel et Pitel, 2001).

Si la transmission verticale est bien connue, la transmission horizontale l'est moins : on ne connaît pas tous les hôtes définitifs possibles, et pour le chien, seul hôte définitif identifié à ce jour, on ne connaît ni la durée exacte de l'excrétion, ni la dose infectieuse, ni le support de la contamination (aliment ou eau) (Journel et al., 2001).

# ***CHAPITRE 4***

## 1- Symptomatologie:

Le tableau clinique de cette maladie renferme deux volets distincts: un chez la vache, l'autre chez les veaux.

### 1-1- Signes cliniques chez le bovin adulte:

#### ➤ L'avortement:

L'avortement est la seule manifestation clinique d'une infestation chez l'animal adulte (Losson et Bourdoiseau, 2000). Quel que soit leur âge, les vaches peuvent avorter après trois mois de gestation et jusqu'au terme (cf. Figure 6), la plupart des avortements a cependant lieu au cinquième ou sixième mois de gestation (Dubey, 2000).

L'avortement est sans prodromes, apyrétique et sans rétention placentaire, ou le retour en chaleurs est prématuré (Marquer et Chermette, 2000). Certaines vaches peuvent présenter, quelques jours avant l'expulsion de l'avorton, des écoulements translucides, similaires à des glaires de chaleur.

Quand elles ne sont pas réformées après l'avortement, les vaches sont inséminées à nouveau et retrouvent une fécondité normale (Journel et al., 1999).

La néosporose provoque des avortements pendant toute l'année, qui peuvent être explosifs, endémiques ou sporadiques (Dubey, 2000).

Les avortements épizootiques sont plus souvent rencontrés dans les élevages qui subissent une infection horizontale (de nombreuses vaches se contaminent en même temps à une même source) ou dans les élevages à la suite d'un stress subi par tout le troupeau (Journel et al., 2001).

En général, une vache infectée a 2 à 3 fois plus de risque d'avorter qu'une vache non infectée, de plus, une vache infectée peut avorter plus d'une fois d'un fœtus infecté de *Neospora*, cela indique que le système immunitaire de la vache ne semble pas la protéger adéquatement, même après un premier avortement (Paré et Fecteau, 1998).



Figure 6 : Avortement d'un veau presque à terme suite à une néosporose

. ([www.neosporosis.com/abortions.asp](http://www.neosporosis.com/abortions.asp))

### ➤ La production laitière:

On rapporte qu'une vache infectée produit en moyenne moins de lait qu'une vache non infectée (Paré et Fecteau, 1998).

Par ailleurs, les bovins séropositifs pour *Neospora* ont des taux cellulaires plus bas et ont 60% moins de risque de développer une nouvelle infection mammaire que les séronégatifs, les comptages cellulaires sont réalisés sur deux prélèvements de lait (le jour de la prise de sang et 2 à 12 mois plus tard) (Peregrine et al., 2004).

### 1-2- Signes cliniques chez les veaux:

Les veaux infectés à la naissance peuvent être cliniquement normaux ou, au contraire, manifester des signes nerveux (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Les principaux signes cliniques observés sont:

- Animal ne se levant pas; parésie.
- Absence ou diminution de la proprioception et des réflexes médullaires; ataxie.
- Exophtalmie ou anomalie oculaire.
- Anomalie de développement:
  - Arthrogrypose.
  - Petite taille, déviation de la colonne vertébrale.
  - Déviation ventro-médiale des yeux ; malformation de la moëlle.
  - Hydrocéphalie.

La variabilité des signes cliniques chez les veaux exposés *in utero* serait fonction de l'âge des fœtus, de la distribution des lésions dans leur système nerveux central ou du stade de développement de leur système immunitaire au moment de l'exposition à *N. caninum* (Marquer et Chermette, 2000).

### 2- Pathogénie de l'avortement:

La pathogénie de ces avortements reste du domaine de l'hypothèse. Dans la transmission verticale le parasite est enkysté dans les tissus de la mère (système nerveux, muscles...). Le signal du réveil est certainement donné à partir du trentième jour de gestation par la sécrétion des protéines placentaires.

Le parasite va alors migrer en direction de l'utérus:

- Si la vache réagit peu ou pas du point de vue sérologique, la contamination utérine est massive et l'avortement survient.

▪ Si la vache réagit par une synthèse importante d'anticorps, la contamination du fœtus sera faible (naissance d'un veau porteur) ou exceptionnellement nulle (naissance d'un veau sain) (Tainturier et al., 2000).

Le fœtus peut mourir in utero, être résorbé, momifié ou autolysé. La mort fœtale peut probablement survenir durant toute la durée de la gestation. Une mort fœtale précoce peut passer inaperçue ou entraîner de la résorption fœtale et un retour en chaleur de l'animal (Losson et Bourdoiseau, 2000).

### **3- Lésions:**

Les lésions dégénératives et/ou inflammatoires peuvent concerner tous les tissus du fœtus mais surtout le système nerveux central, le cœur, les muscles striés et le foie.

Les lésions macroscopiques sont rares mais peuvent être observées au niveau du cœur, des muscles et du cerveau. Ces lésions se présentent sous la forme de petits foyers de nécrose de couleur pâle à foncée (Losson et Bourdoiseau, 2000).

#### **3-1- Lésions nerveuses:**

L'état des tissus permet de révéler une encéphalomyélite non suppurative caractérisée par des foyers d'infiltration multifocale accompagnée ou non de foyers disséminés de nécrose, ainsi que de l'infiltration leucocytaire non suppurative des méninges. La lésion la plus classique du tissu nerveux est un foyer d'infiltration de cellules inflammatoires mononuclées qui entourent une lésion nécrotique centrale. De la prolifération gliale peut être observée surtout chez les avortons âgés de plus de 6 mois (De Meerschman et Losson, 1998).

#### **3-2- Lésions des autres tissus:**

Les lésions du myocarde sont souvent marquées: foyers d'inflammation et de nécrose. Des lésions hépatiques se traduisent par des foyers inflammatoires riches en cellules mononuclées et en des foyers de nécrose hépatocytaire (Losson et Bourdoiseau, 2000).

### **4- Réponse immunitaire:**

L'issue d'une infection à *N.caninum* est largement déterminée par l'efficacité du système immunitaire de l'hôte. La néosporose atteint les animaux gestants et se manifeste principalement par des avortements. Alors que le système immunitaire de l'adulte semble pouvoir faire face à l'infection, le système immunitaire du fœtus en développement est particulièrement vulnérable (Meyer, 2002).

#### **4-1- chez l'animal non gestant :**

La plupart des bovins peuvent faire face à l'infection par *N.caninum* et ne présenter aucun signe clinique, alors que le parasite persiste dans l'organisme (Meyer, 2002).

➤ **Réponse à médiation humorale :**

L'hôte réagit à l'infection par *N.caninum* en produisant des anticorps spécifiques. Ils sont dirigés vers la forme extracellulaire du parasite, c'est-à-dire les tachyzoïtes lors de la phase de parasitémie.

Les veaux qui étaient séronégatifs avant l'infection séroconvertissent, selon les études et les voies d'administration du parasite, entre 2 et 5 semaines après l'infection.

Les anticorps IgG1 anti-*N.caninum* ont été détectés à partir de 2 semaines post-infection, les IgG2 à partir de 4 semaines et les IgM à partir de 2 semaines mais ces derniers voient leur titre chute dans le mois qui suit. Les IgA ne semblent pas intervenir dans la réaction immunitaire : les titres étaient identiques chez les animaux infectés et les animaux non infectés.

Les échantillons sanguins précolostraux d'un veau né infecté mais cliniquement normal montrent de forts titres en anticorps IgM et IgG. Le titre en IgM diminue très rapidement dès la première semaine d'âge, tandis que celui des IgG augmente à partir de la deuxième semaine (Meyer, 2002).

➤ **Réponse à médiation cellulaire :**

La localisation intracellulaire de *N.caninum* a pour conséquence la participation importante de l'immunité à médiation cellulaire dans la réaction immunitaire.

En général, pour les protozoaires intracellulaires, cette immunité est dominée par la réponse lymphocytaire de type 1. Des études réalisées chez des veaux montrent l'apparition en 1 semaine d'une forte prolifération des lymphocytes dans le sang, les nœuds lymphatiques et la rate (Meyer, 2002).

**4-2- chez l'animal gestant :**

➤ **Immunomodulation liée à la gestation :**

Etant donné que la maladie apparaît chez les animaux gestants, il est important de relever les changements qui ont lieu dans le système immunitaire au cours de la gestation et qui peuvent rendre l'animal plus vulnérable à la maladie (Meyer, 2002).

La sécrétion d'IFN $\gamma$  réalisée par les cellules Th1 helper (cellules pro inflammatoires) est diminuée. Cette immunomodulation naturelle permet à la vache de ne pas « rejeter » son fœtus. Toutefois, la diminution des IFN $\gamma$  permet également au parasite enkysté de modifier sa relation

à l'hôte et de contaminer le veau. Cette réponse en IFN $\gamma$  varie beaucoup selon les veaux. Une production insuffisante ou excessive d'IFN $\gamma$  favorise l'avortement (Journel et al., 2005).

La période de gestation s'accompagne de la mise en place d'un microenvironnement immunitaire particulier au niveau de l'interface foeto-placentaire. Ces modifications locales du système immunitaire ont également des répercussions systémiques qui altèrent la capacité à mettre en place une réponse immune à médiation cellulaire (Krishnan et al., 1996).

➤ **Conséquences pour le fœtus :**

Les mécanismes précis expliquant pourquoi la réaction immunitaire en faveur des cytokines de type 1 affecte la survie du fœtus ne sont pas encore complètement élucidés. On sait cependant que l'IFN- $\gamma$  est capable de provoquer des dégâts sur le placenta et les tissus fœtaux et que les cellules NK, qui interviennent également dans les réactions immunitaires de type 1, peuvent tuer les cellules trophoblastiques.

L'immunocompétence chez le fœtus bovin se développe à partir de 120 jours de gestation. Très peu de fœtus âgés de moins de 6 mois ont des taux d'anticorps détectables (Meyer, 2002).

➤ **Immunité protectrice :**

Les observations de troupeaux naturellement infectés par *N.caninum* montrent que le taux de transmission verticale du parasite de la mère à la fille est très élevé. L'immunité résultant d'une première exposition à *N.caninum* semble donc insuffisante pour prévenir la transmission verticale.

Cependant, une étude récente a montré que des animaux infectés expérimentalement avant l'insémination développent une immunité suffisante pour protéger leur descendance d'une contamination lors d'une seconde infection en cours de gestation (Meyer, 2002).

On peut donc considérer que le phénomène de réactivation de l'infection chronique par *N.caninum* est le principal responsable du maintien de l'affection au sein du troupeau et fait par conséquent l'objet de nombreuses recherches en vue de développer des outils de contrôle soit sous forme de vaccins soit sous forme de médicaments (Rettingner et al., 2004).

# ***CHAPITRE 5***

## 1- Diagnostic:

Le diagnostic de la néosporose bovine est une certitude qui reste difficile à obtenir, donc on doit passer par les étapes classiques de la démarche diagnostique:

### 1-1-Diagnostic clinique et épidémiologique:

La survenue d'avortements enzootiques ou épizootiques, ayant lieu entre 4 et 7 mois de gestation, sans autre signe associé, conduit à envisager la présence possible de la néosporose dans un élevage bovin, mais la confirmation de la néosporose clinique chez les bovins reste encore délicate car les signes cliniques observés ne sont pas pathognomoniques de l'infection (Marquer et Chermette, 2000).

Par ailleurs, comme la plupart des animaux infectés ne développent pas de signes cliniques, il est important de pouvoir réaliser un diagnostic différentiel par des examens complémentaires. Ainsi, des méthodes de diagnostic performantes ont dû être développées (Ghalmi et al., 2007).

### 1-2-Diagnostic de laboratoire:

#### ➤ Prélèvements à effectuer:

Le diagnostic repose sur l'examen des sérums maternel et fœtal et des tissus fœtaux. Un diagnostic étiologique précis ne peut, à l'heure actuelle, être établi que sur l'examen des tissus par immunohistochimie. Idéalement, un échantillon de sérum maternel et l'avorton entier doivent être soumis au laboratoire de diagnostic.

A défaut, la tête du fœtus doit être prélevée. Les tachyzoïtes de *N. caninum* résistent bien à l'autolyse ou à la momification. Il est donc toujours intéressant de prélever du tissu cérébral (Losson et Bourdoiseau, 2000).

#### ➤ Les méthodes directes:

Ces méthodes permettent la mise en évidence du parasite : histologie, immunohistochimie, isolement sur culture cellulaire et inoculation, et amplification génique (PCR), cette dernière méthode semble être la plus fiable et la plus sensible.

#### ● Histologie:

Il s'agit d'une coloration au May Grünwald Giemsa à partir de calques d'organes ou de tissus fixés dans la paraffine. Deux écueils se posent face à cette technique: le faible nombre de parasites présents sur une coupe, le faible volume observé par rapport à un organe et surtout

l'impossibilité de différencier en microscopie photonique un tachyzoïte de *Neospora* de celui d'un *Toxoplasma* (Dubey et Lindsay, 1996).

- **Immunohistochimie:**

Une autre méthode de diagnostic fréquemment utilisée est l'immunohistochimie, elle permet de mettre en évidence la présence d'antigènes parasitaires au sein des tissus infectés. Les tachyzoïtes sont fréquemment observés au sein du cerveau (85% des fœtus examinés) mais ils peuvent aussi être détectés dans le foie (26%) et le cœur (14%). Néanmoins cette technique reste assez peu sensible et nécessite donc la réalisation de plusieurs coupes à différents endroits de l'organe (Ghalimi et al., 2007).

- **Isolement sur cultures cellulaires et inoculation:**

*N. caninum* peut être isolé sur cultures cellulaires. Plusieurs lignées cellulaires se prêtent à la multiplication *in vitro* des tachyzoïtes (Losson et Bourdoiseau, 2000).

C'est encore une technique réservée aux laboratoires de recherche car *N. caninum* se cultive difficilement en culture primaire sur des cellules endothéliales d'arc aortique pulmonaire de bovin; les cultures peuvent ensuite être repiquées sur cellules VERO (Yamane et al., 1997). La culture, même supérieure à un an, n'entraîne pas de perte du pouvoir infectieux (Dubey et Lindsay, 1996).

Actuellement seuls des tachyzoïtes ont pu être cultivés (Conrad et al., 1993). L'isolement peut être tenté par l'inoculation de tissu cérébral à la souris (De Meerschman et Losson, 1998).

- **Amplification génique (Polymerase Chain Reaction ou PCR) :**

C'est une méthode très sensible d'amplification de l'ADN du parasite. Il existe des séquences spécifiques de *Neospora caninum* qui peuvent directement être amplifiées comme il est possible d'amplifier une séquence commune des *Apicomplexa* puis d'effectuer un marquage avec une sonde spécifique de *N. caninum* (Ho et al., 1997).

Cependant, elle reste une méthode coûteuse, et si elle est utilisée seule, ne permet pas de distinguer néosporose infection et maladie (Marquer et Chermette, 2000).

- **Les méthodes indirectes:**

Sont des techniques sérologiques qui visent à déceler la présence d'anticorps, parmi lesquelles:

- **Immunofluorescence indirecte (IFI):**

C'est la technique sérologique de référence car la première réalisée par analogie avec la toxoplasmose (Conrad et al., 1993).

En général un titre égal ou supérieur à 1/640 en IFI est considéré comme spécifique de *N. caninum*.

La spécificité de l'IFI est considérée comme élevée, aucune réaction croisée n'ayant été observée vis-à-vis de *Babesia divergens*, *Sarcocystis sp*, *Eimeria bovis* et *Cryptosporidium parvum*. Par contre, certains auteurs ont mis en évidence une réactivité croisée avec *T. gondii* (Ghalmi et al., 2007).

- **Tests immunoenzymatiques (ELISA):**

ELISA est la méthode de diagnostic qui a connu les développements les plus importants au cours des dernières années.

Il existe de nombreuses variantes de la technique (cf. Annexe 1) mais le principe de base est le suivant: l'antigène est déposé dans un puit d'une plaque multi-puits, le sérum est ajouté et après lavage, la présence d'anticorps spécifiques est mise en évidence grâce à un anticorps anti-espèce conjugué à une enzyme (peroxydase, phosphatase alcaline). La liaison de l'antigène conjugué est mise en évidence par une réaction enzymatique qui génère un produit coloré. La densité optique (DO) à la longueur d'onde adéquate est alors déterminée. Un seuil de positivité est déterminé pour différencier les positifs des négatifs. Les antigènes peuvent être de composition variée: des tachyzoïtes entiers, des tachyzoïtes lysés, divers extraits protéines recombinantes (Ghalmi et al., 2007).

Les divers tests immunoenzymatiques présentent l'avantage d'une automatisation aisée et d'une lecture plus objective que celle de l'I.F.I (De Meerschman et Losson, 1998).

Enfin, la découverte d'anticorps de *N. caninum* dans le sérum du fœtus, du veau avant l'absorption du colostrum permet de diagnostiquer une infestation par *N. caninum*. Mais un résultat négatif n'est pas significatif car la synthèse des anticorps dans le fœtus dépend du stade de gestation, du taux d'infestation et du temps écoulé entre l'infestation et l'avortement. Lors d'une infestation congénitale, le diagnostic est établi à l'aide de trois prélèvements importants: le sérum prélevé avant l'absorption du colostrum, l'encéphale et la moelle épinière (Dubey, 2000).

- **Agglutination directe:**

Il s'agit d'un test de détection d'anticorps anti-*N. caninum* basé sur l'agglutination de tachyzoïtes de *N. caninum* intacts et formolés. Ce test détecte les IgG et les IgM spécifiques avec une prédilection pour les IgM (Ghalmi et al., 2007).

C'est un test spécifique et très sensible, utilisable sur différentes espèces animales, il a surtout un intérêt à l'échelle du troupeau (Marquer et Chermette, 2000).

**● Immunoblot:**

Cette technique consiste à réaliser une séparation des protéines en SDS PAGE (Sodium Docecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis). Les protéines sont ensuite transférées sur une membrane. La membrane est bloquée, puis hybridée avec le sérum. La présence d'anticorps fixés est ensuite mise en évidence par un anticorps conjugué à une enzyme dont l'activité génère un précipité coloré au niveau des protéines du parasite reconnues par les anticorps du sérum.

C'est une technique malgré tout lourde et difficile à mettre en œuvre pour du diagnostic de routine surtout sur des cheptels. Par conséquent, il s'agit surtout d'une technique de confirmation en cas de test sérologique classique (ELISA, IFI, DAT) positif ou douteux (Ghalmi et al., 2007). En résumé, le diagnostic de certitude de néosporose est effectué, pour les tissus fœtaux, sur la base à la fois de lésions histologiques compatibles avec cette maladie et d'une coloration immunohistochimique positive, le plus souvent sur des coupes de cœur et/ou de cerveau, ou par PCR sur les tissus fœtaux. Si le cerveau n'est pas envoyé au laboratoire ou n'est pas utilisable, la sérologie fœtale ou maternelle peut donner des informations utiles, et ce surtout si le fœtus est âgé de six mois ou plus (Marquer et Chermette, 2000).

**1-3-Diagnostic différentiel:**

Cette maladie s'inscrit dans le cadre du diagnostic différentiel des avortements bovins d'une part, et, plus rarement, des atteintes nerveuses et/ou locomotrices du veau d'autre part. Ainsi, pour les avortements bovins, on s'attachera à envisager les différentes causes possibles, infectieuses (telles la brucellose, la salmonellose, la sarcosporidiose, la chlamydie, la fièvre Q, la listériose, les mycoses, la leptospirose, l'atteinte par les virus IBR ou BVD et plus accessoirement, la trichomonose et la vibriose) ou non (causes nutritionnelles, génétiques, iatrogènes ou autres).

De la même manière, dans le cadre des encéphalomyélites du veau, il convient d'effectuer la distinction entre un grand nombre d'affections potentielles (malformations nerveuses congénitales, coccidioses à *Eimeria sp.* sarcosporidiose, atteintes par le virus de la rage ou par le virus de la maladie d'Aujesky, déséquilibres hydroélectrolytiques, intoxication par le plomb, carences en vitamines du groupe B), donc, le diagnostic différentiel s'effectue sur la base des commémoratifs et des prélèvements (Marquer et Chermette, 2000).

Une fois le diagnostic de néosporose est établi, il reste à proposer des moyens de lutte ou de contrôle aux éleveurs via le vétérinaire de l'élevage.

**2-Traitement:**

Il n'existe actuellement aucun traitement médical curatif ou préventif de la néosporose. Différents essais ont été effectués avec des antiparasitaires et des sulfamides sans résultats concluants (Journel et Pitel, 2001).

Le traitement de la néosporose a été défini par analogie avec celui d'un parasite très proche, le toxoplasma, et à partir d'études d'efficacité *in vitro* (Lindsay et al., 1996). C'est-à-dire sur des tachyzoïtes propagés par culture cellulaire. Une quarantaine de principes actifs a été testée sur culture cellulaire dont le Triméthoprime, la Pyriméthamine, et certains Ionophores comme le Lasolacide ou le Monensin, des molécules coccidiocides, des macrolides, tétracyclines et lincosamides. Par contre, les études *in vivo* n'ont concerné qu'un petit nombre de molécules; seule la Sulfadiazine s'est révélée efficace (Guillot et al., 2000). Montrent expérimentalement une efficacité chez la souris (Lindsay et Dubey, 1990).

L'utilisation d'agents pharmacologiques dans le contrôle de la néosporose bovine pose le problème du respect de la législation en vigueur quant aux temps d'attente relatifs à la consommation du lait et de la viande.

Enfin, et malgré ces médicaments mais seules les mesures préventives peuvent être recommandées.

### 3- Prophylaxie:

#### 3-1-Sanitaire:

##### ➤ Défensive:

Dans un élevage indemne de néosporose, il est important:

- De ne pas acheter de femelles séropositives (Journel et Pitel, 2001).
- D'essayer de protéger le mieux possible les stocks et les aires d'alimentation de toute contamination (Pitel, 1999).
- D'inciter les éleveurs à réaliser une sérologie systématique à tout bovin introduit dans l'élevage.

En ce qui concerne les animaux de moins de six mois, se pose toujours le problème des anticorps colostraux associé au taux de transmission verticale qui est très élevé (80 à 100%), deux solutions s'offrent à nous:

- soit refuser tout animal de moins de six mois séropositif (avec le risque de refuser un faux positif).
- soit attendre l'âge de sept mois pour tester cet animal (avec le problème du délai par rapport à l'achat) (Journel et Pitel, 2001).

##### ➤ Offensive:

❖ Dans un élevage infecté, ou au statut inconnu, il s'agit d'arrêter ou d'éviter la transmission, et surtout la fermeture du cycle par l'hôte définitif. Il convient donc d'empêcher tout contact possible d'animaux du milieu extérieur avec les avortons, les veaux morts et les placentas (conservation en poubelles fermées, containers d'équarrissage ou incinération)

et d'empêcher l'accès des chiens aux aires d'alimentation des bovins (ensilages, concentrés, eau, etc.) (Journel et Pitel, 2001) et la prévention de l'accès des renards, qui sont considérés comme des hôtes définitifs potentiels pour *Neospora*, il est également conseillé d'éviter l'accès de ces zones aux rongeurs et aux oiseaux, qui sont des vecteurs mécaniques de formes infectantes du parasite (Pronost et al., 2000).

❖ Certains auteurs recommandent également l'abattage des animaux que l'on sait infectés par *N.caninum* et de leurs ascendants et descendants. Cependant, cette recommandation est loin de faire l'unanimité, même s'il est déconseillé de conserver des animaux que l'on sait infectés pour assurer le renouvellement du troupeau (Marquer et Chermette, 2000).

La réforme préférentielle des vaches séropositives est une mesure préventive essentielle, elle se justifie économiquement en raison des pertes économiques (avortements et pertes de lait induites) dues à la maladie en l'absence de stratégie de traitement ou de vaccination.

Un nombre important de vaches positives ne justifie pas un abattage immédiat: l'économie globale de l'exploitation doit bien sur être prise en compte et la carrière laitière des vaches positives ne doit pas être compromise pour la lactation en cours (Joly, 2000). De plus l'élimination de ces animaux vers la filière « veau de boucherie » ne semble pas très prudente étant donné le manque d'information sur l'aspect zoonose de *N.caninum* (Pitel, 1999).

❖ La transplantation embryonnaire est aussi une voie qui mériterait d'être explorée plus avant (Journel et Pitel, 2001) elle peut permettre dans certaines situations de sauvegarder les produits de lignées de haute valeur génétique (Joly, 2000).

❖ L'utilisation systématique de la sérologie pour assainir un troupeau par abattage sélectif des animaux séropositifs doit être assortie de certaines mises en garde :

- La sérologie ne doit être qu'un des facteurs décisionnels d'abattage.
- Le seuil de décision sérologique entre positif et négatif n'est pas clairement défini.
- La réinfestation d'un troupeau séronégatif est toujours possible avec un accroissement de la susceptibilité des animaux, donc des avortements, si des mesures drastiques de contrôle des canidés ou à l'introduction ne sont pas mises en place (Faroult et Camuset, 2006).

### 3-2- Médicale:

La recherche d'un vaccin capable d'inhiber la mise en place de l'infection latente par *N.caninum* et/ou la transmission verticale du parasite est en plein développement (Rettigner et al., 2004)

Un vaccin a récemment été mis sur le marché aux Etats-Unis chez les bovins (Pronost et al., 2000) mais de nombreuses interrogations subsistent sur l'efficacité d'un vaccin antiparasitaire.

***PARTIE***  
***EXPERIMENTALE***

***MATERIEL***  
***ET***  
***METHODES***

Au cours de notre étude expérimentale, nous avons effectué des visites dans des élevages de bovins laitiers sur lesquelles nous avons réalisé:

- Un questionnaire visant à connaître la conduite d'élevage et quelques pratiques pouvant constituer un facteur de risque pour la transmission de la néosporose.
- Des prélèvements sanguins afin de réaliser des sérologies.

### **1- Zone de l'étude:**

Notre étude a été réalisée dans 22 élevages de bovins laitiers de petite et moyenne taille (3 à 150 têtes) pris aléatoirement dans la wilaya de Blida.

Le choix des élevages a été réalisé en fonction de l'accessibilité de ces derniers et de l'aimable collaboration des éleveurs.

### **2- Echantillonnage:**

249 prélèvements sanguins ont été effectués sur la totalité des sujets âgés de plus de 1an (pour les petits élevages) et sur plus de 20% des sujets âgés de plus de 1an (pour les moyens élevages). L'ensemble de l'effectif est constitué par des Prim'Holstein, des Montbéliardes, des brunes des Alpes et des races croisées.

Les males utilisés pour la saillie ont également été prélevés lorsque ces derniers se trouvaient au sein de l'étable.

### **3- Matériel:**

#### **3-1- Matériel de prélèvements et de récolte des sérums: (cf. Figure 7)**

- Tubes secs de 10 ml type vacutainer.
- Aiguilles individuelles.
- Portoirs.
- Tubes eppendorf étiquetés.
- Micropipettes de précision et multicanaux.
- Embouts de pipettes à usage unique.
- Centrifugeuse.
- Glacière avec pain de glace.
- Congélateur.



Figure 7 : Matériel nécessaire à la récupération des sérums.

### 3-2- Matériel nécessaire pour la technique ELISA (cf. Figure 8) :

- Plaque de prédilution.
- Vortex ou équivalent.
- Eau distillée.
- Laveur de microplaque manuel.
- Incubateur de microplaque ( $37 \pm 2^\circ\text{C}$ ).
- Adhésifs de plaques
- Lecteur ELISA équipé d'un filtre à 450 nm ou de filtres à 450 et 620 nm.
- Le Kit d'analyse est constitué de (cf. Figure 8) :
  - Réactif 1 : Microplaque ELISA en 12 barrettes de 8 cupules.
  - Réactif 2 : Contrôle négatif *N.caninum*.
  - Réactif 3 : Contrôle positif *N.caninum*.
  - Réactif 4 : Conjugué anti-bovin marqué à la peroxydase, prêt à l'emploi.
  - Réactif A : Solution de lavage 10 fois concentrée.
  - Réactif B : Tampon de dilution des échantillons, prêt à l'emploi.
  - Réactif C : Solution Substrat. Prête à l'emploi.
  - Réactif D : Solution d'arrêt. Prête à l'emploi.



Figure 8 : Les différentes composantes du kit ELISA.

#### 4-Méthodes:

##### 4-1- Le questionnaire:

Dans chaque élevage, un questionnaire est rempli (cf. Annexe 2) portant sur certaines conditions d'élevage qui pourraient constituer des facteurs de risque pour la transmission de *N.caninum* à savoir :

- La superficie de l'élevage:

Nous avons classé les élevages en petits (inférieur à 20m<sup>2</sup>), moyens (entre 20 et 50m<sup>2</sup>) et grands (supérieurs à 50m<sup>2</sup>).

- Hygiène de l'élevage:

Nous avons classé l'hygiène des élevages en bonne, moyenne ou mauvaise selon des critères que nous avons fixé, parmi lesquelles on note:

- Le niveau d'aération de l'étable (nombre de fenêtres, odeur)
- L'état de propreté des animaux
- L'état de propreté du sol et de la litière (présence de bouses, accumulation de liquides, présence de rigole d'évacuation centrale...).
- La propreté du matériel (bidons, matériel de traite...).

- Présence d'aire d'exercice ou de pâturage

- Présence de salle de vêlage

- Présence d'autres espèces animales: (ovins, caprins, chiens, volailles, équidés)

- Mode d'insémination: (artificielle, naturelle ou les deux à la fois).

4-2- Méthode de prélèvements et de récolte des sérums:

Les échantillons sanguins (239 femelles et 10 males) ont été prélevés à partir de la veine coccygienne à l'aide d'un tube sec de 10 ml type vacutainer, en prenant le soin d'identifier chaque tube (cf. Figure 9). Ces derniers sont acheminés au laboratoire du département des sciences vétérinaires dans une glacière et conservés au frais pendant une nuit. Le lendemain, les sérums sont centrifugés à 450 x g pendant 10 mn (cf. Figure 10), aliquotés dans des tubes eppendorf (cf. figure 11,12) et stockés à - 20°C jusqu'à leur analyse.

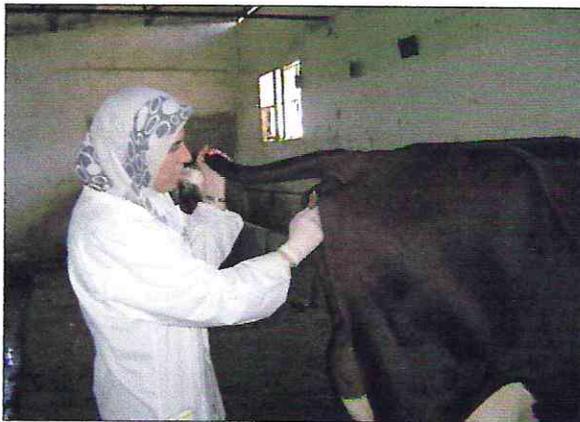


Figure 9 : Prélèvement sanguin à partir de la veine coccygienne.



Figure 10 : Centrifugation des sérums.



Figure 11: séparation du sérum



Figure 12 : Aliquotement du sérum dans les tubes eppendorf.

### 4-3- La technique ELISA:

#### ➤ Principe du test:

Le principe du test est une technique immunoenzymatique indirecte.

- Les échantillons et les contrôles sont déposés dans la plaque sensibilisée avec de l'antigène *Neospora caninum*. Les anticorps spécifiques anti- *Neospora caninum* éventuellement présents se lient à l'Ag.
- Après lavage, un conjugué anti-bovin à la peroxydase est ajouté et se fixe sur les anticorps préalablement fixés sur les microcupules.
- Le conjugué non fixé est éliminé par lavage avant addition d'un substrat chromogène. L'apparition d'une coloration est la conséquence de l'oxydation du substrat par la peroxydase du conjugué.
- Après arrêt de la réaction, la lecture des résultats est réalisée par un lecteur de plaques ELISA. L'apparition d'une coloration jaune indique un échantillon positif. La coloration de chaque puits est proportionnelle au taux d'anticorps spécifiques de *Neospora caninum* présents dans l'échantillon dilué.

#### ➤ Informations sur les échantillons:

Les sérums et les contrôles (Positive Control *N.caninum* (Réactif 3), Negative Control *N.caninum* (Réactif 2)) sont à utiliser au 1/100 dans la plaque sensibilisée.

Pour cela effectuer 2 dilutions successives :

- Etape 1 : dans une plaque de prédilution diluer au 1/20 les échantillons et les contrôles en tampon de dilution (Réactif B).

Conserver le même ordre que celui qui sera utilisé sur la plaque sensibilisée. Agiter doucement la plaque.

- Etape 2 : puis directement dans la plaque sensibilisée diluer au 1/5 les sérums et les contrôles prédilués au 1/20.

#### ➤ Préparation des réactifs:

- Les solutions tampons, le conjugué, le substrat et la solution d'arrêt sont prêts à l'emploi.
- La solution de lavage doit être diluée au 1/10 dans de l'eau distillée.

#### ➤ Mode opératoire :

##### • Distribution des contrôles et des échantillons :

Les échantillons individuels et les contrôles sont à analyser au 1/100 en solution tampon

- Déposer 20 µl de Control Négatif prédilué au 1/20 dans les cupules A1 et B1
- Déposer 20 µl de Control Positif prédilué au 1/20 dans les cupules C1 et D1
- Déposer 20 µl de sérum à analyser prédilué au 1/20 dans les cupules suivantes

- Distribuer 80 µl de solution tampon (Réactif B) dans toutes les cupules utilisées pour les échantillons individuels et les contrôles.

Agiter doucement la plaque et la couvrir à l'aide d'un adhésif de plaque. Incuber la plaque 1 heure à  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ .

- **Lavages :**

Vider la plaque et réaliser 4 lavages avec la solution de lavage diluée.

Les lavages seront réalisés sous un volume de 300 µl par cupule. Vider et taper la plaque sur un papier absorbant pour éliminer toute trace de liquide.

- **Distribution du conjugué:**

Distribuer dans chaque cupule 100 µl du conjugué (Réactif 4).

Agiter doucement la plaque et la couvrir à l'aide d'un nouvel adhésif de plaque. Incuber la plaque 1 heure à  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ .

- **Lavages:**

Mêmes procédures que précédemment.

- **Révélation:**

Distribuer dans chaque cupule 100 µl de substrat (Réactif C). Agiter doucement la plaque (2 secondes). Incuber 10 minutes à température ambiante ( $21 \pm 4^\circ\text{C}$ ) et à l'obscurité. Ne pas couvrir la plaque.

Distribuer dans chaque cupule 100 µl de la solution d'arrêt (Réactif D). Agiter doucement la plaque (2 secondes).

Distribuer la solution d'arrêt dans le même ordre que celui du substrat.

- **Lecture:**

Essuyer avec un chiffon doux le dessous des plaques pour éliminer d'éventuelles poussières.

Lire la plaque au maximum 30 minutes après l'arrêt de la réaction, à 450 nm en monochromatisme ou à 450-620 nm en bichromatisme.

➤ **Calcul des résultats :**

Calculer la Densité Optique moyenne du Control Négatif: D<sub>Om</sub> CN

Calculer la Densité Optique moyenne du Control Positif: D<sub>Om</sub> CP

Pour chaque échantillon, calculer le ratio S/P de l'échantillon (Sample/Positive) :

$$S/P = \frac{DO \text{ Ech} - D_{Om} \text{ CN}}{D_{Om} \text{ CP} - D_{Om} \text{ CN}}$$

**Note :** pour les échantillons négatifs, il est possible d'obtenir des S/P négatifs.  
Les résultats peuvent également être rendus sous forme de titres :

$$\text{Titre} = \text{S/P} \times 100$$

❖ **Validation :**

Le test est validé si :

DOM CP > 0,600

DOM CP > 5 x DOM CN

❖ **Interprétation des résultats :**

TITRE ≤ 5	NEGATIF
5 < TITRE ≤ 25	POSITIF+
25 < TITRE ≤ 50	POSITIF++
50 < TITRE ≤ 100	POSITIF+++
TITRE > 100	POSITIF++++

**5- Analyse statistique:**

- Le calcul du nombre d'échantillon nécessaire est réalisé selon les recommandations de Toma et al. (2001) avec une prévalence attendue de 32,8% (DECHICHA, 2003) et une précision relative de 20%.
- Le calcul de la prévalence, du ratio et des intervalles de confiances est réalisé selon les méthodes de Toma et al. (2001).
- La comparaison des pourcentages est réalisée avec le test exact de Fisher préconisé par Toma et al. (2001).

# ***RESULTATS***

Le calcul de l'échantillonnage nécessaire, les résultats de recherche des anticorps de *N.caninum* à l'échelle individuelle et à l'échelle de troupeau ainsi que leur répartition en fonction des différents facteurs de risque sont présentés ci-après.

### 1- Calcul de l'échantillonnage nécessaire:

L'échantillonnage nécessaire pour cette étude a été estimé selon la méthode de Toma et al. (2001) sur la base d'une séroprévalence de néosporose estimée dans une étude antérieure à 32,8% (Dechicha, 2003) et une précision relative de 20%. Le nombre d'échantillon préconisé est de 225.

### 2- Séroprévalence individuelle:

Les résultats de recherche d'anticorps de *N.caninum* sur les 249 têtes analysées sont présentés dans le tableau II.

**Tableau II:** Séroprévalence individuelle.

Effectif analysé	Cas positifs	Cas négatifs	Séroprévalence (%)	I.C à 95%
249	78	171	31,32	[25,72 36,92]

Le tableau II montre que 31,32% des sujets analysés sont séropositifs à la néosporose.

### 3- Séroprévalence d'élevage:

Nous considérons un élevage séropositif si au moins un sujet a répondu positivement à l'ELISA, le taux d'élevages séropositifs est présenté dans le tableau III.

**Tableau III :** Séroprévalence d'élevage.

Nombre d'élevages	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	I.C (%)	Nbre	%	I.C (%)
22	19	86,36	[72,06 100]	3	13,63	[0 27,93]

19 élevages sur les 22 analysés soit 86,36% ont au moins un cas séropositif dans leur effectif. Cette répartition est présentée graphiquement dans la figure 13.

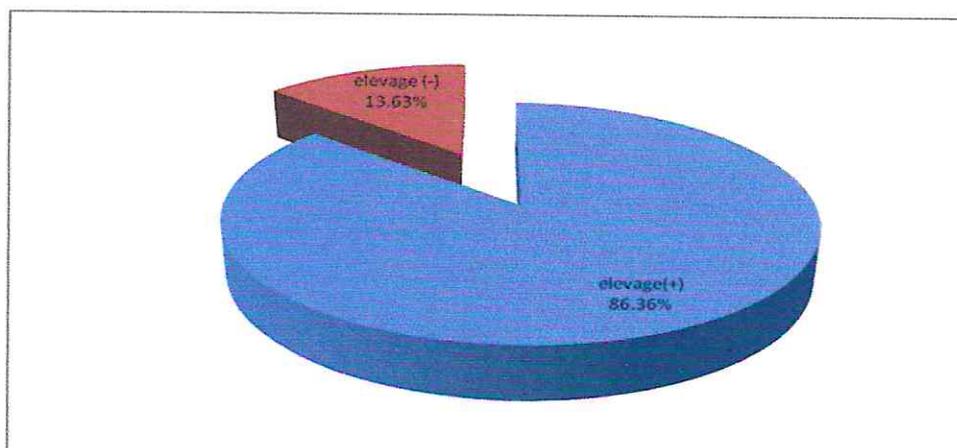


Figure 13 : Représentation de la séroprévalence des élevages.

#### 4-Séroprévalence individuelle au niveau de chaque élevage:

Le taux de sujets séropositifs dans chaque élevage est représenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV: La séroprévalence individuelle au sein de chaque élevage.

Elevages	Sujets analysés	Nombre de séropositifs	Séroprévalence (%)	LC (%)
Elevage 1	12	1	8,33	[0 23,73]
Elevage 2	7	0	0	/
Elevage 3	7	1	14,28	[0 40,08]
Elevage 4	3	0	0	/
Elevage 5	16	1	6,25	[0 18,01]
Elevage 6	22	1	4,54	[0 13,14]
Elevage 7	6	1	16,66	[0 46,45]
Elevage 8	7	1	14,28	[0 40,08]
Elevage 9	4	3	75	[32,7 100]
Elevage 10	6	1	16,66	[0 46,45]
Elevage 11	5	2	40	[0 82,9]
Elevage 12	19	17	89,47	[75,75 100]
Elevage 13	19	11	57,89	[35,79 79,99]
Elevage 14	9	2	22,22	[0 49,22]
Elevage 15	9	7	77,77	[50,77 100]
Elevage 16	6	5	83,33	[53,54 100]
Elevage 17	6	1	16,66	[0 46,45]
Elevage 18	6	0	0	/
Elevage 19	10	1	10	[0 28,4]
Elevage 20	6	1	16,66	[0 46,45]
Elevage 21	33	10	30,30	[14,9 45,7]

Elevage 22	31	11	35,48	[18,82 52,14]
Total	249	78	31,32	[25,72 36,92]

A partir de ce tableau on constate qu'il existe une très grande variabilité dans la répartition de la séroprévalence entre les différents élevages enregistrant un taux minimal de 4,54% dans l'élevage 6 et un taux maximal de 89,47 % dans l'élevage 12.

La séroprévalence individuelle moyenne dans chaque élevage est de 28.87%.

### 5- Ratio du sexe femelle :

Le ratio du sexe femelle est représenté par :  $239 / 10 = 23,9$

La répartition de l'effectif est dominée par le sexe femelle.

### 6- Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe :

La répartition de la séroprévalence en fonction du sexe est présentée dans le tableau suivant.

Tableau V: Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe.

Sexe	Sujets analysés	Nombre de séropositifs	Séroprévalence (%)	I.C (%)
Male	10	1	10	[0 28,4]
Femelle	239	77	32,21	[26,33 38,09]
Total	249	78	31,32	[25,72 36,92]

10% des males sont séropositifs alors que 32,21% des femelles sont séropositives, cette distribution est présentée graphiquement dans la figure 14.

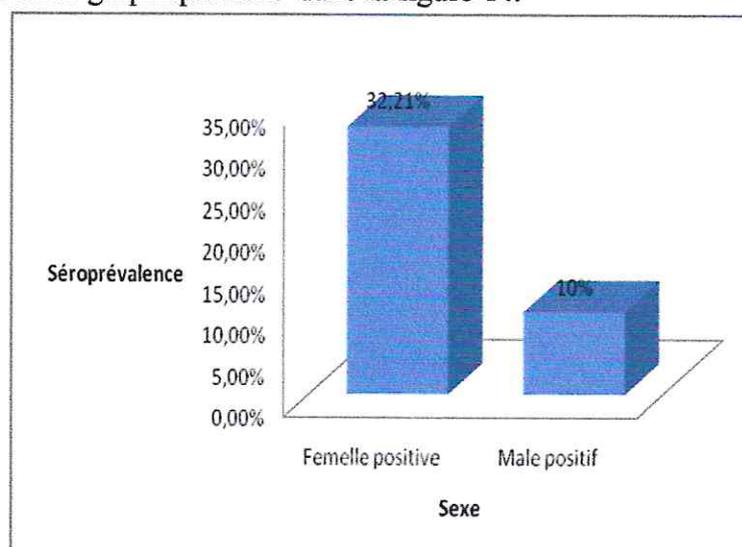


Figure 14: Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les sexes féminin et masculin. ( $P= 0.124$  supérieur à  $\alpha =0.05$ ).

### 7-Répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge:

Nous avons comptabilisé l'âge de 68 sujets appartenant à 21 élevages car les données du 22<sup>e</sup> élevage manquaient, la répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge est présentée dans le tableau.

**Tableau VI:** Répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge.

2 ans à 5 ans			Supérieur à 5 ans		
Nombre de séropositifs	(%)	I.C (%)	Nombre de séropositifs	(%)	I.C (%)
35	51,47	[39,71 63,23]	33	48,52	[36,76 60,28]

On remarque que le nombre de sujets séropositifs âgés entre 2 et 5 ans est presque égal à ceux âgés de plus de 5 ans représentés respectivement par 51,47 et 48.52%.

L'analyse statistique de comparaison des pourcentages n'a pas montré de différence significative entre les deux classes d'âge.

### 8- Répartition de la séroprévalence en fonction de certains paramètres d'élevage :

Dans les tableaux ci-après nous exposons, la présence ou l'absence de certains paramètres faisant partie de la conduite d'élevage et pouvant être considéré comme des facteurs de risque pour la transmission de la néosporose.

**8-1- Présence de chiens :**

Le taux de présence ou d'absence de chien dans les élevages étudiés est présenté dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Taux de présence ou d'absence de chiens.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Présence de chien</b>	7	36,84	[15,26 58,40]	0	0	/
<b>Absence de chien</b>	12	63,15	[41,59 84,71]	3	100	/

On remarque à partir de ce tableau que 36,84% des élevages séropositifs possèdent au moins un chien.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant ou pas un chien. (P= 1 supérieur à alpha =0.05).

**8-2- Présence de volailles:**

On englobe par le terme de volaille toutes les espèces (poules, canards, oies, pigeons...) pouvant circuler aux alentours ou dans le bâtiment d'élevage des bovins. Leur présence ou absence est présentée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VIII:** Taux de présence ou d'absence de volaille.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Présence de volaille</b>	7	36,84	[15,26 58,40]	1	33,33	[0 85]
<b>Absence de volaille</b>	12	63,15	[41,59 84,71]	2	66,66	[14 100]

On remarque que 36.84% des élevages séropositifs possédant des volailles est inférieur à 66,66 % d'élevages séronégatifs qui n'en possèdent pas.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant ou pas des volailles.

(P= 0, 763 supérieur à alpha =0.05).

**8-3- Présence d'équidés:**

On englobe par le terme équidés: les chevaux, les ânes et les mulets utilisés pour les travaux de la ferme et qui sont hébergés le plus souvent dans le même bâtiment que les vaches. Leur présence ou absence est présentée dans le tableau IX.

**Tableau IX :** Taux de présence ou d'absence d'équidés.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Présence d'équidés</b>	3	15,78	[0 32,04]	1	33,33	[0 85]
<b>Absence d'équidés</b>	16	84,21	[67,95 100]	2	66,66	[14 100]

3 élevages de ceux possédant un équidé sont séropositifs à la néosporose contre un seul qui a répondu négativement.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant ou pas des équidés.

(P= 0, 470 supérieur à alpha =0.05).

**8-4- Présence d'ovin et /ou caprins :**

La répartition du statut sérologique des élevages selon la présence ou l'absence des caprins et/ou des ovins est présentée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau X:** Taux de présence ou d'absence des Ov et/ou Cp.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)

<b>Présence d'Ov/Cp</b>	4	21,05	[2,83 39,27]	0	0	/
<b>Absence d'Ov/Cp</b>	15	78,94	[60,71 97,16]	3	100	/

4 élevages soit 21,05 % des élevages séropositifs font un élevage mixte rassemblant des ovins et des caprins en plus des bovins.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant ou pas des petits ruminants.

(P= 1 supérieur à alpha =0.05).

**8-5- Mode de reproduction:**

Nous avons classé le mode de reproduction des élevages en ceux qui pratiquent exclusivement l'insémination artificielle ou la saillie naturelle et ceux qui pratiquent les deux à la fois (cf. Tableau XI).

**Tableau XI:** Répartition du statut sérologique des élevages en fonction du mode de reproduction.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	I.C (%)	Nbre	%	I.C (%)
<b>IA</b>	3	15,78	[0 32,04]	1	33,33	[0 85]
<b>SN</b>	7	36,84	[15,26 58,40]	0	0	/
<b>IA+SN</b>	9	47,36	[25,06 69,66]	2	66,66	[14 100]

On constate que les élevages séropositifs qui pratiquent la saillie naturelle sont plus nombreux que ceux qui pratiquent l'insémination artificielle représentés respectivement par 36,84% et 15,78%.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs pratiquant l'insémination artificielle et ceux pratiquent la saillie naturelle. (P= 0,363 supérieur à alpha =0.05).

**8-6- Hygiène de l'élevage:**

L'hygiène de l'élevage est classée en mauvaise, moyenne ou bonne, la répartition du statut sérologique de l'élevage selon ces critères est présentée dans le tableau XII.

**Tableau XII:** Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de l'hygiène.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Mauvaise</b>	2	10,52	[0 24,24]	0	0	/
<b>Moyenne</b>	15	78,94	[60,71 97,16]	3	100	/
<b>Bonne</b>	2	10,52	[0 24,24]	0	0	/

On remarque que 78,94% des élevages séropositifs ont une hygiène moyenne contre 10,52% seulement qui ont une bonne hygiène.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant une hygiène mauvaise à moyenne et ceux ayant une bonne hygiène. (P= 1 supérieur à alpha =0.05).

### 8-7- Superficie de l'élevage:

En fonction de la superficie, les élevages sont classés en petits, moyens ou grands (cf. tableau XIII).

**Tableau XIII :** Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de la superficie de l'étable.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Petits</b>	0	0	/	1	33,33	[0 85]
<b>Moyens</b>	5	26,31	[6,51 46,10]	1	33,33	[0 85]
<b>Grands</b>	14	73,68	[53,88 93,47]	1	33,33	[0 85]

On constate que plus de la moitié des élevages séropositifs sont de grande superficie.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il existe une différence significative entre les élevages séropositifs de grande et de moyenne superficie.

( $P=0,036$  inférieur à  $\alpha=0.05$ ).

**8-8- Présence d'aire d'exercice:**

Les 22 élevages ont été classés en fonction de leur possession ou non d'une aire d'exercice ou de pâturage pour les animaux (cf. tableau XIV).

**Tableau XIV:** Répartition du statut sérologique des élevages en fonction de leur possession ou non d'une aire d'exercice.

	Elevages séropositifs			Elevages séronégatifs		
	Nbre	%	LC (%)	Nbre	%	LC (%)
<b>Présence d'aire d'exercice</b>	11	57,89	[35,74 80,03]	0	0	/
<b>Absence d'aire d'exercice</b>	8	42,10	[19,95 64,24]	3	100	/

On remarque que plus de la moitié des élevages séropositifs possèdent une aire d'exercice.

L'analyse statistique au test exact de Fisher a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les élevages séropositifs possédant ou pas une aire d'exercice.

( $P=1$  supérieur à  $\alpha=0.05$ ).

# ***DISCUSSION***

### 1- L'échantillonnage:

Le nombre d'échantillon que nous avons récupéré est supérieur à celui préconisé et qui est de 225 échantillons (cf. partie matériel et méthodes), cependant cela ne nous permet pas de généraliser les résultats de notre étude vu que les élevages n'ont pas été tirés au sort et ont été choisis en fonction de l'accessibilité, les moyens et la collaboration des éleveurs, ce qui va biaiser notre étude.

### 2- La séroprévalence individuelle :

*Neospora caninum* constitue actuellement le premier agent recherché à travers le monde dans le cas d'avortement. La séroprévalence de 31.32% [25,72 36,92] est assez importante, elle confirme l'existence et la circulation du parasite dans nos élevages pouvant être à l'origine de nombreux avortements puisqu'il a été rapporté qu'une vache séropositive, a deux fois plus de risque d'avorter qu'une vache séronégative (Paré et al., 1996). De même, il pourrait être à l'origine de naissance de veaux avec des troubles nerveux ou bien encore, cliniquement normaux mais séropositifs, ainsi, de nombreuses études ont montré que 81 à 95% de mères séropositives donnent naissance à des veaux séropositifs (Davison et al., 1999; Paré et al., 1996; Paré et al., 1997; Wouda et al., 1998).

Le taux que nous rapportons dans notre étude se rapproche des:

- 32.8% rapportés par Dechicha en 2003 dans une étude antérieure réalisée dans la même région de notre étude.
- 34.2% à 34.8% rapportés par Guinot en 2005 dans 42 élevages en France.
- 30% rapportés par Joly en 2000 dans une étude menée sur 35 élevages contaminés du Morbihan.

Par contre, des séroprévalences beaucoup moins importantes ont été signalées dans d'autres régions du monde, telle que 5,6% dans le département de l'Orne (Klein et al., 2000), 8,7% et 16% dans le sud et le nord de l'Italie respectivement (Otranto et al., 2003).

### 3- La séroprévalence d'élevage:

19 élevages sur les 22 soit 86.36% [72,06 100] sont contaminés montrant ainsi une grande propagation du parasite parmi les élevages.

Par ailleurs, la distribution de la séroprévalence entre les différents élevages est très hétérogène montrant une grande variabilité de distribution allant de 4.54% à 89.47% avec une moyenne d'infection d'élevage de 28.87% ce que nous jugeons comme considérable.

De telles grandes variabilités ont été décrites en France par Guinot (2005) et Joly (2000) au Morbihan donnant des séroprévalences comprises entre 8.9% et 85,7% ; et 2% et 63%

respectivement. De même au Québec, la prévalence obtenue à partir de l'analyse de 23 troupeaux varie de 4.3 à 61.8% (Bergeron et al., 2000).

Il serait probable que les valeurs maximales de séroprévalence soient la conséquence d'une transmission verticale permettant une forte propagation du parasite au sein de l'élevage.

#### **4- Répartition de la séroprévalence en fonction du sexe :**

On remarque que le nombre de femelles analysées est beaucoup plus important que le nombre de mâles (ratio femelle=23.9), car les élevages de l'étude sont à vocation laitière et les quelques mâles ne sont gardés qu'à des fins de reproduction.

Malgré l'apparence d'une faible séroprévalence (10%) chez les mâles, aucune différence significative n'a été mise en évidence statistiquement entre les séroprévalences des deux sexes. Peu de travaux se sont intéressés à la séroprévalence chez les mâles parmi lesquels l'étude de Moor et al., (2003) en Argentine, qui a décrit une séroprévalence relativement faible (4,9%) chez des taureaux à viande. Ceci témoignerait de l'éventuel rôle que pourrait avoir le taureau dans la transmission du parasite.

#### **5- L'influence de l'âge :**

Nous avons constaté qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux tranches d'âge (2 à 5 ans) et (plus de 5 ans) représentées respectivement par 51,47% et 48,52%, ceci concorde avec les travaux d'Otranto et al., (2003) qui n'a pas mis en évidence une influence de l'âge sur la séroprévalence. De même Pitel et al., (2000) de leur part n'ont pas observé de différence entre les animaux de moins de 2,5 ans et les multipares.

Le contraire est signalé par Rinaldi et al., (2005) qui ont mis en évidence une séroprévalence plus élevée chez les génisses et les adultes par rapport aux velles, ils expliquent ceci par l'augmentation du risque de la transmission horizontale.

#### **6- L'influence du chien :**

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence une influence du chien sur la séroprévalence, on constate même que le taux d'élevages séropositifs qui ne possèdent pas de chien est plus important que ceux qui le possèdent (36,84%) vs (63,15%) respectivement.

Une étude similaire de Romero-Zúñiga et al., (2002) n'a pas pu mettre en évidence un lien entre la présence de chien et la séroprévalence alors que le rôle épidémiologique du chien comme hôte définitive a été démontré dans une multitude d'études, ainsi:

► Dans une étude au Canada, le nombre de chiens séropositifs était supérieur dans les élevages où des anticorps anti-*N. caninum* ont été mis en évidence chez les bovins, par rapport aux élevages où l'ensemble du cheptel est séronégatif, cependant aucune valeur chiffrée n'est avancée (Pitel et al., 2000).

- ▶ A l'Orne, une enquête séroépidémiologique (en 1998) a révélé que la présence de chats est plus fréquente dans les élevages séronégatifs alors que celle de chiens, est plus fréquente dans les troupeaux séropositifs (Klein et al., 2000).
- ▶ Une autre enquête en France (en 1996 et 1997) a révélé que deux des quatre chiens présents dans l'élevage étudié ont des sérologies à *N. caninum* positives, ces chiens sont en contact fréquent avec les bovins qui ont des sérologies positives à *N. caninum* (Journel et al., 1999).
- ▶ Au Japon, une étude a montré que 31% des chiens dans les élevages bovins sont séropositifs, contre 7% des chiens citadins (Pitel et al., 2000).

Dans notre étude nous ne pouvons pas écarter complètement le rôle du chien dans les élevages séropositifs, du fait que nous ignorons le statut sérologique vis-à-vis de *N. caninum* des chiens présents au sein de ces élevages. Par ailleurs, il a été démontré que la séroprévalence pouvait augmenter proportionnellement avec le nombre de chiens présents dans l'élevage (Otranto et al., 2003).

#### **7- L'influence de volaille :**

Le rôle de la volaille comme facteur de risque a été rapporté par plusieurs auteurs et les pigeons entre autres ont été reconnus comme hôte intermédiaire (Bartels et al., 1999; Mc Guire et al., 1999). D'autre part Klein et al., (2000) rapportent que dans une étude réalisée dans l'Orne, le nombre de canards était plus élevé dans les élevages séropositifs et Otranto et al. (2003) ont constaté une augmentation de la séroprévalence dans les élevages possédant des volailles. La volaille pourrait agir comme vecteur mécanique des oocystes.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence dans notre étude.

#### **8- L'influence des équidés, des ovins et des caprins :**

La majorité des études réalisées sur ces espèces se limitent à des enquêtes de séroprévalence et peu d'études ont été consacrées à leur rôle comme facteurs de risque. Hobson et al (2005) ont rapporté le rôle des équidés dans l'augmentation de la séroprévalence.

Le rôle des équidés ainsi que celui des ovins et caprins n'a pas été mis en évidence dans notre étude.

#### **9- L'influence du mode de la reproduction :**

Le taux d'élevages séropositifs qui utilisent la saillie naturelle est deux fois plus élevé que ceux qui utilisent l'insémination artificielle, même si nous n'avons pas mis en évidence le rôle de cette dernière comme facteur de risque, elle constitue un réel danger de transmission puisque une étude de Caetano-da-Silva et al., (2004) a démontré la présence d'ADN de *Neospora caninum* dans le sperme de taureaux séropositifs.

**10- L'influence de l'hygiène :**

La majorité des élevages ont une hygiène mauvaise à moyenne, et celle-ci n'a pas eu d'influence dans notre étude.

**11- L'influence de la possession d'aire d'exercice :**

On appelle aire d'exercice toute surface limitrophe au bâtiment d'élevage dans laquelle les animaux sont libérés quotidiennement dans un but de pâturage et/ou d'exercice.

Dans notre étude les élevages séropositifs possédants une aire de pâturage sont représentés par 52,89%. Nous n'avons pas constaté de rôle de la présence de cette aire dans le statut sérologique des animaux.

Dans l'étude de Otranto et al., (2003), l'absence d'aire de pâturage est considéré comme facteur de risque.

**12- L'influence de la superficie d'élevage :**

Dans notre étude nous avons constaté un effet significatif des grands élevages représentés par 73,58% des élevages séropositifs. Ceci est en accord avec les travaux de Otranto et al., (2003), qui expliqueraient ça par le fait que les grands élevages ont un plus grand nombre de chien, multipliant ainsi l'excrétion fécale des oocystes par ces derniers.

D'autres part, Corbellini et al, (2006) rapportent plutôt que c'est les petits élevages qui constituent un facteur de risque en raison d'une plus grande promiscuité entre les vaches et les chiens, permettant à ces derniers d'être plus facilement en contact avec les placenta et les avortons.

Vu que le taux est très élevé dans les grands élevages , la surface ne semble pas influencer la présence de la maladie dans les élevages étudiés, car les petits élevages sont représentés par un pourcentage de 0,00% et les moyens par un taux de 26,31% (cf. Tableau XIII)

Ainsi l'étude faite en Italie (en 2003) montre que l'enquête réalisée à Basilicata révèle une séroprévalence de 7,6% dans les grands élevages un peu inférieure à celle noter au niveau des petits élevages (8%), et la plus élevée est de 9,6% concernant les élevages de superficie moyenne. Pour l'enquête de Veneto, la différence de la séroprévalence est très importante, de 34,2% pour les grands élevages, 11,5% pour les moyens, et enfin 5,4% pour les petits (Otranto et al., 2003).

# ***CONCLUSION***

## Conclusion

---

La néosporose bovine est une maladie connue depuis peu d'années. Son rôle dans les avortements des bovins est de mieux en mieux évalué. Cependant, de nombreux points concernant le cycle évolutif de *Neospora caninum*, son mode de transmission ou ses conséquences cliniques et les pertes financières associées doivent être approfondis.

Notre étude a porté sur l'analyse de 22 élevages bovins de la wilaya de Blida, qui a montré une séroprévalence individuelle de 31,32% prouvant ainsi l'existence du parasite au sein de nos élevages à un taux considérable et une séroprévalence d'élevage de 86,36% témoignant de l'ampleur de contamination des élevages.

La séroprévalence au sein des élevages est très variable de 4,54% à 89,47% ; ce qui peut être mis en relation avec les facteurs de risque repérés dans les élevages étudiés.

L'absence d'effet significatif sur la séroprévalence des différents facteurs étudiés n'exclue pas définitivement leur éventuel impact, ils ont peut être sous estimés car le nombre d'élevages étudié est relativement faible rendant ainsi l'analyse statistique délicate.

Par ailleurs, même si les résultats que nous avons obtenus ont permis de confirmer l'existence de ce parasite dans notre pays, ils ne concernent que l'échantillon étudié et ne peuvent en aucun cas être généralisés sur la population ciblée.

Des études plus poussées, basée sur un échantillonnage étudié sont recommandées afin d'évaluer la séroprévalence à sa juste valeur ainsi que les différentes pratiques propre à nos élevages pouvant constituer des facteurs de risque pour la maladie.

# ***RECOMMENDATIONS***

## Recommandations

---

A l'issu de notre étude, pour minimiser la prévalence de la néosporose dans les élevages bovins, nous recommandons :

- Dépistage sérologique systématique pour différencier les animaux atteints de ceux indemnes.
- séparation des animaux malades avec essai d'élimination progressive pour diminuer au maximum la propagation de la maladie (surtout l'atteinte de la descendance).
- Nettoyage et désinfection régulière des étables.
- Séparer les différentes espèces animales au sein de l'exploitation.
- Aménagement de l'alimentation dans un endroit couvert et fermé en évitant l'accès des animaux surtout les chiens.
- Enfouissement des arrière-faix et des avortons.

# ***GLOSSAIRE***

## Glossaire

**Apicomplexa:** présence d'un appareil apical visible dans certains stades de développement, (par microscopie électronique) intervenant dans la pénétration du parasite.

**Arthrogrypose:** affection congénitale du veau qui consiste en des flexions bloquées sans lésions articulaires des membres ou du cou.

**Coccidia (coccidea):** "coccidies" au sens large, production de spores, complexe apical complet, considéré comme sous classe de protozoaire.

**Conoïde:** formation tronc conique, constituée d'éléments fibrillaires en spirale située à l'extrémité antérieure des germes infectieux "des apicomplexa", jouant un rôle mécanique lors de la pénétration dans la cellule hôte.

**Eimerina:** l'oocyste sporulé renfermant de 8 à 16 sporozoïtes, le plus souvent contenus dans des sporocystes, de forme et dimensions variables selon les espèces.

**Endodyogénie:** variété d'endogénie (processus de multiplication asexuée par division binaire), aboutissant à la formation de deux cellules filles à l'intérieur de la cellule mère.

**Eucoccida:** ordre de protozoaires apicomplexa coccidia dont la multiplication est par bipartition longitudinale ou par schizogonie.

**Immunocompétence:** propriété possédée par certaines cellules (les lymphocytes essentiellement), qui sont responsables de l'état d'immunité cellulaire et par des anticorps sériques responsables de l'immunité humorale.

**Immunomodulation:** la capacité de modifier l'intensité de l'immunité dans un organisme soit en la renforçant (immunostimulation) soit en l'abaissant (immunodépression), selon le cas.

**Micronèmes:** formations osmiophiles en forme de tube spiralé, fixé à la base du conoïde. Ils secrètent des protéines jouant un rôle dans la mobilité et le pouvoir infectant des germes infectieux des parasites.

**Parasitémie:** présence du parasite (tachyzoïte) dans le sang.

**Prévalence:** nombre de personnes infectées à moment donné dans une population.

**Proprioception:** sensibilité proprioceptive, sensibilité nerveuse affectant les muscles, les tendons, les os et les articulations, qui permet de connaître à tout moment la position des différentes parties du corps.

**Protozoaires:** protistes (être unicellulaires eucaryotes) à paroi non cellulosique, souvent mobiles, hétérotrophes considéré comme sous-règne de protiste.

**Rhoptrie:** élément de la morphologie des protozoaires "apicomplexa", formation osmiophile, fixée à la base du conoïde par sa partie amincie et s'étendant jusqu'au quart antérieur de la cellule, à fonction sécrétoire (élaboration d'enzymes protéolytiques jouant un rôle lors de l'infection des cellules hôtes), et également dotée d'une fonction antigénique.

**Sarcocystidae:** famille de protozoaires apicomplexa, dont les caractéristiques sont les suivantes:

-oocyste sporulé à deux sporocystes renfermant chacun quatre sporozoïtes.

-cycle dixène obligatoire ou facultatif.

**Séroconversion:** apparition d'anticorps spécifiques d'un antigène, témoignant d'un contact avec cet antigène, chez un sujet qui passe de l'état séronégatif à celui de séropositif, permet de faire le diagnostic d'une infection apparente ou cliniquement inapparente.

**Sporocyste:** chez les sporozoaires, est un sac clos contenu dans les oocystes sporulés et contenant un nombre variable de sporozoïtes, infectants pour les hôtes vertébrés des parasites.

**Sporozoea:** classe de protozoaires, parasites intracellulaires qui peuvent persister qu'en retardant le processus d'apoptose des cellules qui les hébergent.

**Sporozoïte:** élément issu de la division de l'oocyste par sporogonie, caractéristique des sporozoaires et qualifié de germes infectieux.

**Vacuole parasitophore:** vacuole formée par une invagination cytoplasmique au sein d'une cellule, faisant suite à un processus d'endocytose active et enfermant les parasites qui ont pénétré activement dans la cellule.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

---

- BARTELS C.J.M., WOUDA W., SCHUKKEN Y.H (1999):** Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995-1997). *Theriogenology* 52, 247/257.
- BECK H.P., BLAKE D., DARDE M.L., FELGER I., PEDRAZA-DIAZ S., REDIGOR-CERRILLO J., GOMEZ-BUSTITO M., ORTEGA-MORA L.M., PUTIGNANI L., SHIELS B., TAIT A., WEIR W (2008):** Molecular approaches to diversity of populations of Apicomplexan parasites. *Int. J.Parasitol.*, doi: 10.1016/j. j para. 2008.10.001.
- BERGERON N., FECTEAU G., PARE J., MARTINEU R., VILLENEUVE A (2000):** vertical and horizontal transmssion of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. In thèse : Étude séroépidémiologique de la néosporose bovine dans 42 élevages des Pyrénées Atlantiques, par **GUINOT G** soutenue en 2005.
- BUSSIERAS J., CHERMETTE R (1992):** Abrégé de parasitologie vétérinaire (Fascicule II), protozoologie vétérinaire.96/97.
- CAETANO-DA-SILVAA A., FERREA L., COLLANTES-FERNA'NDEZA E., NAVARRO V., ADURIZB G., UGARTE-GARAGALZAC C., ORTEGA-MORAA L.M (2004):** Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. *Theriogenology* 62, 1329/1336.
- CHERMETTE R., MARQUER A (2000):** *Neospora caninum*: un nouveau parasite? LE POINT VETERINAIRE, vol 31, N° 208, Juin 285/290.
- CONRAD P. A., BARR B.C., SVERLOW K. W., ANDERSON M., DAFT B., KIND H., DUBEY S. P., MUNSON L., ARDANS A (1993):** In vitro isolation and characterization of *Neospora sp.* From aborted bovine fetuses. *Parasitol.* (106). 239/249. In thèse : Recherche d'un nouvel agent abortif bovin en France, par **PITEL P.H** soutenue en 1999.
- CONRATHUS F.J., SCHARES G (2000):** Seroepidemiological evidence for bovine neosporosis and *Neospora caninum*-associated abortion in the Russian federation. In thèse : Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida par **DECHICHA A.S** soutenue en 2003.
- CORBELLINI L.G., SMITH D.R., PESCADOR C.A., SCHMITZ M., CORREA A., STEFFEN D.J (2006):** Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 74, 130/141.
- DAVIDSON H.C., OTTER A., TREES A.J (1999):** Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infection in dairy cattle. *Int. J. Parasitol.*, 29,1683/9.

## Références bibliographiques

---

**DE MEERSCHMAN F., FOCANT C., BOREUX R., LECLIPTEUX T., LOSSON B (2000):** Cattle neosporosis in Belgium. In livre :La néosporose chez le bétail, par **RETTIGNER C., DE MEERSCHMAN F., LASRI S., FOCANT C., LOSSON B.** Mars 2004-9.

**DE MEERSCHMAN F., LOSSON B (1998):** *Neospora caninum* et la néosporose : Biologie et description de la maladie chez le chien. *Ann.Méd. Vét.* (142), 247/253.

**De MEERSCHMAN F., LOSSON B (1998):** *Neospora caninum* : un nouvel agent abortif chez le bovin et autres espèces domestiques. *Ann. Méd. Vet.*, (142)-299/305.

**DECHICHA A.S (2003):** Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida., 103.

**DUBEY J.P (1992):** A review of *Neospora caninum* and *neospora*-like infections in animals. *J Protozool Res* (2), 40/50.

**DUBEY J.P (2000):** La néosporose bovine. *SFB-Paris*, 15 /16/17 Nov. 104/106.

**DUBEY J.P., LINDSAY (1996):** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. In livre : La néosporose chez le bétail, par **RETTIGNER C., DE MEERSCHMAN F., LASRI S., FOCANT C., LOSSON B.** Mars 2004-10.

**DUBEY J.P., SCHARES G., ORTEGA-MORA L.M (2007):** Epidemiology and control of *Neosporosis* and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. Apr,323/367.

**DUBEY J.P (1989):** *Neospora caninum*, a recently recognized cyst forming coccidian. *Coccidia and intestinal coccidiomorphs*, V<sup>th</sup> international coccidiosis conference. Tours (France). 17-20 Octobre. Les colloques de l'INRA N° 49-19/23.

**DUBEY J-P(1999):** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet parasitol*, 349/367.

**FAROULT B., CAMUSET P (2006):** En direct de la commission vaches laitières. *BULLETIN DES GTV*, N° 37, Décembre, 13.

**GHALMI F., CHINA B., LOSSON B (2007):** Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum*. *Ann.Méd.Vét.* (151)-123/149.

**GUILLOT J., ESCRIOU C., FRITZ D (2000):** La néosporose canine. *LE POINT VETERINAIRE*, vol 31, N° 208, Juin, 29/35.

**GUINOT G (2005):** Etude séroépidémiologique de la néosporose bovine dans 42 élevages des Pyrénées Atlantiques, 108.

## Références bibliographiques

---

**HO. M.S.Y., BARR B.C., TARENTEL A.F., LAI T.L.Y., HENDRICKX A.G., MARSH A.E., SVERLOW K.W., PACHAM A., CONRAD P.A (1997):** Detection of *Neospora sp.* from tissue of experimentally infected rhesus macaques by P.C.R and specific DNA probe hybridation. J. Clin. Microbiol. (35)-1740/1745. In thèse : Recherche d'un nouvel agent abortif bovin en France par **PITEL P-H** soutenue en 1999.

**HOBSON J.C., DUFFIELD T.F., KELTON D., LISSEMORE K., HIETALA S.K., LESLIE K.E., MCEWEN B., PEREGRINE A.S (2005):** Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. Vet. Parasitol. 127, 177/188.

**JENKINS M.C., CAVER J.A., BJORKMAN C., ANDERSON T.C., ROMANDS S., VINYARD B., UGGLA A., THULLIEZ P.; DUBEY J P (2000):** serological investigation of an outbreak of *Neospora*-associated abortion in a dairy herd in Southeastern United States. In thèse : Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida par **DECHICHA A.S.** soutenue en 2003.

**JOLY A (2000):** *Néosporose bovine* : observation dans 162 élevages et suivi de 35 élevages contaminés. BULLETIN DES GTV, N° 2 Avril /Mai, 39/40

**JOURNEL C., CHTAGNON G., TAINTURIER D (2001):** Etude de cas de néosporose en élevage bovin. BULLETIN DES GTV, N° 11 Mai/Août, 23/24.

**JOURNEL C., CHTAGNON G , TAINTURIER D (2005):** Néosporose bovine : devenir de l'infection horizontale. LE POINT VETERINAIRE, N° 261, Décembre, 73/74.

**JOURNEL C., TAINTURIER D., PITEL P.H., CHATAGNON G (1999):** *Neospora caninum*: étude d'un élevage contaminé, quelques hypothèses de transmission. LE POINT VETERINAIRE, vol 30, N° 200, Juin, 54/55/56.

**JOURNEL C., PITEL P.H (2001):** La lutte contre la néosporose en élevage bovin. LE POINT VETERINAIRE, N° 214, Juin, 38/39.

**JOURNEL C., TAINTURIER D., PITEL P-H., CHATAGNON G(1999):** *Neospora caninum*: étude d'un élevage contaminé, quelques hypothèses de transmission. LE POINT VETERINAIRE. Vol 30, N°200, juin, 397/404.

**JOURNEL C (2005):** Séronégativation de vaches infectées par *Neospora* après la naissance. LE POINT VETERINAIRE, N° 258, Août/Septembre, 10/11.

**KLEIN F., OULED AMROUCHE A., OSDOIT C., TOURATIER A., SANAA M (2000):** *Neospora caninum* : enquête séroépidémiologique dans l'Orne. BULLETIN DES GTV, N° 7, Avril /Mai, 121/124.

**KUZNIAK H (2001):** *Neospora caninum* et la néosporose canine .Synthèse bibliographique, thèse de Doctorat vétérinaire. Université de Nantes, 108p. In thèse : Importance de la coccidiose

## Références bibliographiques

---

à *Isospora spp*, de la giardiose et la néosporose en élevage canin, par **GRISARD AUDREY** soutenue en Décembre 2008.

**LIDDELL S., JENKINS M.C., DUBEY J.P (1999):** Vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/c mice determined by PCR detection. In thèse: *Neospora caninum* et la néosporose, par **BELKAHLA N** soutenue en Juin 2005-33.

**LINDSAY D.S., BUTTER J.M., RIPPEY N.S., BLABURN N.L (1996):** Demonstration of synergistic effect of sulfamide and dihydrofolate reductase thymidylate synthase inhibitors against *N.caninum* tachyzoites. In thèse: *Neospora caninum* et la néosporose, par **BELKAHLA N.** soutenue en Juin 2005-32.

**LINDSAY DS., DUBEY J.P., MC ALLISTER M (1999):** *Neospora caninum* and the potential for the parasite transmission. Comp. Cont. Educ.Pract.Vet. (21) -317/321. In thèse : Importance de la coccidiose à *Isospora spp*, de la giardiose et la néosporose en élevage canin, par **GRISARD AUDREY** soutenue en Décembre 2008.

**LOSSON B., BOURDOISEAU G (2000):** *Neospora caninum*: un nouvel agent abortif chez les bovins. BULLETIN DES GTV, N° 7, Avril/ Mai, 29/32.

**MARQUER A., CHEMETTE R (2000):** La néosporose chez les bovins. LE POINT VETERINAIRE, vol 31, N° 208, juin, 293/298.

**MC GUIRE A.M., MC ALLISTER M., JOLLEY WR (1997):** Separation and cryopreservation of *Neospora caninum* tissue cysts from murin e brain. J. Parasitol.83(2) - 319/321. In thèse : Importance de la coccidiose à *Isospora spp*, de la giardiose et la néosporose en élevage canin, par **GRISARD AUDREY** soutenue en Décembre 2008.

**MC GUIRE A.M., MC ALLISTER M., WILLS R.A., TRANAS J.D (1999):** Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columbia livia*) and zebra finches (*Poephilina guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. Int. J. Parasitol. 29, 1525/1529.

**MEYER E (2002) :** Épidémiologie de la néosporose bovine ; intérêt de la détection d'anticorps par séroagglutination et une technique ELISA, 18/20.

**MOORE D.P., DRAGHI M.G., CAMPERO C.M., CETRÁ B., ODEÓN A.C., ALCARAZ E., SPATH E.A.J (2003):** Serological evidence of *Neospora caninum* infections in beef bulls in six countries of the Corrientes province, Argentina. Veterinary Parasitology, 114,247/252.

**MOORE D.P., REGIDOR-CERRILLO J., MORREL E., POSO M.A., CANO D.B., LEUNDA M.R., LINSCHINKY L., ODEÓN A.C., ODRIOZOLA E., ORTEGA-MORA L.M., CAMPERO C.M :** The rôle of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spantaneous bovine abortion in Argentina. Veterinary parasitology. 2008 (156).163/167.

## Références bibliographiques

---

**MORALES E., TRIGO F.J., IBARRA F., PUENTE E., SANTACRUZ M (2001):** seroprevalence study of bovine neosporosis in Mexico. In thèse : Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida, par **DECHICHA A.S.** soutenue en 2003.

**OTRANTO D., LIAZINI A., TESTINI G., TRAVERSA D., FRABGIPANE DI REGALBOMO A., BADAN M., CAPELLI G (2003):** seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Veterinary parasitology*, vol 118, 7/18.

**PARE J., THURMOND MC., HIELATA SK (1996):** Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhooood mortality. *Can J Vet Res*, Apr: 60(2), 133/9.

**PARE J., THURMOND MC., HIETALA S.K (1997):** *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.* 83, 82/87.

**PARE J., FECTEAU G (1998):** La néosporose au Québec .Conseil des productions animales du Québec, 100/102.

**PEREGRINE AS et Coll (2004).** *Prev.Vet.Med (Canada)*. (64).101/112. In article : Séronégatation des vaches infectées par *Neospora* après la naissance de **JOURNEL C.** LE POINT VETERINAIRE : Aout-septembre 2005, n°258-10/11.

**PITEL P.H., PRONOST S., LEGEDRE M.F., CHATAGNON G., TAINTURIER D., FORTIER G (2000):** Infection des bovins par *Neospora caninum*: deux années d'observations dans l'ouest de la France. . LE POINT VETERINAIRE, vol 31, N° 205.Mars 2000- 54/56.

**PITEL P.H (1999):** Recherche d'un nouvel agent abortif bovin en France. Avril, 15.

**PITEL P-H., PRONOST S., LEGENDRE M -F., CHATAGNON G., TAINTURIER D., FORTIER G (2000):** Infection des bovins par *Neospora caninum* : deux années d'observations dans l'Ouest de la France. LE POINT VETERINAIRE. Vol 31, N°205, Mars, 145/150.

**PRONOST S., PITEL P.H., FOUCHER N., COLIBERT C., FORTIER G(2000):** La néosporose équine. LE POINT VETERINAIRE, vol 31, N° 208, Juin, 299/304.

**QUINTANILLA-GAZALO A., PEREIRA-BUENO J., TABARES E., INNES E.A., GONZALEZ-PANIELLA R., ORTEGA-MORA L.M (1999):** Seroprevalence of *N.caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. In thèse: *Neospora caninum* et la néosporose, par **BELKAHLA N** soutenue en Juin 2005-19.

**RABOISSON D., SCHELCHER F (2006):** Transmission par le sperme de *Neospora caninum*. LE NOUVEAU PRATICIEN VETERINAIRE, élevage et santé. Mai/Juin/Juillet, 83/84.

## Références bibliographiques

---

**RETTIGNER C., DE MEERSCHMAN F., LASRI S., FOCANT C., LOSSON B (2004):** la néosporose chez le bétail. Mars, 14/20.

**RINALDI L., FUSCO G., MUSELLA V., VENEZIANO V., GUARINO A., TADDEI R., GRINGOLI G (2005):** *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. *Veterinary Parasitology* 128, 219/230.

**ROMERO-ZÚÑIGA J.J., PEREZ E., DOLZ G., FRANKENA K (2002):** Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 53, 263/273.

**TAINTURIER D., JOURNAL C., PITEL P.H., CHATAGNON G., BENCHARIF D., FIENI F., BRUYAS J.F., BARRIER I (2000):** La néosporose bovine: son rôle dans les avortements, son contrôle. *VET REPRO* N° 1, Mai, 19/20.

**TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A (2001):** Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures, 2<sup>ième</sup> édition. AEEMA.

**TREES A.J., WILLIAMS D.J (2000):** Neosporosis in the United Kingdom. In thèse : Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida, par **DECHICHA A.S.** soutenue en 2003.

**WOUDA W., MOEN A.R., SCHUKKEN Y.H (1998):** Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*. 49, 1311/6.

**YAMANE I., KOKUHO T., SHIMURA K., ETO M., SHIBAHARA T., HARITAIN M., SVERLOW K., CONRAD P. A (1997):** In vitro isolation and characterization of *Neospora sp.* In Japan. *Res.Vet.Sci.* (63)-77/80. In thèse : Recherche d'un nouvel agent abortif bovin en France, par **PITEL P-H** soutenue en 1999.

# ***ANNEXES***

Variante Test ELISA	Technique et étapes	Utilisation
<b>Tachyzoïtes complet</b>	-La plus simple. -Utilisation de tachyzoïtes entiers comme antigène.	-Cas de la trousse commerciale CHEKIT. -Suivre la sérologie des vaches laitières durant la gestation.
<b>Lysat de tachyzoïtes</b>	-Utilisant un extrait brut de tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> .	-Plus sensible et plus spécifique que l'IFI. -Servir de base aux trousse commerciales IDEXX et BIOVET.
<b>Immunostimulating Complex (ISCOM)*</b>	-Les antigènes portés par les ISCOM utilisés en ELISA. -Permettre de bien solubiliser les protéines de membrane.	-Développé pour la sérologie chez le chien. -Sérologie chez les bovins. -Récemment, détection des anticorps spécifiques de <i>N. caninum</i> dans le lait de vache.
<b>Antigène recombinant ou purifié</b>	-Protéine de fusion formée purifiée par chromatographie d'affinité et utilisée comme antigène en ELISA.	-Approche pour réaliser un ELISA basé sur l'antigène NcAgI. -Utilisation d'un mélange purifié afin d'augmenter la sensibilité du test.
<b>ELISA par compétition</b>	-Sérum à tester +plaques recouvertes d'Ag. -Après incubation, lavage des plaques. -Les anticorps spécifiques présents dans le sérum se seront liés aux antigènes fixés dans les puits. -Ensuite, les anticorps spécifiques de <i>N. caninum</i> et conjugués à la peroxydase sont ajoutés. -Les anticorps conjugués fixés sont révélés par test immunoenzymatique.	-Plus, il y a d'anticorps spécifique de <i>N. caninum</i> dans le sérum moins la réaction sera importante en raison de la compétition plus grande entre les anticorps du sérum et les anticorps conjugués pour les antigènes de <i>N. caninum</i> .
<b>ELISA d'avidité</b>	-Incorporation d'une étape d'incubation en présence d'urée, celle-ci éliminant les anticorps de faible avidité* produits au cours de la phase aigüe de l'infection.	-Une approche a été menée avec un ISCOM-ELISA ou avec un ELISA contre l'antigène P38 purifié. -La distinction entre les infections récemment acquises et celles les plus anciennes.

\***ISCOM** : sont des particules sphériques de 30-40 nm de diamètre composées de saponine, de phospholipides de cholestérol et de protéines. Ils sont utilisés pour solubiliser les antigènes et pour servir d'adjuvant lors des immunisations.

\***L'avidité** : d'un anticorps pour l'antigène spécifique conditionne la rapidité de l'apparition d'une réaction antigène anticorps.

Date :

Coordonnées de l'exploitation :

Elevage n° :

Nom du propriétaire :

Adresse :

Destination zootechniques :

Description du cheptel :

Bovins	Nombre	Race	Age
Male			
Femelle			

Présence de chien :

Oui

Non

Présence de petits ruminants (Ov, Cp) :

Oui

Non

Présence de volaille :

Oui

Non

Présence d'équidés :

Oui

Non

Présence d'autres espèces animales :

Oui

Non

Description de l'étable :

La superficie de l'étable :

< 20m<sup>2</sup>

20-50m<sup>2</sup>

> 50m<sup>2</sup>

Présence d'aire de pâturage :

Oui

Non

L'hygiène :

Bonne

Moyenne

Mauvaise

**Statut sanitaire des bovins :**

Dépistage semestriel de la brucellose et de la tuberculose :

Oui  Non

Vaccination : Oui  Non

Si oui, le type :

**Paramètres de reproduction :**

Nombre de femelles gestantes :

Mode de reproduction :

Saillie naturelle  Insémination artificielle

Avortement durant les dernières années :

Oui  Non

Si oui, combien :

Les avortons : Enfouis  Jetés  Donnés aux chiens

Les arrière-faix : Enfouis  Jetés  Donnés aux chiens

Existence de mortalités néonatales : Oui  Non

Veaux nouveau-nés avec des atteintes nerveuses : Oui  Non

