

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA  
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES**

**MEMOIRE DE MAGISTER  
en Sciences Vétérinaires**

Option : Epidémiologie appliquée à la santé animale

**Etude de la prévalence de la Néosporose Chez les  
Chiens de ville et chiens de campagne dans la  
Région de Blida.**

Par

**SAIDI Amina**

Devant le jury composé de :

|                  |            |              |               |
|------------------|------------|--------------|---------------|
| A. BOUYOUCHEF    | Professeur | U.S.D. Blida | Président     |
| R.R TRIKI YAMANI | MC A       | U.S.D. Blida | Examineur     |
| N. MENOUEI       | MC A       | U.S.D. Blida | Examineur     |
| R. KAIDI         | Professeur | U.S.D. Blida | Promoteur     |
| K. OUMOUNA       | MC A       | U.S.D. Blida | Co-promotrice |
| R. NEBRI         | MA A       | U.S.D. Blida | Invité        |

Avril 2012.

## RESUME

*Neospora caninum* a été décrit à l'origine chez le chien, considéré comme hôte définitif. Il est responsable chez les jeunes d'un syndrome neuromyopathique dégénératif se caractérisant par des parésies du train postérieur évoluant en paralysie en s'étendant progressivement au tronc et aux membres antérieurs ce qui assombrit le plus souvent le pronostic des animaux malades causant inéluctablement leur mort.

En région centre d'Algérie essentiellement wilaya d'Alger les séro prévalences de la néosporose chez les chiens a été estimée à 20% dont les plus basses ont été observées chez les chiens de gendarmerie (6,59%) et de propriétaires (11,96%) alors que les plus élevées ont été constatées chez les chiens errants (22,55%) et les chiens ferme (44,44%) [11].

Notre travail a pour objectifs la réalisation d'une étude transversale dans le but de déterminer la prévalence de la Néosporose canine dans 20 communes des 8 daïras de la wilaya de Blida, ainsi d'étudier les facteurs de risque influençant la séropositivité.

Durant la période s'étalant de juin 2010 jusqu'à juin 2011. 145 échantillons de sang ont été collectés à partir de 111 chiens de ville (propriétaire) et 34 chiens vivant en campagne. Un Test ELISA immuno enzymatique de compétition de laboratoire LSI Vet à été utilisé pour l'analyse des sérums .L'influence de certains facteurs de risque a été également étudiée tels que l'âge, le sexe, la race, ainsi que les habitudes alimentaires (cru, non cru) dans les deux populations. Une séroprévalence de 12,42% à été observée avec une séropositivité de 10% chez les chiens de villes (propriétaire), contre 20,6% pour les chiens de campagne sans différence significative ( $P > 0,05$ ). Cependant, il n'y avait pas de corrélation entre la séroprévalence et les facteurs race et sexe ( $P > 0,05$ ). Une prévalence significativement plus élevée de *Neospora-caninum* a été observée chez les Chiens âgés de 2 à 4 ans ( $p < 0,05$ ).

Nous avons constaté aussi une différence significative de prévalence entre les chiens nourris avec une alimentation crue (22,5%) et ceux nourris avec une alimentation cuite (8,57%). Il ressort aussi de nos résultats que la plupart des cas

séropositifs seraient asymptomatiques et seulement 1 cas à montré des symptômes nerveux avec un pourcentage d'inhibition élevé.

En conclusion, ce travail a permis de mettre en évidence la présence *N.caninum* dans la population canine de la wilaya de Blida, et d'identifier les facteurs de risque qui pourraient être déterminants dans la transmission de la Néosporose chez le chien.

Mots clés : Néosporose, *Neospora caninum*, séoprévalence, facteurs de risque, chiens de ville, chiens de campagne.

## ملخص

إن الطفيلي النيوسبورة الكلبية تم وصفه في الأصل عند الكلاب ، إنه من المستضيف النهائي المعروف والمؤكد [4] ، حيث انه مسؤول عن الشلل ، الوفاة ، والأضرار العصبية الحادة [3]. في الجزائر (الجزائر العاصمة)، قدر معدل الانتشار المصلي في الكلاب ب 21.90 ٪ مع اختلاف كبير لوحظ بين كلاب المدينة و كلاب الريف (على التوالي (11.96٪ و 44.44 ٪ و بين كلاب الدرك و كلاب الشاردة) (6,59 ٪ و 22,55 ٪) [11].

عملنا يهدف إلى تحقيق دراسة مستعرضة من أجل تحديد مدى انتشار نيوسبروز الكلاب في 20 بلدية من ولاية البليلة وكذلك العوامل المؤثرة في الانتشار خلال الفترة الممتدة من جوان 2010 حتى جوان 2011. جمعنا 145 عينة دم من 111 كلاب المدينة و 34 كلاب الريف ، كما تمت دراسة بعض عوامل المؤثرة مثل العمر والجنس والسلالة والعادات الغذائية ( النيئ ، الغير النيئ ) في كل مجموعة و قد لوحض الانتشار المصلي من 12.42 ٪ ايجابية المصل مع 10 ٪ عند كلاب المدن مقابل 20.6 ٪ للكلاب الريفية بدون وجود فرق كبير. ( $P > 0,05$ ) ومع ذلك، لم يكن هناك أي ارتباط بين انتشار المصلي والسلالة وعوامل الجنس. ( $P > 0,05$ ) . كما لوحض انتشار أعلى بكثير من النيوسبورة الكلبية في الكلاب التي تتراوح أعمارهم بين 2-4 سنوات، مشيرا إلى أن انتقال الأفقي قد تكون أهم طريق للعدوى في الماشية. لاحظنا فرقا كبيرا في انتشار المصلي الكلاب التي تحصلت على وجبات الطعام النيئ (22.5 ٪)، بالمقارنة مع التي تغذت بالطعام غير النيئ (8.57 ٪). و يبدو أيضا من نتائجنا أن معظم الحالات الايجابية لم تبين الأعراض، سوى حالة واحدة ظهرت عليه أعراض عصبية مع نسبة عالية من المضادات. في الختام وقد مكن عملنا هذا من تسليط الضوء على النيوسبورة الكلبية في كل مجموعة الكلاب من ولاية البليلة ، وتحديد عوامل المؤثرة التي يمكن أن تكون حاسمة في انتقال النيوسبورة في الكلاب.

### الكلمات المفتاح:

النيوسبروز ، النيوسبورة الكلبية ، الانتشار المصلي ، عوامل المؤثرة ، كلاب المدينة ، كلاب الريف.

## SUMMARY

Originally described in dogs which are the final host of the parasite, *Neospora caninum* is responsible of ascending paralysis of the limb as a consequence of severe neurological damages among this species. Because of the debilitating pathogenic aspect of the disease the lethal prognosis is usually described. Both pups and adult dogs are clinically affected, and the infections can be transmitted congenitally.

In Algeria, more precisely in Algiers the seroprevalence among the studied dog population was of 21, 20% with a notable difference between the city dogs and their country congener and the police dogs and stray dogs [11]. In order to investigate the prevalence of *N.caninum* among twenty counties of Blida, a transversal study has been conducted to highlight the impact of existing risk factor on the expression of the seropositivite among the dog population and those in a period going from June 2010 until June 2011. 145 blood samples were collected from 111 City dogs with owner and 34 country dogs, for a better understanding of the infection occurrence in the two populations. Some risk factors have also been notified such as age, gender, race, and food habits (raw, not raw)

A Seroprevalence of 12.42% was observed with a 10% seropositivity in city dogs (with owner), and 20.6% for county dogs in counterpart, with no significant differences ( $P>0.05$ ). However, there was no correlation between prevalence and racial factor as well as with the gender  $P> 0.05$ . Nevertheless A significantly higher prevalence of *N.caninum* has been observed in 2 to 4 years old dogs ( $p <0.05$ ).

Regarding the nature of diet, the dogs revealed a significant difference in prevalence between those fed a raw food diet (22.5%) and those fed a non-raw diet (8.57%). It also appears from our results that among most of the asymptomatic positive cases, only one case showed neurological symptoms with a high percentage of inhibition.

In conclusion our work has enabled us to highlight the occurrence of *N.caninum* in the dog population of Blida area, and to identify the risk factors that could be crucial in the transmission of neosporosis in dogs.

Keywords: Neosporosis, *Neospora caninum*, Seroprevalence, risk factors City dogs, Country dogs.

## REMERCIEMENTS

**A :**

Monsieur le Professeur BOUYOUCHEF A. de l'Université SAAD DAHLAB de Blida, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury de mémoire, hommage très respectueux.

Monsieur TRIKI .Y. R. Maître de Conférences à l'Université SAAD DAHLAB de Blida, qui a accepté d'examiner ce travail, sincères remerciements.

Monsieur MENOUEI N. pour nous avoir fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire, sincères remerciements.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance au Professeur KAIDI R. d'avoir accepté d'être promoteur de mon mémoire et d'avoir consacré de son temps à la lecture, l'analyse et la critique de ce travail.

Madame OUMOUNA K. ma Co promotrice que je remercie d'avoir accepté de travailler avec moi, sincères remerciements.

Monsieur NEBRI R. pour nous avoir fait l'honneur de sa présence, sincères remerciements.

**A :**

Mes amis, qui m'ont énormément soutenu, Je leur souhaite à chacun(e) plein de réussite et de bonheur.

Dalila, Aicha, Nadia et Mustapha, Aziz et Safia, un grand merci

Et ceux qui de près ou de loin m'ont encouragés merci à vous tous

## Dédicaces

### A

Ma mère, pour m'avoir toujours soutenue, et aidée dans les moments où j'en avais vraiment besoin, merci pour tant de Patience et de gentillesse.

Ma belle famille, mes frères, mes neveux et nièces pour leurs présences.

Mes sœurs Samira et zila qui malgré la distance ont su et continué à m'encourager merci.

A feu mon père tu reste toujours dans mon coeur et de là ou tu es je sais que tu continues à veiller sur moi.

A la Memoire de ma grande soeur wahiba, qui m'a toujours encouragée ta mémoire restera à jamais gravée dans mon cœur.

Je dedie ce travail à ma petite famille

Djallel pour ta présence et ton soutien chaque fois que j'en ai eu besoin. Et pour ta confiance, ta gentillesse ta patience et ta sagesse.

A mes deux Petits bouts de choux Mehdi et Leila, pour vos sourires, votre gaieté et toute la joie que vous nous apportez dans notre vie.

## TABLE DES MATIERES

|   |    |
|---|----|
| RESUME  |    |
| REMERCIEMENTS   |    |
| TABLE DES MATIERES  |    |
| LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX                       |    |
| LISTE DES ABREVIATIONS                                    |    |
| INTRODUCTION GENERALE                                     | 01 |
| CHAPITRE 1 : BIOLOGIE GENERALE DE <i>Neospora caninum</i> | 03 |
| 1.1. HISTORIQUE   | 03 |
| 1.2. IDENTIFICATION DU PARASITE                           | 03 |
| 1.2.1. Systématique                                       | 03 |
| 1.2.2. Cycle évolutif                                     | 05 |
| 1.2.3. Morphologie et structure                           | 08 |
| 1.2.3.1. Tachyzoïtes                                      | 08 |
| 1.2.3.2. Bradyzoïtes                                      | 11 |
| 1.2.3.3. Oocystes   | 13 |
| CHAPITRE 2 : ETUDE CLINIQUE DE LA NEOSPOROSE              | 15 |
| 2.1. SYMPTOMES CLINIQUES                                  | 15 |
| 2.1.1 Chez le chien                                       | 15 |
| 2.1.2 Chez le bovin                                       | 17 |
| ➤ Chez l'adulte   | 17 |
| ➤ Chez le veau  | 19 |
| 2.1.3. Chez d'autres espèces                              | 19 |
| 2.1.3.1. Chez les ovins                                   | 19 |

|  |    |
|--|----|
| 2.1.3.2. Chez les caprins  | 20 |
| 2.1.3.3. Chez les équidés  | 20 |
| 2.1.3.4. Chez les chats  | 21 |
| 2.1.3.5. La faune sauvage  | 21 |
| 2.2. LESIONS   | 22 |
| 2.2.1. Chez les chiens   | 22 |
| a) Lésions macroscopiques  | 22 |
| b) Lésions microscopiques  | 23 |
| 2.2.2. Chez les bovins   | 23 |
| a) Lésions macroscopiques  | 23 |
| b) Lésions microscopiques  | 23 |
| 2.3. PATHOGENIE  | 25 |
| 2.4. Les mécanismes immunitaires de l'avortement chez la chienne | 28 |
| CHAPITRE 3 : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE                               | 30 |
| 3.1. SOURCE DU PARASITE :  | 30 |
| 3.1.1. Chien   | 30 |
| 3.1.2. Bovins  | 31 |
| 3.1.3. Autres espèces  | 31 |
| 3.1.4. Milieu extérieur  | 31 |
| 3.2. RESISTANCE DU PARASITE                                      | 32 |
| 3.2.1. Tachyzoïtes   | 32 |
| 3.2.2. Bradyzoïtes   | 32 |
| 3.2.3. Oocystes  | 33 |

|   |    |
|---|----|
| 3.3. RECEPTIVITE ET SENSIBILITE   | 33 |
| 3.4. TRANSMISSION DU PARASITE   | 34 |
| 3.4.1. Transmission verticale ou transplacentaire   | 34 |
| 3.4.2. Contamination horizontale  | 37 |
| 3.4.3. Contamination vénérienne   | 38 |
| 3.4.4. Contamination d'hôte à hôte  | 38 |
| 3.5. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DE LA NEOSPOROSE   | 39 |
| 3.5.1 La séroprévalence de <i>N.caninum</i> dans différents pays  | 39 |
| 3.5.2. La séroprévalence de <i>N- caninum</i> chez l'espèce canine  | 39 |
| 3.5.3. La Séroprévalence de l'infection à <i>Neospora caninum</i> chez<br>les carnivores sauvages dans le monde | 40 |
| 3.5.4. La séroprévalence de <i>N- caninum</i> chez l'espèce Bovine  | 41 |
| 3.5.5. Séroprévalence de <i>Neospora caninum</i> chez d'autres<br>espèces domestiques                           | 41 |
| 3.6. MOYENS DE LUTTE  | 42 |
| 3.6.1. Vaccination  | 42 |
| 3.6.1. a. Chez le Chien   | 43 |
| 3.6.1. b. chez la Vache   | 43 |
| 3.6.2. Thérapeutiques possibles   | 44 |
| 3.6.2.1. In vitro   | 44 |
| 3.6.2.2. In vivo  | 44 |
| 3.6.2.2. a. Chez le Chien   | 44 |
| 3.6.2.2.b. Chez le Bovin  | 46 |

|   |    |
|---|----|
| 3.6.3 : MESURES PROPHYLACTIQUES DE LA Néosporose  | 46 |
| 3.6.3.1. Elimination des animaux séropositifs   | 46 |
| 3.6.3.2. Elimination des avortements et placentas   | 46 |
| 3.6.3.3. Interdire l'accès aux chiens   | 47 |
| 3.6.3.4. Transfert d'embryons.  | 47 |
| CHAPITRE 4 : DIAGNOSTIC DE LA Néosporose  | 48 |
| 4.1. DIAGNOSTIC EPIDEMIO-CLINIQUE   | 48 |
| 4.2. DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL  | 50 |
| 4.2. 1. METHODES DE DETECTION INDIRECTE :   | 50 |
| 4.2.1.1. Immunofluorescence indirecte (IFAT)  | 50 |
| 4.2.1.2. Tests immuno-enzymatiques (ELISA)  | 51 |
| 4.2.1.3. La séro agglutination DAT ou NAT   | 52 |
| 4.2.1.4. Immuno- blot   | 54 |
| 4.2.2. METHODE DE DIAGNOSTIC DIRECT   | 54 |
| 4.2.2.1. Examen nécrosique et anatomo-pathologique  | 55 |
| 4.2.2.1.1. Chez le chien  | 55 |
| 4.2.2.1.1. a. Lésions macroscopiques  | 55 |
| 4.2.2.1.1. b. Lésions histo-pathologiques   | 55 |
| 4.2.2.1.2. Chez le bovin  | 55 |
| 4.2.2.2. L'Immuno-histochimie   | 56 |
| 4.2.2.3. La réaction de polymérisation en chaine pour les<br>détections de l'ADN Neospora (PCR) | 57 |
| 4.3. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DE LA Néosporose canine  | 58 |

|   |    |
|---|----|
| - Chez le chiot                               | 59 |
| - Chez le chien l'adulte                      | 59 |
| CONCLUSION                                    | 61 |
| CHAPITRE 5 PARTIE EXPERIMENTALE               | 62 |
| 5.1. INTRODUCTION                             | 62 |
| 5.2 .MATERIEL ET METHODES                     | 63 |
| 5.2.1. Zone d'étude                           | 63 |
| a) Les Caractéristiques de la wilaya de Blida | 64 |
| a.1. position géographique                    | 64 |
| b) Limites géographiques                      | 64 |
| 5.2.2. Matériel                               | 64 |
| 5.2.2.1. Echantillon                          | 64 |
| 5.2.2.2. Matériel de prélèvement et de dosage | 64 |
| 5.2.2.3. Questionnaire                        | 66 |
| 5.3. METHODE                                  | 66 |
| 5.3.1. Echantillonnage                        | 66 |
| 5.3.2. Prélèvements                           | 67 |
| 5.3.3. Dosage                                 | 68 |
| 5.3.3.1. Principe du test                     | 68 |
| 5.3.3.2. Protocole opératoire                 | 69 |
| 5.3.3.3. Interprétation des résultats         | 72 |
| 5.3.3.4. Analyses statistiques                | 73 |

|  |    |
|--|----|
| 5.4. RESULTATS   | 75 |
| 5.4.1. Résultat de l'enquête   | 75 |
| A/ Répartition selon les populations de chiens   | 75 |
| B/ la répartition en fonction de l'âge   | 75 |
| C/ La répartition en fonction de sexe  | 76 |
| D/ Répartition selon la race   | 77 |
| E/ Répartition selon l'alimentation  | 77 |
| F/ Répartition en fonction de l'apparition des signes cliniques                            | 78 |
| 5.4.2. Résultat de la séroprévalence   | 79 |
| A / séroprévalence chez les deux populations canines                                       | 79 |
| B/ Séroprévalence de N.caninum dans les différentes classes d'âge                          | 80 |
| C/ Séroprévalence de N.caninum en fonction du sexe   | 82 |
| D/ Séroprévalence de N.caninum en fonction des races                                       | 83 |
| E/ Séroprévalence de N.caninum en fonction de l'alimentation                               | 85 |
| 5.5. DISCUSSION  | 88 |
| 5.5.1. La séroprévalence globale de N. caninum   | 88 |
| 5.5.2. Prévalence chez la population rurale et urbaine<br>(chiens de ville et de campagne) | 88 |
| 5.5.3. Prévalence en fonction de l'âge   | 89 |
| 5.5.4. Prévalence en fonction du sexe  | 90 |
| 5.5.5. Prévalence en fonction de la race   | 90 |
| 5.5.6. Prévalence en fonction de l'alimentation (crue et non crue)                         | 90 |
| 5.5.7 Prévalence en fonction des symptômes cliniques                                       | 91 |

|                     |    |
|---------------------|----|
| CONCLUSION GENERALE | 92 |
| Recommandations     | 94 |
| REFERENCES.         |    |
| APPENDICES          |    |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1.1</b> : Taxonomie simplifiée de <i>Neospora caninum</i> .  | 5  |
| <b>Tableau 2.1</b> : Troubles de la gestation observés après infection expérimentale de 6 chiennes à 21 jours de gestation.                                       | 27 |
| <b>Tableau 3.1</b> : Influence du taux d'anticorps maternels sur la transmission de <i>Neospora caninum</i> à la descendance.                                     | 36 |
| <b>Tableau 3.2</b> : Séroprévalence de la néosporose chez les carnivores sauvages dans le monde   | 40 |
| <b>Tableau 3.3</b> : Prévalence des Anti <i>N. caninum</i> chez différentes espèces animales.   | 42 |
| <b>Tableau 3.4</b> : Posologie des médicaments recommandés pour le Traitement de la néosporose  | 45 |
| <b>Tableau 5.1</b> : Nombre de sujets nécessaires pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée. | 67 |
| <b>Tableau 5.2</b> : Séroprévalence des anticorps anti <i>Neospora caninum</i> dans différentes populations.  | 79 |
| <b>Tableau 5.3</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> dans les différentes classes d'âge.  | 80 |
| <b>Tableau 5.4</b> : Effet de l'âge sur la séroprévalence dans différentes populations canines.   | 81 |
| <b>Tableau 5.5</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> en fonction du sexe.   | 82 |
| <b>Tableau 5.6</b> : Séroprévalence en fonction du sexe et des populations.   | 83 |
| <b>Tableau 5.7</b> : Répartition des chiens séropositifs en fonction des races  | 84 |
| <b>Tableau 5.8</b> : séroprévalence des races de chiens en fonction des populations.  | 85 |
| <b>Tableau 5.9</b> : Séroprévalence en fonction de l'alimentation des chiens  | 86 |
| <b>Tableau 5.10</b> : Séroprévalence des chiens en fonction des populations et de l'alimentation des chiens.  | 87 |

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1.1 :</b> Cycle évolutif de <i>Neospora caninum</i>   | 8  |
| <b>Figure 3.1:</b> Transmission transplacentaire répétée de <i>Neospora caninum</i> à la descendance dans un élevage de Pointer | 35 |
| <b>Figure 4.1:</b> Approche diagnostique de la néosporose dans un troupeau bovin  | 49 |
| <b>Figure 5.1:</b> Situation géographique des daïras et communes de la Wilaya de Blida  | 53 |
| <b>Figure 5.2 :</b> Représentation schématique de la démarche générale de préparation d'un questionnaire                        | 66 |
| <b>Figure 5.3:</b> Répartition selon les populations de chiens  | 75 |
| <b>Figure 5.4:</b> Répartition en fonction de l'âge   | 76 |
| <b>Figure 5.5:</b> Répartition en fonction du sexe  | 76 |
| <b>Figure 5.6:</b> Répartition selon la Race  | 77 |
| <b>Figure 5.7:</b> Répartition selon l'Alimentation   | 78 |
| <b>Figure 5.8:</b> Répartition selon signes cliniques apparents   | 78 |
| <b>Figure 5.9:</b> Séroprévalence des chiens de ville et de campagne  | 79 |
| <b>Figure 5.10:</b> Séroprévalence en fonction de l'âge   | 80 |
| <b>Figure 5.11:</b> Séroprévalence en fonction de l'âge chez les chiens de ville et de campagne                                 | 81 |
| <b>Figure 5.12:</b> Séroprévalence en fonction du sexe  | 82 |
| <b>Figure 5.13:</b> Séroprévalence en fonction du sexe chez les chiens de ville et de campagne                                  | 83 |
| <b>Figure 5.14:</b> Séroprévalence en fonction des Races  | 84 |
| <b>Figure 5.15:</b> Séroprévalence en fonction de la race chez les chiens de ville et de campagne                               | 85 |
| <b>Figure 5.16:</b> Séroprévalence en fonction du mode alimentaire  | 86 |
| <b>Figure 5.17:</b> Séroprévalence en fonction de l'alimentation chez les chiens de ville et de campagne.                       | 87 |

## LISTE DES PHOTOS

|  |    |
|--|----|
| <b>Photo 1.1:</b> Amas de Tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i> , visible sur une Coupe histologique (coloration Giemsa) d'encéphale de chien infecté expérimentalement | 9  |
| <b>Photo 1.2:</b> Tachyzoïte de <i>Neospora caninum</i> , vu en microscopie électronique à transmission, dans un milieu de culture                                       | 11 |
| <b>Photo 1.3:</b> Bradyzoïtes enfermés dans un kyste tissulaire.   | 12 |
| <b>Photo 1.4:</b> Oocyste sporulé de <i>Neospora caninum</i> , vu en microscopie optique   | 13 |
| <b>Photo 2.1:</b> Chien en position de phoque  | 16 |
| <b>Photo 2.2:</b> Fœtus avorté chez une vache infectée par <i>N.caninum</i> .  | 18 |
| <b>Photo 2.3 :</b> Avortons chez une chienne.  | 28 |
| <b>Photo 5.1:</b> kit Elisa LSIVET   | 65 |
| <b>Photo 5.2:</b> Lecteur Elisa ELx800   | 65 |
| <b>Photo 5.3:</b> laveur Elisa automatique   | 65 |
| <b>Photo 5.4:</b> Technique de prélèvement chez le chien   | 68 |
| <b>Photo 5.5:</b> Incubation des plaques à température ambiante  | 70 |
| <b>Photo 5.6:</b> Incubation des plaques à l'obscurité   | 71 |
| <b>Photo 5.7:</b> lecture des plaques sur lecteur Elisa  | 71 |
| <b>Photo 5.8:</b> Absence de coloration dans certaines cupules   | 72 |
| <b>Photo 5.9:</b> Stockage des sérums dans des tubes Eppendorf étiquetés   | 74 |

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

CP: contrôle positif.

DAT: Direct Agglutination Test.

DO: Densité Optique.

DOm CN : Densité optique moyenne du contrôle négatif.

DOE : Densité optique d'Echantillon.

ELISA: Enzyme Linked immunosorbent Assay.

HD : Hôte définitif.

HI : Hôte Intermédiaire

IFAT: Immunofluorescence Antibody Test.

% Inh: Pourcentage d'Inhibition.

INF: Interféron.

IgG: Immunoglobuline G.

IgM: Immunoglobuline M.

MEP : Méningoencéphalites Equines à Protozoaires.

µl : Microlitre.

NAT : *Neospora* Agglutination Test.

PCR : Polymérase Chain Reaction.

## INTRODUCTION GENERALE

La néosporose est une protozoose cosmopolite due à *Neospora caninum*, Son pouvoir pathogène semble expliquer de nombreux cas, d'avortements [1]. Sa découverte est récente (1984), et les connaissances évoluent sans cesse mais beaucoup d'inconnues demeurent quant à son cycle de développement, son épidémiologie et les méthodes de lutte possibles.

Longtemps confondue avec *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* a été isolé et identifié en 1988 [2]. Ce parasite a été, à l'origine, décrit chez le chien comme responsable de la paralysie, de la mortalité et d'atteintes neurologiques sévères [3]. Plus tard la néosporose bovine s'est avérée être une cause importante d'avortements et de mortalités néonatales. Les Chiens sont parmi les hôtes définitifs connus et confirmés [4], ils émettent dans leurs matières fécales un grand nombre d'oocystes [5];[6]. L'excrétion moyenne est de 166400 oocystes chez les chiots et de 2900 chez les adultes [7];[4] ce qui fait maintenir l'infectiosité pendant plusieurs jours dans le sol, l'eau et l'aliment.

La principale voie de transmission est verticale (de la mère au fœtus), entraînant l'avortement, la mortinatalité et la naissance d'un animal sain infecté congénitalement et cela dépend du stade de l'infection, [8]. Le taux de séroconversion, c'est-à-dire les nouvelles infections résultant d'une infection horizontale est généralement assez faible dans les exploitations infectées (< 8 %/an) [9];[10]. Il semble exister un rapport entre la densité de bovins présents dans une région et la séroprévalence chez le chien.

En Algérie(Alger), La séroprévalence chez le chien serait de 21,90% avec une différence significative étant observée entre les chiens de ville et les chiens de campagne respectivement 11,96% et 44,44% alors que les taux les plus bas ont été observées chez les chiens de gendarmerie 6,59% et de propriétaires 11,96% [11], elle serait de 19,34% chez les vaches au centre et à l'Est du pays [12];[13] et serait de 32,8% dans la région de Blida [14].

Le chien est très important dans l'épidémiologie de l'infection par *N.caninum* de ce fait, il est nécessaire d'étudier sa prévalence et son évolution dans les différents milieux.

Notre travail a pour objectifs :

- ✓ d'Évaluer la prévalence de la néosporose canine dans la région de Blida.
- ✓ de déterminer les facteurs de risque qui influencent positivement ou négativement la prévalence.

## CHAPITRE 1

### BIOLOGIE GENERALE DE *NEOSPORA CANINUM*

#### 1.1. Historique :

*Neospora caninum* fut découvert pour la première fois en 1984 par une équipe norvégienne [3]. Sur trois portées successives de chiots de race boxer [4], les chiens avaient présenté des troubles neurologiques divers entre l'âge de 2 et 6 mois. Un parasite semblable à *Toxoplasma gondii* avait été observé en microscopie optique sur des coupes histologiques de cerveaux, alors que les sérologies visant à mettre en évidence la présence d'anticorps dirigés contre *Toxoplasma* étaient toutes négatives. Le parasite trouvé se différenciait cependant de *Toxoplasma gondii* par l'épaisseur de sa paroi. En 1988, aux Etats-Unis, lors d'une étude rétrospective portant sur 23 chiens présumés atteints de toxoplasmose, le même parasite inconnu avait été retrouvé pour 10 de ces animaux [2]. Il fut finalement décrit grâce à la microscopie électronique et nommé *Neospora caninum* en 1988 par Dubey et son équipe [2]. Un test immunohistochimique fut mis au point la même année par Dubey et al, permettant l'identification spécifique du parasite. En 1991, la structure et les antigènes des parasites conservés sur des coupes histologiques des chiens Boxer de Norvège et ceux présents sur les 10 chiens américains ont pu être comparés, et le parasite initialement observé en 1984 fut officiellement reconnu comme étant *Neospora caninum* [7]. Des infections à *Neospora caninum* ont depuis été démontrées dans de nombreuses espèces et des études rétrospectives ont démontré son existence aux Etats-Unis dès 1957.

#### 1.2. Identification du parasite

##### 1.2.1. Systématique :

*Neospora caninum* est un protozoaire du phylum des Apicomplexa (sporozoaires), il est caractérisé par la présence d'un appareil apical complexe visible en microscopie électronique. Cet appareil permet la pénétration du

protozoaire dans la cellule hôte. Il est de plus classé au sein de la famille des Sarcocystidés hétéroxène. On retrouve dans ce groupe de protozoaires d'autres parasites connus parmi lesquels *Eimeria sp*, *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis neurona*. On note une grande parenté entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* notamment au stade tachyzoïte [15]. *Neospora caninum* était jusqu'en 1998 le seul représentant de son genre. Par ailleurs un autre parasite, très peu différent génétiquement a été mis en évidence dans l'espèce équine : il s'agit de *Neospora hughesi* qui a été différencié en 1996 [16];[17]. Le résumé de la taxonomie de *Neospora caninum* est repris par le (tableau 1.1).

Les études récentes de phylogénétique ont comparé l'ARN ribosomal de *Neospora caninum* avec d'autres protozoaires du groupe des apicomplexes, ce qui a révélé un très haut degré d'homologie entre *Neospora sp* et *Toxoplasma gondii*. Cependant, d'autres études ont prouvé que *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* différaient sur le plan morphologique et que les deux espèces possédaient des antigènes distincts [18];[19]. Si une réaction croisée lors des tests immunologiques est possible, celle-ci peut donc être en grande partie évitée par l'utilisation d'antigènes spécifiques. La différenciation avec d'autres coccidies est assez difficile. La souche *Hammondia heydorni* s'est finalement révélée être une souche de *Neospora caninum* [20]. Enfin *Neospora caninum* est une espèce distincte génétiquement et immunologiquement de *Toxoplasma gondii* et de *Hammondia heydorni*, néanmoins la différenciation morphologique est parfois difficile.

Tableau 1.1 : Taxonomie simplifiée de *Neospora caninum* [21].

| <b>Taxonomie simplifiée de <i>Neospora caninum</i></b> |   |
|--|---|
| • <b>Protozoaires :</b>                                | PROTISTES (être unicellulaires eucaryotes à paroi non cellulosique, souvent mobiles hétérotrophes)  |
| • <b>Apicomplexa (=sporozoaires)</b>                   | Présence d'un appareil apical visible dans certains stades de développement (microscopie électronique), intervenant dans la pénétration du parasite   |
| • <b>Coccidea :</b>                                    | « coccidies » au sens large ; production spores, complexe apical complet (différents de Haemazoea, avec les plasmodiums et les piroplasmes).  |
| • <b>Eimeriidea</b>                                    | Le microgamonte, donne de nombreux microgamètes (différents des Adeleida, avec Hepatozoon).   |
| • <b>Sarcocystidés</b>                                 | Cycle avec HI (différents des Eimeriidés avec <i>Eimeria</i> et <i>Isopora</i> ; des cryptosporidés avec <i>Cryptosporidium</i> )   |
| • <b>Toxoplasmatinés</b>                               | Chez l'HD, reproduction asexuée suivie d'une reproduction sexuée ; sporogonie dans le milieu extérieur ; une reproduction asexuée chez l'HI ; passage possible entre l'HI ; HI facultatif ( <i>Toxoplasma</i> , <i>Neospora</i> ) ou obligatoire ( <i>Hammondia</i> , <i>Besnoitia</i> (différents des sarcocystinés avec <i>sarcocystis</i> ). |

### 1.2.2. Cycle évolutif de *Neospora caninum*

Du fait du manque de connaissances concernant la Néosporose, le cycle parasite a été longtemps confondu avec *Toxoplasma gondii*. On connaît des hôtes intermédiaires (HI) : bovins, équins caprins et ovins. Le chien est la première espèce animale identifiée comme hôte définitif, démontré d'abord expérimentalement [22] puis de manière naturelle en 2001 [23]. Le renard et d'autres canidés sauvages tels que le loup, le coyote [24] et le dingo sont également suspectés [25];[21]. La présence d'anticorps spécifiques anti-*Neospora* a été mise en évidence chez de nombreuses espèces domestiques, Ce qui fait de *Neospora* sp. un parasite extrêmement ubiquiste :

- Alpaga (*Vicugna vicugna*), Buffle (*Bubalus bubalis*).

- Canidés : Dingo australien (*Canis familiaris dingo*), Coyote (*Canis latrans*), Loup (*canis lupus*), Chacal doré (*Canis aureus*), Renard gris (*Urocyon cinereoargenteus*), Fennec (*Vulpes zerda*), Chien viverrin (*Nyctereute procyonoides*).
- Félidés : Guépard (*Acinonyx jubatus*), Jaguar (*Herpailurus yaguarondi*), lynx eurasiens (*Lynx lynx*), Lion d'Asie (*Panthera leo goojratensis*), Lion (*Panthera leo*) Chat domestique (*Felis catus*).
- Autres carnivores : Hyène (*Crocuta crocuta*), Pécan (*Martes pennanti*), Ours brun (*Ursus americanus*).
- Equidés : Zèbre (*Equus burchelli*).
- Cervidés et ruminants : Antilope cervicapre (*Antilope cervicapra*), Buffle du cap (*Syncerus caffer caffer*), Gazelle (*Gazella thomsoni*), Bouquetin d'Espagne (*Capra pyrenaica*), Mouflon de corse (*Ovis ammon*), Eland du Cap (*Taurotragus oryx*), Bison d'Europe (*Bison bonasus*), Boeuf musqué (*Ovibos moschatus*), Cerf du Père David (*Elaphurus davidianus*), Chevreuil (*Capreolus capreolus*), Chamois (*Rupicapra rupicapra*).
- Rongeurs : Lapin européen (de Garenne) (*Oryctolagus cuniculus*), Lièvre ibérique (*Lepus granatensi*).
- Mammifères marins : Loutre de mer (*Enhydra lutris*), Lion de mer (*Zalophus californiarus*), Phoque annelé (*Phoca hispida*), Grand Dauphin (*Tursiops truncatus*), Orque (*Orcinus orca*).
- Autres mammifères : Sanglier (*Sus scrofa*), Phacochère (*Phacochoerus aethiopicus*) Dromadaire (*Camelus dromedarius*), Cochon (*Sus scrofa domesticus*).

Le cycle évolutif fait intervenir un hôte définitif (HD), le chien et d'autres carnivores sauvages (figure 1.1). L'étude du cycle parasitaire de *Neospora caninum* révèle l'importance du rôle joué par le chien de l'infection des bovins. L'hôte définitif se contamine par l'ingestion de placentas ou de foetus d'hôte intermédiaire (HI) infecté, contenant des kystes à bradyzoïtes [26].

L'ingestion d'aliments permet ainsi la transmission horizontale du parasite, de l'hôte intermédiaire à l'hôte définitif et donc, la poursuite du cycle évolutif [27].

La multiplication sexuée a lieu dans le tube digestif du chien (HD). Des oocystes non sporulés sont alors rejetés, en faible nombre, dans le milieu extérieur au moment de la défécation [22]. Après cinq jours [4], voire dix jours [22], après l'ingestion de kystes tissulaires et se poursuit pendant une dizaine de jours (7 à 19 jours) [4];[21]. La sporulation a lieu 48 à 72 heures après l'émission des oocystes.

La transmission horizontale à l'hôte intermédiaire a lieu par ingestion d'aliments ou d'eau, contaminés par des oocystes sporulés [28];[29]. Aucune donnée ne permet actuellement de savoir si le chien peut excréter des oocystes par la suite sans recontamination [21].

Chez l'hôte intermédiaire, les oocystes sporulés évoluent en tachyzoïtes. Les tachyzoïtes se divisent par endodyogénie dans les cellules hôtes, qui peuvent contenir chacune des centaines de tachyzoïtes. Du fait de la réponse immunitaire et d'autres facteurs physiologiques, les tachyzoïtes se différencient en bradyzoïtes qui s'enkystent dans le système nerveux central de l'hôte adulte. Il y a donc deux phases chez l'hôte intermédiaire : une phase de multiplication rapide, suivie d'une phase d'enkystement avec multiplication lente [30].

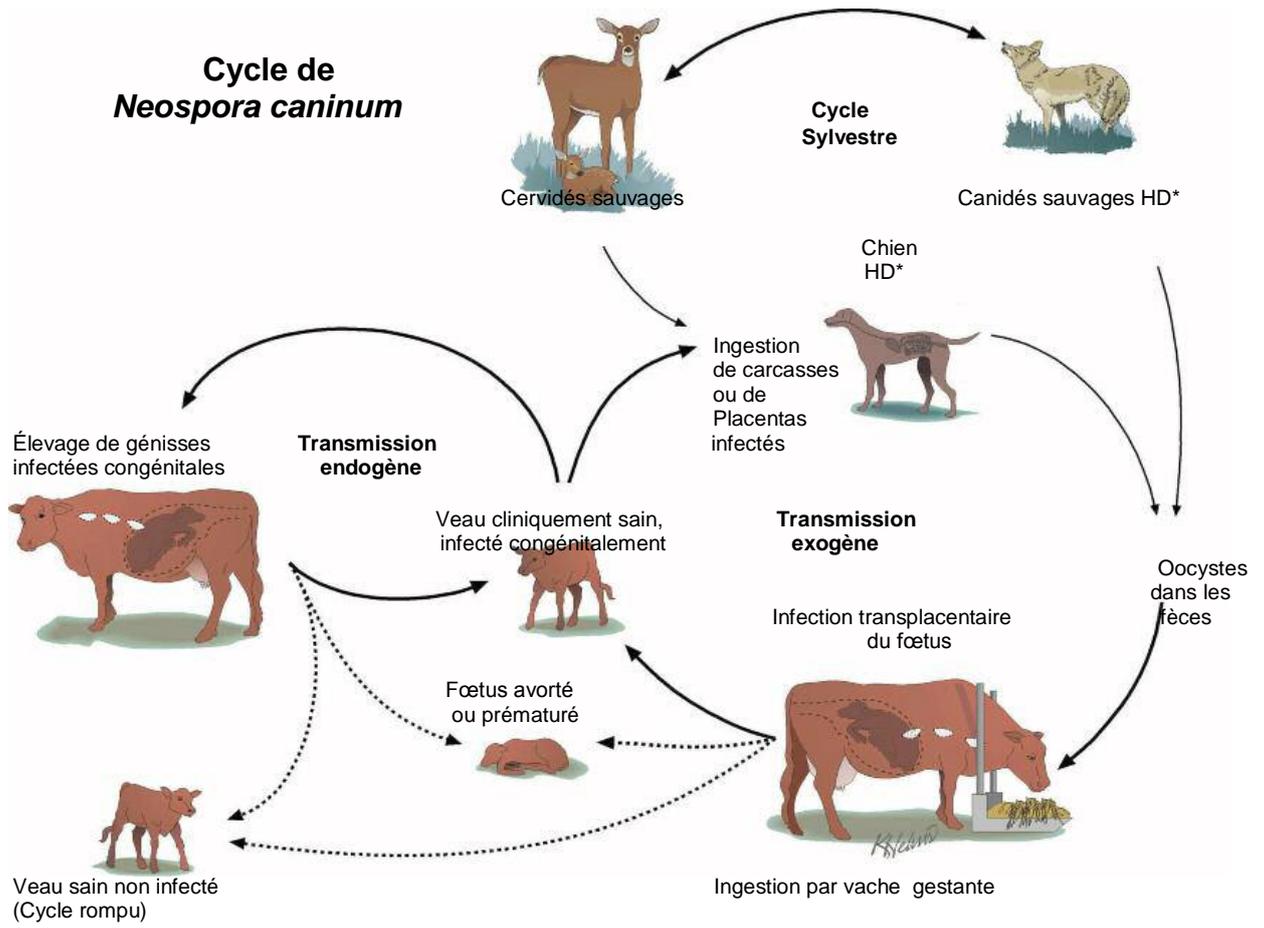


figure1.1 : Cycle évolutif de *Neospora caninum* [22].

### 1.2.3. Morphologie -structure

*Neospora caninum* est un parasite intracellulaire strict, il est connu sous trois formes, deux formes asexuées chez l'hôte intermédiaire : la forme tachyzoïte et le kyste à bradyzoïtes. Une forme sexuée : l'oocyste présent chez l'hôte définitif et dans le milieu extérieur.

#### 1.2.3.1. Tachyzoïtes

Les tachyzoïtes représentent la forme infectante et pathogène du protozoaire pour l'hôte intermédiaire. Ils se multiplient massivement par endodyogénie et on peut en dénombrer jusqu'à une centaine par coupe dans une

cellule [31]. Lors d'observation par microscopie électronique, les tachyzoïtes sont visibles à différents stades de leur division [32], ce sont des structures ovoïdes, globulaires ou en croissant, en fonction de leur stade de division. On les observe au mieux suite à une coloration May-Grünwald-Giemsa. Ils mesurent de 3 à 7  $\mu\text{m}$  de long sur 1 à 5  $\mu\text{m}$  de large [33]. (Photo1.1). On les retrouve au sein d'une vacuole parasitophore, qui inclut en outre des tubules [2]. Cette vacuole parasitophore est fine et parfois invisible sur certaines préparations.

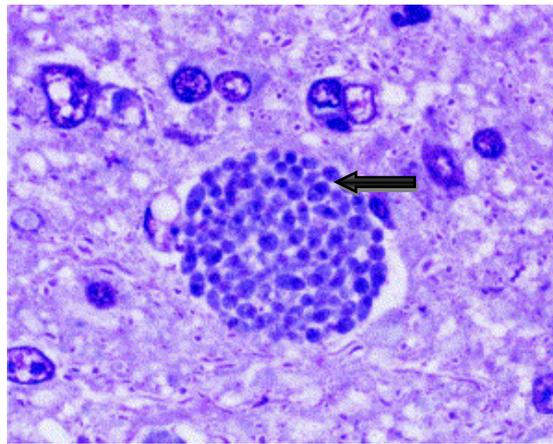


Photo 1.1 : Un amas de Tachyzoïtes de *Neospora caninum*, visible sur une Coupe histologique (coloration Giemsa) d'encéphale de chien infecté expérimentalement [33].

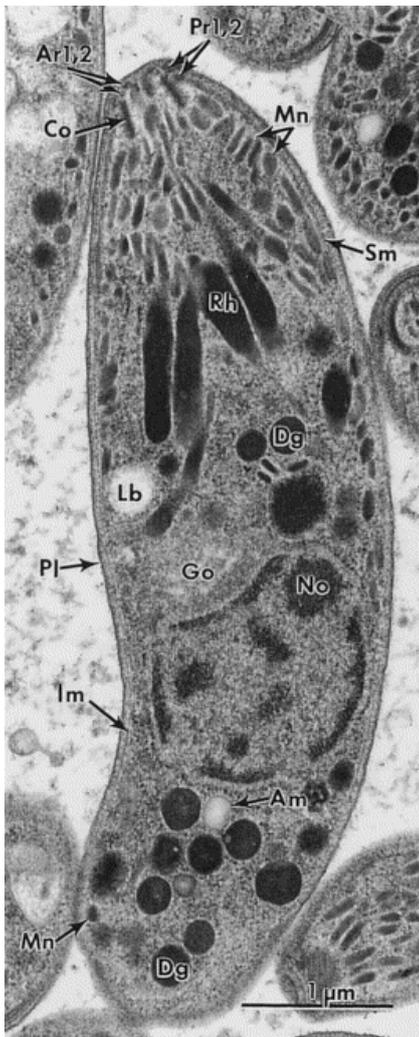
L'absence de vacuole parasitophore peut être due soit à un artéfact (membrane fine ou non visible), soit à sa désintégration précoce lors de la dégénérescence cellulaire [34];[33]. Les Tachyzoïtes possèdent également un complexe apical impliqué dans la pénétration des cellules hôtes. Celui-ci se compose de deux anneaux apicaux préconoïdes, d'un conoïde, d'un anneau polaire de plus de cent cinquante micronèmes, de vingt-deux microtubules situés sous la membrane parasitaire interne à laquelle ils sont étroitement associés et des rhoptries (8 à 12 antérieures et 4 à 6 postérieures). Les micronèmes sont surtout sur la partie antérieure et assez peu sur la partie postérieure. Certains d'entre eux sont perpendiculaires à la membrane parasitaire interne. Les rhoptries ont un contenu dense et ont une taille deux à quatre fois plus grande que le diamètre des micronèmes [32]. De plus ils sont constitués d'un noyau et de son nucléole, de centrioles, de ribosomes, de granules denses aux électrons en

général plus nombreux postérieurement, d'une à trois mitochondries, d'un appareil de Golgi, d'un réticulum endoplasmique lisse et granuleux, d'un pore postérieur et de corps lipidiques [32]. Une des particularités des tachyzoïtes de *Neospora caninum* est l'absence ou le faible nombre de micropores [32]. La photo1.2 montre les principaux constituants du tachyzoïte de *Neospora caninum*.

Chez le chien infecté, on retrouve couramment des tachyzoïtes dans de nombreux types cellulaires : muscles striés squelettiques, particulièrement le muscle quadriceps lors de troubles neurologiques touchant l'arrière train, mais aussi masséter et muscle temporal, muscle de l'œsophage et myocarde. On en retrouve également dans le poumon, les hépatocytes et de manière moins fréquente dans les reins, le pancréas, les glandes surrénales et l'utérus [35]. On peut remarquer que si le parasite a été observé sur des coupes histologiques d'œsophage, il n'a jamais été mis en évidence dans les autres parties du tractus intestinal, d'où le manque de connaissance au sujet du cycle de développement intra-intestinal du parasite [35].

Dans l'espèce bovine les études ont prouvé la présence de tachyzoïtes dans de très nombreux types cellulaires incluant les neurones, les cellules de l'endothélium vasculaire, les macrophages alvéolaires, les cellules du myocarde, les hépatocytes, les cellules rénales, les trophoblastes du placenta [36].

Les tachyzoïtes constituent une forme de dissémination pouvant transmettre l'infection d'un animal gestant infecté à sa progéniture. Jusqu'en 1998, la voie transplacentaire, était la seule voie de transmission admise de façon certaine [37].



### Légende

Plasmalemme (Pl)  
 Membrane interne du plasmalemme (Im)  
 Anneau apical (Ar)  
 Conoïde (Co)  
 Anneau polaire (Pr)  
 Micronème (Mn)  
 Microtubules (Sm)  
 Rhoptries (Rh)  
 Nucléole (No)  
 Appareil de Golgi (Go)  
 Corps lipidique (Lb)  
 Granules denses (Dg)  
 Granule d'amylopectine (Am)

} Complexe apicale

Photo 1.2 : Tachyzoïte de *Neospora caninum*, vu en microscopie électronique à transmission, dans un milieu de culture [15].

#### 1.2.3.2. Bradyzoïtes

Les bradyzoïtes constituent la forme quiescente de *Neospora caninum*. Ils se divisent lentement par endodyogénie [25], ils ont un aspect incurvé, avec un noyau proche de l'extrémité postérieure. Mesurant de 6 à 8  $\mu\text{m}$  sur 1 à 1,8  $\mu\text{m}$ , leur structure est proche de celle des tachyzoïtes. Les bradyzoïtes possèdent une conoïde à l'extrémité antérieure, contiennent de nombreux micronèmes, plus de granules d'amylopectine et moins de rhoptries (6 à 12 en partie antérieure). Les micronèmes sont généralement perpendiculaires au plasmalemme et leur nombre est important, ils mesurent approximativement 232 x 58 nm et sont regroupés dans le tiers antérieur du bradyzoïte pour la plupart, même si on en retrouve

certaines postérieurement au noyau. Selon l'étude de Dubey et al (2004), ils ne sont pas répartis selon un schéma particulier. Le noyau se trouve souvent à une extrémité du bradyzoïte [34]. Les rhoptries se répartissent sur toute la longueur du parasite, leur nombre moyen varie selon les études (pas plus de 3 par parasite) [38], alors qu'une moyenne de 6 à 12 rhoptries était souvent observée dans les études antérieures [39];[40]. Les granules d'amylopectine sont situées principalement dans le tiers moyen du bradyzoïte. Un micropore est parfois visible au niveau de l'extrémité conoïdale du parasite [38].

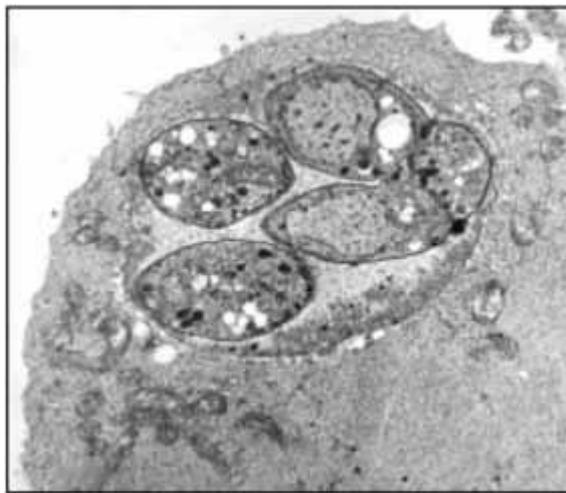


Photo 1.3 : bradyzoïtes enfermés dans un kyste tissulaire [41].

Les bradyzoïtes sont regroupés dans des kystes tissulaires retrouvés dans le système nerveux central : cerveau, rétine et moelle épinière [35]. à la différence des kystes du toxoplasme retrouvés dans divers organes. Lors de la description en microscopie électronique les kystes à bradyzoïtes ont une forme sphériques à ovoïdes et ne possèdent ni cloison ni paroi secondaire. Leur taille est variable allant de 55 à 107  $\mu\text{m}$ , ils avaient été observés sur des coupes de cerveau de caniche [42]. Depuis, de telles valeurs n'ont pas été observées, la taille moyenne des kystes de *Neospora caninum* s'échelonne selon les études entre 15 et 60  $\mu\text{m}$ , en fonction du nombre de bradyzoïtes contenus dans le kyste [38]. Un kyste contient plusieurs dizaines (50 à 200) de bradyzoïtes [32], il existe des vésicules tubulaires entre les bradyzoïtes d'un même kyste [34]. Les kystes tissulaires sont peu nombreux chez les animaux infectés naturellement [15]. La (photo1.3) montre

un kyste à bradyzoïtes, identifié histologiquement dans la moelle épinière d'un veau nouveau-né, infecté naturellement [33].

#### 1.2.3.3. Oocystes

Les oocystes de *N. caninum* sont excrétés non sporulés dans les excréments de l'hôte définitif. Ils sont de forme sphérique à elliptique et mesurent 10 à 12  $\mu\text{m}$ , leur paroi est lisse, non colorée et mesure 0,6 à 0,8  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Avant la sporulation, ils contiennent seulement un sporonte central alors qu'après la sporulation, ils sont formés de deux sporocystes à quatre sporozoïtes (photo1. 4), comme c'est le cas pour *Isospora*, ce qui rend les deux entités difficiles à distinguer.

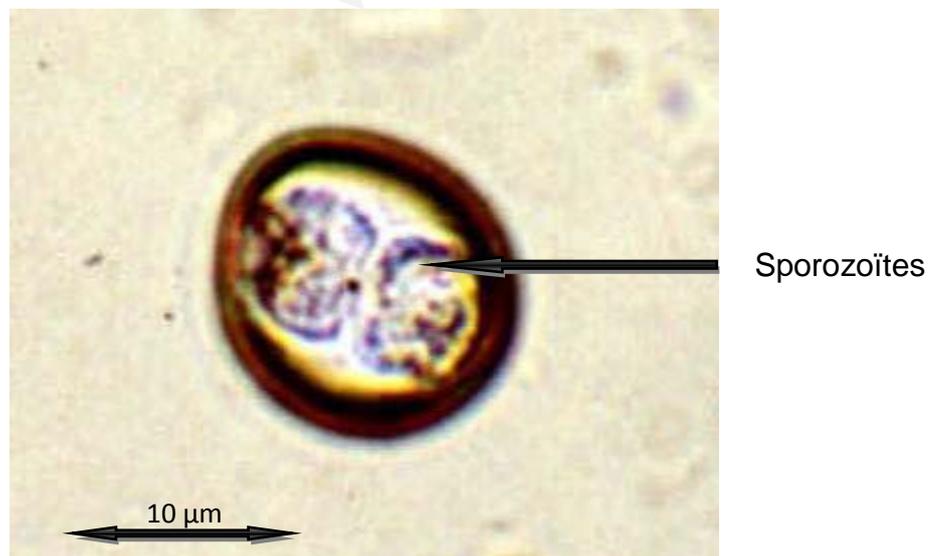


Photo 1.4 : Oocyste sporulé de *Neospora caninum* vu en microscopie optique [43].

Les oocystes de *Neospora caninum* sporulent en 24 heures si les conditions sont optimales (37°C ou température ambiante) [4]. Les sporocystes sont ellipsoïdes et mesurent 8,4 x 6,1 µm. Leur paroi est lisse et non colorée. Les sporozoïtes mesurent 7 à 8 x 2 à 3 µm et leur noyau est central ou légèrement postérieur [44]. La différenciation formelle en microscopie entre les oocystes de *Neospora caninum* et les oocystes d'autres parasites proches tels que *Hammondia heydoni* isolés des fèces de chien ou *Toxoplasma gondii*, *Hammondia hammondi* isolés à partir des fèces de chat est actuellement impossible [15];[44]. Pour différencier ces espèces, des tests génétiques (recherche d'ADN par PCR) ou des essais biologiques par inoculation à l'animal d'expérimentation sont obligatoires.

## CHAPITRE 2

### ETUDE CLINIQUE DE LA NEOSPOROSE

#### 2.1. SYMPTOMES CLINIQUES

##### 2.1.1. Chez le chien

La néosporose existe sous deux formes : une forme intestinale lorsque le chien est l'hôte définitif, chez qui le parasite effectue sa reproduction sexuée et une forme disséminée lorsque le chien est hôte intermédiaire ou le parasite effectue une multiplication asexuée. L'atteinte digestive ou « coccidiose » ne provoque aucun signe clinique alors que la forme disséminée s'accompagne de signes cliniques principalement nerveux [45].

La néosporose touche préférentiellement les chiots ou les jeunes chiens entre 2 et 20 semaines, mais elle peut exister quelque soit l'âge de l'animal puisque la maladie a été décrite chez des animaux de deux jours [46], et des chiens de 15 ans [2]. En revanche, la maladie sévit en général chez plusieurs chiots de la même portée, car contaminés congénitalement [47].

La maladie se caractérise par des troubles nerveux associés à d'autres signes cliniques. Elle est exacerbée par toute immunodépression, qu'elle soit d'origine spontanée ou iatrogène (vaccination par exemple). Les chiots infectés par *N. caninum* développent des symptômes neurologiques dont les plus fréquents sont :

- une parésie uni ou bilatérale des membres postérieurs, qui évolue progressivement en paralysie flasque ou spastique, associée à :
- une faiblesse des membres antérieurs.
- un déficit des nerfs crâniens [47] avec une modification des réflexes proprioceptifs et spinaux, une atrophie musculaire, une myalgie, en particulier au niveau des quadriceps et des muscles lombaires, plus rarement au niveau cervical, une cyphoscoliose lombaire et une hyper extension spastique uni ou

bilatérale des membres postérieurs (au niveau du genou ou du tarse) les chiots ont une démarche en «saut de lapin» au début de l'expression clinique, puis, adoptent une posture dite en « phoque » suite à une hyper extension des membres postérieurs lors de l'évolution de la maladie [48] (Photo 2.1).

D'autres signes moins fréquents sont observés notamment : la parésie d'un ou des membre(s) antérieur(s), l'hémi-parésie ou la quadri- parésie, l'ataxie, syndrome vestibulaire, nystagmus, une anisochorie, des crises épileptiformes et à des troubles du comportement [49];[50]. La paralysie des muscles masticateurs se manifestant par une incapacité à ouvrir la mâchoire [34], une insuffisance cardiaque, des troubles pulmonaires, une atteinte ulcéro-nécrotique de la peau, une pancréatite ou une hépatite associée à des vomissements et de la polydipsie. Ces signes apparaissent plus particulièrement chez l'adulte [47].

En fin d'évolution de l'incontinence, de la fièvre, de l'anorexie peuvent apparaître, Mais ces symptômes sont relativement rares et le chien reste, le plus souvent, vif et alerte jusqu'à sa mort. De plus, on note une légère dépression et des modifications des réflexes oculaires.



Photo 2.1: Chien en position de

Des troubles de la déglutition, de la dyspnée et une fibrose musculaire sont parfois relatés et conduisent en général à l'euthanasie. La mort de l'animal survient suite à la paralysie évolutive ou suite à une méningo-encéphalomyélite, à une défaillance cardiaque, à une pneumonie ou par euthanasie [47];[51].

Il existe une forme suraiguë : la mort survient en une semaine après l'apparition des premiers signes et une forme chronique : la maladie évolue progressivement et graduellement sur plusieurs semaines : le chien a d'abord une démarche en « saut de lapin », il refuse de sauter et a les membres écartelés lorsqu'il se couche.

### 2.1.2. Chez le bovin

L'infection des bovins par *Neospora caninum* est le plus souvent asymptomatique. La néosporose se manifeste principalement par des avortements chez la vache gestante et des troubles neurologiques chez les jeunes veaux dans les premières semaines de vie [28];[50].

#### ➤ Chez l'adulte

Le premier avortement bovin attribué à *N. caninum* a été observé par Thilsted et Dubey en 1989. Dans un premier temps le parasite incriminé était un agent de type *Toxoplasma gondii*. Ce n'est qu'avec la production de sérum anti - *N. caninum* que des analyses immunohistochimiques ont confirmé le diagnostic d'avortement à *N.caninum* [52].

L'avortement constitue la seule manifestation clinique de l'infection chez les bovins adultes gestants il peut toucher une seule vache (avortement sporadique) ou jusqu'à 30% des animaux du troupeau en peu de temps (avortements épidémiques) et aucun caractère saisonnier ne semble intervenir [28] Les avortements touchent les vaches quel que soit leur âge et quel que soit le type de production (laitier ou allaitant) [53].

L'avortement survient, en générale, à partir du troisième mois de gestation et jusqu'à neuf mois [54];[53], avec un maximum d'avortements à *Neospora caninum* entre cinq et six mois de gestation. Le devenir de la gestation dépend de l'âge du fœtus, de l'importance de la parasitémie de la souche de *N. caninum* [55] de la présence d'autres agents infectieux [56].



Photo 2.2 : Fœtus avorté à 5,5 mois de gestation chez une vache infectée par *N. caninum* [57].

Le fœtus peut mourir in utero : il est alors parfois résorbé, momifié ou autolysé. Le veau peut aussi être mort né ou naître vivant avec ou sans signe clinique. La mort fœtale peut sans doute survenir pendant toute la durée de la gestation, mais elle peut ne pas être diagnostiquée en cas de mortalité embryonnaire précoce ou de résorption fœtale, avec retour en chaleurs de l'animal [25]. D'autres études montrent également qu'une vache infectée par *Neospora caninum* peut avorter à plusieurs reprises [58]. Lorsque la femelle n'avorte pas, elle vèle le plus souvent des séropositifs [59];[60]. Le retour en chaleurs de la femelle apparaît dans les délais.

Néanmoins, du fait de son tropisme pour l'appareil génital, *N. caninum* pourrait être à l'origine d'une baisse des performances de reproduction dans les élevages. Ainsi, des problèmes de fécondité ont été remarqués dans des exploitations notamment, l'allongement de l'intervalle entre le Vêlage et l'insémination fécondante [50], Il faut aussi noter que le pourcentage

d'avortements répétés, dus à *Neospora*, chez une même vache est faible, il concerne moins de 5% des animaux ayant déjà avorté [54];[58].

#### ➤ Chez le veau

Les veaux nés vivants de mères séropositives ont 95 % de chance d'être porteurs de parasites avant la prise du colostrum [61].

Ces veaux peuvent dans certains cas, présenter un mauvais état corporel associés à :

- des troubles neurologiques (ataxie, diminution des réflexes, perte de la Proprioception, hyper extension des membres) [62],
- Des anomalies oculaires congénitales (exophtalmie, strabisme) [63],
- Des malformations vertébrales liées à une atteinte des neuroblastes [1];[34].

Chez ces animaux, l'infection parasitaire est caractérisée essentiellement par des lésions d'encéphalomyélite non suppurative et de myosite [34]. Le plus souvent, ces manifestations cliniques surviennent dans les premières semaines de vie (moins de deux mois) et elles résulteraient d'une infection *in utero* conduisant à la mort de l'animal ou son euthanasie pour raisons éthiques.

### 2.1.3 .Chez les autres espèces

#### 2.1.3.1. Chez les ovins

Chez les ovins, le premier cas de néosporose a été identifié en 1990, à la suite à un réexamen d'un agneau suspecté de toxoplasmose par Hartley et Bridge en 1975. L'agneau, alors âgé d'une semaine, présentait une incapacité à se lever depuis la naissance, ainsi que des mouvements cloniques des membres antérieurs à certains moments. Suite à la mort naturelle de l'agneau, l'autopsie révèle une encéphalomyélite non suppurative et une réduction unilatérale de la substance grise au niveau de la corne ventrale. Le diagnostic définitif a été posé par Dubey et al [64] en 1990, grâce à l'examen des tissus, par microscopie électronique et immunohistochimie [64], *Neospora caninum* peut donc infecter les ovins et être pathogène pour le fœtus des femelles gestantes.

### 2.1.3.2. Chez les caprins

La néosporose caprine semble tout de même être à l'origine de troubles de la reproduction se traduisant par des avortements entre le 3ème et le 4ème mois de gestation, ou par la naissance de chevreaux faibles et chétifs [65] ou morts nés [66]. Des cas de néosporose caprine ont été décrits en Californie [67], en Pennsylvanie [66] au Costa-Rica [68] et au Brésil [65]. Il semblerait que L'infection soit liée au stade de la gestation :

- en début de gestation : le foetus meurt et il y a soit résorption embryonnaire, Soit avortement 30 jours plus tard,
- en milieu de gestation : les petits peuvent être morts nés ou vivants et sains
- en fin de gestation, ils sont sains [69].

### 2.1.3.3. Chez les équidés

Les chevaux peuvent être contaminés par *N. caninum* [70]. La néosporose serait même à l'origine d'encéphalomyélite chez le cheval, Ces troubles nerveux touchent plus particulièrement les jeunes animaux. Par contre, le rôle de la néosporose dans les avortements équin reste à vérifier. L'analyse du liquide céphalo-rachidien et les lésions nécrotiques peuvent évoquer une myéloencéphalite équine à protozoaire attribuée à *Sarcocystis neurona* [16]. Protozoaire de la même famille que *Neospora sp.* La ressemblance entre les deux types d'encéphalomyélites équines à protozoaires (MEP) nécessite le recours indispensable à des examens complémentaires (immuno blot ou examen immunohistochimique post-mortem) [16], permettant de différencier les deux formes, car si l'on connaît un traitement contre *Sarcocystis neurona*, il s'avère inefficace contre *Neospora caninum* pour lequel aucun traitement spécifique n'existe à ce jour.

Par ailleurs, deux espèces de *Neospora* ont été identifiées chez les chevaux. Il s'agit de *N. caninum* et de *N. hughesi* [50];[71], peu de données sont disponibles en ce qui concerne la néosporose équine. Par conséquent, des doutes

sont émis sur l'existence des deux parasites chez le cheval : *Neospora hughesi* pourrait être le seul parasite dans cette espèce [72].

Chez les souris immunodéficente, *N. caninum* induit des lésions hépatiques alors que *N. hughesi* provoque des lésions myocardites [70];[73]. Malgré ces différences lésionnelles, *N. caninum* et *N. hughesi* ne peuvent pas être distingués par Immunohistochimie ou par séro – agglutination [70].

#### 2.1.3.4. Chez les chats

Du fait de la proximité entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*, le chat a rapidement été suspecté d'être l'hôte définitif de *Neospora caninum*. Les pics de fièvre diphasiques, observés après inoculation de *Neospora caninum* [74]; [75];[76];[77] n'ont jamais été rapportés dans les cas d'infections naturelles excepté chez le chat immunodéprimé où deux décès sur trois chats inoculés sont survenus [75].

Les animaux inoculés expérimentalement avec des doses importantes de tachyzoïtes n'ont pas exprimé de symptômes cliniques autres que l'hyperthermie. La transmission au fœtus peut se dérouler indépendamment en phase aiguë (femelle infectée en cours de gestation) ou en phase chronique (femelle infectée avant la gestation) [78];[79]. Le protozoaire provoque des lésions chez le chat adulte mais elles sont beaucoup plus sévères, et même fatales, chez les chats chez lesquels on a provoqué une immunodépression par injection de corticoïdes. Ces lésions sont de même type que celles observées chez le chien infecté naturellement : encéphalomyélite, nécrose des muscles squelettiques où Les lésions sont similaires à celles observées lors de toxoplasmose chez le chat [75].

#### 2.1.3.5. La faune sauvage

La néosporose naturelle a été décrite chez un cerf à queue noire de deux mois (*Odocoileus hemionus columbianus*) et chez un jeune rhinocéros blanc (*Ceratotherium sinum*) nés dans un centre de sauvegarde [80]. A l'autopsie, des tachyzoïtes ont été identifiés au sein des lésions hépatiques, rénales et

pulmonaires du cerf [81]. Un cas de transmission verticale a été rapporté chez un cerf (*Cervus eldi siamensis*). En effet, des lésions d'encéphalomyélites associées à la présence de kystes à bradyzoïtes ont été mises en évidence sur des coupes histologiques des organes d'un fœtus mort-né issu d'un zoo français [82]. Par ailleurs, *N. caninum* a été mis en évidence dans des avortons de Lama (*Lama glama*) et d'Alpaca (*Vicugna pacos*) [83]. Par analogie aux bovins, les ruminants sauvages seraient réceptifs et sensibles au parasite [84].

Gondim et al, en 2004 [85] ont mis en évidence, l'excrétion d'oocystes par le coyote (*Canis latrans*), faisant de lui un hôte définitif de *N. caninum*. Aucun cas clinique de néosporose naturelle n'a été décrit chez Les carnivores sauvages bien qu'ils aient été exposés au parasite. En revanche, le renard bleu (*Alopex lagopus*) a été réceptif et sensible à une inoculation expérimentale du parasite. Par ailleurs, la transmission verticale a été mise en évidence chez le renard roux (*Vulpes vulpes*) [86] qui, par analogie au chien, pourraient être sensibles à *N. caninum* dans les conditions naturelles [87].

## 2.2. Les lésions

### 2.2.1. Chez les chiens.

#### a) Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques ne sont en général pas spécifiques à la néosporose chez le chien. On peut observer des lésions de nécrose au niveau du système nerveux central, des granulomes dans les tissus viscéraux ou des striations jaunes ou blanchâtres des muscles (surtout du diaphragme), ainsi que la présence d'un méga œsophage [47]. D'autre part, le cervelet peut s'atrophier et on note parfois, surtout chez les adultes, une dermatite ulcérate [51].

### b) Lésions microscopiques

L'histologie peut, comme chez les bovins, dévoiler des lésions assez typiques de la néosporose, mais le recours à l'immuno-histochimie est indispensable pour poser un diagnostic de certitude. En effet, l'immuno-histochimie permet de différencier les lésions dues à *Toxoplasma gondii*, à *Sarcocystis canis* et à *Neospora caninum*. Les parasites sont observés fréquemment sur des coupes de cerveau, de moelle épinière et des muscles, mais aussi, parfois, sur le cœur, les poumons, le foie ou les reins, principalement lors de forme aiguë et généralisée [47];[51].

### 2.2.2. Chez les bovins.

Les lésions ne se trouvent que chez les avortons ou les veaux nés infectés et décèdent rapidement après leur naissance.

#### a) Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques sont rares et sont localisées uniquement au niveau du cerveau, du cœur et des muscles. On observe alors de petits foyers de nécrose sous forme de stries de couleur pâle à foncée. Certains fœtus, en proportion assez grande, sont momifiés ou autolysés [88].

#### b) Lésions microscopiques

Il ne semble pas exister de différence lésionnelle microscopique statistiquement valable entre les fœtus d'âge différent [89]. Les lésions peuvent être de type dégénératifs ou inflammatoires et sont localisées au niveau de nombreux tissus fœtaux, plus particulièrement au niveau du système nerveux central, du cœur, des muscles striés et du foie [88];[89].

Si l'état de conservation des tissus le permet, l'examen anatomo histologique de l'encéphale montre des lésions d'encéphalite non suppurative,

avec des foyers caractéristiques d'infiltration multifocale, parfois associés à des foyers nécrotiques localisés, ou encore, à des foyers de gliose [89]. Les foyers de gliose sont souvent adjacents des capillaires, dont l'endothélium est hypertrophié, et entourés d'un amas de cellules mononuclées.

D'une manière générale, la lésion se présente comme un foyer nécrotique central, le plus souvent situé au niveau de la matière blanche ou du tronc cérébral, entouré de cellules inflammatoires mononuclées et de cellules gliales. L'examen révèle une infiltration leucocytaire non suppurative des méninges [88]. Parfois, les foyers nécrotiques sont minéralisés [90]. En ce qui concerne le myocarde, les lésions sont de type inflammatoire, localisées ou diffuses, et de type nécrotique et sont souvent marquées. Cependant, l'autolyse rapide du cœur n'autorise généralement pas cette observation [89]. Une infiltration de cellules mononuclées infiltrant l'épicarde, le myocarde et l'endocarde est souvent observée [88].

Au niveau du foie, l'histologie révèle des foyers inflammatoires riches en cellules mononuclées et en foyers de nécrose hépatocytaire, parfois associés à de la fibrine. Les lésions d'hépatite sont plus nombreuses lors d'épizootie d'avortements dans un élevage par rapport à des élevages où les avortements sont sporadiques [88];[89]. La combinaison de lésions multifocales d'encéphalite et de myocardite permet d'émettre une forte suspicion de néosporose [89]. Des foyers de cellules inflammatoires mononuclées sont visibles dans plusieurs autres organes ou tissus. Ainsi, des infiltrations locales de cellules mononuclées sont visibles, de manière rare, dans les muscles squelettiques. Des foyers de nécrose, de petite taille, sont également visibles dans le rein et le placenta [88]. Les poumons peuvent aussi être touchés [61].

Au niveau cérébral, les tachyzoïtes sont assez souvent identifiés et peuvent être en groupe ou isolés, ce qui rend, dans ce dernier cas, leur recherche plus difficile. Ils sont généralement situés au niveau des lésions. Les kystes de *Neospora caninum* sont très rarement identifiés au sein des tissus fœtaux et ne sont quasiment visibles qu'au niveau du cerveau. Ils ne sont en principe pas situés au niveau des lésions [89].

La présence de tachyzoïtes au niveau du foie est souvent associée à un épisode d'avortements épizootiques au sein d'un élevage. Ceci est sans doute à mettre en relation avec une infection primitive de la mère, avec une quantité élevée de parasites, provoquant un phénomène aigu [89]. L'observation de tachyzoïtes au niveau du cœur et des muscles squelettiques est possible, mais peu fréquente, notamment du fait de l'autolyse très rapide du cœur [89].

### 2.3. Pathogénie

*Neospora caninum* est un parasite intra cellulaire pathogène, il peut rapidement détruire les cellules de l'hôte par multiplication active sous forme tachyzoïtes dans différents tissus et organes des chiens infectés (système nerveux et muscles principalement, mais aussi, foie, rein, pancréas, surrénales, thyroïde). De plus, ils ont été retrouvés dans les ovaires et dans l'utérus de chiennes présentant des troubles de la reproduction [35]. Selon une évolution identique observée chez d'autres hôtes intermédiaires développant des troubles de la reproduction. Les kystes tissulaires intacts n'entraînent pas de réaction de l'hôte, alors que les kystes rompus s'accompagnent de la formation de granulomes autour de kystes tissulaires dégénérés [45]

Peu de données existent concernant la pathogénie des avortements à *Neospora caninum* chez le chien. Il semble tout de même que, comme chez les hôtes intermédiaires, le stade de la gestation au moment de l'infection soit un facteur primordial. Ainsi, pour Dubey et Lindsay, à 35 jours de gestation [90] la transmission du parasite a conduit à la naissance de chiots atteints, alors que pour Cole et al. [91] l'infection provoquée à 21 jours de gestation est suivie d'avortements.

La première transmission verticale expérimentale de *Neospora caninum* chez la chienne gestante fut mise en évidence en 1989 par Dubey et Lindsay [90] Lors du second mois de gestation suite à l'inoculation d'un total de  $1,5 \times 10^6$  tachyzoïtes par voies sous-cutanée et intramusculaire chez une chienne Beagle,

autour du 35<sup>ème</sup> jour de gestation. La mise bas a donné lieu à huit chiots dont un mort-né, quatre chiots morts : trois à l'âge de deux à trois jours et un à 20 jours, et trois chiots restés en bonne santé. Des tachyzoïtes ont été retrouvés dans les organes du chiot mort à 20 jours et *Neospora caninum* a été identifié par culture cellulaire dans tous les tissus des chiots morts mais également dans les placentas, ce qui laisse supposer la transmission par voie placentaire.

Une seconde expérimentation fut réalisée par Cole *et al* 1995 [91] pour évaluer l'impact de l'infection par *Neospora caninum* de manière plus précoce en début de gestation. Ils ont inoculé à six chiennes, par voie sous-cutanée, une dose de  $5 \times 10^6$  de tachyzoïtes, plus précocement au cours de la gestation, vers 21 jours. La gestation a été suivie par échographie et dès qu'une mort foetale était constatée, la chienne était euthanasiée et autopsiée. Cinq chiennes sur six ont présenté des troubles de la gestation (tableau 2.1) [91].

- La chienne 1 fut autopsiée 10 jours après la date prévue du terme, 1 avorton macéré et 3 foetus résorbés étaient présents dans l'utérus.
- La chienne 2 fut tuée à 43 jours de gestation et portait 6 foetus macérés ; *Neospora caninum* fut mis en évidence par histologie sur un des cerveaux.
- La chienne 3 fut euthanasiée à 99 jours post mise bas avec 3 chiots vivants.
- La chienne 4 fut retrouvée morte à 38 jours de gestation, des lésions de néosporose aiguë furent constatées à l'autopsie, ainsi que 3 foetus résorbés *in utero*.
- La chienne 5 fut autopsiée à 54 jours de gestation, 4 foetus résorbés furent également retrouvés. Le nombre de foetus des chiennes 4 et 5 n'a pas pu être déterminé avec certitude, du fait de l'avancement de la résorption

Tableau 2.1 : Troubles de la gestation observés après infection expérimentale de 6 chiennes à 21 jours de gestation [91].

| Femelle (j)   | Titre IFAT | Nombre de chiots | Statut   |
|---|------------|------------------|--|
| 1 (73)  | 400        | 4                | 1 macéré 3 résorptions   |
| 2 (43)  | 400        | 6                | 6 macérés  |
| 3   | 200        | 3                | 3 nés vivants  |
| 4 (38)  | ND         | 3                | 3 résorbés   |
| 5 (54)  | 100        | 4                | 4 résorbés   |
| 6 (39)  | 400        | 12               | 7 morts (3 résorptions), 2 vivants, 3 ND<br>Parasites identifiés pour 8/9 chiots<br>et 4/1 placentas |
| (j) nombre de jours de gestation lors de l'observation (euthanasie)<br>ND non déterminé |            |                  |  |

Les résultats de ces études démontrent clairement que l'infection par *Neospora caninum* en début de gestation peut conduire à des morts foetales ainsi que des résorptions embryonnaires. Deux observations cliniques récentes indiquent que des troubles de la reproduction pourraient apparaître lors d'infections naturelles chez la chienne gestante.

Fioretti *et al.* En 2006 [92] rapportent le cas d'une chienne qui, ayant préalablement mis bas une portée infectée, a été par la suite remise à la reproduction. Elle a avorté à 45 jours et la présence du parasite a été démontrée dans les placentas et les tissus foetaux.

En France, Tainturier en 2009 [93] rapporte le cas d'une chienne Dogue de Bordeaux séropositive à *Neospora* ayant présenté des résorptions embryonnaires répétées lors de gestations successives, sans qu'aucune cause autre que la néosporose ne puisse être mise en évidence. Traitée jusqu'au terme par un anti-coccidien, le décoquinat, à la dose de 2mg/kg par jour, elle a donné naissance à deux chiots en bonne santé, ayant survécu.

Les foetus sont exceptionnellement expulsés avant J 40 ou J 45 chez la chienne, l'arrêt de la gestation peut alors passer inaperçu cliniquement. Aussi, de nombreux arrêts de gestation s'expriment par de l'infertilité apparente. Lorsqu'elles peuvent être observées, les pertes vulvaires donnent une indication clinique sur l'avortement.



Photo 2.3 : Avortons chez une chienne [94].

#### 2.4. Les mécanismes immunitaires de l'avortement chez la chienne

Les mécanismes immunitaires à l'origine de ces avortements n'ont pas été étudiés chez le chien, seuls les dommages placentaires et fœtaux sont rapportés pour expliquer la mort foetale. Chez le foetus, les résorptions et macérations sont fréquentes et rendent l'examen difficile. *Neospora caninum* a néanmoins été mis en évidence sur des coupes histologiques foetales de cœur, de foie, de poumon, de méninges, de cerveau (substance grise et blanche), de nœud lymphatique, de moelle épinière, de muscle, d'intima des vaisseaux sanguins, de sinus, de

choroïde et de sclère oculaire, d'intestin, de pancréas, de cartilage, de rein et de peau [91];[20]. Sur ces foetus, les réactions inflammatoires étaient souvent absentes, probablement du fait de l'immaturation du système immunitaire foetal. Au niveau placentaire, le parasite ainsi que des lésions de nécrose focales, touchant les trophoblastes foetaux et la lamina propria maternelle ont été retrouvées à l'examen histologique [91]. Concernant les chiots atteints cliniquement de néosporose à la naissance ou les mort-nés, les lésions microscopiques typiques de néosporose sont couramment observées : méningo-encéphalite, polyradiculonévrite, myosite. Le plus souvent, ces lésions sont multifocales, nécrotiques, accompagnées d'une infiltration cellulaire péri vasculaire. [91];[90]; [95].

## CHAPITRE 3

### ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

#### 3.1 .sources du parasite :

Les sources de parasites sont de plusieurs types, l'ensemble des hôtes intervenant dans le cycle évolutif ainsi que la résistance du parasite dans le milieu extérieur sont encore mal connus.

##### 3.1.1. Chien

Le chien est la première source d'infection puisqu'en tant d'hôte définitif, il transmet la maladie aux hôtes intermédiaires, en particulier aux bovins, mais aussi aux ovins, caprins, équins et aux cervidés sauvages. A l'heure actuelle, la production d'oocystes n'a été observée que dans l'espèce canine, depuis l'expérience de Mc Allister [22]. L'équipe américaine a nourri quatre chiens beagle pendant 3 jours avec des souris expérimentalement infectées de kystes tissulaires.

L'introduction d'un nouveau chien dans l'élevage est généralement à l'origine d'une épidémie d'avortements. Il s'agit soit d'un jeune chien ou d'un adulte importé dans la ferme, soit de la naissance d'une portée de chiots dans l'exploitation. Il a été montré que l'augmentation du nombre d'avortements intervient dans les 18 mois qui suivent l'arrivée du nouveau chien. Ceci s'expliquerait par la contamination du chien à son arrivée par consommation de placentas, de fœtus avortés ou de liquide utérin, puis par la transmission aux bovins encore sains [96]. Aucune donnée ne permet actuellement de savoir si le chien peut réexcréter des oocystes par la suite sans recontamination [21].

### 3.1.2. Bovins

Les bovins constituent la deuxième source de parasites à l'origine de la contamination d'autres bovins, lors de transmission verticale, mais aussi des hôtes définitifs, lors de transmission horizontale. Ainsi, l'achat d'un bovin infecté intégré peut être à l'origine de l'infection du troupeau. Si la transmission au sein du troupeau n'est que verticale, seule la lignée de ce bovin est atteinte et cela représente peu d'animaux, bien que ce nombre augmente lentement. Par contre, s'il y a transmission de l'infection à un hôte définitif à la faveur d'un avortement, le nombre de bovins infectés dans le troupeau peut augmenter très rapidement, et être suivi d'une véritable flambée des avortements. [97].

### 3.1.3. Autres espèces

D'autres animaux sont également soupçonnés d'être des sources de parasites. Il s'agit d'une part, des autres animaux domestiques ou sauvages reconnus comme hôtes intermédiaires tels que les ovins, caprins, équins et cervidés qui joueraient alors le même rôle que les bovins et d'autre part, des canidés sauvages pouvant intervenir au même titre que le chien : il s'agit des renards, des coyotes, des dingos ou des loups, mais aucune excrétion d'oocystes n'a encore été mise en évidence dans ces espèces [98]. Le rôle des oiseaux est aussi mis en question puisque des études ont montré une corrélation entre le nombre de volailles présents dans une exploitation et la séroprévalence à *Neospora caninum* [99].

### 3.1.4. Milieu extérieur

La source d'exposition, est le milieu extérieur puisque les oocystes s'y retrouvent après leur émission. C'est d'ailleurs dans le milieu extérieur qu'a lieu la sporulation nécessaire à l'infection des hôtes intermédiaires. La contamination des aliments [96] ou de l'eau [98] par des oocystes est alors source d'infection. Ainsi, lors de l'étude du mode de transmission dans plusieurs troupeaux, il a été démontré qu'il existait une source d'exposition commune entre tous les animaux

séropositifs de certains élevages : les bovins qui sont dans le même bâtiment et qui consomment la même alimentation sur une courte période peu de temps avant l'apparition des premiers avortements. Il faut alors suspecter, soit la survie du parasite dans l'environnement, soit une recontamination de cet environnement suite à la défécation d'un chien ou d'un autre hôte définitif dans les couloirs d'alimentation ou dans les silos de stockage [96].

### 3.2. Resistance du parasite

Peu de données existent concernant la résistance du parasite dans l'environnement. On estime que sa résistance est comparable à celle de *Toxoplasma gondii* en raison de sa proximité.

#### 3.2.1. Tachyzoïtes

Les tachyzoïtes de *Neospora caninum* ne résistent pas à l'autolyse des tissus [100]. Ils sont tués par l'acide chlorhydrique et la pepsine, mais pas par la trypsine à 1% [101]. Cependant, les tachyzoïtes de *Neospora caninum* peuvent conserver leur pouvoir Pathogène pour les souris, après huit années consécutives de passages continus en culture cellulaire [34]. Ils peuvent également rester infectieux après cryoconservation dans de l'azote liquide [102]. Ce qui n'est pas le cas de la forme bradyzoïte.

#### 3.2.2. Bradyzoïtes

La survie des bradyzoïtes, inclus dans des kystes, chez un hôte intermédiaire Cliniquement normal, est de plusieurs années [102]. Les kystes à bradyzoïtes de *Neospora caninum* sont résistants à l'acide chlorhydrique et à la pepsine et, par conséquent, à l'acidité de l'estomac des carnivores [101]. Une étude a démontré qu'ils peuvent également survivre au moins 14 jours dans le cerveau réfrigéré à 4°C, mais deviennent non infectieux après une journée à -20°C [103].

Il existe cependant un exemple de résistance dans le cerveau d'un veau à -52°C [104]. Par analogie avec *Toxoplasma gondii*, on peut supposer qu'ils sont résistants assez longtemps à la décomposition des tissus [105].

### 3.2.3. Oocystes

Par rapprochement avec *Toxoplasma gondii*, on peut penser que la résistance des oocystes sporulés est importante dans le milieu extérieur [28];[29]. De la même manière, les oocystes pourraient résister plus de 30 minutes à 55°C et plus d'un an dans le milieu extérieur, à température ambiante. Ils seraient résistants aux désinfectants tels que l'alcool ou le formol, mais sensibles à l'ammoniaque [106].

De nombreuses recherches doivent, par conséquent, encore être menées en ce qui concerne la sensibilité et la résistance des différentes formes du parasite.

### 3.3. Réceptivité et sensibilité

De nombreuses espèces animales sont connues en tant que hôte intermédiaire. Ainsi, les bovins, les ovins, les caprins, les équidés, les canidés et certains animaux sauvages tels que les renards [98], les coyotes [107], les cerfs, les buffles et les chameaux sont naturellement réceptifs à l'agent pathogène [53].

Expérimentalement, la souris, le rat, le chien, le renard bleu, la chèvre, le chat, le mouton, le coyote, la gerbille, le lapin, les bovins et les singes (les macaques plus précisément) ont pu être infectés en tant que hôte intermédiaire [29]. Il faut cependant noter que la plupart des souches murines sont relativement résistantes à la néosporose et qu'elles ne sont infectées qu'à la faveur d'une baisse de l'immunité provoquée par une injection de corticoïdes. Il en est de même pour tous les rongeurs possédant une compétence immunitaire normale (rats et souris) [53].

### 3.4. Transmission du parasite

Il existe deux modes de transmission de la néosporose chez le chien

#### 3.4.1. Transmission verticale ou transplacentaire

La première observation d'une transmission verticale d'un protozoaire s'apparentant à *Neospora caninum* chez le chien fut rapportée par Cummings [108]. *Neospora caninum* se multiplie sous forme tachyzoïte dans différents tissus et organes des chiens infectés (système nerveux et muscles principalement, mais aussi, foie, rein, pancréas, surrénales, thyroïde), selon une évolution identique à ce que l'on observe chez d'autres hôtes intermédiaires développant des troubles de la reproduction, de plus, des tachyzoïtes ont été retrouvés dans les ovaires et dans l'utérus de chiennes présentant de tels troubles [35].

Un protozoaire avait alors été observé sur 5 chiots de race labrador atteint de polyradiculonévrite sévère. En 1988 Cummings et Dubey [108];[109], ont remis la même chienne à la reproduction avec le même mâle et donne naissance à 7 chiots, qui ont une croissance normale jusqu'à l'âge de 5 à 6 semaines, âge pour lequel ils développèrent tous des signes neurologiques de néosporose [109]. Trois de ces chiots furent euthanasiés et soumis à des examens ; le parasite *Neospora caninum* fut observé sur coupe histologique et isolé sur culture cellulaire. Depuis, les observations de chiots infectés congénitalement sont nombreuses, par exemple : Dubey et al en 1990 [110] ; Barber et Trees en 1996 ; [46] Dubey et al. en 1998 [49].

Dans une autre expérience, une chienne labrador étudiée par Dubey et al En 1988 a transmis le parasite à ses chiots sur deux portées successives. De la même manière, une équipe menée par Dubey a étudié la transmission du parasite dans un élevage de chien de race Pointer de manière rétrospective, sur 4 portées apparentées [110]. Les différentes portées obtenues sont schématisées dans la (figure 3.1).

Sur les 39 chiens de l'élevage, 29 ont présenté une paralysie postérieure. Six chiots de deux portées distinctes furent autopsiés et présentaient une encéphalomyélite ; des tachyzoïtes et des kystes tissulaires de *Neospora caninum* furent retrouvés dans le cerveau et la moelle épinière de chacun des chiens. Par immunohistochimie, l'organisme réagissait fortement vis-à-vis des anticorps anti-*Neospora* mais pas vis-à-vis des anticorps anti-*Toxoplasma gondii*, à l'exception d'un cas.

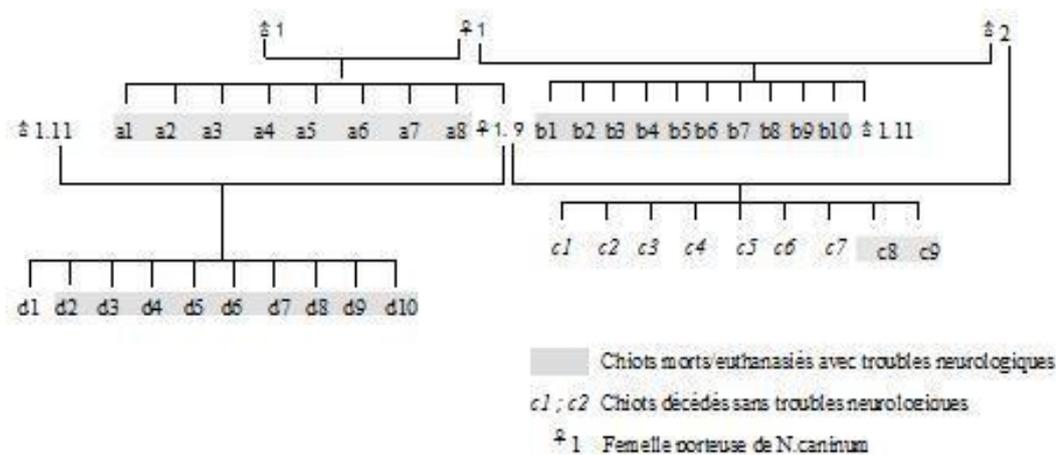


figure 3.1 : Transmission transplacentaire répétée de *Neospora caninum* à la descendance dans un élevage de Pointer [110].

Dans cet élevage, le parasite s'est transmis à plusieurs portées successives. Le fait que plusieurs portées soient atteintes lors de plusieurs générations successives, suggère une réactivation de *N. caninum* chez les chiennes gestantes et la transmission de l'infestation lors de la gestation.

Dans une étude prospective en 1996 Barber et Trees [46] portant sur 17 chiennes mises à la reproduction et nettement séropositives (titre en anticorps > 1/50 en immunofluorescence indirecte). Vingt portées, d'une taille moyenne de  $6,5 \pm 2,8$  chiots, ont été suivies. Une prise de sang a été réalisée sur les chiots à cinq semaines d'âge, soit assez tardivement pour exclure l'interférence avec les anticorps d'origine maternelle.

Dans une autre étude prospective des même auteurs, 373 femelles reproductrices ont été testées, et 50 avaient un titre en anticorps supérieur à 1/50

par IFAT. Dix-sept de ces femelles furent mises à la reproduction. Un total de 20 portées a été étudié, avec une taille moyenne de 6,5 +/- 2,8 chiots, pour lesquelles l'ensemble des sérums des chiots n'a malheureusement pas pu être collecté. Quatre chiots sur 188 testés (3%) étaient séropositifs et 3% des chiots nés ont présenté des symptômes cliniques. Ainsi près de 80% des chiots nés de mères contaminées ne présentaient pas de titre décelable d'anticorps. Ces résultats semblent démontrer que la transmission de *N. caninum* au cours de la gestation est variable et loin d'être systématique.

Le parasite semble d'autant plus transmis à la descendance que le titre en anticorps de la mère est fort. Dans une étude Barber et Trees [46] le pourcentage d'animaux infectés nés de mère faiblement positive est de 5% (% estimé : 4-14%), alors qu'il est de 89% (% estimé 35-96%) pour les mères fortement positives. Ils observent une forte corrélation (avec un coefficient de corrélation de 0,98), entre le titre sérique en anticorps et la proportion de chiots infectés de façon congénitale (Tableau 3.1).

Tableau 3.1: Influence du taux d'anticorps maternels sur la transmission de *Neospora caninum* à la descendance [46].

| Titre en anticorps IFAT de la mère   | Nombre de chiots nés | Nombre de chiots testés | Nombre de chiots séropositifs | Pourcentage séropositifs/testés | Intervalle possible* |
|--|----------------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------|
| 50   | 91                   | 82                      | 4                             | 5                               | 04-14                |
| 200  | 46                   | 41                      | 9                             | 22                              | 20-30                |
| 800  | 57                   | 47                      | 15                            | 32                              | 26-44                |
| 12800  | 23                   | 9                       | 8                             | 89                              | 35-96                |
| Total  | 217                  | 179                     | 36                            | 20                              | 17-34                |
| *minimum calculé à partir de nombre de séropositifs/nombres nés ; maximum calculé en supposant que tous les chiens non testés sont séropositifs. |                      |                         |                               |                                 |                      |

Même si le potentiel de transmission à la descendance est très fort, les différents modèles mathématiques de transmission ont montré que cette dernière n'était pas suffisante pour expliquer la persistance de l'infection au sein des troupeaux : le mode de contamination par voie horizontale doit également être pris en compte [111].

### 3.4.2. Contamination horizontale

Les chiens se contaminent en ingérant des kystes tissulaires des animaux infectés [34]. Les avortons, tissus placentaires et liquides amniotiques sont des sources potentielles d'infection. Les produits carnés crus sont aussi des sources potentielles de parasite. Au Royaume-Uni, L'alimentation des chiens de chasse avec de la viande de bovins crus est vraisemblablement responsable de la très forte séroprévalence observée dans cette population comparée à celle de la population canine urbaine [112].

L'excrétion d'oocystes par le chien a pu être provoquée après ingestion de tissus naturellement infectés – cerveau de buffle [113] ou placenta de bovin [114] contenant des souches de *Neospora caninum* (appendice A) ou infectés expérimentalement (induction de l'infection chez l'animal d'expérimentation, puis alimentation du chien avec les tissus infectés).

Ni l'ingestion de lait contaminé par des tachyzoïtes [114], ni la consommation de foetus contaminés naturellement [115] n'ont induit une excrétion d'oocystes, même si le faible nombre d'études à ce sujet ne permet pas de conclure définitivement sur ces voies possibles de contamination.

La durée d'excrétion est discontinue et se fait par vagues. Elle est plus importante chez le chiot que chez l'adulte. Les chiens nourris avec des tissus bovins semblent excréter des oocystes en plus grand nombre que ceux nourris avec des tissus murins, de même que les chiots excrètent plus que les adultes. Ainsi, si on regroupe les données des études menées par Gondim *et al* en 2002

et 2005, on note que sur les 12 chiots utilisés, l'excrétion moyenne est de 166 400 oocystes, alors qu'elle est de 2 900 pour les adultes [5];[6].

Certains chiens traités par corticothérapie à dose immunosuppressive ont excrété plus de 100 000 oocystes après ingestion de cerveaux contaminés, ce qui laisse suggérer que l'immunodépression majeure l'excrétion [4];[116]. Les oocystes sont la clé dans l'épidémiologie de la néosporose ils sont très résistant comme les oocystes des autres coccidies [117];[118].

### 3.4.3. Contamination vénérienne

Une contamination par voie vénérienne semble possible mais peu évidente chez la vache et pour l'animal d'expérimentation. Chez la souris, un passage du parasite dans les testicules 7 jours après inoculation par voie intra péritonéale a été démontré [119]. Chez la vache, après inoculation par voie intra-utérine du parasite, une parasitémie a été mise en évidence, pour des quantités inoculées allant de  $10^2$  à  $10^5$  tachyzoïtes [83]. Au-delà de  $10^4$  parasites inoculés, une sérologie positive durable a été retrouvée, ce qui confirme la possibilité d'une contamination utérine [83]. Même si de l'ADN de *Neospora caninum* a été retrouvé de manière sporadique dans du sperme de taureaux séropositifs, à des concentrations équivalentes à 1 à 2,8 parasites par ml de semence (et jusqu'à 7,5 parasites par ml pour un échantillon [120], ces résultats laissent à penser que si des parasites viables se retrouvent dans le sperme, c'est à des concentrations faibles et de manière exceptionnelle et donc certainement en quantité insuffisante pour provoquer une infection [121]. De plus, les essais de transmission de la néosporose par insémination artificielle via du sperme contenant des tachyzoïtes ont échoués, les animaux inséminés sont restés séronégatifs [122];[123]. Le transfert d'embryons est recommandé comme méthode de contrôle aussi longtemps que le statut de la vache donneuse est positif [124];[125].

### 3.4.4. Contamination d'hôte à hôte

Il n'y a pas de transmission de *N. caninum* de la vache à la vache [8]. Lors d'une étude, 25 génisses séronégatives ont été élevées au contact de 25 génisses

séropositives. Toutes les génisses séronégatives le sont restées et ont donné naissance à des veaux séronégatifs vis-à-vis de *Neospora caninum*, alors que les génisses séropositives, bien que n'ayant montré aucun signes cliniques, ont donné naissance à des veaux infectés congénitalement.

### 3.5. Situation épidémiologique de la néosporose

#### 3.5.1 La séroprévalence de N.caninum dans différents pays

L'infection à *Neospora caninum* a été signalée dans la plupart des régions du monde dont l'Australie, Nouvelle-Zélande, Europe, Corée, Japon, Thaïlande, et les Amériques, l'Afrique. La séroprévalence vis-à-vis de *Neospora caninum* a été évaluée dans de différents pays et chez de nombreuses espèces domestiques et ou sauvages.

#### 3.5.2. La séroprévalence de N- caninum chez l'espèce canine (le chien).

Des études sérologiques par immunofluorescence et technique ELISA ont montrés que le pourcentage de la néosporose canine varie de 0 % chez chiens de ville au Brésil ( région de Paraná) et chez les chiens de campagne au Kenya jusqu'à 97,5 % dans une ferme de bovins à 100 % dans une ferme d'ovins en nouvelle Zélande [50].

Différentes études ont mentionnées une nette comparaison de la séroprévalence entre les chiens de ville et chiens de campagne. Dans Une telle étude réalisée au japon, on constate que la séroprévalence est significativement plus importante chez les chiens de fermes ou chiens errants que la population canine urbaine (31,3% vs 7,1%) [126], au pays- Bas (23,6% vs 5,5%) [127], en Corée (21,6% vs 8,3%) [128], en Argentine (48% vs 26,20%) [129], au Mexique (57% vs 20%) [130], au Brésil (Paraná) (25,3% vs 12,7%) [131], à Rio Grande (20,4% vs 5,5%) [132]. En Iran (28% vs 11,3%) [133], en Algérie (Alger) (44.4% vs 12%) [11] en Inde (21,4% vs 6,9%) [134]. Cette forte exposition est certainement liée au régime alimentaire de ces chiens fréquemment constitués de placentas bovins de colostrum ou de lait [96]. Dans le Nord Ouest de l'Italie, la même

corrélation avec le milieu de vie est retrouvée : les séroprévalences (Test NAT, *Neospora* Agglutination Test) aux dilutions 1/40, 1/80 et 1/160 étaient significativement plus élevées en milieu rural (36,4%, 19,5%, 9,9% respectivement pour les 302 chiens), qu'en milieu urbain (20,2%, 10,6%, 4,8% respectivement, pour les 188 chiens) [84], une corrélation a pu être faite en Allemagne entre la séroprévalence vis à vis de *Neospora caninum* et l'existence de troubles cliniques évoquant une néosporose : 4% de séropositivité dans le groupe témoin, contre 13% dans le groupe suspect clinique [135]. La séroprévalence des chiens à travers le monde depuis 2001 à 2011 est résumé dans (appendice B).

### 3.5.3. La Séroprévalence de l'infection à *Neospora caninum* chez les carnivores sauvages dans le monde.

Les anticorps contre *n. caninum* ont été trouvés chez différents animaux sauvages (Tableau 3.2). En 2010 André et al [136] ont rapportés des séroprévalences en suivant des animaux sauvages en captivités dans les zoos du Brésil : 11 sur 35 chez le chat (*leopardus tigrinus*), 8 sur 13 chez le jaguar (*panthera onca*), 5 sur 18 chez le puma (*puma concolor*), 4 sur 6 chez le tigre (*panthera tigris*), 2 sur 3 chez le loup européen (*canis lupus*).

Tableau 3.2: La Séroprévalence de la néosporose chez les carnivores sauvages dans le monde [137].

| <b>Pays</b>        | <b>Test utilisé</b>   | <b>Effectif testé</b> | <b>Résultats (Positifs)</b> | <b>Source</b> |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------|
| <b>Etats-Unis</b>  | IFAT (≥1:25)          | 52 coyotes            | 5 (10%)                     | [24]          |
| <b>Etats-Unis</b>  | Agglutination (≥1:25) | 26 renards gris       | 4 (15,6%)                   | [138]         |
| <b>Belgique</b>    | IFAT (>1/64)          | 123 renards roux      | 21 (17 %)                   | [98]          |
| <b>Royaume Uni</b> | IFAT                  | 54 renards roux       | 1 (2%)                      | [139]         |
|                    | IFAT                  | 16 renards roux       | 1 (6%)                      | [87]          |
| <b>Irlande</b>     | IFAT (1/1600)         | 70 renards roux       | 1 (1,4%)                    | [140]         |
| <b>Suède</b>       | Agglutination ELISA   | 221 renards roux      | 0 (0%)                      | [141]         |

#### 3.5.4. La séroprévalence de N- caninum chez l'espèce Bovine

La prévalence sérologique chez les bovins varie en fonction du pays, de la région, du type de test sérologique utilisé. La séroprévalence a été observée dans différents pays chez les vaches laitières et allaitantes.

N- caninum est la cause principale d'avortement dans certains pays .il est considéré comme responsable de 20 à 43 % des avortements en Californie, de 17 à 30 % en Nouvelle-Zélande et 21% en Australie [142];[58];[143].La séroprévalence de N- caninum chez l'espèce Bovine, est variable entre les pays et les troupeaux d'une même région [144], du type d'élevage, de la présence ou non d'un avortement chez l'animal examiné.

Dans une étude européenne en 2006 la prévalence individuelle réelle de la maladie varie de 0,5% en Suède, à 16,2% en Espagne, alors que la prévalence de troupeaux atteints varie de 30% en Suède à 80% de troupeau atteint au Pays-Bas [145]. Dans cette même étude, la prévalence individuelle de la maladie apparaît comme plus élevée pour les bovins laitiers par rapport aux bovins allaitants en Allemagne et au Pays-Bas (respectivement 4,1%, 13,3%, 15,8% de bovins laitiers atteints en Allemagne, Pays-Bas et Espagne, contre 1,6%, 9,9% 16,2% de bovins allaitant).

D'autres études comparent la séroprévalence des vaches laitières et les bovins de boucherie. Ainsi, au japon, la séroprévalence varie de 1,5% chez les bovins de boucherie à 20% chez les vaches laitières [146], en Allemagne avec 41% chez les bovins de boucherie et 50% pour les vaches laitières [147].

#### 3.5.5. Séroprévalence de *Neospora caninum* chez d'autres espèces domestiques :

La séroprévalence de la néosporose à été évaluée chez de nombreuses espèces domestique, et montre que l'infection peut toucher un très grand nombre d'hôte. Celle-ci est rapportée dans le (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : la prévalence des Anti N. caninum chez différentes espèces animales [148].

| Hôte                                 | pays                           | Nbre examinés | Positifs % | tests                 | titres | Reference |
|--------------------------------------|--------------------------------|---------------|------------|-----------------------|--------|-----------|
| Chat domestique<br>(Felis catus)     | Espagne                        | 20            | 15.0       | ELISA                 | VMRD   | [149]     |
|                                      | Hongrie                        | 330           | 0.6        | IFAT                  | 1:40   | [150]     |
| Chameau<br>(dromedaries)             | Emirats Arabe                  | 1119          | 13.7       | ELISA                 | VMRD   | [151]     |
| Camélidés<br>(d'Amérique<br>du sud ) | Argentine                      | 308           | 4.6        | IFAT                  | 1:25   | [152]     |
| Lama<br>(Lama glama)                 | Pérou                          | 175           | 2.9        | IFAT                  | 1:100  | [153]     |
| Cochon)<br>(Sus scrofa               | Sénégal,<br>Afrique de l'ouest | 60 sauvages   | 58.3       | ELISA                 | VMRD   | [154]     |
|                                      | Brésil                         | 130           | 3.1        | IFAT                  | 1:50   | [155]     |
| Yak<br>(Bos grunniens)               | chine                          | 46            | 2.2        | ELISA<br>(Herd Check) | IDEXX  | [156]     |
| Bovin Bali<br>(Bos javanicus)        | Indonésie                      | 438           | 5.5        | ELISA                 | IH-p38 | [157]     |
| Gaur<br>(Bos gaurus<br>f. frontalis) | Inde                           | 159           | 10.0       | ELISA                 | VMRD   | [158]     |
| Buffle d'eau<br>(Bubalus bubalis)    | Argentine                      | 449           | 64.0       | IFAT                  | 1:100  | [159]     |
|                                      | Iran                           | 181           | 37         | ELISA                 | IDEXX  | [160]     |
|                                      | Pakistan                       | 300           | 54.7       | ELISA                 | VMRD   | [161]     |
|                                      | philippines                    | 105           | 3.8        | ELISA                 | IH     | [162]     |

### 3.6. Moyens de lutte

#### 3.6.1 La vaccination

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Le coût du traitement ainsi que la faculté des protozoaires à développer des résistances aux molécules thérapeutiques ont incité les chercheurs à proposer des protocoles vaccinaux [50];[163].

Pour mettre en évidence le mécanisme de protection du fœtus au cours de la gestation, plusieurs modèles ont été proposés notamment l'injection de tachyzoïtes vivants, des lysats de Tachyzoïtes ou de vecteurs viraux porteurs de séquences recombinantes de *N. caninum* (vaccins à ADN) [164];[165]. Ces modèles vaccinaux ont été testés chez la souris, le chien, la brebis et la vache.

#### 3.6.1. a. Chez le Chien

Il existe une similitude structurelle de la protéine de surface NcSRS2 entre *N. caninum* et le virus de l'herpès canin. Cette similitude antigénique a été utilisée dans la mise au point d'un vaccin recombinant contre l'herpès à virus canin qui protégerait le chien contre la néosporose. En effet, il stimule la production des anticorps anti – *N. caninum* [166].

#### 3.6.1. b. Chez la Vache

Chez les bovins, L'infection fœtale *in utero* fait suite soit à une activation de l'infection latente chez la mère, soit à une consommation d'aliments contaminés par des oocystes de *N. caninum*. Le fœtus infectés peut être avorté ou naître contaminé. Les avortements surviennent le plus souvent dans le deuxième tiers de gestation [142];[167]. Une immunisation avant la mise à la reproduction suivie d'une infection expérimentale au 140ème jour de gestation a réduit le taux d'avortement dans le cheptel, [74]. Outre la protection contre la transmission vertical du parasite, une stimulation de l'immunité à médiation cellulaire avec une augmentation significative de la production d'INF $\gamma$  (l'interféron  $\gamma$ ) après l'infection ont été observées [168];[74].

Un vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués a obtenu une autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis (Neoguard®, Intervet USA). L'innocuité de ce vaccin commercial a été démontrée en élevage bovin [169]. Il permet d'obtenir une Séro -conversion vis-à-vis de *N. caninum* dans 76,6% des cas sans occasionner d'effets secondaires néfastes sur la production lactée ou sur la qualité de la viande des animaux immunisés. Ce vaccin réduit les avortements de 50% dans le troupeau [170];[171];[172]. Le vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués de *N. caninum* ne protège pas contre la transmission verticale dans un troupeau [173];[174];[175]. La vaccination n'est qu'à l'état d'expérimentation et la fabrication

d'un vaccin efficace et d'utilisation sécurisée nécessite, à l'heure actuelle, des recherches plus approfondies, notamment dans la connaissance antigénique concernant *Neospora caninum*.

### 3.6.2 Thérapeutiques possibles

L'approche thérapeutique de la Néosporose a été extrapolée à partir des recommandations pour le traitement sur de la toxoplasmose canine . L'efficacité des molécules a été prouvée sur des tachyzoïtes *in vitro* [176], puis des études *in vivo* ont porté sur des modèles de souris, de chiens et de Bovins.

#### 3.6.2.1. In vitro

Une quarantaine de principes actifs sans autorisation de mise sur le marché validé pour *N. caninum* ont été testés sur culture cellulaire dont la triméthoprime, la pyriméthamine, le décoquinate, le lasalocid/monensin, le nitazoxanide, le Toltrazuril, le ponazuril et certains thiazolides [177];[178];[101];[179]. Par ailleurs, l'artémisine, anti-coccidien dérivé de la pharmacopée végétale traditionnelle chinoise a été efficace sur des tachyzoïtes de *N. caninum in vitro* [180]. Des extraits alcooliques d'herbes médicinales asiatiques, autrefois utilisées comme antiparasitaires en médecine humaine, ont tué des tachyzoïtes de *N. caninum* en culture [181];[182]. La depudecine (0,5mg/ml) semble présenter une efficacité Thérapeutique *in vitro* [183].

#### 3.6.2.2. In vivo

##### 3.6.2.2. a. Chez le Chien

Les sulfamides, la pyriméthamine, le toltrazuril et la clindamycine ont été prescrits à des chiens infectés par *N. caninum* présentant ou non des signes cliniques [46];[49];[42];[48];[184];[185]. Le décoquinate est conseillé par le service de reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes aux chiennes gestantes, positives à *N. caninum* chez qui des avortements et/ou des résorptions fœtales ont été observés. (Tableau 3.4). Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable.

Il dépend de la rapidité d'apparition des signes cliniques (très mauvais lors d'installation rapide en quelques jours) et du délai séparant l'apparition des signes cliniques et le début du Traitement spécifique.

Il est possible d'observer une récupération totale ou fonctionnelle chez environ 50% de chiens soumis à un traitement approprié, mais beaucoup d'entre eux conserveront une démarche anormale, une amyotrophie ou une scoliose thoracique [47]. Les cas de néosporose canine qui ont le plus de chance de guérison sont ceux qui présentent le moins de signes d'atteinte du système nerveux central et qui sont traités très précocement après l'apparition des premiers signes cliniques. Les molécules proposées blanchissent les animaux [48] réduisent la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements. En conséquence, elles améliorent le taux de fécondité des chiennes ainsi que le nombre de chiots sevrés.

Tableau 3.4: Posologie des médicaments recommandés pour le traitement de la néosporose canine [186].

| Molécules                    | Posologie                             | Rythme de traitement                          | Références                          |
|------------------------------|---------------------------------------|---|-------------------------------------|
| Clindamycine                 | 11 à 22 mg/kg                         | 2 à 3 fois par jour pendant<br>4 à 6 semaines | [47];[49];[42];[48]<br>[187];[188]. |
| Sulfamidine – Triméthoprim   | 15 mg/kg                              |   |                                     |
| Pyriméthamine                | 1 mg/kg/jour                          |   |                                     |
| Pyriméthamine – Sulfadiazine | 0,25–0,5 mg/kg* ;<br>30mg/kg** / 12 h | pendant 2 à 4 semaines                        | [187]                               |
| Toltrazuril                  | 20mg/kg                               | 1 fois tous les 3 mois                        | [189]                               |
| Décoquinate §                | 0,05 – 0,25 mg/kg                     | 3ème semaine de gestation<br>jusqu'au terme   | §                                   |

\* Pyriméthamine ; \*\* Sulfadiazine ; § Service de Reproduction de l'Ecole nationale vétérinaire de Nantes

### 3.6.2.2. b. Chez le Bovin

Le décoquinate, le Toltrazuril, la Sulfadiazine-Triméthoprime ont été testés chez des bovins. Le décoquinate est un anticoccidien non antibiotique actif, dès le premier stade de l'infestation par les coccidies. Il est prescrit pour la prévention des coccidioses chez le veau (0,5mg/kg) et chez l'agneau (1mg/kg). Chez la brebis (2mg/kg), il diminue l'expression clinique de la toxoplasmose [190].

Chez la vache, utilisée à la dose de 1 à 2 mg/kg pendant 2 mois à partir du 4ème mois de gestation, il réduit la transmission placentaire ainsi que le taux d'avortement à *N. caninum*. [46];[191]. Il est prescrit pour la prévention des avortements chez la génisse et chez la vache allaitante.

### 3.6.3 Mesures prophylactiques de la néosporose:

La mise en place de mesures sanitaires est le seul moyen d'éviter ou d'éliminer la maladie.

#### 3.6.3.1. Elimination des animaux séropositifs

Si le nombre d'animaux séropositifs est assez faible et si la transmission est seulement verticale. Cette mesure peut donc être recommandée. L'éleveur doit alors étudier le rapport entre le risque encouru dans le cas où il garde l'animal (le principal danger reste l'avortement) et les pertes économiques liées à la réforme [192].

#### 3.6.3.2. Elimination des avortons et placentas

Il faut empêcher la poursuite du cycle parasitaire. Les animaux sauvages ou les chiens ne doivent pas avoir accès aux avortons, placentas, fluides fœtaux et/ou aux veaux morts. Ceux-ci doivent donc être mis dans des sacs poubelles fermés, incinérés, envoyés à l'équarrissage ou enfouis avec de la chaux. D'autre part, les chiens ne doivent pas avoir accès aux aliments des bovins (ensilage, concentrés, foin, eau) que ce soit dans les lieux de stockage ou dans les aires d'alimentation [192].

#### 3.6.3.3. Interdire l'accès aux chiens

Les mesures hygiéniques de défense vis-à-vis de l'infection à *Neospora caninum* visent à prévenir la transmission du chien, et des autres hôtes définitifs potentiels aux bovins, ainsi que la transmission via l'alimentation. Pour cela, il est recommandé d'éviter au maximum le contact avec les crottes de chiens (et surtout les chiots) et l'alimentation ou l'eau destinée aux bovins. Les chiens, ou autres hôtes définitifs, ne devraient pas avoir accès aux tissus infectés issus des hôtes intermédiaires [50];[5].

#### 3.6.3.4. Transfert d'embryons.

Chez le bovin l'embryon de 7 jours n'est pas encore infecté. Ainsi, un embryon issu d'une donneuse séropositive ne sera pas infecté si la receveuse est séronégative, mais un embryon de donneuse séronégative a un grand risque de s'infecter si la receveuse est séropositive [192]. Pour préserver certaines lignées génétiques, la transplantation embryonnaire est très intéressante. On pratique suivant une méthode définie par l'International Embryo Transfer Society au cours de laquelle l'embryon subit des lavages à la trypsine, et la receveuse est choisie séronégative [124].

## CHAPITRE 4

### DIAGNOSTIC DE LA NEOSPOROSE

#### 4.1. Diagnostic épidémioclinique.

Le diagnostic épidémiologique doit être toujours confirmé par un diagnostic clinique et de laboratoire étant donné que les symptômes tels que les troubles nerveux, la mortalité et les avortements ne sont pas pathognomoniques de la néosporose. La contamination du fœtus ne se termine pas toujours par un avortement [8];[193], mais parfois par la naissance d'un animal vivant porteur de *N. caninum* [194];[59];[167]. Ainsi, dès lors que des troubles de la reproduction sont observés dans une exploitation, il est opportun de réaliser un diagnostic étioclinique. Ce diagnostic repose d'une part sur : la sérologie, l'identification du parasite et/ou de lésions caractéristiques et d'autre part, sur l'analyse des données épidémiologiques enregistrées dans l'exploitation (figure 4.1).

Il faut noter que l'épidémiologie et les commémoratifs donnés par l'éleveur sont également à prendre en compte. Ainsi, si le nombre d'avortements est élevé dans une lignée donnée, la suspicion est renforcée. Pourtant, l'avortement n'est pas systématique chez une vache infectée. Il existe différents schémas à l'échelle d'une vache : vache positive n'ayant jamais avorté, vache présentant des avortements répétés ou non. De même, on peut observer différentes modalités à l'échelle d'un troupeau : cas sporadiques, épizootiques ou enzootiques [61]. Néanmoins, seul le diagnostic de laboratoire permet de confirmer une infection à *N. caninum* [1];[21].

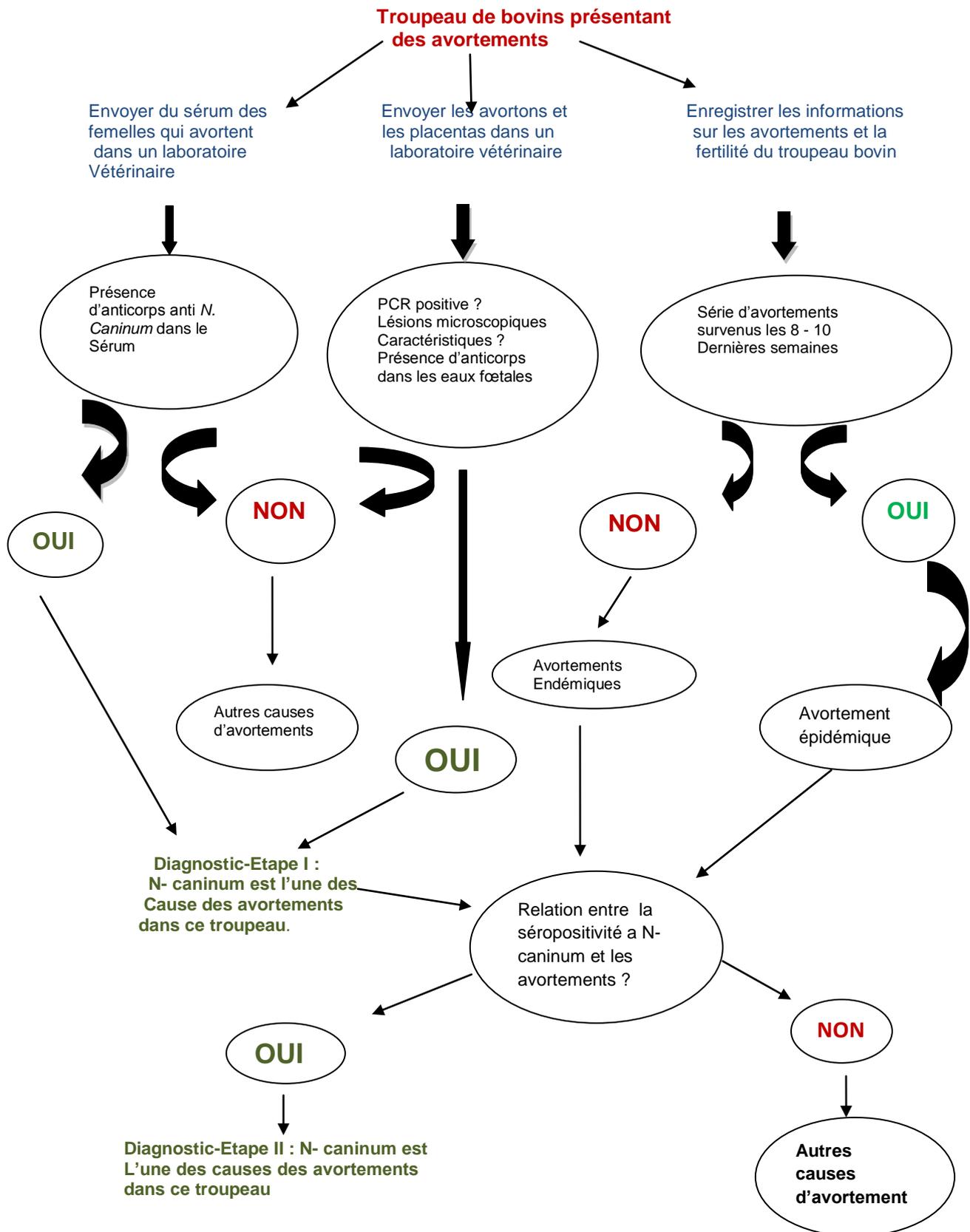


figure 4.1: Approche diagnostique de la néosporose dans un troupeau bovin [121] (Modifié).

## 4.2. Diagnostic expérimental

### 4.2.1. Méthodes de détection indirecte :

Les méthodes sérologiques sont des méthodes indirectes, L'infection à *N. caninum* entraîne souvent la production d'anticorps par différents tests qui seront démontrés. La présence d'Anticorps spécifique de *N. caninum* dans le sérum des animaux infectés indique que ces derniers témoignent d'une récente exposition de l'animal au parasite [196].

#### 4.2.1.1. Immunofluorescence indirecte (IFAT).

L'immunofluorescence indirecte est le premier test sérologique utilisé dans le diagnostic de la néosporose, d'abord chez le chien, puis le test a été développé dans de nombreuses autres espèces : le renard, le chat, les bovins, les ovins, les caprins, les chevaux, les rongeurs et les singes [196]. Chez les bovins, les anticorps fœtaux peuvent être détectés par immunofluorescence, majoritairement après 6 mois de gestation. Ceci correspond à la mise en place du système immunitaire par le fœtus, à partir du cinquième mois. Ce résultat prouve aussi que les fœtus peuvent rester vivants plus d'une semaine après leur infection intra-utérine [197]. Ce test est donc utilisable sur les adultes, le sang des veaux avant la prise colostrale et sur les liquides péritonéaux ou pleuraux du fœtus [198]. Le principe du diagnostic repose sur la mise en contact de tachyzoïtes intacts de *Neospora caninum* avec du sérum et sur la mise en évidence, ou non, d'immunoglobulines spécifiques de ces tachyzoïtes dans ce sérum. Les complexes antigènes – anticorps sont ensuite marqués à la fluorescéine. Cette méthode permet de donner un résultat quantitatif (titrage en anticorps) [196]. L'observation d'une fluorescence vive et continue tout autour des antigènes de départ confirme la présence des anticorps recherchés dans le sérum testé : l'animal est serologiquement positif. Par contre, si la fluorescence est limitée au pôle apical du tachyzoïte, la réaction est non spécifique : il existe des réactions croisées avec d'autres *Apicomplexa* [198]. Cependant, le fait d'utiliser des tachyzoïtes entiers (les antigènes de surface sont plus spécifiques du parasite que les composants intracellulaires) diminue le risque de réaction croisée avec

d'autres coccidies. Le test est considéré comme spécifique dans le diagnostic de la néosporose dans de nombreuses espèces animales [199];[200]. La sensibilité de ce test est également élevée [201]. La valeur seuil du test est variable, elle est généralement définie en fonction de plusieurs critères (caractéristiques du microscope, mais aussi de l'espèce ou encore du stade physiologique de l'animal testé par exemple). Cette valeur diffère donc selon les laboratoires commercialisant les tests, mais elle est la plupart du temps de 1/50 pour l'espèce canine et de 1/160 ou 1/640 chez l'espèce bovine [196].

On considère que le bovin est infecté lorsque le taux d'AC dépasse le seuil de 1/640<sup>ème</sup> [198]. Cette méthode demande de l'expérience pour la lecture des résultats car elle est très subjective. De plus, il semble préférable d'utiliser des antigènes (tachyzoïtes) isolés dans la même espèce que celle du sérum à tester. En effet, il n'est pas certain qu'il n'existe aucune différence antigénique en fonction des souches de *Neospora caninum* [196].

#### 4.2.1.2. Tests immuno-enzymatiques (ELISA)

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est le test de choix du fait de sa simplicité et de sa large diffusion au sein des différents laboratoires de diagnostique [202], en 1994 Bjorkman et collaborateurs ont été les premiers à détecter les anticorps spécifiques de *N. caninum* par ELISA. Plusieurs tests immuno-enzymatique ELISA sont actuellement disponibles dans le commerce. Les différentes techniques sont basés : soit sur des antigènes de surface des tachyzoïtes de *N. caninum* [203], soit sur des tachyzoïtes lysés (antigène natifs partiellement purifiés) [204];[200];[205], soit des antigènes recombinants [202]. certaines techniques améliorent le test ELISA en permettant de mesurer l'avidité des immunoglobulines G (IgG), ce qui autorise ainsi à différencier les infections chroniques, à haute avidité des IgG, des infections aiguës, à faible avidité, d'avoir une indication sur le risque d'avortement d'un animal [206]; [206];[196];[207].d'autres reposent sur l'inhibition compétitive par des anticorps monoclonaux spécifiques du parasite [208];[209].

Dans le test ELISA, l'antigène est fixé 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 conjuguée 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 [196]. la densité optique DO a la longueur d'onde adéquate est alors déterminée par un spectrophotomètre. Un seuil de positivité (cut off) est déterminé pour différencier les positifs des négatifs.

L'avantage de l'ELISA qu'elle présente une lecture plus objective et une automatisation aisée par rapport à l'IFAT le résultat est donc uniforme [196]. C'est une technique bien adaptée pour le dépistage réalisé sur un grand nombre d'échantillons des enquêtes sérologiques [210];[196]. Chez le cheval, les tests sérologiques utilisant des antigènes de *Neospora caninum* peuvent être utilisés pour détecter des anticorps dirigés contre *Neospora hughesi*, car il existe une antigénicité croisée entre les deux espèces de *Neospora* [211]. Récemment, un test ELISA utilisant un antigène recombinant spécifique de *Neospora hughesi*, l'antigène de surface 29-kDa (NhSAG1) a été développé et a montré une grande spécificité et une grande sensibilité, en comparaison avec les techniques d'immunoblotting [212].

Des protocoles sont maintenant disponibles dans le commerce pour la recherche d'anticorps contre *Neospora caninum* dans le lait ou le colostrum, individuellement ou par mélange sur lait de tank [213];[214].

#### 4.2.1.3. La séro agglutination DAT ou NAT

Les tests d'agglutination directes (NAT : *Neospora* Agglutination Test, ou DAT: Direct Agglutination Test) est utilisé pour la détection d'antigènes de *N. caninum* il provient de la technique d'agglutination directe validée pour *T.gondii* [215]. Deux techniques ont été développées par l'équipe de Packham [216]. Elles utilisent comme antigènes des formes parasitaires formolées (tachyzoïtes), soit de souche canine Nc-1 [217], soit de souche bovine BPA-1[216]. Il n'a pas été

rapporté de différence antigénique entre les souches d'origine bovine et canine [218].

Le principe du test d'agglutination directe repose sur la mise en contact de tachyzoïtes intacts de *Neospora caninum* traités au formol avec des anticorps spécifiques du parasite. Il se forme alors un agglutinat entre ces deux composés, mais celui-ci n'est visible qu'à la condition qu'un grand nombre de tachyzoïtes soient présents dans le mélange [195].

Il existe différentes variantes de ce test. Certains sérums testés sont traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) pour détruire les IgM. A la différence du test d'agglutination utilisé pour le diagnostic de la toxoplasmose dans lequel un taux d'IgM est calculé en comparant le sérum non traité au sérum traité au 2-ME. Le test de séro-agglutination mis au point pour le diagnostic de la néosporose détecte les immunoglobulines (IgG), signes d'une conversion sérologique ancienne. La sensibilité et la spécificité de ces tests sont comparables à celles de l'immunofluorescence indirecte [216]. Toutefois, une moindre sensibilité a été décrite dans une étude sérologique chez le chien [219].

La séro - agglutination est considéré comme spécifique de *N. caninum* car aucune réaction croisée n'a été observée avec les parasites proches, notamment *T. gondii*, *Hamondia spp* .et *Sarcocystis spp* [216];[217].

L'agglutination directe permet de tester les sérums issus de n'importe quelle espèce sous réserve d'établir des seuils de positivité pour chaque espèce. Ainsi, elle a été utilisée en sérodiagnostic chez le buffle d'eau, le cheval, le chameau, le renard, le coyote et les ruminants sauvages (chamois, chevreuil et cerf) [220];[221];[222]. De plus il est facile, et nécessite un minimum de matériel de laboratoire et de matériaux, il est bien adaptés sur les terrains pour les grandes études de dépistage épidémiologique [217].

#### 4.2.1.4. Immuno blot.

L'immunoblot est une technique lourde et difficile à mettre en œuvre pour un diagnostic de routine surtout pour un dépistage sérologique sur des cheptels. Par conséquent, il s'agit surtout d'une technique de confirmation en cas de test sérologique classique (ELISA, IFAT, DAT, positif ou douteux [223];[224].

La technique consiste à réaliser une séparation des protéines (ici c'est les antigènes de *Neospora*) en SDS PAGE (sodium Dodecyl sulfate polyacrylamide Gel Electrophoresis). Les protéines sont ensuite transférées sur un filtre (nitrocellulose le plus souvent). Ce filtre est ensuite saturé, puis incubé en présence de sérum. La présence d'anticorps fixés est 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. Quatre Antigènes (17, 29, 30, et 37kDa) ont été identifiés comme immunodominant induisant une réponse immune humorale des animaux infectés par *N.caninum* [225];[226];[203].

Un immunoblot anti-p17 (antigène immunodominant NcGRA7) a récemment été développé pour une étude de séroprévalence chez les bovins [227] il a montré sa haute efficacité en matière de spécificité et de sensibilité, pour l'espèce bovine, il est possible qu'il donne un nombre de positifs supérieurs à l'IFAT ou à l'Elisa [228];[227], de même sa sensibilité semble meilleure que celle de l'IFAT [223], ça peut s'expliquer par l'utilisation de quantités importantes d'antigènes qui peuvent être source de réaction non spécifique mais qui permettent aussi de détecter de très faible concentration d'anticorps.

#### 4.2.2. Méthode de diagnostic direct

Il est important de pouvoir mettre en évidence le parasite directement à partir d'un tissu. Pour ce faire, plusieurs méthodes sont utilisées : l'amplification génétique, l'histologie, l'Immunohistochimie, la culture cellulaire ou l'inoculation d'animaux dans la majorité des cas, la mise en évidence du parasite est considérée comme diagnostique de certitude à l'origine de l'avortement chez les vaches ou des troubles nerveux chez les veaux [61]

#### 4.2.2.1. Examen nécrosique et anatomo-pathologique

##### 4.2.2.1.1. Chez le chien

Les lésions caractéristiques de la néosporose se situent essentiellement dans le cerveau et le muscle squelettique .Néanmoins. La plus part des organes sont susceptible d'abriter des lésions [46];[121].

##### 4.2.2.1.1.a. Lésions macroscopique

Les lésions macroscopiques peuvent être observées au niveau des muscles squelettiques, cœur, poumons et le foie .ces lésions se présentent sous forme de petits foyers de nécrose et d'hémorragies. On retrouve aussi de l'atrophie musculaire, de la fibrose et des lésions d'anémies lors des cas anciens [229].

##### 4.2.2.1.1. b. Lésions histo-pathologiques

On retrouve l'encéphalomyélite non suppurative, la polyradiculonévrite, la myocardite la gliose des substances grises et blanches, la myosite multifocale caractérisée par des foyers de nécroses au sein des muscles et l'infiltration par des cellules mononuclés incluant les lymphocytes et les cellules plasmocytes, de l'hépatite et de la pneumonie interstitielle [110];[230].

Lors de dermatite nodulaire, la lésion consiste à une dermatite diffuse sévère avec ulcérations épidermique, nécrose extensive et vasculaire. Une accumulation de neutrophile et de macrophage dans le derme s'étendant jusqu'au tissu sous cutané a été signalée [231]. Chez les chiens immunodéprimés, des dermatites pyogranulomateuses et ulcéralive généralisées avec de nombreux tachyzoïtes intra- lésionnels ont été décrites [232];[233].

##### 4.2.2.1.2. Chez le bovin

Les lésions sont souvent observés dans le cerveau, cœur foie et muscles squelettiques [234];[50]. des petits foyers de décoloration tissulaire localises peuvent être observés dans les cotylédons placentaires [51];[121], l'examen histo-pathologique des tissus foetaux révèle de l'encéphalomyélite non suppurative subaigüe ,multifocale, caractérisé par des foyers d'infiltration de cellules inflammatoires mononuclées autour d'une région centrale de nécrose [121].des

foyers de nécrose peuvent être observés au niveau du cerveau, cœur et foie [88]. Les lésions placentaires typiques sont confinées aux cotylédons et consistent en des foyers de nécrose, une inflammation non suppurative et des tachyzoïtes dans les trophoblastes [121]. Histologiquement il est très difficile de mettre en évidence *N. caninum* chez des veaux même ceux montrant des signes cliniques [235];[121]. L'encéphalomyélite est la lésion prédominante à la fois chez les veaux nés vivants avec des signes cliniques ou ceux qui ne présentent aucun signe après la naissance (2 semaines) [236];[121];[235].

L'examen de coupes histologiques d'organes peut également permettre la mise en évidence directe du parasite, par coloration à l'Hématoxyline et à l'Eosine (HE). Cependant, le nombre de parasites est généralement faible et *Neospora caninum* est un parasite difficile à reconnaître d'autres parasites proches comme *Toxoplasma gondii* et *Hammondia* sp. Histologiquement *N. caninum* n'a pas été identifié au sein des coupes histologiques chez les bovins de plus de 2 mois [121].

#### 4.2.2.2. L'Immuno-histochimie

L'Immuno-histochimie est un examen complémentaire de l'histologie, qui permet généralement un diagnostic de certitude de l'infection par *Neospora caninum*.

Cette méthode est une technique de marquage par une immuno peroxydase utilisant une avidine-biotine peroxydase. Les tissus sont préalablement fixés dans du formol et inclus dans de la paraffine. Des sections de 4 à 5 µm sont réalisées. Cette technique est utilisée sur des coupes de cerveau, de cœur et de foie [89]. Les marqueurs utilisés sont des anticorps anti- *Neospora* produits par des lapins immunisés [237].

Cette technique a l'avantage de mettre en évidence directement une des formes du parasite, ce qui est rarement permis par l'histologie seule. Les tachyzoïtes sont visibles principalement au niveau du cerveau, du foie et moins fréquemment au niveau du cœur, probablement du fait de la rapidité de l'autolyse de cet organe. Les kystes tissulaires ne sont visibles qu'au niveau du cerveau et ne sont que très rarement observés car ils sont peu nombreux, parfois de petite taille et de localisation variable dans le tissu [89];[54].

Cette méthode est donc plus sensible et plus spécifique que l'histologie. Elle peut être utilisée en cas d'autolyse, bien qu'elle soit alors moins performante. Cependant, cette technique reste difficile en cas d'autolyse marquée et demande une bonne habitude de lecture. De plus, le résultat dépend beaucoup du nombre de coupes réalisés et du temps passé par le lecteur (l'interprète). Elle a une moins bonne sensibilité que la PCR [238].

#### 4.2.2.3. La réaction de polymérisation en chaîne pour la détection de l'ADN *Neospora*(PCR)

La détection de *Neospora caninum* par PCR repose sur l'amplification d'une séquence spécifique d'ADN, appelée cible, par cycles successifs de dénaturation, hybridation et élongation, puis sa révélation. Ce cycle est répété de 30 à 50 fois, il en résulte un produit de PCR (amplico) qui est constitué de la séquence cible bordée par les séquences des amorces [239].

Différentes cibles ont été proposées pour le parasite *Neospora caninum*, la séquence 18S de l'ADN ribosomal [121], la séquence 28S de l'ADN ribosomal, le gène Nc5 [240];[241], la séquence ITS1 [242], et le gène 14-3-3 [243].

Classiquement la détection de *N. caninum* par PCR se fait en utilisant la technique de la PCR niché ou semi- niché .la PCR niché (nested PCR) consiste à amplifier l'ADN cible (c'est un ADN qui est présent en faible quantité parmi une quantité importante d'ADN étranger, c'est le cas pour le parasite dans un tissu, souvent la PCR simple n'est pas assez sensible). La PCR niché a été utilisée pour détecter la présence de *N. caninum* dans le sperme et le sang de taureau infecté expérimentalement [244].

La PCR en temps réel a été récemment utilisée pour détecter *N. caninum* au niveau des avortons bovins [245]. En 2001, Hill et collaborateurs [246], ont développé une méthode de PCR pouvant détecté les oocystes de *N. caninum* dans les fèces de chiens. Pour la majorité des protocoles développés, une bonne spécificité a été retrouvée, exemple : Sur des prélèvements comme le foie, l'encéphale ou le cœur, on obtient une spécificité de 100 % [247];[248]. Aucune réaction croisée avec *T. gondii* n'est notée, à la différence des autres méthodes.

Le seuil de détection du nombre de pathogènes est 5000 tachyzoïtes par gramme de cerveau [243], ce qui correspond à une faible quantité. Toutefois on n'a aucune certitude de la quantité minimale retrouvée chez des animaux atteints. D'autre part sa sensibilité, car en théorie une seule copie de l'ADN cible suffit pour avoir un signal positif en PCR.

La plupart des tests ont été développés avant de connaître l'existence de *Neospora hughesi*, et depuis que le génome des séquences ITS1 et 28S (ADN ribosomal) de *Neospora hughesi* est connu, il semble évident qu'il diffère au moins par une paire de base de *Neospora caninum* pour ces séquences. Les PCR basées sur ces séquences cibles de *Neospora caninum* ne sont donc pas capable de détecter *Neospora hughesi*, ou alors avec une sensibilité moindre.

Actuellement, il existe des tests PCR spécifiques de *Neospora caninum* pour lesquels l'ADN de *Neospora hughesi* n'est pas amplifié, mais aucune PCR spécifique de *Neospora hughesi* n'a été développée. Ainsi Cette technique serait intéressante pour le diagnostic de la néosporose chez les carnivores pour la recherche des oocystes dans les fèces [249]. Une étude de 2008 a comparé les résultats de l'IFAT avec ceux de la PCR quantitative [250]. Il semblerait selon la même étude que l'IFAT sous estimerait la séroprévalence des populations canines: sur les 32 PCR positives, seules 8 ont donné un résultat positif par IFAT, ce qui serait peut-être dû au fait que les infections chroniques, où le parasite est enkysté, ne stimulent pas assez le système immunitaire. L'avantage de cette technique c'est quelle est hautement spécifique et sensible [251]. L'inconvénient est son coût qui demeure élevé avec un matériel spécifique en laboratoire.

#### 4.3 Diagnostic différentiel de la neosporose canine

Face aux atteintes essentiellement neuromusculaire de type myosite ou polynévrite (lors de paralysie ascendante des membres chez les jeunes chiots), les hypothèses diagnostic sont [45] :

Chez le chiot :

- différentes myopathies congénitales (myopathie dystrophique lié au chromosome X du Golden Retriever, et autres dystrophies musculaires),
- Myopathies métaboliques,
- Neuropathies congénitales ou héréditaire (axonopathie évolutive de Boxer, complexe paralysie laryngée polyneuropathie du Dalmatien, maladies de surcharge lysosomiale, trouble par insuffisance de la myélinisation).

Chez le chien l'adulte :

- Polyradiculonévrite,
- Polymyostes idiopathiques, ou infectieuses (leishmaniose, leptospirose),
- Dermatomyosites.

Quelque soit l'âge de l'animal, l'intoxication botulinique n'est pas exclue.

Lors d'atteint du système nerveux central Le diagnostic différentiel doit inclure les maladies inflammatoires a origine méningo encéphalitiques tels que :

- Maladie de carré,
- Méningite aseptique suppurée,
- Méningo encéphalite granulomateuse,
- Toxoplasmose,
- Autres affections du SNC.

Lors de la néosporose cutanée, le diagnostic différentiel concerne l'ensemble des pathologies à granulomes ou pyogranulomes :

- Infections bactériennes (staphylococcies, myobactériose, actinomycoses),
- Mycoses (dermatophytose, cryptococcose),
- Protozooses( leishmaniose, toxoplasmose, caryosporose, sarcosporidiose),
- Corps étrangers,
- Processus tumoral,
- Granulomes idiopathiques.

Lors d'avortement chez l'espèce canine, Le diagnostic différentiel regroupe les causes infectieuses et non infectieuses. Les causes infectieuses, incluent les causes bactériennes, virales et parasitaires [252];[253].

Causes Bactériennes:

- *Brucella canis*, *Streptococcus B- hémolytique*, *Campylobacter*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma* et *Ureaplasma*.

Causes Virales :

- Herpes virus canin, parvovirus canin de type 1, Morbilivirus (Virus distemper canin).

Causes parasitaires :

- *Toxoplasma gondii*.

Les causes non infectieuses incluent les Défauts endocriniens, causes Médicamenteuses, Facteurs immunologiques, Facteurs génétiques, Facteurs environnementaux, Facteurs alimentaires.

- Défauts endocriniens : Défaut de maintien lutéal, Hypothyroïdisme.
- causes Médicamenteuses : Molécules abortives.
- Facteurs immunologiques : rôle chez le chien inconnu.
- Facteurs génétiques : Anomalie chromosomique Maladies génétiques.
- Facteurs alimentaires : Utilisation de conservateurs antioxydant incriminés par les éleveurs.

## CONCLUSION

La Néosporose est une maladie causée par le parasite *Neospora caninum* qui est un protozoaire du phylum Apicomplexa. Cosmopolite, son cycle parasitaire comporte un hôte définitif et un hôte intermédiaire. L'hôte définitif est le chien bien qu'il a été prouvé que le coyote, dingo et le renard et d'autres animaux sauvages le sont aussi. L'hôte intermédiaire est principalement le bovin ainsi que d'autres animaux domestiques et sauvages tels qu'ovins, caprins, équidés, cerfs, et buffles d'eau.

Le chien est le point clé du cycle épidémiologique de la néosporose car il est un des hôtes définitifs connu à ce jour. Cependant, son rôle dans le cycle parasitaire est plus complexe, car il est également hôte intermédiaire dont le parasite se multiplie sous forme tachyzoïte. La prévalence de la néosporose est élevée chez le chien jusqu'à 96,80 % chez les chiens de campagne en Nouvelle Zélande le parasite est facilement transmis à la descendance, comme en témoignent les cas d'atteintes congénitales de chiots et les rares études expérimentales réalisées à ce jour. La présence de chien est un facteur de risque associé à une plus forte séroprévalence dans les troupeaux de bovins.

Le chien se contamine en ingérant des kystes tissulaires contenus dans les tissus nerveux des hôtes intermédiaires bovins ou autres herbivores domestiques, éliminant ainsi des oocystes contaminant les stocks d'aliments et l'eau de boisson, de l'hôte intermédiaire qui le transmet à sa progéniture lors d'une nouvelle gestation.

Le parasite est transmis à la descendance par voie transplacentaire. Cette transmission donne : Chez le chien des naissances de chiots qui présentent des paralysies ascendantes progressives et même la mort de l'animal.

Chez le bovin ce parasite engendre de graves conséquences économiques telles que avortement, mortinatalité ou encore des troubles nerveux chez le nouveau né dans la majorité des cas des animaux nés d'une mère séropositive seront tous des porteurs sains. Les animaux séropositifs ont trois fois plus de risque d'avorter au cours de leur vie que leurs congénères séronégatifs.

## CHAPITRE 5

### PARTIE EXPERIMENTALE

#### 5.1. INTRODUCTION :

Il existe peu d'informations sur la prévalence de la néosporose chez le chien, malgré le fait qu'il soit désigné comme l'hôte définitif de *N.caninum* [22], Il a un rôle très important dans la transmission de ce parasite aux herbivores domestiques et sauvages en excréant les oocystes dans ses matières fécales jouant ainsi un rôle dans la dissémination et l'entretien de la maladie [5].

La néosporose canine à été signalée dans la plupart des pays du monde : tels que les pays d'Amérique du nord, d'Europe, le japon et l'Afrique du sud [146] avec une prévalence de 12,4% au Brésil [254], 12,2% en Espagne [219], 11% en Italie [255], 16,36% en Pologne [256].

En région centre d'Algérie essentiellement wilaya d'Alger les séro prévalence de la néosporose chez les chiens a été estimée à 20% dont les plus basses ont été observées chez les chiens de gendarmerie (6,59%) et de propriétaires (11,96%) alors que les plus élevées ont été constatées chez les chiens errants (22,55%) et les chiens ferme (44,44%) [11].

Plusieurs facteurs influencent la prévalence de la néosporose tels que le sexe, l'âge et l'alimentation.

Notre travail a pour objectif d'évaluer la prévalence de la néosporose canine chez les chiens de ville et chiens de compagnie dans la région de Blida et de déterminer les facteurs de risque qui influencent positivement ou négativement sa prévalence.

## 5.2 .Materiel et Methodes

### 5.2.1. Zone d'étude :

L'étude a concernée 20 communes des 08 daïras de la wilaya de Blida : Blida, Bouarfa, Bouinan, Chebli, El Affroun, Ouled yaich, Chréa, Beni-mered, Ouled Alleug, Beni tamou, Benkhelil, Boufarik, Soumaa, Guerouaou, Mouzaia, Chiffa, Ain roumana, Bougara, Hammam melouane, Ouled slama (Figure 5.1).

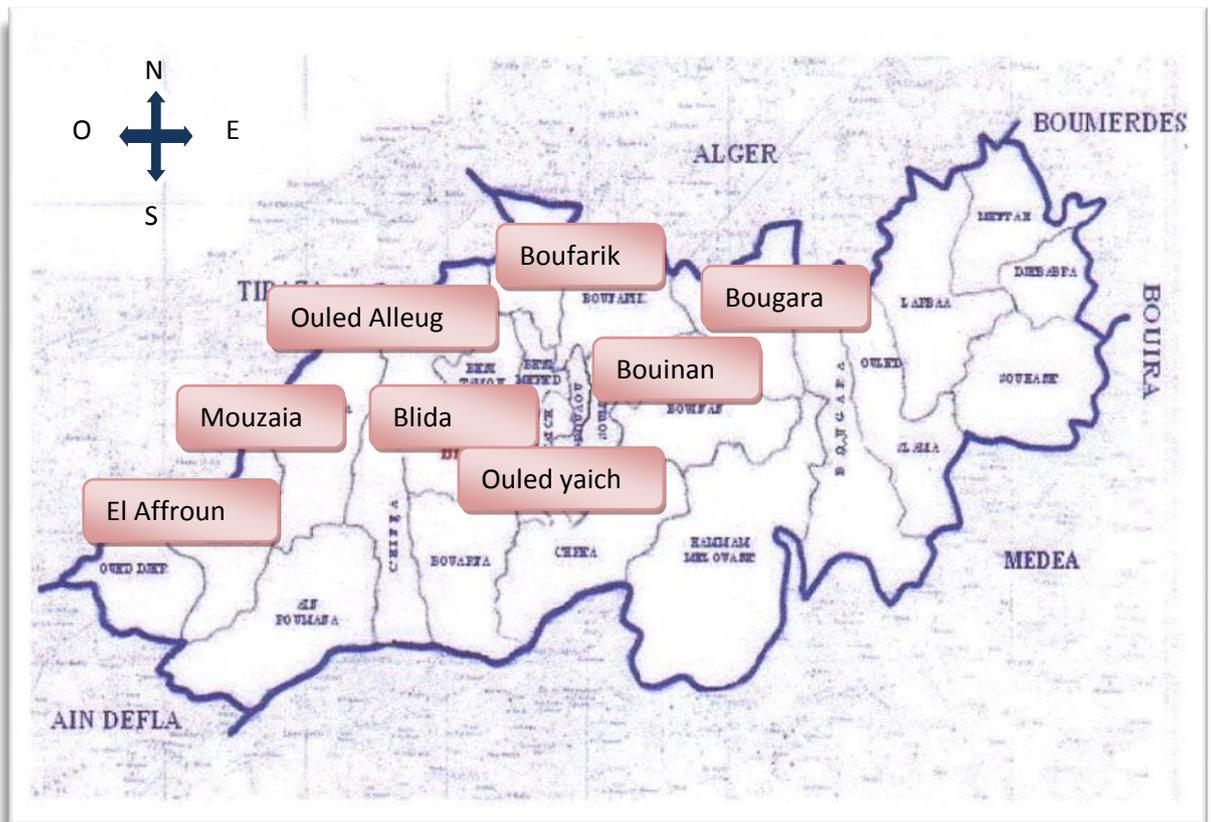


figure 5.1 : Situation géographique des daïras et communes de la Wilaya de Blida Source : [www.andi.dz/PDF/MONOGRAPHE/Blida.pdf](http://www.andi.dz/PDF/MONOGRAPHE/Blida.pdf).

a) Les Caractéristiques de la wilaya de Blida:

a.1. Position géographique: la wilaya est située au Nord de l'Algérie, et au sud de la capitale

b) Limites géographiques: elle est limitée au Nord par la wilaya de Tipaza et la wilaya Alger, au Sud par la wilaya de Médéa à l'Est par Boumerdes et Bouira et à l'Ouest par la wilaya de Ain Defla sa superficie s'entend à 1.478,68 KM<sup>2</sup>, son climat varie d'une Température de 15 C° en hiver à 33 C° en été ,sa Pluviométrie annuelle est de 600 mm.

5.2.2. Matériel

5.2.2.1. Echantillon

Au cours de cette étude 145 chiens de la région de Blida ont été prélevés durant la période s'étendant de juin 2010 à juin 2011, sans aucune distinction de race, de sexe ou d'âge.

Sur les 145 chiens, 111 ont été admis en consultation dans un cabinet vétérinaire de la ville de Blida de juin 2010 à mai 2011. Les 34 autres chiens appartiennent à 17 élevages bovins et ont été prélevés dans des zones rurales de la même région au cours des mois de mai et juin 2011.

5.2.2.2. Matériel de prélèvement et de dosage

- Tubes secs sous vide et aiguilles stériles
- Tubes éppendorf pour la conservation des sérums
- Kit de dosage *Neospora caninum* BLOKING ELISA all Species (photo 5.1) composé de :

- Réactif 1 : microplaque ELISA en 12 barrettes de 8 cupules
- Réactif 2 : contrôle négatif
- Réactif 3 : contrôle positif
- Réactif 4 conjugué anti *N. caninum* marqué à la peroxydase
- Solution de lavage
- Tampon de dilution du conjugué

- Solution substrat
  - Solution arrêt.
- Lecteur ELISA DIALAB ELx30 (photo 5.2) et un laveur à plaques DIALAB (Photos 5.3).



Photo 5.1 : kit Elisa LSIVET



Photo 5.2 : Lecteur Elisa ELx800

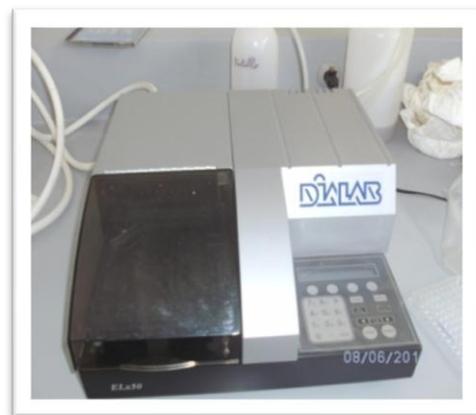


Photo 5.3 : Laveur Elisa automatique

### 5.2.2.3. Questionnaire

Le questionnaire épidémiologique a été conçu en respectant le schéma général présenté par Toma et al 2001 [257] (figure5. 2).

Le questionnaire a été élaboré à l'intention des vétérinaires praticiens de la ville de Blida (appendice c). Les praticiens doivent le remplir à chaque nouvelle consultation quelque soit le motif (vaccination, traitement, conseil ou achat de médicaments). Nous avons choisi le face à face comme mode d'obtention des réponses à notre questionnaire, qui comprend essentiellement des questions mixtes afin de noter si possibles les signes cliniques et qu'il fournit une meilleure qualité de réponse et éviter les non réponses à certaines questions.

Un deuxième questionnaire a été conçu et distribué aux éleveurs possédant des chiens (appendice D). Les questions sont posées par l'enquêteur, pour une bonne assimilation.



figure 5.2: Représentation schématique de la démarche générale de Préparation d'un questionnaire [257].

## 5.3. Méthode

### 5.3.1. Echantillonnage

Pour que l'échantillonnage choisi soit représentatif, il faut que les résultats obtenus soient extrapolable à la population totale d'une part, et que le nombre de

l'échantillon soit numériquement élevé pour assurer des résultats précis d'autre part.

La détermination de la taille de l'échantillon, nécessite la définition des deux paramètres [257] :

- De la prévalence attendue
- De la précision relative souhaitée

Dans notre cas, la prévalence attendue choisie est le pourcentage trouvé par Ghalmi dans une étude faite dans la région centre d'Alger (2009). En l'absence de données sur la prévalence dans notre région, celle-ci a donc été estimée à 15 %.

La précision relative a été fixée à 40 %. En effet, c'est une précision assez bonne dans le cadre d'une première étude chez le chien dans la région de Blida.

L'intersection entre la colonne de la prévalence attendue (15%) et la rangée de la précision relative (40%) définit (n = 137) le nombre d'individus à introduire dans l'échantillon. Le (tableau5.1) nous donne le nombre de sujets (n) nécessaires à introduire dans notre échantillon.

Tableau 5.1 : Nombre de sujets nécessaire pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée [257].

| Précision Relative | Prévalence attendue (p.cent) |       |       |      |      |      |      |      |      |     |     |     |     |     |
|--------------------|------------------------------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                    | 1                            | 2     | 3     | 4    | 5    | 10   | 15   | 20   | 25   | 30  | 35  | 40  | 45  | 50  |
| 10 p.cent          | 38032                        | 18824 | 12422 | 9220 | 7300 | 3458 | 2177 | 1537 | 1153 | 897 | 714 | 577 | 470 | 385 |
| 20 p.cent          | 9508                         | 4706  | 3106  | 2305 | 1825 | 865  | 545  | 385  | 289  | 225 | 179 | 145 | 118 | 97  |
| 30 p.cent          | 4226                         | 2092  | 1381  | 1025 | 812  | 385  | 242  | 171  | 129  | 100 | 80  | 65  | 53  | 43  |
| 40 p.cent          | 2377                         | 1177  | 777   | 577  | 457  | 217  | 137  | 97   | 73   | 57  | 45  | 37  | 30  | 25  |
| 50 p.cent          | 1522                         | 753   | 497   | 369  | 292  | 139  | 88   | 62   | 47   | 36  | 29  | 24  | 19  | 16  |
| 60 p.cent          | 1057                         | 523   | 346   | 257  | 203  | 97   | 61   | 43   | 33   | 25  | 20  | 17  | 14  | 11  |
| 70 p.cent          | 777                          | 385   | 254   | 189  | 149  | 71   | 45   | 32   | 24   | 19  | 15  | 13  | 11  | 10  |
| 80 p.cent          | 595                          | 295   | 195   | 145  | 115  | 55   | 35   | 25   | 20   | 17  | 14  | 13  | 11  | 10  |
| 90 p.cent          | 500                          | 250   | 167   | 125  | 100  | 50   | 33   | 25   | 20   | 17  | 14  | 13  | 11  | 10  |
| 100 p.cent         | 500                          | 250   | 167   | 125  | 100  | 50   | 33   | 25   | 20   | 17  | 14  | 13  | 11  | 10  |

### 5.3.2. Les prélèvements

Les prélèvements ont été effectués à partir de la veine céphalique à l'aide de tube sec sous vide de 5ml (vacutainers) ou de seringues stérile de 5ml

(photo 5.4). Après centrifugation au laboratoire a 2700 x g pendant 5 mn, le sérum ainsi constitué a été récolté dans des tubes Eppendorf et conservé à – 20°C jusqu'à leur traitement.



Photo 5.4 : technique de prélèvement chez le chien

### 5.3.3. Dosage

Pour l'identification des anticorps contre *N. caninum*. La technique utilisée est l'ELISA LSIVET Neospora caninum BLOCKING ELISA- «all Species ».

#### 5.3.3.1. Principe du test

Plusieurs ELISA dits de compétition [258];[209] ont été développés afin d'éliminer la nécessité d'un anticorps secondaire spécifique de l'espèce testée. C'est un test de réalisation simple basé sur une technique immuno enzymatique de compétition. Les échantillons et les contrôles sont déposés dans la plaque sensibilisée avec de l'antigène *N.caninum*. Les anticorps spécifiques anti- *N caninum* présents se lient à l'antigène. Après lavage, une solution d'anticorps monoclonal anti- *N.caninum* marqué à la peroxydase est ajoutée, Les anticorps

conjugués fixés sont révélés par réaction immuno enzymatique. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage. Plus il y a d'anticorps spécifique de *N. caninum* 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 *Neospora caninum* [112].

#### 5.3.3.2. Protocole opératoire

Avant la réalisation du test il faut porter les réactifs à température ambiante ( $21\pm 4^{\circ}\text{C}$ ). Les échantillons et les contrôles sont à analyser purs (sans dilution).

- Déposer 50  $\mu\text{l}$  de positive control *N.caninum* (Réactif 3) dans les cupules A1 et B1.
- Déposer 50  $\mu\text{l}$  de Négatif control *N.caninum* (Réactif 2) dans les cupules C1 et D1.
- Déposer 50  $\mu\text{l}$  de sérum pur à analyser dans les cupules suivantes.

Agiter doucement la plaque puis la couvrir à l'aide d'un adhésif de plaque et incuber la plaque 1 heure à température ambiante  $21\pm 4^{\circ}\text{C}$ .

- Lavages :

Vider la plaque et réaliser 3 lavages avec la Wash solution diluée.

Les lavages seront réalisés sous un volume de 300  $\mu\text{l}$  par cupule. vider et taper la plaque sur un papier absorbant pour éliminer toute trace de liquide. alternativement, laver la plaque avec un laveur automatique.

- Distribution du conjugué.

Distribuer dans chaque cupule 50  $\mu\text{l}$  d'HRP Conjugate *N. caninum* dilué au 1/100 en Conjugate dilution Buffer puis agiter doucement la plaque puis la couvrir à l'aide d'un nouvel adhésif de plaque et enfin incuber la plaque 20 minutes à température ambiante  $21\pm 4^{\circ}\text{C}$  (photos 5.5)

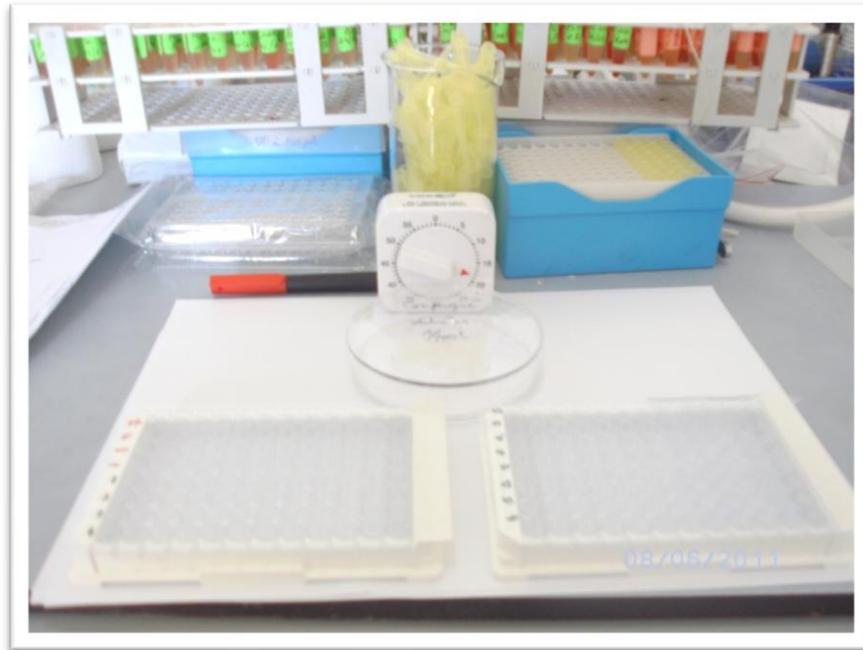


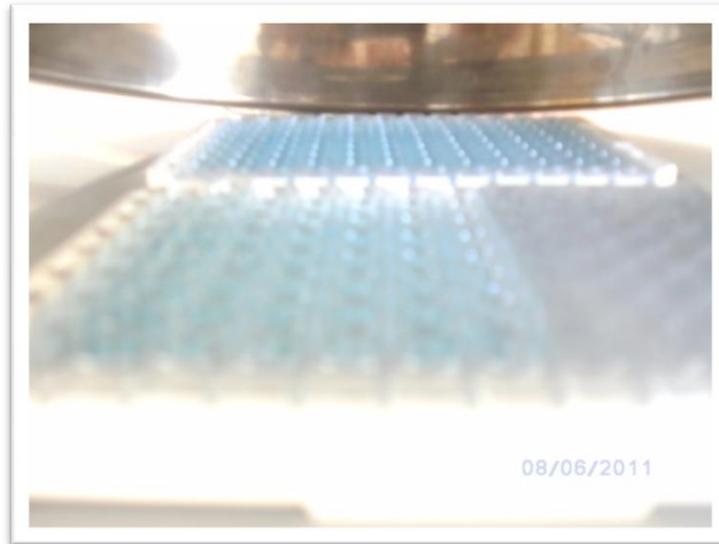
Photo 5.5 : incubation des plaques à température ambiante

- Lavages

Vider la plaque et réaliser 3 lavages avec la Wash solution diluée. Les lavages seront réalisés sous un volume de 300  $\mu$ l par cupule. vider et taper la plaque sur un papier absorbant pour éliminer toute trace de liquide. alternativement, laver la plaque avec un laveur automatique.

- Révélation

Distribuer dans chaque cupule 50  $\mu$ l de substrate Solution (réactif c). Agiter doucement la plaque (2 seconde). Incuber 20minutes à température ambiante ( $21\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) et à l'obscurité sans couvrir la plaque (Photos 5. 6). Distribuer ensuite dans chaque cupule 50  $\mu$ l de stop solution (Réactif D) en respectant le même ordre que celui de la substrate solution. Agiter doucement la plaque (2 seconde).



Photos 5.6: incubation des plaques à l'obscurité

- 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 620 ou 630 ou 650nm (Photo 5.7).



Photo 5.7 : lecture des plaques sur lecteur Elisa

L'absence de coloration ou une très faible coloration indique un échantillon positif (Photo 5.8).



Photo 5.8 : l'absence de coloration dans certain cupules

#### 5.3.3.3. Interprétation des résultats:

❖ Calcul du pourcentage d'inhibition (%Inh) :

Pour chaque échantillon, le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\%Inh = \frac{(DOM\ CN - DO\ Echantillon)}{DOM\ CN} \times 100$$

**Dom CN**

Avec: DOM CN : densité optique moyenne du contrôle négatif

DO E : densité optique d'Echantillon

❖ Les critères de la validation du test :

Le test est validé si :

|  |
|--|
| <b>1,600 &gt; D<sub>Om</sub> CN &gt; 0,600</b> |
| <b>%I nh CP &gt; 40%</b>                       |

(CP: control positif)

❖ Les critères d'interprétation des résultats :

|            | <b>INTERPRETATION</b>      |
|------------|----------------------------|
| % Inh < 30 | Echantillon <b>Négatif</b> |
| % Inh ≥ 30 | Echantillon <b>Positif</b> |

#### 5.3.3.4. Analyses statistiques

La collecte des données a été effectuée sur le terrain et au laboratoire (Photo 5.9). Les données ainsi collectées sont saisies et traitées par un tableur. L'analyse est soumise au test d'indépendance utilisant le Fisher exact. Ces tests ont permis de confirmer si la différence du seuil de séropositivité entre les échantillons des deux populations est significative ou non. Le seuil de signification choisi est fixé à 5%. L'effet obtenu est:

Significatif si  $P < 0,05$  et non significatif si  $P > 0,05$ . Hautement significatif si  $p < 0,01$ .

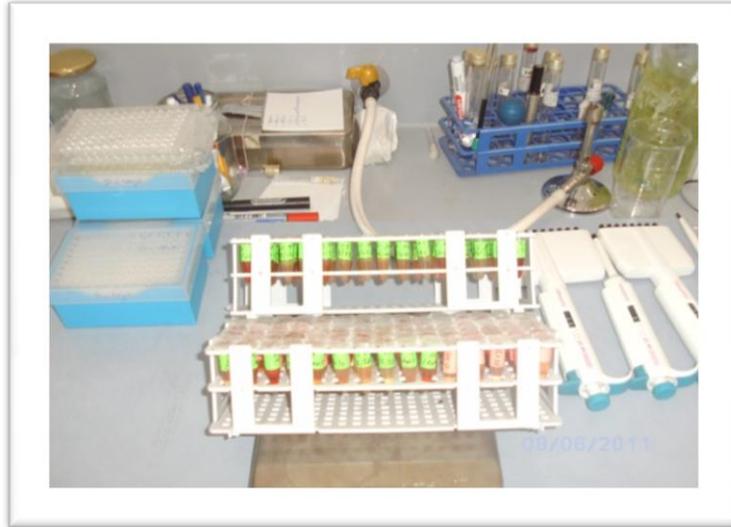


Photo 5.9: Stockage des sérums dans des tubes Eppendorf étiquetés

## 5.4. RESULTATS

### 5.4.1. Résultat de l'enquête

L'enquête à permis de déterminer les populations de chiens concernés par l'étude (chiens de ville et de campagne) et d'établir la répartition des chien en fonction des différents facteurs de risque (âge, sexe, race, signes clinique alimentation).

#### A/ Répartition selon les populations de chiens

Il a été remarqué que le pourcentage de l'échantillon de chiens de ville est de 76.55% et celui de chiens de campagne de 23.45% (figure 5.3).

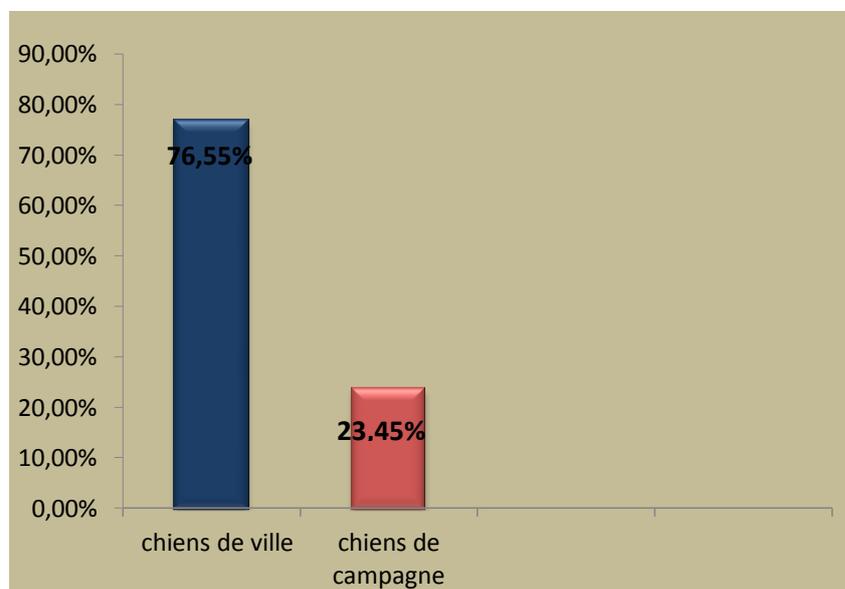


figure 5.3 : Répartition selon les populations de chiens.

#### B / la répartition en fonction de l'âge

On constate que 51.03% sont des chiens de moins d'une année et 26,20% sont entre 1an et 2 ans, 13,79 % entre 2 ans et 4ans et 8,96% entre 4ans et 12 ans (figure 5.4). Cette répartition de classes d'âge a été définie par De Souza et al (2002) [259].

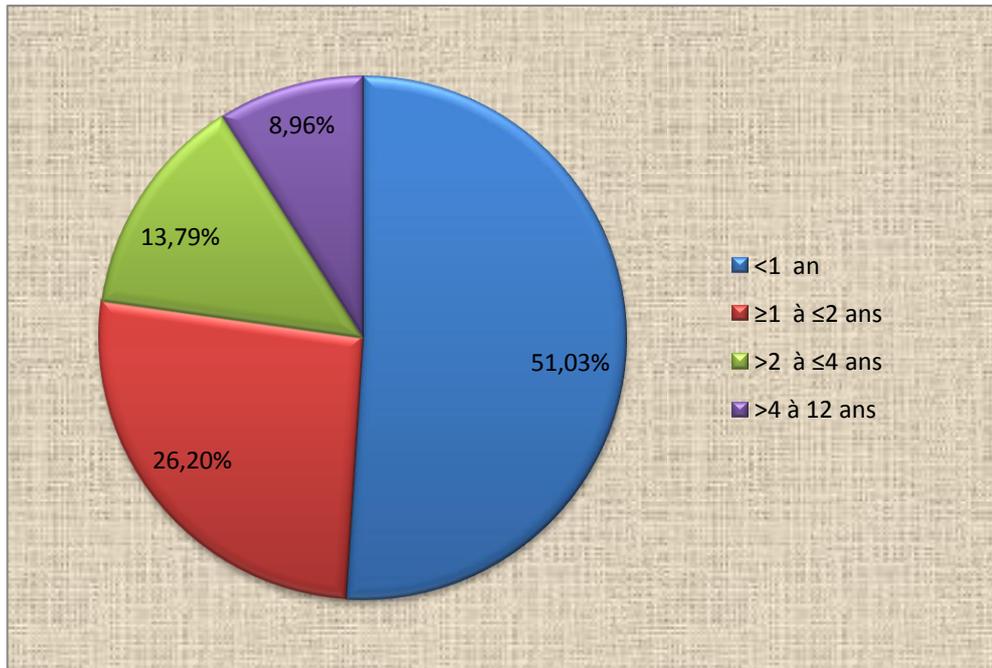


figure 5.4 : répartition en fonction de l'âge.

### C/ Répartition en fonction du sexe

Dans cette étude nous avons remarqué que le pourcentage des mâles 55,86% est plus important que celui des femelles qui est de 44,14% (figure 5.5).

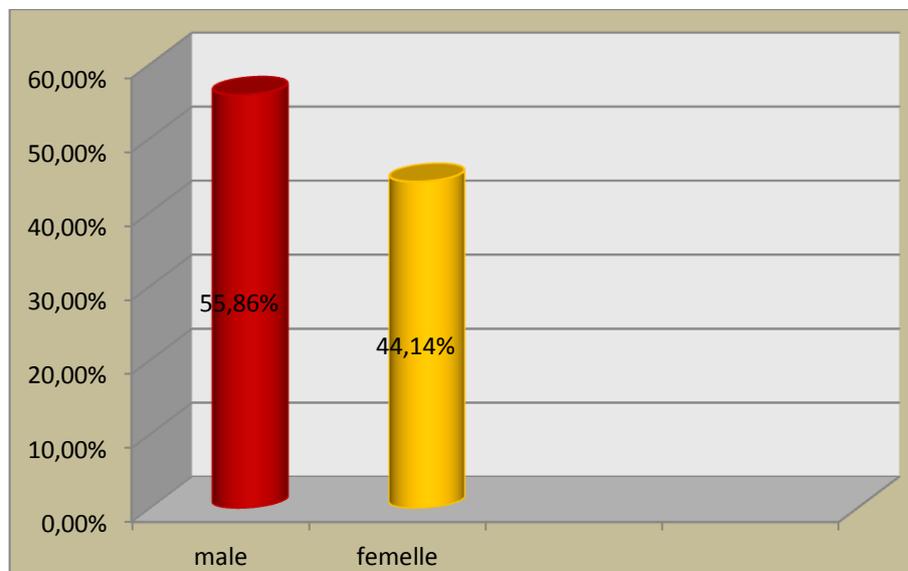


figure 5.5 : La répartition en fonction du sexe.

#### D/ Répartition selon la race

Trois catégories de race de chiens ont été définies: chiens de race pure avec un pourcentage de 69,66% chiens de race croisée avec un pourcentage de 19,31% et chiens de race commune avec un pourcentage de 11,03% (figure 5.6).

Dans les races pures observées on retrouve :

Le rottweiler, le berger allemand, le berger belge, le braque, le berger Beauce, le doberman, le Staffordshire terrier américain, le schnauzer, le berger hollandais, le Pitt bull, le pointer et l'épagneul.

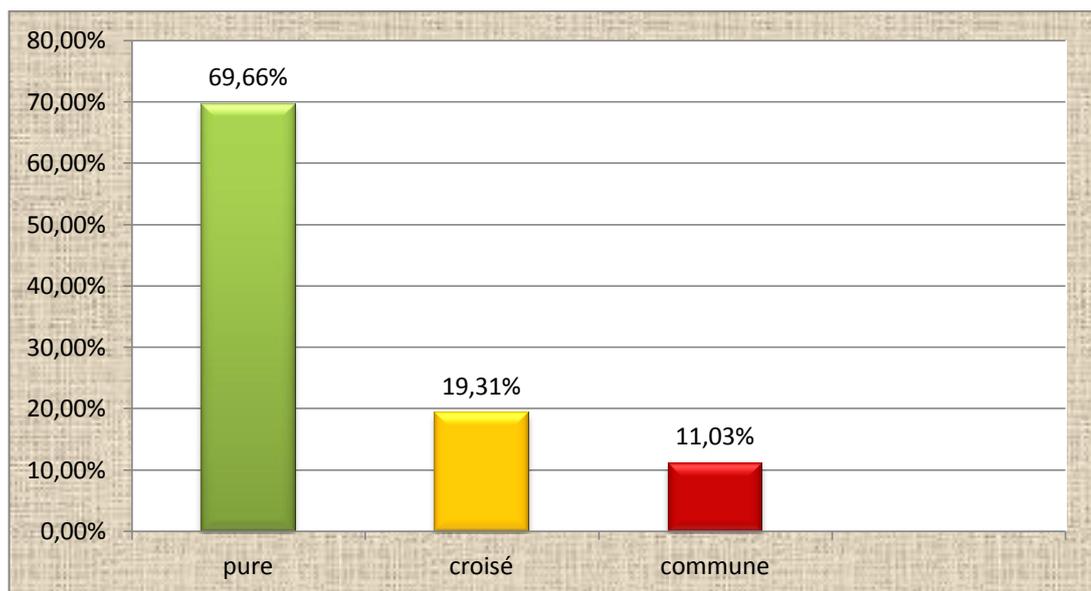


figure 5.6 : Répartition selon la Race

#### E/ Répartition selon l'Alimentation

En prenant en considération les habitudes alimentaires, le cheptel est réparti en deux groupes : le premier recevant une alimentation crue et représentant 27,58% de l'effectif total, le deuxième regroupe les chiens ayant une alimentation exclusivement non crue comprenant soit des aliments commerciaux (croquettes ou pâté), soit des restes ménagers cuits, et représente 72,42% de l'effectif.

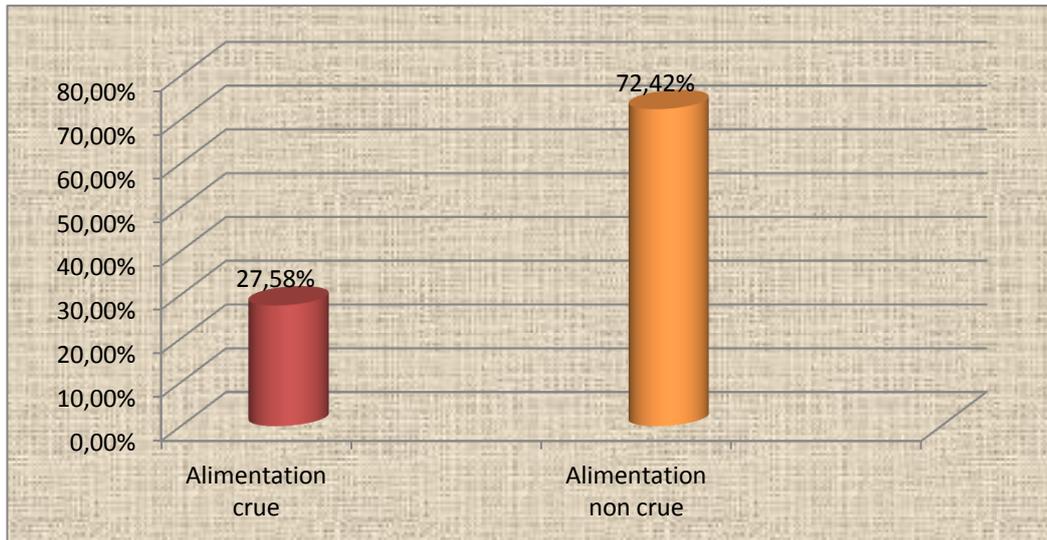


figure 5.7 : Répartition selon l'Alimentation.

#### F/ Répartition en fonction de l'apparition des signes cliniques

Les chiens ayant présentés des signes cliniques étaient au nombre de 18. 3(37,5%) d'entre eux ont présenté une atteinte digestives, 3 (37,5%) une atteinte nerveuse, 2 (11,11%) des symptômes cutanés, 1(5,55%) une atteinte de l'appareil reproducteur et 9 (50%) une atteinte de l'appareil locomoteur (figure 5.8).

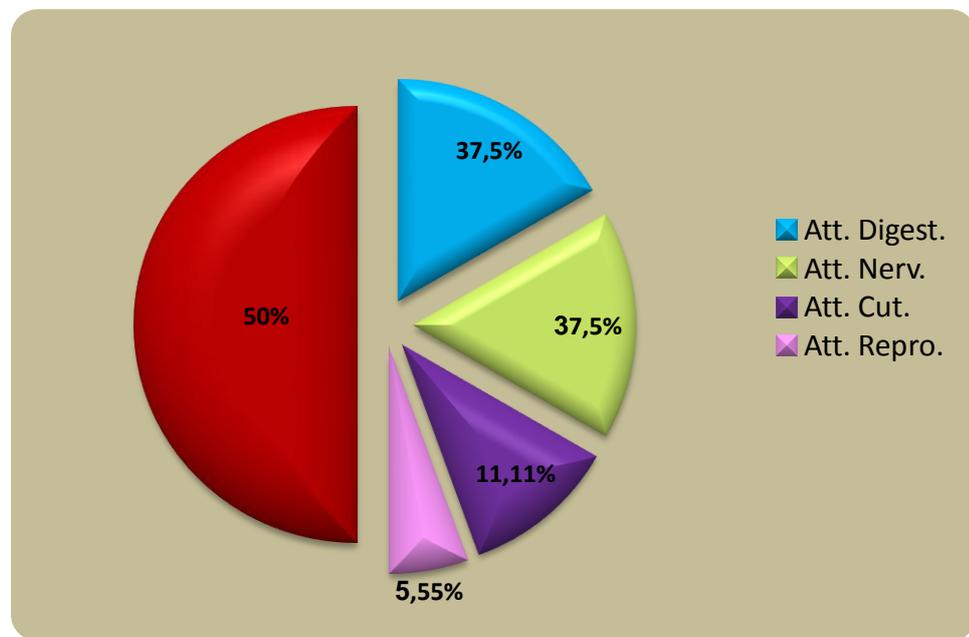


figure 5.8 : Répartition selon signes cliniques apparents.

### 5.4.2. Résultat de la séroprévalence

#### A / La séroprévalence chez les deux populations canines

Sur un total de 145 sérums de chiens analysés, 18 se sont révélés positifs. Ce qui correspond à 12,42% (Tableau 5.2). Une prévalence plus importante chez les chiens de campagne par rapport aux chiens de ville (20,58% vs 9,91%), Cette différence de séropositivité est statistiquement non significative ( $P > 0,05$ ) entre ces deux populations (figure 5.9).

Tableau 5.2 : Séroprévalence des anticorps anti *Neospora caninum* dans différentes populations.

| Population                      | Négatif | Positif | Total | Séropositivité % |
|---------------------------------|---------|---------|-------|------------------|
| Chiens de ville (propriétaires) | 100     | 11      | 111   | 9.91             |
| Chiens de campagne              | 27      | 07      | 34    | 20.58            |
| Total                           | 127     | 18      | 145   | 12.41            |

$P > 0,05$

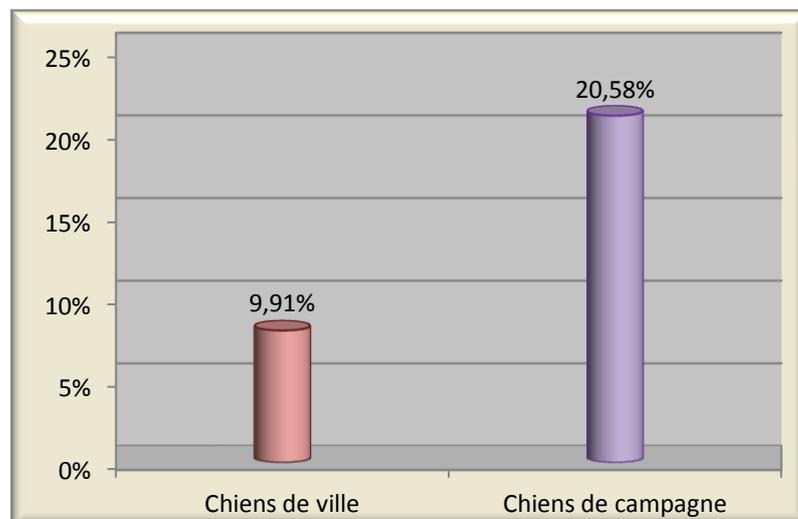


figure 5.9 : séroprévalence des chiens de ville et de campagne

### B/ Séroprévalence de N.caninum dans les différentes classes d'Age.

Nous avons étudié l'effet de l'âge sur la séroprévalence à N. caninum. Les chiens ont été répartis en 4 classes : < 1 an (8,11%), ≥1 a ≤2 ans (18,42%), >2 a ≤4 ans (20%), >4 a 12 (7,69%) (Tableau 5.3). Il semblerait que la séroprévalence chez les chiens entre 2ans et 4ans est plus importantes par rapport a d'autres classes d'âge mais non significative  $P>0,05$  (figure 5.10).

Tableau 5.3 : Séroprévalence de N.caninum dans les différentes classes d'âge.

| Age (an) | Effectif | Nbre% | Nbre de + | Séropositivité % |
|----------|----------|-------|-----------|------------------|
| <1       | 74       | 51.04 | 6         | 8.11             |
| ≥1 à ≤2  | 38       | 26.21 | 7         | 18.42            |
| >2 à ≤4  | 20       | 13.79 | 4         | 20               |
| >4 à 12  | 13       | 8.96  | 1         | 7.69             |

$P>0,05$

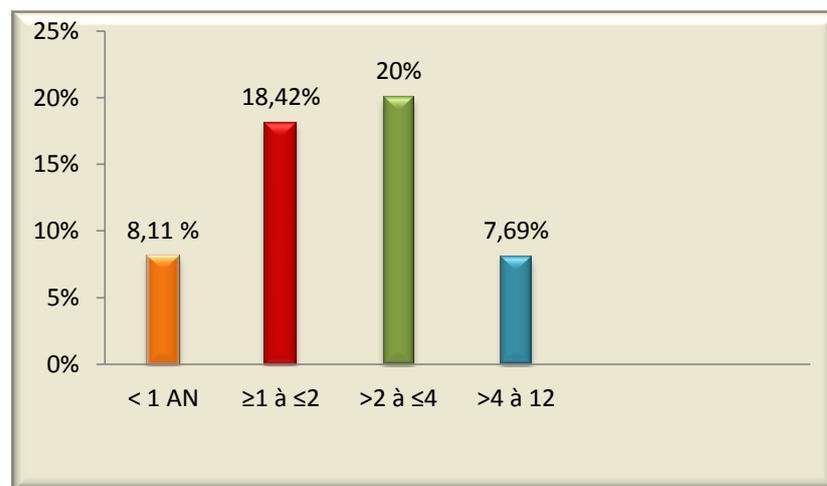


figure 5.10 : séroprévalence en fonction de l'âge.

Nous nous sommes intéressés de plus près à la situation détaillée, en fonction des populations (Tableau 5.4). Les résultats se sont révélés non significatifs pour les différentes classes d'âges  $p>0.05$  sauf pour la classe d'âge de  $>2$  à  $\leq 4$  entre les chiens de ville et chiens de campagne  $p=0.03$  (figure 5.11).

Tableau 5.4: Effet de l'Age sur la séroprévalence dans différentes population canine.

| population                     | Classe d'âge        | Nbre/total (%) | Nbre de + /Total | Séropositivité % |
|--------------------------------|---------------------|----------------|------------------|------------------|
| Chiens de ville (propriétaire) | <1                  | 66/111(59,46)  | 4/ 66            | 6,06             |
|                                | $\geq 1$ à $\leq 2$ | 23/111(20,72)  | 5 /23            | 21,74            |
|                                | $>2$ à $\leq 4$     | 11/111(9,91)   | 0/11             | 0                |
|                                | $>4$ à 12           | 11/111(9,91)   | 1 /11            | 9,90             |
| Chiens de ferme                | <1                  | 8/34(23,53)    | 2/8              | 25               |
|                                | $\geq 1$ à $\leq 2$ | 15/34(44,11)   | 2/15             | 13,33            |
|                                | $>2$ à $\leq 4$     | 9/34(26,47)    | 3/9              | 33,33            |
|                                | $>2$ à $\leq 4$     | 2/34(5,88)     | 0/2              | 0                |

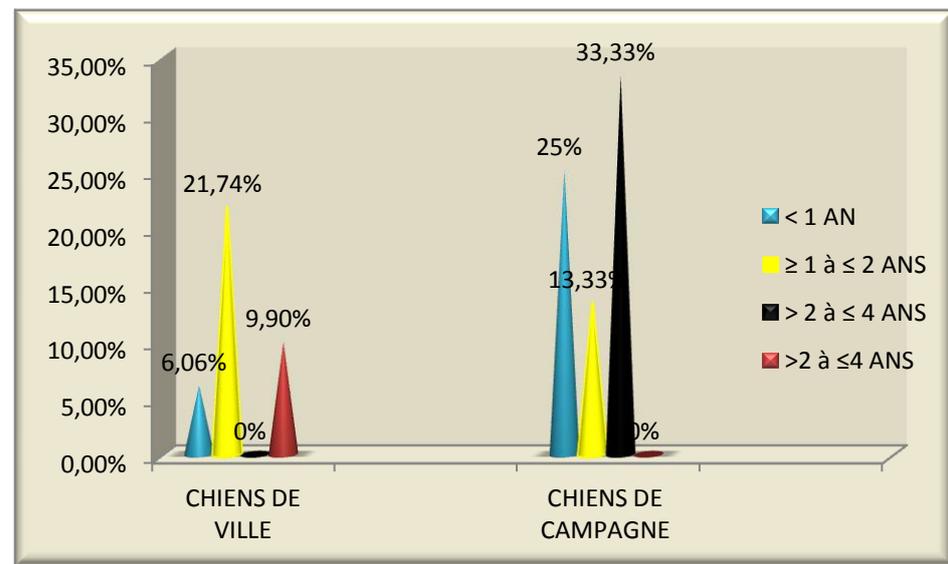


figure 5.11 : séroprévalence en fonction de l'âge chez les chiens de ville et de campagne

### C/ Séroprévalence de N.caninum en fonction du sexe

Parmi les 145 chiens prélevés on constate que la séroprévalence chez les femelles est plus élevée (17.19%) par rapport aux mâles (8.64%) (Tableau 5.5) statistiquement on ne constate pas de différence significative, avec une valeur de  $p > 0,05$  (figure 5.12).

Tableau 5.5 : Séroprévalence de N- caninum  
en fonction du sexe

| sexe    | Nombre (%) | Positifs /Total | Séropositivité% |
|---------|------------|-----------------|-----------------|
| Mâle    | 81 (55.86) | 7 /81           | 8.64            |
| femelle | 64 (44.14) | 11 /64          | 17.19           |

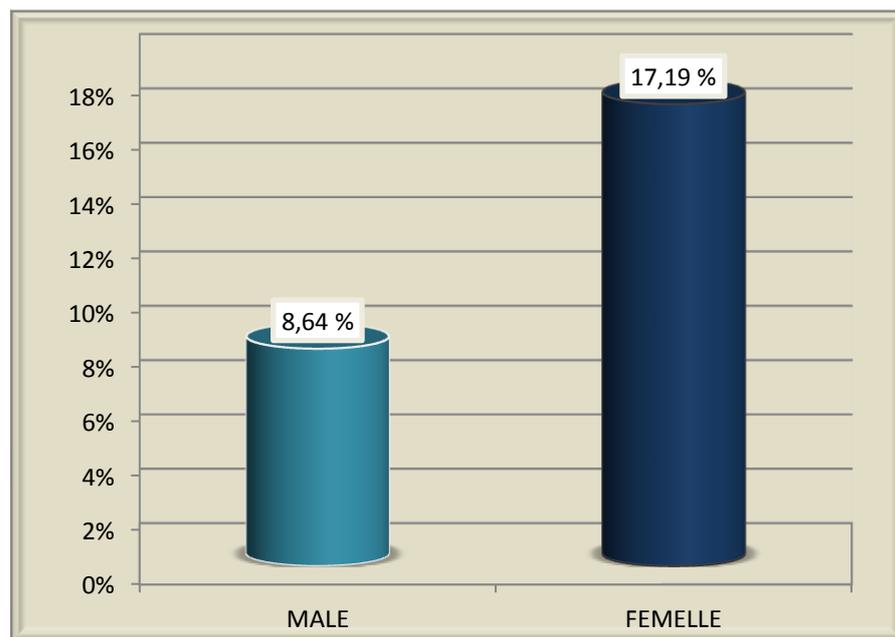


figure 5.12 : séroprévalence en fonction du sexe

Si on considère les populations séparément (Tableau 5.6) on constate que la séropositivité des femelles de chiens de campagne est plus importante que chez

les Femelles de chiens ville. Cette différence est statistiquement non significatif  $p > 0,05$  (figure 5.13).

Tableau 5.6 : Séroprévalence en fonction du sexe et des populations.

| population               | sexe    | Nombre/total (%) | Nombre + /Nombre total | Séropositivité(%) |
|--------------------------|---------|------------------|------------------------|-------------------|
| Chiens de ville<br>n=111 | Mâle    | 62/111(55.85)    | 5/62                   | 8,66              |
|                          | Femelle | 49/111(44.15)    | 6/49                   | 12,25             |
| Chiens de ferme<br>n=34  | Mâle    | 19/34(55,88)     | 2/19                   | 10,53             |
|                          | Femelle | 15/34(44.11)     | 5/15                   | 33,33             |

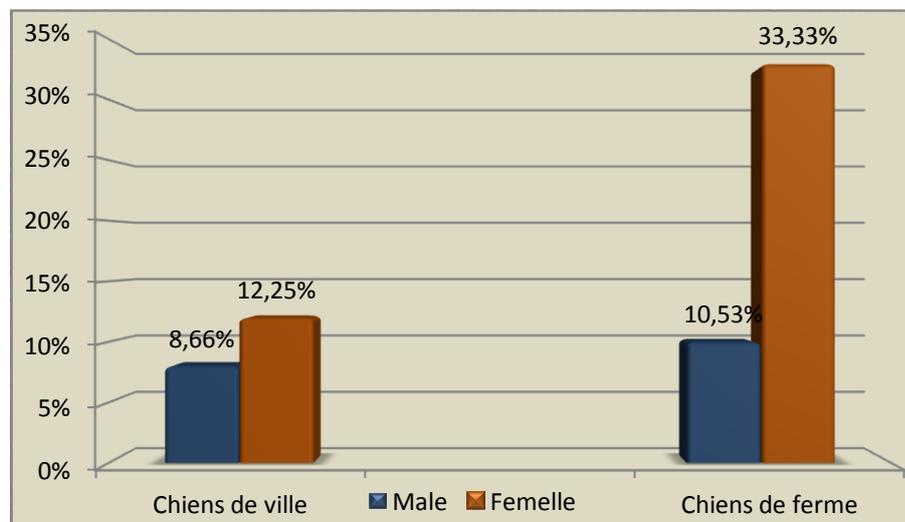


figure 5.13 : séroprévalence en fonction du sexe chez les chiens de ville et de campagne

#### D/ Séroprévalence de N.caninum en fonction des Races

Les chiens sont classés en trois catégories en fonction de leur Race (Tableau 5.7). Sur un total de 145 chiens prélevés et analysés, 16 (11,03%) était de la race commune, 28 (19,31) % de race croisée, et 101 (69,66%) de race pure. Parmi les positifs à N. caninum 18,75% (3/145) étaient de race commune, 14,29% (4/145) étaient des croisés et 10,89% (11/145) étaient de race pure. On constate que la séropositivité est élevée chez les chiens de race commune par rapport aux

chiens de race pure (figure 5.14). Statistiquement cette différence n'est pas significative  $p > 0,05$ .

Tableau 5.7 : Répartition des chiens séropositifs en fonction des Races.

| Race    | Nombre %       | positifs | Séropositivité(%) |
|---------|----------------|----------|-------------------|
| Commune | 16/145 (11.03) | 3/16     | 18.75             |
| Croisée | 28/145(19.31)  | 4/28     | 14.29             |
| Pure    | 101/145(69.66) | 11/101   | 10.89             |

$p > 0,05$

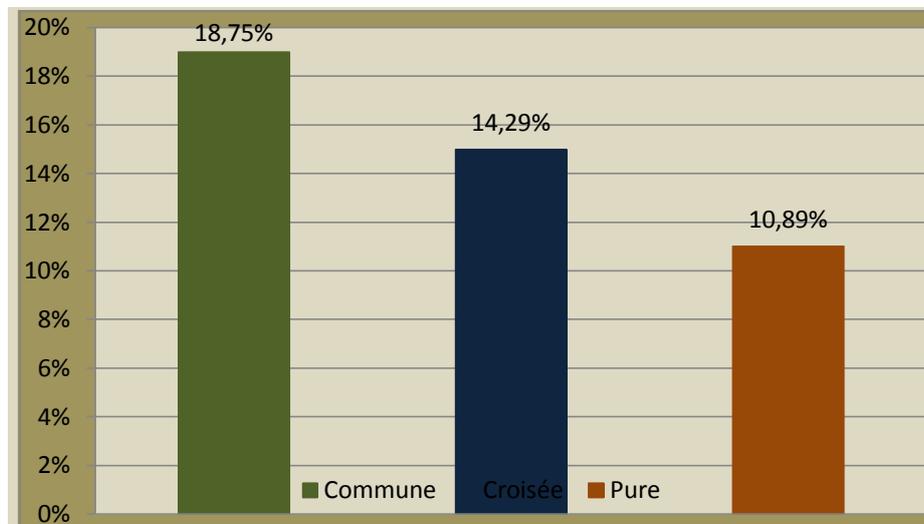


figure 5.14 : séroprévalence en fonction des Races.

L'analyse des résultats concernant les races des chiens en fonction des populations (chiens de ville, chiens de ferme) (Tableau 5.8), montre que la séropositivité était élevée dans les races communes (20%) des chiens de ville, alors qu'elle était plus élevée chez les croisés (30%) de la population de chiens de ferme (figure 5.15). Les résultats statistiques ne sont pas significatifs  $p > 0,05$ .

Tableau 5.8 : séroprévalence des races de chiens  
en fonction des populations.

| Populations     | Races   | Nombre/total (%) | Positifs | Séropositivité% |
|-----------------|---------|------------------|----------|-----------------|
| Chiens de ville | Commune | 5/111 (4.50)     | 1/5      | 20              |
|                 | Croisé  | 18/111(16.22)    | 1/18     | 5,55            |
|                 | pure    | 88/111(79.28)    | 9/88     | 10,23           |
| Chiens de ferme | Commune | 11/34 (32.35)    | 2/11     | 18,18           |
|                 | Croisé  | 10/34 (29.41)    | 3/10     | 30              |
|                 | pure    | 13/34 (38.24)    | 2/13     | 15,38           |

$p > 0,05$

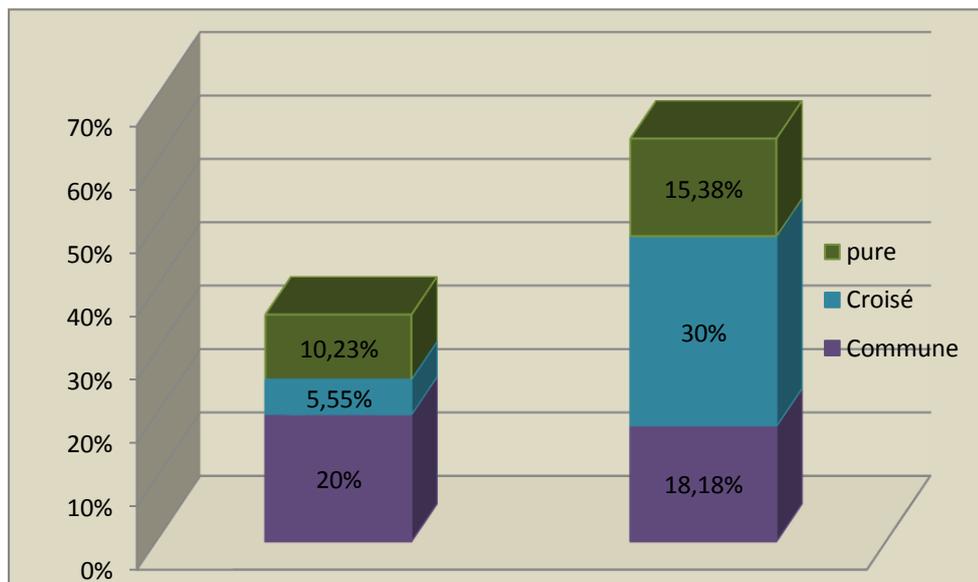


figure 5.15 : séroprévalence en fonction de la race chez les chiens de ville et de campagne

#### E/ Séroprévalence de N.caninum en fonction de l'alimentation

Les chiens qui ont reçus une alimentation crue présentent une séropositivité plus élevées (22,5%) que ceux qui ont reçus une alimentation non crue (8,57%) (Tableau 5.9) et (figure 5.16). Cette différence est statistiquement significative ( $P < 0.05$ )

Tableau 5.9 : Séroprévalence en fonction de l'alimentation des chiens.

| Alimentation | Nombre de % | positifs | Séropositifs(%) |
|--------------|-------------|----------|-----------------|
| Crue         | 40 (27.48)  | 9        | 22.5            |
| Non crue     | 105 (72.41) | 9        | 8.57            |

( $P < 0.05$ )

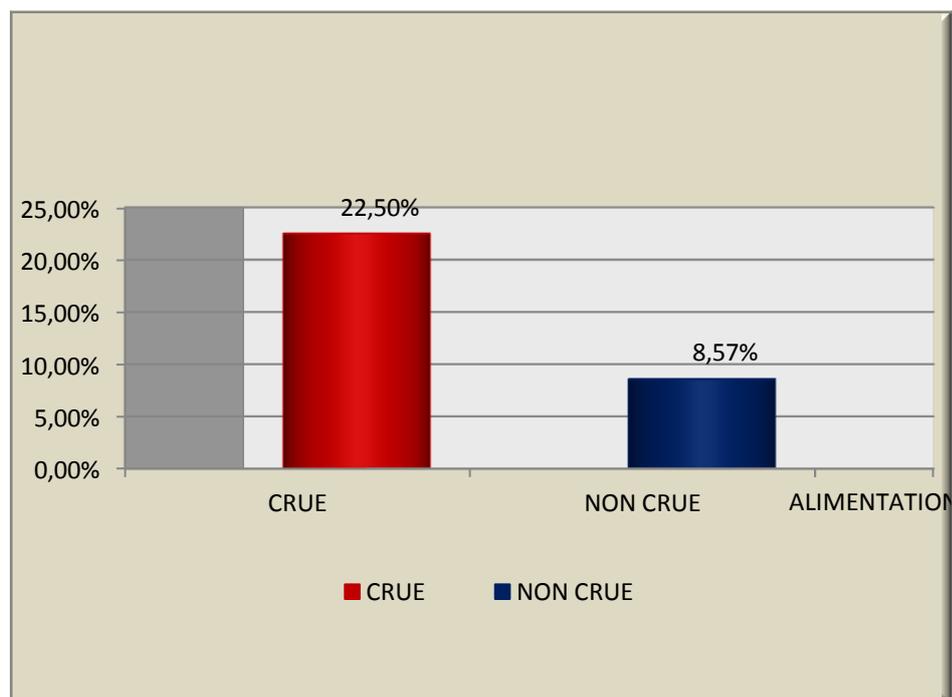


figure 5.16 : séroprévalence en fonction du mode alimentaire

Tableau 5.10 : séroprévalence des chiens en fonction des populations et de l'alimentation des chiens.

| Population des chiens | Alimentation | Nombre %      | + /Nombre total | Séropositivité % |
|-----------------------|--------------|---------------|-----------------|------------------|
| Chiens de ville       | Crue         | 20/111(18.01) | 3/20            | 15               |
|                       | Non crue     | 91/111(81.99) | 8 /91           | 8,79             |
| Chiens de ferme       | Crue         | 20/34 (58.82) | 6/20            | 30               |
|                       | Non crue     | 14/34 (41.18) | 1/14            | 7,14             |

$p > 0,05$

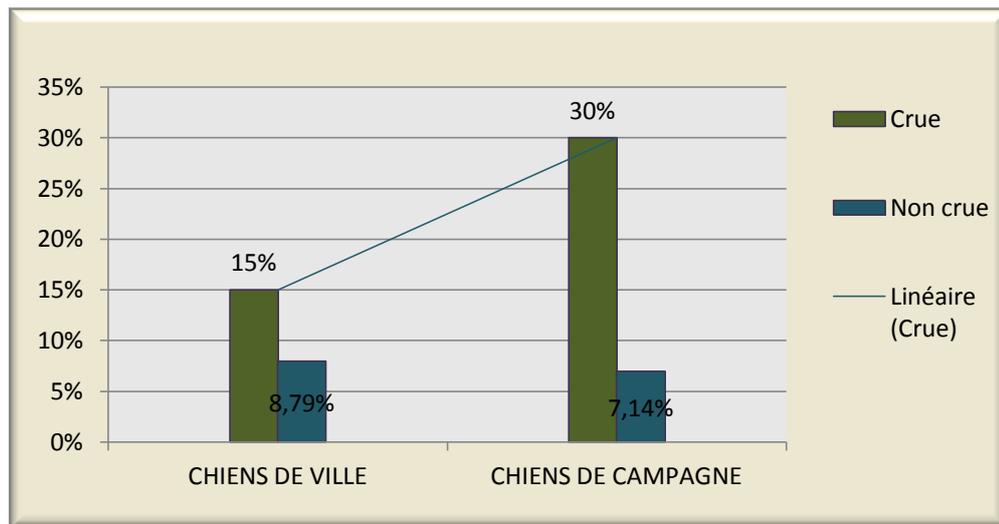


figure 5.17 : Séroprévalence en fonction de l'alimentation chez les chiens de ville et de campagne.

L'analyse de la séropositivité en fonction des populations (Tableau 5.10) révèle que la séropositivité des chiens ayant reçu une alimentation crue chez les chiens de ferme est nettement plus importante (30%) que celle de chiens de ville qui est de 15% (figure 5.17). statistiquement la différence n'est pas significative  $p > 0,05$ .

## 5.5. Discussion

L'étude que nous avons réalisée a permis de mettre en évidence la présence de *N. Caninum* chez les chiens de ville et de campagne, dans la région de Blida. Elle a permis en outre de caractériser la population étudiée en déterminant les proportions des différentes catégories d'animaux en fonction de leur lieu de vie (ville ou campagne) et quelques facteurs de risques tels que l'âge, le sexe, la race et les habitudes alimentaires.

### 5.5.1. La séroprévalence globale de *N caninum*

Notre étude a révélé que, dans la région de Blida, la prévalence de la néosporose est de 12.41 %, inférieure à celle obtenue par Ghalmi et al 2009 [11] dans la région d'Alger, qui est de 20%. Il en est de même pour la plupart des auteurs ayant étudié la néosporose dans différents pays tel qu'en Italie 29% [112], France 22.7% [145], Argentine 37,8% [129], Brésil 25% [260], Mexique 35,5% [145], Turquie 28,9%, [261] , Iran 27% [262] et en nouvelle Zélande 73,87% [145]. Cela pourrait s'expliquer par la différence entre les méthodes de diagnostic sérologique utilisées [263] ou encore par la faible proportion, dans notre échantillon, de chiens de ferme (23.45%) qui constitue une population à risque et l'absence d'autres populations à risque qui sont exposés à des sources d'infections tel que les chiens errants [263];[130].

### 5.5.2. Prévalence chez la population rurale et urbaine (chiens de ville et de campagne)

L'enquête a porté sur deux populations (chiens de ville et chiens de campagne). La prévalence chez les chiens de ferme est plus élevée que chez les chiens de ville (20,59% vs 10%) ce qui correspond à plusieurs études : 21,7% dans les fermes et 10,20% dans les zones urbaines au Brésil (région du Paraná), [264], 31% des chiens provenant de fermes laitières et 7% de ceux vivant en zones urbaines au Japon [126], 23,6% des chiens de ferme contre 5,5% des chiens urbain aux Pays-Bas [127], 21,60% chiens de ferme et 8,30% des chiens urbains en Corée [128], 26% des chiens en zones rurales et 12% des chiens urbains du Chili [265].

Cette observation peut s'expliquer par le fait que les chiens de campagne vivant à proximité de bovins, qui jouent un rôle important dans le cycle parasitaire, ont plus de chance d'être contaminés que ceux vivant en ville. En effet les chiens de ferme peuvent être contaminés par l'ingestion d'arrières faix contenant des tachyzoïtes de *N. caninum*, et perpétuer ensuite la maladie par transmission horizontale à leur descendance [121]. De plus les chiens pourraient aller d'une ferme à l'autre et augmenter la probabilité d'infection [130]. Chez les chiens de ville il a été établi avec certitude l'existence d'une transmission congénitale à travers la voie transplacentaire sur plusieurs générations, même s'ils peuvent être contaminés, dans une moindre mesure, horizontalement par ingestion d'oocystes sporulés [22] ; [28].

### 5.5.3. Prévalence en fonction de l'âge

Cette étude a pu mettre en évidence une influence de l'âge sur la séroprévalence notamment dans la catégorie d'âge de 2 à 4 ans où une différence significative a été observé ( $p < 0,05$ ), dans cette catégorie, les chiens en milieu urbain ont présenté une prévalence nulle par rapport au milieu rural où elle est de 33,33 %. Plusieurs auteurs ont mis en évidence cette influence de l'âge sur la prévalence en Australie [266], en Iran(Urmia) [262], Téhéran [267], Brésil [264], Italie [268], Espagne [269].

Ce résultat nous indique que la plupart des contaminations (notamment en milieu rural) sont post natale, et se font par ingestion de matière contaminée (placenta et avorton bovins) [268].

Certains autres auteurs n'ont trouvé aucune corrélation entre l'âge et la prévalence de la néosporose à Alger en Algérie [11], Turquie [270], Paraná [271] et Bahia [272] au Brésil, à Téhéran en Iran [133] et à Campo Gande au Brésil [273].

#### 5.5.4. Prévalence en fonction du sexe

Dans notre cheptel 8.64% des mâles étaient séropositif contre 17.19% de femelles, cette différence à été rapportée par Goździk (2011) [274], Yildiz (2009) [261] et Jésus et al. (2006) [272] même si dans notre cas cette différence n'était pas statistiquement significative. Alors que Klein (2001) [135] a signalé que la séroprévalence était plus élevée chez les mâles que chez les femelles.

Valadas, 2010 [275]; Yakhchali, 2010 [262]; Ferroglio, 2007 [268]; Malmasi, 2007 [267]; Ghalmi, 2009 [11]; Sanchez, 2003 [130] et Wanha, 2005 [266] n'ont signalés aucune différence de prévalence en fonction du sexe. Cela implique la nécessité d'effectuer davantage d'études avec des échantillons plus importants afin d'établir une prédisposition réelle du sexe.

#### 5.5.5. Prévalence en fonction de la race

Une différence, mais non significative, de la prévalence entre les différentes catégories de races (commune, croisée et pure) à été observée, ce qui concorde avec les résultats de : wanha (2005) [266], Coškun (2000) [270], Yildiz (2009) [260], Oliveira (2004) [273], Jésus (2006) [272] et Haddadzadeh (2007) [133]. Par contre Ghalmi (2009) [11], a pu mettre en évidence une différence de corrélation entre la race et la prévalence de *N. caninum*, mais aucune preuve de prédisposition raciale n'a été rapportée dans la bibliographie.

#### 5.5.6. Prévalence en fonction de l'alimentation (cru et non cru)

Selon le mode alimentaire une différence, statistiquement significative, a été observée entre les chiens recevant une alimentation crue (22.5%) et ceux alimentés par une ration non crue (8.57%). patitucci (2001) [276] a fait la même observation au Chili, Par contre, Fernandez (2008) [269] et Haddadzadeh (2007) [133] n'indiquent aucune différence de prévalence en fonction des habitudes alimentaires. L'alimentation crue constitue un facteur de risque important, en effet la viande qui provient d'un animal atteint de néosporose peut contenir des kystes à bradyzoïtes de *N. caninum* pouvant infecter les chiens qui les absorbent [130].

### 5.5.7 Prévalence en fonction des Symptômes cliniques.

Dans l'échantillon étudié (145 chiens) il y'a eu 18 chiens séropositifs dont 17 cliniquement sains et un chiot de 4 mois appartenant à la population de chiens de ville et ayant présenté des signes nerveux avec des crises convulsives répétées et qui à succombé 24 heures après sa consultation. En analysant de plus près le taux d'inhibition, on a remarqué qu'il était plus élevé chez le chien ayant présenté des manifestations cliniques par rapport aux autres cas séropositifs de la même population (appendice E). En effet les données de bibliographie confirme que les chiens séropositifs ne développent que rarement la néosporose clinique, ils sont pour la plus part asymptomatiques [38], [277], [48]. Heckeroth et Tenter (2007) [278] ont noté que sur 04 chiots séropositifs un seul à présenté des signes cliniques (paralysie des membres postérieures), ce chiot a, en outre, présenté le taux le plus élevé d'anticorps ce qui concorde avec notre observation. Il est à noter que cette observation n'est qu'un élément de suspicion clinique supplémentaire du rôle de *N. caninum* dans les symptômes neurologiques canine.

## CONCLUSION GENERALE

Le chien a été reconnu comme hôte définitif de *Neospora caninum* (agent de la néosporose) mais il est aussi un élément très important de l'épidémiologie de la maladie car sa présence dans les élevages bovins permet la dissémination du parasite à travers l'aliment et l'eau de boisson ainsi que les prairies qu'il contamine par ses déjections. La néosporose est actuellement considérée parmi les maladies abortives les plus importantes en élevage bovin (15 à 20%). Les pertes économiques sont principalement dues aux avortements (manifestation la plus fréquente), aux problèmes de fertilité, aux pertes en production laitière et aux mortalités néonatales

L'étude avait pour objectif la mise en évidence de la néosporose dans la région de Blida à travers une enquête sérologique sur deux populations, chiens de ville et chiens de ferme. Nous avons pu déterminer une prévalence de 12.42% avec une différence de taux de séropositivité entre les chiens de ville et les chiens de campagne dans l'échantillon étudié. L'analyse des facteurs de risque nous a permis d'établir une influence de l'âge et des habitudes alimentaires sur la prévalence de la néosporose puisque qu'elle est plus importante chez les chiens âgés de plus de 2 ans et ceux qui sont nourris avec une alimentation crue. Ce qui démontre la dominance de la transmission horizontale du parasite essentiellement chez les chiens de fermes qui ont, en plus, accès aux avortons et aux arrières faix de vaches séropositives.

Malgré l'intérêt scientifique des informations apportés par notre étude, un certain nombre de biais nous empêche d'extrapoler nos résultats à toute la population canine de la région d'étude. Parmi ces biais on peut citer la taille de l'échantillon (145 chiens) qui n'est pas assez représentatif de la population de chiens de la wilaya de Blida, la répartition des populations étudiées (chiens de ville, chiens de ferme) (76,55% vs 23,45%) qui rend notre échantillon hétérogène rendant les comparaisons difficiles entre chiens de ville et chiens de ferme, il aurait été aussi plus intéressant d'inclure d'autres population de chiens tel que les chiens errants et les chiens de corps constitués (police et gendarmerie nationale, protection civile).

Il est à signaler enfin la difficulté de conduire un travail de terrain dans l'espèce canine, en premier lieu à cause de l'absence de chiffres sur la population canine de la wilaya de Blida et ses caractéristiques, mais aussi en raison de la difficulté d'effectuer des prélèvements et notamment chez les chiens de campagnes devant le refus de certains propriétaires dans certains cas et les problèmes de contention chez ces animaux qui vivent en liberté dans les fermes.

## RECOMMANDATIONS

A partir des connaissances bibliographiques acquises, des résultats obtenus lors de cette étude et des contraintes rencontrées sur le terrain, un certain nombre de recommandations peuvent être proposées afin de réduire les biais et permettre un meilleur contrôle de la maladie.

### Aux éleveurs :

nous recommandons a nos éleveurs de limiter l'accès des lieux d'abreuvement et d'alimentation aux chiens en élevage bovin afin d'empêcher la contamination des aliments par les excréments et détruire systématiquement les avortons et les arrières faix contaminées qui pourraient constituer une source d'infestation à *Neospora caninum* sous leurs formes parasitaires (Takyzoïtes, Kystes à bradyzoïtes, oocystes), ce qui permettra d'interrompre le cycle du parasite empêchant ainsi la transmission horizontale.

### Aux chercheurs:

En premier lieu, et afin de pouvoir extrapoler les résultats à une population plus large, prendre un échantillon plus important et homogène afin d'augmenter la précision et l'exactitude des résultats. Ensuite étudier la prévalence de la maladie chez les bovins et établir une corrélation avec la présence de chiens séropositifs dans l'étable, principalement dans les élevages présentant des avortements et des problèmes de fertilité et de production laitière.

Enfin, élargir à d'autres wilayas du pays afin d'établir la prévalence nationale et étudier d'autres espèces domestique à savoir les ovins, les caprins, les camelins et les équidés pour d'approfondir les connaissances du parasite et de son cycle. Il serait aussi intéressant d'étudier la prévalence chez l'homme notamment les personnes à risque qui sont en contact avec des chiens séropositifs, tels que les éleveurs, les dresseurs, le personnel des chenils et les vétérinaires. En effet une enquête sérologique effectuée aux Etats- Unis sur 1029 sérums a montré que 6,7% étaient positifs même si ces résultats indiquaient que les taux d'anticorps observés étaient bas [279]. Etudier d'autres populations telles que les chiens errants autour des abattoirs et les chiens des chenils.

## REFERENCES

1. Anderson M.L., Andrianarivo A.G., Conrad P.A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science* (2000), **60-61**, 417-431.
2. Dubey J.P., Carpenter J.L., Speer C.A., Topper M.J., Uggla A.: Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, (1988), **192**, 1269-1285.
3. Bjerkas I., Mohn S. F., Presthus u. J: Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs *Parasitenkd*, (1984) **70**, 271-274.
4. Lindsay D.S., Dubey J.P., Duncan R.B. Rapid communication: Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasito.*, (1999a), **82**, 327-333.
5. Gondim L.F.P., Gao L., Mc Allister M.M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and Cattles and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasito* (2002)., **88**, 1159-1163.
6. Gondim L.F.P., MC Allister M.M., GAO L. Effects of host maturity and Prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by Dogs *Vet. Parasitol.* (2005), **134**, 33–39.
7. Bjerkas I., Dubey J.P.: Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegians dogs. *Acta. Vet. Scand.* (1991), **32**, 407- 410.
8. Anderson M.L., Reynolds J.P., Rowe J.D., Sverlow K.W., Packham A.E., Barr B.C.: Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. Infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1997), **210**, 1206-1210.
9. Paré, J., M. C. Thurmond, U. S. K. Hietala: *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasito* (1997), **1**, 83, 82-87.
10. Hietala, S. K., U. M. C. Thurmond: Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *Int. J. Parasitol.* (1999), **29**, 1669-1676.
11. Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B.: First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers District (Algeria). *parasitol.int.* (2009a), **58**, 444-50.
12. Ghalmi F., China B., Losson B. : Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum*. *Ann. Méd. Vét.* (2007), **151**, 123-149.

13. Ghalmi F., China B., Dramchini N.: Risk factors for abortion in cattle herds in Algeria. Vet. Record, in press (2009b).
14. Dechicha A. Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida. (2003), 103. Mémoire magister.
15. Speer C.A., Dubey J.P., MC Allister M.M., Blixt J.A.: Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoïtes, and tissue cysts of *Neospora Caninum* and *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. (1999), **29**, 1509-1519.
16. Marsh A.E., Barr B.C., Madigan J., Lakritz J., Nordhausen R., Conrad P.: Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. Journal of the American veterinary medical Association. (1996), vol.209, n°11: 1907-1913.
17. Marsh A.E., Howed.K., Wang G., Barr B.C., Cannon N., Conrad P.A.: Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1 and SRS2. Int.j.parasitol. (1999), **29**, 1575-1582.
18. Bjerkas I., Jenkins M.C., Dubey J.P.: Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoites antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. (1994a), **1**, 214-221.
19. Hill D.E., Liddell S., Jenkins M.C., Dubey J.P.: Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally- infected dogs using the polymerase chain reaction. J. Parasitol. (2001), **187**, 395-398.
20. Dubey J.P., Koestner A., Piperr C.: repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Am. vet .med. Assoc., (1990a), **197**,857-60.
21. Marquer A., Chermette R.: La néosporose chez les bovins. Point vétérinaire. (2000), vol.31, n°208: 193-298.
22. Mc Allister, M. M., J. P. Dubey, D. S. Lindsay, W. R. Jolley, R. A. Wills U. A.M. Mc Guire: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. (1998), **28**, 1473-1478.
23. Basso W., Venturini L., Venturini M.C., Hill D.E., Kwok O.C.H., Shen S.K., et al : First isolation of *Neospora caninum* from the faeces of a naturally infected dog. J. Parasitol. (2001a), **87**, 612-618.
24. Lindsay D.S., Kelly E.J., Mackown R.D., Stein F.J., Plozer J., Herman J., Blagburn B.L., Dubey J.P.: Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. Journal of Parasitology. (1996a), vol.82, n°4:657-659.

25. Dubey J.P.: Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* (1999a), **84**, 349-367.
26. Buxton D., Mac Allister M.M., Dubey J.P.: the comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology.* (2002), vol.18, n°12: 546-552.
27. Dubey J.P.: *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidian of humans and animals. In Julius P. Kreier (eds), *Parasitic Protozoa.* (1993), vol.6, 2ème edition, Academic press, San Diego, California, 1-158.
28. Dubey J.P.: Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1999b), 214:1160–1163.
29. Losson B., Bourdoiseau G. : *Neospora caninum*: un nouvel agent abortif chez les bovins. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* (2000) n°7: 107-114.
30. Brugere-Picoux J, Adler C, Chastant S, Remy D, Milleman Y. : “La néosporose bovine: une cause majeure d’avortement,” *Bull soc. Vet. Prat. Fr.* (1998), **82**(4), 177-201.
31. B.C., Barta J. R., Bjerkas I., Bjorkman C., Blagburn B.L.: Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related Coccidian. *Int. J. Parasitology* (2002), **32**, 929–946.
32. Speer C.A., Dubey J.P.: Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. *Journal for Protozoology.* (1989), vol.36, n°5: 458- 463.
33. Dubey J.P., Barr B.C., Barta J.R., Bjerkas I., Björkman C., Blagburn B.L., Bowman D.D., Buxton D., Ellis J.T., Gottstein B., Hemphill A., Hill D.E., Howe D.K., Jenkins M.C., Kobayashi Y., Koudela B., Marsh A.E., Mac Allister M.M., Modry D., Omata Y., Sibley L.D., Speer C.A., Trees A.J., Uggla A., Upton S.J., Williams D.J.L., Lindsay D.S.: Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *International Journal for Parasitology.* (2002), vol.32, n°8: 929-946.
34. Dubey J.P., Lindsay D.S.: A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* (1996a), **67**, 1–59.
35. Barber J.S., Payne-Johnson C.E., and Trees A.J.: Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. *J. Small An. Pract.* (1996a), **37**, 568-574.
36. Dubey J.P., Buxton D., Wouda W.: Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *J.Comp. Path.* (2006a), **134**, 267-289.

37. Dubey J.P., Lindsay D.S., Anderson M.L., Davis S.W., Shen S.K.: Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1992a), **201**, 709-713.
38. Dubey J.P., Sreekumar C., Knickman E., Miska K.B., Vianna M.C.B., Kwok O.C.H.: Biologic, morphologic, and molecular characterization Of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *Int. J. Parasitol.* (2004a) **34**:1157–1167.
39. Bjerkas I., Presthus J.: Immuno-histochemical and ultrastructural Characteristics of a cyst-forming sporozoan associated with encephalom (1988).
40. Barr B.C., Conrad P.A., Dubey J.P., Anderson M.L. *Neospora*- like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure and immunoreactivity. *J. Vet. Diagn. Invest.* (1991), **3**, 39-46.
41. Andrew Hemphill et Nathalie Von Laufen : Développement d'un modèle de culture in vitro de générer *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* oocystes et de sporozoïtes. 3R-Projet, 85 - 0307/2011
42. Dubey J.P., Metzger F.L., Hattel A.L., Lindsay D.S., Fritz D.L.: Canine cutaneous neosporosis: Clinical improvement with Clindamycin. *Vet. Dermatol.* (1995), **6**, 37-43.
43. Myriam B. : Approche sero-epidemiologique des avortements à *Neospora caninum* chez les bovins dans le département du jura thèse de doctorat vétérinaire, service de parasitologie, ENVL. (2004).
44. Lindsay D.S., Upton S.J., Dubey J.P. A.: structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *International Journal for Parasitology.* (1999b), vol. **29**, N°10, 1521-1523.
45. Guillot J., Escriou C., Fritz D. La néosporose canine. *Point vétérinaire*, (2000) vol.**31**, 208, 29-35.
46. Barber J.S., Trees A.J.: Clinical aspect of 27 cases of neosporosis in Dogs. *Vet. Rec.* (1996b), **139**, 439-443.
47. Barber J.S.: Néosporose canine. *Waltham focus.* (1998) vol.8, n°1: 25-29.
48. Dubey J.P., Vianna M.C.B., Kwok O.C.H., Hill D.E., Miska K.B., Tuo W., Velmurugan G.V., Conors M. ET Jenkins M.C.,: Neosporosis in Beagle Dogs: Clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic Characterization of *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* (2007a), 149:158–166.

49. Dubey J.P., Dorrough K.R., Jenkins M.C., Liddell S., Speer C.A., Kwoc O.C.H.: Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int. J. Parasitol.* (1998), **28**, 293–304.
50. Dubey J.P., Schares G., Ortega-Mora L.M.: Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews.* (2007a), **20**, 323-367.
51. De Meerschman F., Losson B. : *Neospora caninum* et la neosporose: Biologie et description des lésions chez le chien. *Ann. Méd. Vet.* (1998a), **142**, 847-853.
52. Thilsted J.P. ET Dubey J.P.: Neosporosis-like abortions in a herd of Dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1989, 1(3):205-209.
53. Dubey J.P. : La néosporose bovine. *Société Française de Buiatrie - Paris.* (2000), 104-109.
54. De Meerschman F., Losson B. : *Neospora caninum*: un nouvel agent abortif chez le bovin et autres espèces domestiques. *Annales de Médecine vétérinaire.* (1998b), n°142: 299-305.
55. Innes E.A., Andrianarivo A.G., Bjorman C., Conrad W., Conrad P.A.: Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends in Parasitol.* (2002), **18** (11), 497-404.
56. Björkman C., Alenius S., Emanuelsson U. et Uggla A.: *Neospora Caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet. J.* (2000), 159, 201–206.
57. De Meerschman F. Losson B. : Aspects diagnostiques et épidémiologiques de la néosporose bovine (*Neospora caninum*) en Belgique .Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires - Année académique 2004-2005., **2**.
58. Anderson M.L., Palmer C.H.W., Thurmond M.C., Picanson J.P., Blanchard P.C., Breitmeyer R.E., Layton A.W., Mac Allister M., Daft B., Kinde H., Read D.H., Dubey J.P., Conrad P., Barr B.C.: Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American veterinary medical Association.* (1995), vol. 207, n°9: 1206-1210.
59. Paré J., Thurmond M.C. et Hietala S.K.: Congenital *Neospora Caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can. J. Vet. Res.* 1996, 60:133–139.

60. Pitel P.H.; Pronost S.; Chatagnon G.; Tainturier D.; Fortier G. et Ballet J.J.: Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet. Parasitol.* (2001), 102, 269–277.
61. Journal C., Pitel P-H. : Diagnostic de la néosporose en élevage bovin. *Point vétérinaire.* (2001a) n°213: 42-43.
62. Dubey J.P., Congenital neosporosis in a calf. *Vet Rec.*, (1989b).125(19):486.
63. Locatelli-Dittrich R.; Richartz R.R.T.B.; Gasino-Joineau M.E.; Pinckney R.D.; De sousa R.S.; Leite L.C. et Thomaz-Soccol V., Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. *Vet. Rec.* (2003), 153:366 – 36.
64. Dubey J.P., Hartley W.J., Lindsay D.S., Topper M.J.: Fatal Congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *Journal of Parasitology.* (1990b) N°76 (1): 127-130.
65. Corbellini L.G., Colodel E.M. et Driemeier D.: Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J. Vet. Diagn. Investig.* (2001), 13:416–419.
66. Dubey, J. P., Acland H. M. et Hamir U. A. N.: *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. *J. Parasitol.* (1992b), 78, 532-534.
67. Barr B.C.; Anderson M.L.; Woods L.W.; Dubey J.P. ET Conrad P.A.: *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J. Vet. Diagn. Investig.* (1992), 4, 365–367.
68. Dubey, J. P., J. A. Morales, P. Villalobos, D. S. Lindsay, B. L. Blagburn U. M. J. Topper: Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1996b), 2, 263-265.
69. Chartier C.H., Baudry C., Losson B., DE Meerscham F., Romand S. et Thulliez P. : La néosporose chez la chèvre: résultat de deux enquêtes Sérologiques dans l'ouest de la France. *Point Vét.* (2000), 31 (209):433-437
70. Dubey J.P.; Liddell S.; Mattson D.; Speer C.A.; Howe D.K. et Jenkins M.C., Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. *J. Parasitol.* (2001), 87:345–353.
71. Hamir A.N., Tornquist S.J., Gerros T.C., Topper M.J. et Dubey J.P.: *Neospora caninum* - associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Parasitol.* (1998), 79:269-27.

72. Marsh A.E., Barr B.C., Packham A.E., Conrad P.A. Description of a new *Neospora* species (*Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae*). *Journal of Parasitology*, (1998), vol.84, n°5: 983-991.
73. Walsh C.P., Duncan R.B., Zajac A.M., Blagburn B. L. et Lindsay D.S.: *Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils, and dogs. *Vet. Parasitol.* (2000), 92(2):119-128.
74. Innes E.A., Wright S.E., Maley S., Rae A., Schock A., Bartley P., et al. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* (2001)31, 1523-1534.
75. Dubey J.P., Lindsay D.S., Lipscomb T.P.: Neosporosis in cats *Vet. Pathol.* (1990c), **27**, 335-339.
76. Mcdole M., Gay J.M.: Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. *Vet. Parasitol.* (2002), **105**, 257-260.
77. Macaldowie C., Maley S.W., Wright S., Bartley P., Esteban Redondo., Buxton.: Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *J. Comp.Path.* (2004), **131**, 142-156.
78. Dubey J.P., Lindsay D.S.: Fatal *Neospora caninum* infection in kittens. *Journal of Parasitology*, (1989c) vol.75, n°1: 148-151.
79. Dubey J.P., Lindsay D.S. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *Journal of Parasitology*, (1989), vol.75, n°5: 765-771.
80. Williams J.H., Espie I., van Wilpe E. et Matthee A., Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. *Tydskr. S. Afr. Vet. Ver.* (2002), 73:38– 43.
81. Woods L.W., Anderson M.L., Swift P.K. et Sverlow K.W.: Systemic Neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus Columbianus*). *J. Vet. Diagn. Investig.* (1994), 6,508–510.
82. Dubey J.P., Rigoulet J., Lagourette P., George C., Longeart L. et LeNet J.L.: Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *J. Parasitol.* (1996c), 82:338–339.
83. Serrano-Martinez E., Collantes-Fernandez E., Chavez-Velasque A., Rodrigues- Bertos A., casas-Astos E., Risco-Castillo V. Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in Alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted fetuses from Peru. *Vet. Parasitol.* (2007), **150**, 39-45.
84. Ferroglio E., et Rossi L.: Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in wild ruminants from the Italian Alps. *Vet. Rec.* (2001), 148, 754–755.

85. Gondim L.F.P., Mc Allister M.M., Pitt W.C. et Zemlicka D.E.: Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, (2004), 34:159–161.
86. Schares G., Wenzel U., Müller T. ET Conraths F.J.: Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Parasitol.* (2001a), 31, 418–423.
87. Simpson V.R., Monies R.J., Riley P., Cromey D.S. Foxes and Neosporosis. *Veterinary Record*, (1997), **141** (19), 503.
88. Barr B.C., Anderson M.L., Blanchard P.C., Daft B.M., Kinde H., Conrad P.A. Bovine foetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet. Pathol.* (1990), **27**, 354-361.
89. Wouda W., Moen A.R., Visser J.R., Van Knapen F.: Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes With regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation*, (1997a) n°9: 180-185.
90. DUBEY J.P., LINDSAY D.S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* (1989), **50**, 1578-1579.
91. COLE R. A., LINDSAY D.S., BLAGBURN B.L., SORJONEN D. C., DUBEY J. P. Vertical of *Neospora caninum* in dogs. *J. Parasitol.* (1995), **81**, 208–211. transmission
92. Fioretti, D.P., Veronesi, F., Diaferia, M., Vitellozzi, G. On a naturally occurring repeated vertical transmission with probable abortive manifestations of *Neospora caninum* in a bitch. *Summa, Animali da compagnia.* (2006) ,23: 45–53.
93. Tainturier, D. *Neospora caninum* provoque des troubles de la reproduction chez la chienne la semaine vétérinaire. (2009), 1018,24 au 30 janvier, p.8.
94. Grellet A. L'avortement spontané chez la chienne en questions réponses et chirurgie, dépêche vétérinaire CP N° 7 du 21 au 27 juin 2008.
95. Lindsay D.S., Dubey J.P. Canine Neosporosis. *J. Vet. Parasitol.* (2000), **14** (1), 1-10.
96. Dijkstra Th., Barkema H.W., Hesselink J.W., Wouda W.: Point Source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of Common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Veterinary Parasitology.* (2002a), n°105: 89-98.
97. Dijkstra T., Barkema H. W., Eysker M., Hesselink J. W., Wouda W.: natural transmission routes of *Neospora caninum* between Farm Dogs and cattle .*veterinary parasitology.* (2002b), n°105:99-104.

98. Buxton D., Maley S.W., Pastoret P.P., Brochier B., Innes E.A.: Examination of red foxes (*Vulpes Vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Record*. (1997) **141** (12), 308- 309.
99. Bartels C.J.M., Wouda W., Schukken Y.H.: Risk factors for *Neospora Caninum-associated* abortions storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*. (1999), n°52: 247-257.
100. Dubey J.P.: Review of *Neospora caninum* and neosporosis in Animals. *The Korean Journal of Parasitology*. (2003), vol.41, n°1: 1-16.
101. Lindsay D.S., Dubey J.P. Infections in mice with tachyzoïtes and Bradyzoïtes of *Neospora caninum* (*Protozoa: Apicomplexa*). *Journal of Parasitology*, 1990 vol.76, n°3: 410-413.
102. Dubey J.P., Lindsay D.S.: Neosporosis. *Parasitology Today*. (1993), vol.9, N°12: 452-458.
103. Lindsay D.S., Blagburn B.L., Dubey J.P: Factors affecting the Survival of *Neospora caninum* bradyzoïtes in murine tissues. *Journal of Parasitology*. (1992), vol.78, n°1: 70-72.
104. Bryan L. A., Gajadhar A. A., Dubey J P., Haines D. M.: Bovine neonatal Encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp . protozoan. *Can. Vet. J.* (1994), **35**, 111-3.
105. Euzéby J. : Les protozooses des animaux et leurs relations avec Les protozooses de l'homme. In *Protozoologie médicale comparée*, Volume II, Collection Fondation Marcel Mérieux, Lyon. (1987), 84-456.
106. Dubey J.P., Miller N.L., Frenkel J.K.: The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *Journal of experimental Medicine*. (1970), n°132: 636- 662.
107. Lindsay D.S., Kelly E.J., MacKown R.D., Stein F.J., Plozer J., Herman J., Blagburn B.L., Dubey J.P. Prevalence of *Neospora caninum* And *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and Experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *Journal of Parasitology*. (1996b) vol.82, n°4: 657-659.
108. Cummings J.F., De Lahunta A., Suter M.M., Jacobson R.H.: Canine protozoan polyradiculoneuritis. *Acta Neuropathol.* (1988), **76**, 46-54.
109. Dubey J.P., Hattel A.L., Lindsay D.S., Topper M.J.: Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and Experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1988b), **193**, 1259–1263.

110. Dubey J.P., Koestner A., Piper R.C.: Repeated transplacental Transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. (1990d) **197**,857– 860.
111. French N.P., Clancy D., Davison H.C., Trees A.J.: Mathematical Models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and Options for control. Int. J. Parasitol. (1999), **29**, 1691-1704.
112. Hemphill A., Gottstein B., Conraths F.J., De Meerschman F., Ellis J.T., Innes E.A., McAllister M.M., Ortega-Mora L.M., Tenter A.M., Trees A.J., Uggla A., Williams D.J.L., Wouda W.: A European perspective on *Neospora caninum* International Journal for Parasitology. (2000), **30**, 877-924.
113. Rodrigues A., Gennari S.M., Aguiar D.M., Sreekumar C., Hill D.E. Miska K.B.: Shedding of *Neospora caninum* oocyst by dogs fed tissues From naturally infected water buffaloes (*Bubalu bubali*) from Brazil. Vet. Parasitol. (2004), **124**, 139-150.
114. Dijkstra T., Eysker M., Schares G., Conrath F.J., Wouda W., Barkema H.W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of Naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums Spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. Int. J. Parasitol. (2001), **31**, 747- 752.
115. Bergeron N., Fecteau G., Villeneuve A., Girard C., Pare J. failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *neospora caninum*. Vet Parasitol. (2001), **97**, 145-152.
116. Lindsay D.S., Ritter D.M., Brake. Oocyst excretion in dogs fed mouse brain containing tissue cysts of cloned line of *Neospora caninum*. J. parasitol. (2001a), **87**, 909-911.
117. Uzeda, R.S., Costa, K.S., Santos, S.L., Pinheiro, A.M., de Almeida, M.A.O., McAllister, M.M., Gondim, L.F.P.,. Loss of infectivity of *Neospora caninum* oocysts maintained for a prolonged time. Korean J. Parasitol. (2007), 45, 295–299.
118. Neto A.F.A., Bandini L.A., Nishi S.M., Soares R.M., Driemeier, D.: Antoniassi, N.A.B., Schares, G., Gennari, S.M., 2011. Viability of sporulated oocysts of *Neospora caninum* after exposure to different physical and chemical treatments. J. Parasitol. 97, 135–139.
119. Masuda T., Kobayashi Y., Maeda R., Omata Y.: Possibility of *Neospora caninum* infection by venereal transmission in CB-17 scid Mice. Vet. Parasitol. (2007), **149**, 130-133.

120. Ortega-Mora L.M., Ferre I., Del-Pozo I. Caetano-Da-Silva A., Collantes-Fernandez E., Regidor-Ferrilo J.: Rapid communication: Detection of *Neospora caninum* in semen of Bulls. *Vet. Parasitol.* (2003), **177**, 301-308.
121. Dubey J.P., Schares G.: Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* (2006b), **140**, 1-34.
122. Canada N., Meireles C.S., Ferreira P., Correia Da Costa J.M., Rocha A.: Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporosis. *Vet. Parasitol.* (2006), **139**, 109-114.
123. Moskwa B., Pastusiak K., Bien J., Cabaj W.: the first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitol. Res.* (2007), **100**, 633-636.
124. Baillargeon P, Fecteau G, Pare J.: Evaluation of the embryo Transfer Procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a Method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in Cattle. *JAVMA.* (2001), 218:1803-1806.
125. Landmann JK, Jillella D, O'dnoghue PJ.: Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust Vet J.* (2002), 80:502-503.
126. Sawada M., Park C., Kondo H., Morita T., Shimada A, Yamane L., Umenura T.: Serological survey of antibody to *Neospora caninum* In Japanese dogs. *Journal of Veterinary Medicine Science.* (1998), **60**, 853-854.
127. Wouda W., Dijkstra Th., Kramer A.M.H., Van Maanen C., Brinkhof J.M.A.: Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora Caninum* infections in dogs and cattle. *International Journal for Parasitology.* (1999), **29**, 1677- 1682.
128. Kim J.H., Kang M.S., Lee B.C., Hwang W.S., Lee C.W., So B.J., Dubey J.P., Kim D.Y. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Dogs and Raccoon dogs in Korea. *Korean J. Parasitol.* (2003), **41**, 243-245.
129. Basso W., Venturini L., Venturini M. C., Moore P., Rambeau M., Unzaga J.M., Campero C., Bacigalupe D., Dubey J.R. prevalence of *Neospora Caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from Urban areas of Argentina. *J. Parasitol.*, 2001b, **87**, 906-907.

130. Sanchez G.F., Morales S.E., Martinez M.J., Trigo J.F. Determination and Correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Can. J. Vet. Res.* (2003), **67**, 142-145.
131. Fridlund-Plugge, N., Montiani-Ferreira, F., Richartz, R.R.T.B., Dal Pizzol, J., Machado, P.C., Patricio, L.F.L., Rosinelli, A.S., Locatelli-Dittrich, R.: Frequency of antibodies against *Neospora caninum* in stray and domiciled dogs from urban, periurban and rural areas from Parana State, Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2008), **17**, 222–226.
132. Cunha Filho, N.A., Lucas, A.S., Pappen, F.G., Ragozo, A.M.A., Gennari, S.M., Lucia, T., Farias, N.A.R.,. Fatores de risco e prevalencia de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caes urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2008), **17** (Suppl 1), 301–306.
133. Haddadzadeh, H.R., Sadrebazzaz, A., Malmasi, A., Ardakani, H.T., Nia, P.K. Sadreshirazi, N.: Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from rural and urban environments in Tehran, Iran. *Parasitol. Res.* (2007), **101**, 1563–1565.
134. Sharma, S., Bal, M.S., Meenakshi, Kaur, K., Sandhu, K.S., Dubey, J.P., 2008. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs in India. *J. Parasitol.* **94**, 303–304.
135. Klein BU, Muller E: Seroprävalenz von antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Hunden mit und ohne klinischem Neosporoseverdacht in Deutschland. *Der praktische Tierarzt.* (2001), **82**: 437- 440.
136. André, M.R., Adania, C.H., Teixeira, R.H.F., Silva, K.F., Jusi, M.M.G., Machado, S.T.Z., de Bortolli, C.P., Falcade, M., Sousa, L., Alegretti, S.M., Felipe, P.A.N., Machado, R.Z., Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive neotropical and exotic wild canids and felids. *J. Parasitol.* (2010), **96**, 1007–1009.
137. Leleu A. : Infection à *Neospora caninum* dans la faune sauvage française. Thèse Med. Vet. 2003Alfort, p107.
138. Lindsay D.S., Weston J.L., Little S.E.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon Cinereoargenteus*) from South Carolina. *Veterinary Parasitology.* (2001b), **97**, 159- 164.
139. Barber J.S., Gasser R.B., Ellis J., Reichel M.P., McMillan D., Trees A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid Populations. *Journal of Parasitology.* (1997a), **83**(6), 1056-1058.

140. Wolfe A., Hogan S., Maguire D., Fitzpatrick C., Vaughan L., Wall D., Hayden T.J. Mulcahy G. () Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as Hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Veterinary Record*, (2001), **149**, 759-763.
141. Jakubek E.B., Bröjer C., Regnersen C., Uggla A., Schares G., Bjorkman C.: Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora Caninum* in Swedish red foxes (*Vulpes vulpes*). *Veterinary Parasitology*. (2001), **102**, 167-172.
142. Anderson M.L., Blanchard P.C., Barr B.C., Dubey J.P.; Hoffman R.L. et Conrad P.A.: *Neospora*-like protozoan infection as a major Cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1991), 198,241– 244.
143. Thornton R. N., Thompson E., Dubey J P.: *Neospora* abortion in New Zealand cattle. *N.Z. vet. J.*, (1991), **39**, 129-133.
144. Sanderson M.W., Gay J.M., Baszler T.V.: *Neospora caninum* Seroprevalence and associated risk factors in beff cattle in the Northwestern United States. *Veterinary Parasitology*. (2000), **90**, 15-24.
145. Claire Sarrazin. : Transmission Verticale De *Neospora* SP.Chez les Mammifères : Quelles Consequences Pour L'elevage Canin ? Thèse Pour le Doctorat Veterinaire. ENVA (2009) p **55**.
146. Koiwai M., Hamaoka T., Haritani M., Shimizu S., Tsutsui T., Eto M., Yamane I.: Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan .*vet.parasitol.* (2005), 130, 15- 8.
147. Bartels C.J., Arnaiz -Seco J.I., Ruiz -Santa -Quitera A., Bjorkman C., Frossling J., von Blumroder D., Conraths F.J., Schares G., van Maanen C., Wouda W., Ortega -Mora L.M. Supranational comparison of *Neospora Caninum* Seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain And Sweden.*Vet. Parasitol.* (2006), **137**, 17-27.
148. Dubey, J.P. Schares G. Neosporosis in animals-The last five years*Veterinary Parasitology* 180 (2011) 90– 108.
149. Millan, J., Candela, M.G., Palomares, F., Cubero, M.J., Rodriguez, A.,Barral,M., de la Fuente, J., Almeria, S., Leon-Vizcaino, L.,. Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Vet. J.* (2009), 182, 114–124.
150. Hornok, S., Edelhofer, R., Joachim, A., Farkas, R., Berta, K., Repasi, A., Lakatos, B., Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection of cats in Hungary. *Acta Vet. Hung.* (2008), 56, 81–88.

151. Wernery, U., Thomas, R., Raghaven, R., Syriac, G., Joseph, S., Georgy, N., 2008. Seroepidemiological studies for the detection of antibodies against 8 infectious diseases in dairy dromedaries of the United Arab Emirates using modern laboratory techniques – part II. *J. Camel Prac. Res.* 15, 139–145.
152. More, G., Pardini, L., Basso, W., Marin, R., Bacigalupe, D., Auad, G., Venturini, L., Venturini, M.C.,. Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. *Vet. Parasitol.* (2008), 155, 158–160.
153. Casas, V., Chavez, G.V., Casas, A.A., Leyva, E.V., Alvarado, V.S., Serrano, A.M., Ticona, E.S., Puray Ch, D.N.,. Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central. *Rev. Inv. Vet. Peru.* (2006), 17, 8–13.
154. Kamga-Waladjo, A.R., Chatagnon, G., Bakou, S.N., Boly, H., Diop, P.E.H., Tainturier D., *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive characteristics in wandering sows from Senegal West Africa. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* (2009), 4, 263–266.
155. Azevedo, S.S., Pena, H.F., Alves, C.J., Guimaraes Filho, A.A., Oliveira, R.M., Maksimov, P., Schares, G., Gennari, S.M.,. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2010), 19, 80–84.
156. Liu, J., Cai, J.Z., Zhang, W., Liu, Q., Chen, D., Han, J.P., Liu, Q.R. : Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in yaks (*Bos grunniens*) in Qinghai, China. *Vet. Parasitol.* (2008), 152, 330–332.
157. Damriyasa, I.M., Schares, G., Bauer, C.: Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in *Bos javanicus* ('Bali cattle') from Indonesia. *Trop. Anim. Health Prod.* (2010), 42, 95–98.
158. Rajkhowa, S., Rajkhowa, C., Dutta, P.R., Michui, P., Das, R.: Serological evidence of *Neospora caninum* infection in mithun (*Bos frontalis*) from India. *Res. Vet. Sci.* (2008), 84, 250–253.
159. Campero, C.M., Perez, A., Moore, D.P., Crudeli, G., Benitez, D., Draghi, M.G., Cano, D., Konrad, J.L., Odeon, A.C.,. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) on four ranches in Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.* (2007), 150, 155–158.
160. Hajikolaei, M.R.H., Goraninejad, S., Hamidinejat, H., Ghorbanpour, Paryab, R.,. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bulalis*) from the south-western region of Iran. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* (2007), 51, 233–235.

161. Nasir, A., Ashraf, M., Khan, M.S., Yaquib, T., Javeed, A., Avais, M., Akhtar, F.,. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy buffalo in Lahore District. Pakistan. J. Parasitol. (2011), 541–543.
162. Konnai, S., Mingala, C.N., Sato, M., Abes, N.S., Venturina, F.A., Gutierrez, C.A., Sano, T., Omata, Y., Cruz, L.C., Onuma, M., Ohashi, K. A survey of abortifacient infectious agents in livestock in Luzon, the Philippines, with emphasis on the situation in a cattle herd with abortion problems. Acta Tropica. (2008), 105, 269–273.
163. Innes E.A. et Vermeulen A.N.: Vaccination as a control strategy Against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora* Parasitology. (2006), 133 Suppl. S145-68.
164. Nishikawa Y., Inoue N., Xuan X., Nagasawa H., Igarashi I., Fujisaki K, Otsuka H. et Mikami T.: Protective efficacy of vaccination by recombinant vaccinia virus against *Neospora caninum* Infection. Vaccine. (2001), 19, 1381-1390.
165. Ritter D.M., Kerlin R., Sibert G. et Brake D.: Immune factor Influencing the course of infection with *Neospora caninum* in the murine Host. J. Parasitol. (2002), 88, 271-280.
166. Nishikawa Y., Ikeda H., Fukumoto S., Xuan X., Nagasawa H., Otsuka H. et Mikami T.: Immunization of dogs with a canine herpes virus vector expressing *Neospora caninum* surface protein; NcSRS2. Int. J. Parasitol. (2000), 30(11), 1167-1171.2
167. Thurmond M.C., Sharon K.H.: Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions In dairy cattle. Am. J. Vet. Rec. (1997), **58** (12), 1381-1385.
168. Andrianarivo A.G., Barr B.C., Anderson M.L., Rowe J.D., Packham A.E., Sverlow K.W. ET Conrad P.A.: Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora Caninum*. Parasitol. Res. (2001), 87(10), 817-825.
169. Barling K.S., Lunt D.K., Graham S.L. ET Choromanski; L.J.: Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef feedlot Steers. J. Am. Vet. Med. Assoc. (2003), 222(5), 624-627.
170. Heuer C.; Nicholson C.; Russel D. ET Weston J., Field study in Dairy cattle from New Zealand. Vet. Parasitol. (2004), 125, 137–146.
171. Romero J.J.; Pérez E. et Frankena K : Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. Vet. Parasitol. (2004), 123, 149–159.

172. Williams D.J.L., Guy C.S., Smith R.F., Ellis J., Björkman C., Reichel M.P. et Trees A.J.: Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. *Infect.Immun.* (2007), 75, 1343–1348.
173. Andrianarivo A.G., Anderson M.L., Rowe J.D., Gardner I.A., Reynolds J.P., Choromanski L. et Conrad P.A.: Immune responses during Pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and Without immunization. *Parasitol. Res.* (2005), 96:24–31.
174. Andrianarivo A.G., Choromanski L., McDonough S.P., Packham A.E. et Conrad P.A.: Immunogenicity of a killed whole *Neospora Caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J.Parasitol.* (1999), 29(10), 1613-1625.
175. Andrianarivo A.G., Rowe J.D., Barr B.C., Anderson M.L., Packham A.E., Sverlow K.W., Choromanski L., Loui C., Grace A. et Conrad P.A.: A Polygen-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoites preparation Failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v. /i.m. Experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.* (2000), 30, 985–990.
176. Lindsay D.S., Butler J.M., Rippey N.S. ET Blagburn N.L.: Demonstration of synergistic effects of sulphonamide and Dihydrofolate reductase/thymidylate synhase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.* (1996c), 57, 68-72.
177. Darius A.K.; Mehlhorn H. ET Heydorn A.O.: Effects of toltrazuril and Ponazuril on the fine structure and multiplication of tachyzoites of the NC-1strain of *Neospora caninum* (a synonym of Hammondia Heydorni) in Cell cultures. *Parasitol. Res.* (2004), 92: 453–458.
178. Esposito M., Stettler R., Moores S.L., Pidathala C., Müller N., Stachulski A., Berry N.G., Rossignol J.F. ET Hemphill A.: *In Vitro* Efficacies of Nitazoxanide and Other Thiazolides against *Neospora caninum* Tachyzoites Reveal Antiparasitic Activity Independent of the Nitro group. *Antimicrob. AgentsChemother.* (2005), 49, 3715–3723.
179. Lindsay D.S., Rippey N.S., Cole R.A., Parsons L.C. Dubey J.P., Tidwell R.R. et Blagburn B.L.: Examination of the activities of 43 Chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in Cultured cells. *Am. J. Vet Res.* (1994), 55(7), 976-981.
180. Kim J.T., Park J.Y., Seo H.S., Oh H.G., Noh J.W., Kim J.H., Kim D.Y. et Youn H.J. In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora Caninum*.*Vet. Parasitol.* (2002), 103(1-2):53-63.

181. Youn H.J., Lakritz J., Kim D.V., Rottinghaus G.E. ET Marsh A.E.: Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma Gondii* and *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. (2003), 116(1):7-14.
182. Youn H.J., Lakritz J., Rottinghaus G.E, Seo H.S., Kim D.Y., Cho M.H. et Marsh A.E.: Anti-protozoal efficacy of high performance liquid Chromatography fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* Extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Vet. Parasitol. (2004), 125(3-4), 409-414.
183. Kwon H.J., Kim J.H., Kim M., Lee J.K., Hwang W.S. et Kim D.Y.: Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. Vet. Parasitol. (2003), 112(4):269-27.
184. La Perle K.M.; Dei Piero F.; Carr R.F.; Harris C. et Stromberg P.C.: Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive Therapy. J. Vet. Diagn. Invest. (2001), 13(3):252-255.
185. Thate F.M. et Laanen S.C.: Successful treatment of neosporosis in An adult dog. Vet. Q. (1998), 20, S113-S114.
186. Kamga-Waladjo, A. R.chatagnon.,G. , Amirat . L Briand .D., Bencharif D P.E.H. Diop et Tainturier D. Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de la neosporose. RASPA Vol.6 N03-4, 2008.
187. Lindsay D.S., Dubey J.P. ET Mc Allister M.: *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. (1999c), 21:317-321.
188. Pluye A. : Un cas de néosporose chez un chiot. Prat. Med. Chir. Anim.Comp. (1999), **34**, 597-602.
189. Cuteri V., Preziuso S., Attili A., Traldi G., Guerra M., Nisoli L. et Lulla D.: Application of a new therapeutic protocol against *Neospora Caninum-induced* abortion in cattle: a field study. J. An. Vet. Ad. (2005), 4, 510- 514.
190. Buxton D., Brebner J., Wright S., Maley S.W., Thomson K.M. et Millard K.: Decoquinat and the control of experimental ovine Toxoplasmosis. Vet. Rec. (1996), 138:434-436.
191. Journal C.; Chatagnon G.; Martin D.; Richard A. et tainturier D. : Prévention des avortements et des infections foetales dus à *Neospora Caninum* chez les génisses : essais de traitement pendant la gestation Avec du décoquinat à la posologie de 2mg/kg/jour. Renc. Rech. Ruminants. (2000). 7, 105.

192. Journal C., Pitel P-H.: La lutte contre la néosporose en élevage Bovin. Point vétérinaire. (2001b), n°214, 38-39.
193. Björkman C.; Johansson O.; Stenlund S.; Holmdahl O.J.M. et Uggla A.: *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc., (1996) 208:1441–1444.
194. Moen A.R., Wouda W., Mul M.F., Graat E.A.M., Van Werven T. : Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion Outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy Herds. Theriogenology. (1998), **49**, 1301-1309.
195. Bjorkman C., Naslund K., Stenlund S., Maley S.W., Buxton D., Uggla A.: An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. J. Vet. Diagn. Invest : (1999), **11**, 41-44.
196. Barr B.C., Anderson M.L., Sverlow K.W., Conrad P.A.: Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. Veterinary Record. (1995), n° 137: 611-613.
197. Paré J., Hietala S.K., Thurmond M.C.: Interpretation of an indirect Fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora sp.* infection in cattle. Journal of veterinary Diagnostic Investigation. (1995a), n°7: 273-275.
198. Trees A.J., Guy F., Low J.C., Roberts L., Buxton D., Dubey J.P.: Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of Abortion in British cattle. Veterinary Record. (1994), n°134: 405-407.
199. Dubey J.P., Lindsay D.S., Adams D.S., Gay J.M., Baszler T.V., Blagburn B.L., Thulliez P.: Serologic response of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. American Journal of veterinary Research. (1996d), vol.57, n°3: 329-336.
200. Otter A. Jeffrey M., Scholes S.F.E., Helmick B., Wilesmith J.W., Trees A.J.: Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine neosporosis. Veterinary Record. (1997), N°141:487-489.
201. Louie K, Sverlow K.W., Barr B.C., Anderson M.L., Conrad P.A.: Cloning And characterization of two recombinant *Neospora* protein fragments and Their use in serodiagnosis of bovine neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. (1997), **4**, 692- 699.
202. Williams D.J., McGarry J., Guy F., Barber J., Trees A.J.: Novel ELISA for Detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. Vet. Rec., 1997, **140**, 328- 331.

203. Pare J., Hietala S.K., Thurmond M.C.: An enzyme linked immunosorbent Assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. Infection in Cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* (1995b), 352-359.
204. Wouda W., Brinkhof J., Van Maanen C., De Gee A.L.W. et Moen A.R.: Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: a Comparative study of three enzyme-linked immuno sorbent assays. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* (1998), 5:711–716.
205. Björkman C., McAllister M.M., Frössling J., Näslund K., Leung F., Uggla A.: Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of Neosporosis in a herd of beef cattle. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation.* (2003), n°15: 3-7.
206. Sager H., Gloor M., Björkman C., Kritzer S., Gottstein B.: Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora Caninum* tachyzoites antigen IgG avidity ELISA. *Veterinary Parasitology*, (2003), N°112: 1-10.
207. Schares G., Barwald A., Staubach C., Sondgen P., Rauser M., Schroder R.: p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum* – associated bovine abortion. *Vet. Parasitol.* (2002), **106**, 293-305.
208. Baszler T.V., Adams S., Vander-Schalie J., Mathison B.A., Kostovic M. Validation of a commercially available monoclonal Antibody-Based-competitive-inhibition enzyme linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *Journal of clinical Microbiology.* (2001) vol.39, n°11: 3851-3857.
209. McGarry J.W., Guy F., Trees A.J., Williams D.J.L.: Validation and Application of an inhibition ELISA to detect serum antibodies to *Neospora Caninum* in different host species. In: Hemphill A., Gottstein B. (Eds), *A European perspective on Neospora caninum.* *Int. J. Parasitol.* (2000), 30, 880-884.
210. De Meerschman F., Losson B. *Neospora caninum* et la neosporose : Biologie et description des lésions chez le chien. *Ann. Méd. Vet.*, (1998c), **142**, 847-853.
211. Vardeleon D., Marsh A.E., Thorne J.G., Loch W., Youg R., Johnson P.J. : Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* Antibodies in horses from various geographical locations. *Vet. Parasitol.* (2001), **95**, 273-282.

212. Hoane J.S., Yeargan M.R., Stamper S., Saville W.J., Morrow J.K., Lonsday D.S.: Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. *J. Parasitol.* 2005, **91**, 446-452.
213. Bartels C.J.M., Van Maanen C., Va Der Meulen A.M., Dijkstra T., Wouda W.: Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for Detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Vet. Parasitol.* (2005), **131**, 235-246.
214. Bjorkman C., Holdmahl O.J.M., Uggla A.: an indirect enzyme-Linked immunoassay (ELISA) for demonstrating antibodies to *Neospora Caninum* in serum and milk of cattle. *Vet. Parasitol.* (1997), **68**, 251-260.
215. Desmouts D. et Remington J.S.: Direct agglutination test for Diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and Specificity. *J. Clin. Microbiol.* (1980), **11**:562-568
216. Packham A.E., Sverlow K.W., Conrad P.A., Loomis E.F., Rowe J.D., Anderson M.L., Marsh A.E., Cray C., Barr B.C. A modified agglutination Test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison To the indirect fluorescent-antibody test and enzyme linked Immuno Sorbent assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* (1998), **5**, 467-473.
217. Romand S., Thulliez P., Dubey J.P.: Direct agglutination test for serologic Diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.* (1998), **84**, 50-53.
218. O'handley R.M., Morgan S.A, Parker C., Jenkins M.C. et Dubey J.P.: Vaccination of ewes for prevention of vertical transmission of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.* (2003), **64**(4):449-452.
219. Ortuño A., Castella J. et Almeria S.: Seroprevalence of antibodies To *Neospora caninum* in dogs from Spain. *J. Parasitol.* (2002), **88**, 1263 – 1266.
220. Dubey J.P., Hollis K., Romand S., Thulliez P., Kwok O.C.H., Hungerford L., Anchor C. et Etter D. : High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int. J. Parasitol.* (1999c), **29**, 1709–1711.
221. Huong L.T.T., Ljungström B.L., Uggla A. ET Björkman C.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet. Parasitol.* (1998), **75**:53 –57.

222. Dubey J.P., Venturini M.C., Venturini L. McKinney J. et Pecoraro M.: Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma Gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.* (1999d) **86**, 59–62.
223. Schares G., Peters M., Wurms R., Bärwald A., Conraths F.J.: The Efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle Analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.* (1998), **80**, 87-98.
224. Atkinson R., Harpe R P. A., Reichel M. P., Ellis J. T. Progress in the Serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol. Today*, (2000), **16**, 110-114.
225. Barta J.R., Dubey J.P.: Characterization of anti-*Neospora caninum* Hyper Immune rabbit serum by western blot analysis and immunoelectron Microscopy. *Parasitol. Res.* (1992), **78**, 689-694.
226. Bjerkas I., Jenkins M.C., Dubey J.P.: Identification and Characterization of *Neospora caninum* tachyzoites antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* (1994b), **1**, 214-221.
227. Alvarez Garcia G., Lopez Perez I., Innes E., Collantes Fernandez E.: Fernandez Garcia A., Gomez Bautista M., Ortega Mora L.M. Use of an Immunodominant P17 antigenic fraction of *Neospora Caninum* : Detection of antibody response in cattle. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* (2006), **101**, 529-534.
228. Sondgen P., Peters M., Barwald A., Wurm R., Holling F., Conraths F.J., Schares G. Bovine neosporosis: immunoblot improves foeta serology. *Vet. Parasitol.*, 2001, **102**, 279-290.
229. Jacobson L .S., Jardine J E. *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. *J.S. Afr. Vet. Assoc.* (1993), **64**, 47-51.
230. Pasquali P., Mandara M.T., Adamo F., Ricci G., Polidori G.A., Dubey J.P. Neosporosis a dog in Italy. *Vet. Parasitol.* (1998), **77**, 297-299.
231. Poli A., Mancianti F., Carli M. A., Stroschio M. C., Kramer L. *Neospora Caninum* infection in a Bernese cattle dog from Italy. *Vet. Parasitol.* (1998), **78**, 79-85.
232. Perl S., Harrus S , Satuchne C., Yakobson B., Haines D. cutaneous Neosporosis in a dog in Israel. *Vet. Parasitol.* (1998), **79**, 257-61.

233. La Perle K .M., Del Piero F., Carr R.F., Harris C., Stromberg P.C.Losson B Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora Caninum* in the dog and their use for epidemiological studies.vet.Parasitol. (2004), **123**, 25-32.
234. Wouda W., Dubey J. P., Jenkins M. C. Serological diagnosis of bovine Fetal neosporosis. J. parasitol. (1997b), **83**,545-547.
235. De Meerschman F., Focant C., Detry J., Rettigner C., Cassart D., Losson B. Clinical, pathological and diagnostic aspects of congenital neosporosis In a series of naturally infected calves. Vet Rec. (2005), **157**,115-118.
236. Barr B.C., Anderson M.L., Dubey J.P., Conrad P.A. *Neospora*-Like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet. Pathol.*, (1991) **28**, 110-116.
237. Lindsay D.S., Dubey J.P.: Evaluation of anti-coccidial drugs Inhibition of *Neospora caninum* developpement in cell cultures. Journal of Parasitology. (1989), vol.75, n°6: 990-992.
238. Jenkins M., Baszler T., Björkman C., Schares G., Williams D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated Bovine abortion. International Journal for Parasitology, (2002 ), vol.32, n°5: 631- 636.
239. China B., Ghafyr Y., Daube G. : Estimation quantitative et qualitative par Amplification génétique des bactéries présentes dans les denrées Alimentaires. Ann. Méd. Vet. (2002), **147**, 99-109.
240. Kaufmann H., Yamage M., Roditi I., Dobbelaere D., Dubey J.P., Holmdahl O.J., Trees A., Gottstein B. Discrimination of *Neospora Caninum* From *Toxoplasma gondii* and other Apicomplexa parasites by Hybridization and PCR. Mol. Cell. Probes. (1996), **10**, 289-297.
241. Yamage M., Flechtner O., Gottstein B.: *Neospora caninum*: specific Oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of Experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). J. Parasitol. (1996), **82**, 272-279.
242. Payne S., Ellis J.: Detection of *Neospora caninum* DNA by the Polymerase chain reaction. Int. J. Parasitol. (1996), **26**, 347-351.
243. Lally N.C., Jenkins M.C., Dubey J.P.: Development of a polymerase chain Reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora Caninum* 14-3- 3 gene. Mol. Biochem. Parasitol. (1996), **75**, 169-178.

244. Serrano -Martinez E., Ferre I., Martinez A., Osoro K., Mateos -Sanz A., Del-Pozo I., Aduriz G., Tamargo C., Hidalgo C.O., Ortega - Mora L.M.: Experimental neosporosis in bulls: parasite detection in semen and blood and specific antibody and interferon-gamma responses. *Theriogenology*. (2007), **67**, 1175-1184.
245. Reitt K., Hilbe M., Voegtlin A., Corboz L., Haessig M., Pospischil A. A etiology of bovine abortion in Switzerland from 1986 to 1995: a Retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* And *Toxoplasma gondii* by PCR. *J.Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* (2007), **54**, 15-22.
246. Hill D.E., Liddell S., Jenkins M.C., Dubey J.P. Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally-Infected dogs using the polymerase chain reaction. *J. Parasitol.* (2001), **187**, 395-398
247. Ho, M. S. Y., B. C. Barr, A. E. Marsh, M. L. Anderson, J. D. Rowe, A. F. Tarantal, A. G. Hendrickx, K. Sverlow, J. P. Dubey U. P. A. Conrad : Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small subunit rRNA sequence probe hybridisation. *J. Clin. Microbiol.* (1996), 34, 1203-1208.
248. Ho, M. S. Y., B. C. Barr, J. D. Rowe, M. L. Anderson, K. W. Sverlow, A. Packham, A. E. Marsh U. P. A. Conrad : Detection of *Neospora* Sp. From infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *J. Parasitol.* (1997), 83, 508- 514.
249. Lally, N. C., M. C. Jenkins .U J. P. Dubey (): Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme linked Immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 19963, 275-279.
250. Ghalmi F., China B., Kaidi R., Daube G., Losson B.: Detection of *Neospora caninum* in dog organs using real time PCR systems. *Vet. Parasitol.* (2008), **155**, 161-167.
251. Van Maanen C., Wouda W., Schares G., Von Blumroder D., Contraths F. J., Norton R., Williams D. J., Esteban-Redondo I., Innes E. A., Mattsson J. G., Bjorkman C., Fernandez-Garcia A., Ortega-Mora L. M., Muller N., Sager H., Hemphill A. An inter laboratory comparison of Immunohistochemistry and PCR methods for detection of *Neospora Caninum* in bovine foetal tissues. *Vet. Parasitol.* (2004), **126**, 351-64.

252. Givens M.D., Marley M.S.D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, (2008), **70**, 270-285.
253. Johnston S.D., Kustritz M.V.R., Olson P.N.S. In: Kersey R., editor. (2001) *Canine and Feline theriogenology*. W.B.Saunders Company, 66-104.
254. Valadas, S., Minervino, A.H.H., Lima, V.M.F., Soares, R.M., Ortolani, E.L., Gennari, S.M.,. Occurrence of antibodies anti-*Neospora Caninum*, anti-*Toxoplasma gondii*, and anti-*Leishmania chagasi* in serum of dogs from Para State, Amazon, Brazil. *Parasitol. Res.* (2010), 107, 453–457.
255. Capelli G., Natale A., Nardelli S., Frangipane di Regalbono A., Pietrobelli M. Validation of a commercially available cELISA test for canine Neosporosis against an indirect fluorescent antibody test (IFAT). *Prev. Vet. Med.* (2006), **73**, 315-320.
256. Płoneczka, K., Mazurkiewicz, M.: Seroprevalence of *Neospora Caninum* in dogs in south-western Poland. *Vet. Parasitol.* (2008), 153, 168–171.
257. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Benet J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. «Epidemiologie Appliquee à la Lutte Collective Contre les Maladies Animales Transmissibles majeures » 2leme Edition AEEMA, France, (2001).
258. Baszler T.V., Knowles D.P., Dubey J.P., Gay J.M., Mathison B.A., McElwain T.F. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora Caninum* monoclonal antibody based competitive inhibition enzyme-Linked Immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* (1996), **34**, 1423-1428.
259. De Souza SLP, Guimares JS, Ferreira F, Dubey JP, Gennari SM : Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle Farms in Parana, Brazil. *J Parasitol.* (2002), **88**: 408-409.
260. Gennari, S.M.; Yai, L.E.O.; D'auria, S.N.R. et al. Occurrence of *Neospora Caninum* antibodies in sera from dogs of city of Sao Paulo, brasil .*vet. Parasitol.* (2002), v 106, p.1771-1792.
261. Yildiz K, Sibel Yasa Duru, Bugrahan B. Yagci, Cahit Babur, Naci Ocal, Safa Gurcan, Seda Karaca Seroprevalence of *Neospora caninum* and Coexistence with *Toxoplasma gondii* in Dogs. (2009), V33, 2, 116-119.
262. Yakhchali, M., Javadi, S., Morshedi, A.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in stray dogs of Urmia, Iran. *Parasitol. Res.* (2010), 106, 1455–1458.

263. Moura, A.B. Souza, A.P. Sartor A.A., Bellato V., Pisetta, G.M. . Teixeira, E.B Heusser A. Junior: *Neospora caninum* antibodies and risk factors in dogs from lages and Balneário Camboriú. SC Arq. Bras. Med. Vet.Zootec. (2011), vol.63 no.1.
264. Fernandes BC , Gennari SM , SL Souza , Carvalho JM , Oliveira GT , Cury MC La prévalence des anticorps anti- *Neospora caninum* chez les chiens de zones urbaines, périurbaines et les zones rurales de la ville de Uberlandia, Minas Gerais- Brésil. Parasitol.Vet. (2004), 13; 123 (1-2), 33-40.
265. Moore DP: Neosporosis in South America. Vet Parasitol (2005)127:87–97.
266. Wanha K, Edelhofer R, Gabler-Eduardo C, Prosl H.: Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. Vet Parasitol. (2005), 128(3-4):189-93.
267. Malmasi A., Hosseininejad M., Haddadzadeh H., Badii A., Bahonar A. Serologic study of anti-*Neospora caninum* antibodies in household dogs And dogs living in dairy and beef cattle farms in Tehran, Iran. Parasitol Res. (2007), **100**, 1143-1145.
268. Ferroglio, E., Pasino, M., Ronco, F., Bena, A., Trisciuglio, A.: Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural Dogs in North-west Italy. Zoonoses Public Health. (2007), 54, 135–139.
269. Collantes-Fernandez E., Gomez-Bautista M., Miro G., Alvarez-Garcia G., Pereira- Bueno J., Frisuelos C., Ortega-Mora L. M. Seroprevalence and Risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog Populations in Spain. Vet. Parasitol. (2008), **52**, 148-51.
270. Çoşkun, Ş. Z., I. Aydın U. C. Bauer: Seroprevalence of *Neospora Caninum* infection in domestic dogs in Turkey. Vet. Rec. (2000). 146, 649.
271. Romanelli, P.R., Freire, R.L., Vidotto, O.: Prevalence of *Neospora Caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava Farms, Paraná State, Brazil. Res. Vet. Sci. (2007) v.82, p.202-207.
272. Jesus, E. E. V., P. O. M. Santos, M. V. F. Barbosa, A. M. Pinheiro, L. F. P. Gondim, J. E. Guimarães, and M. A. O. Almeida.: Frequência de Anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvadore Lauro de Freitas, Estado da Bahia—Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. (2006), 43:5-10.

273. Oliveira, JM, Matos, MFC, Oshiro, LM. : La prévalence des Anticorps anti- neospora caninum chez les chiens dans la zone urbaine de campo grande, MS, Brésil. Rev- Bras. Parasitol. vet. (2004), V13 P.155-158.
274. Go zdzik, K., Wrzesien, R., Wielgosz-Ostolska, A., Bien, J., Kozak-Ljunggren, M., Cabaj, W.: Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in dogs from urban areas in Central Poland. Parasitol. Res. (2011), 108, 991–996.
275. Valadas, S., Minervino, A.H.H., Lima, V.M.F., Soares, R.M., Ortolani, E.L., Gennari, S.M.: Occurrence of antibodies anti-*Neospora Caninum*, anti-*Toxoplasma gondii*, and anti-*Leishmania chagasi* in serum of dogs from Para State, Amazon, Brazil. Parasitol. Res. (2010), 107, 453–457.
276. Patitucci AN, Phil M, Pérez MJ, Rozas MA, Israel KF : *Neosporosis Canina* : presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas Rurales y urbanas de Chile. Arch. Med Vet. (2001), **33**, 227-232.
277. Dubey, J.P., Knickman, E., Greene, C.E.: Neonatal *Neospora Caninum* infections in dogs. Acta Parasitol. (2005), 50, 176–179.
278. Heckerth, A.R., Tenter, A.M.: Immunoanalysis of three litters born To a Doberman bitch infected with *Neospora caninum*. Parasitol. Res. (2007), 100, 837–846.
279. Tranas, J.D, Heizen, R.A, Weiss L.M, M.C Allister M.M.: Serological Evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. Clin. Diagn. Lab.Immunol. (1999), 6(5), 765-767.
280. Lindsay D.S., Ritter D.M., Brake: Oocyst excretion in dogs fed Mouse brain containing tissue cysts of cloned line of *Neospora caninum*. J. parasitol. (2001b), **87**, 909-911.
281. Schares G., Heydorn A.O., Conrath F.J., Mehlhorn H.: Cyclic Transmission of *Neospora caninum*: serological findings in dogs shedding Oocysts. Parasitol. Res. (2001b). **87**, 873-877.
282. Dijkstra T., Eysker M., Schares G., Conrath F.J., Wouda W., Barkema H.W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of Naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums Spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. Int. J. Parasitol. (2001), **31**, 747- 752.
283. Cringoli G., Rinaldi L., Capuano F., Baldi L., Veneziano V., Capelli , G: Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. Vet. Parasitol. (2002), **106**, 307-313.

284. Antony A., Williamson , N. B.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. N.Z. Vet. J. (2003), **51**, 232-237.
285. Canon - Franco W. A. ,Bergamaschi D. P. , Labruna M.B., Camargo L.M., Souza S.L., Silva J.C., Pinter A., Dubey J.P., Gennari S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. Vet. Parasitol, (2003), **115**, 71-74.
286. Capelli G., Nardelli S., di Regalbono A.F., Scala A., Pietrobelli M.: Sero epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in northeastern Italy. Vet. Parasitol. (2004), **123**, 143-148.
287. Kyaw T., Virakul P., Muangyai M., Suwimonteerabutr J. *Neospora caninum* Seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. Vet. Parasitol. (2004), **121**, 255- 263.
288. Azevedo S.S., Batista C.S., Vasconcellos S.A. , Aguiar D.M., Ragozo A.M., Rodrigues A.A., Alves C.J., Gennari S.M.: Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraiba, Northeast region of Brazil. Res.Vet. Sci. (2005), 79, 51-56.
289. Capelli G., Natale A., Nardelli S., Frangipane di Regalbono A., Pietrobelli M.: Validation of a commercially available ELISA test for canine neosporosis against an indirect fluorescent antibody test (IFAT). Prev. Vet. Med., (2006), **73**, 315-320.
290. Hornok S., Edelhofer R., Fok E., Berta K., Fejes P., Repasi A., Farkas R. Canine neosporosis in Hungary: Screening for seroconversion of household, herding and stray dogs. Vet. Parasitol. (2006), **137**, 197-201.
291. Steinman A., Shpigel N.Y., Mazar S., King R., Baneth G., Savitsky I., kap V.: Low seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild canids in Israel. Vet Parasitol. (2006), **137**, 155-158.
292. Jesus, E.E.V., Almeida, M.A.O., Atta, A.M.: Anti-neosporal IgG and IgE antibodies in canine neosporosis. Zoonoses Public Health. (2007), 54, 387–392.
293. Bresciani.,K.D.S.,Costa,A.J., Nunes,C.M., Serrano, A.C.M., Moura, A.B., Stobbe, N.S., Perri, S.H.V., Dias, R.A., Gennari, S.M. : Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em caes de Arac, atuba – SP. Ars Veterinaria. (2007), 23, 40–46.

294. Palavicini, P., Romero, J.J., Dolz, G., Jimenez, A.E., Hill, D.E., Dubey, J.P., Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. *Vet. Parasitol.* (2007), 149, 265–270.
295. Paradies, P., Capelli, G., Testini, G., Cantacessi, C., Trees, A.J., Otranto, D.: Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. *Vet. Parasitol.* (2007). 145, 240–244.
296. Dubey, J.P., Alvarado-Esquivel, C., Liesenfeld, O., Herrera-Flores, R.G., Ramirez-Sanchez, B.E., Gonzalez-Herrera, A., Martinez-Garcia, S.A., Bandini, L.A., Kwok, O.C.H.: *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from Durango city, Mexico. *J. Parasitol.* (2007b) 93, 1033–1035.
297. Boaventura, C.M., de Oliveira, V.S.F., Melo, D.P.G., Borges, L.M.F., da Silva, A.C.: Prevalencia de *Neospora caninum* em caes de Goiania. *Rev. Patol. Trop.* (2008) .37, 15–22.
298. Benetti, A.H., Toniollo, G.H., dos Santos, T.R., Gennari, S.M., da Costa, A.J., Dias, R.A.: Ocorrencia de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caes no municipio de Cuiaba, Mato Grosso. *Ciencia Animal Bras.* (2008), 9, 177–180.
299. Figueredo L.A., Dantas-Torres F., de Faria, E.B., Gondim, L.F.P., Simoes-Mattos L., Brandao-Filho S.P., Mota R.A.: Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Vet. Parasitol.* (2008). 157, 9–13
300. de Moraes C.C.G., Megid J., Pituco E.M., Okuda L.H., Del Fava C., de Stefano E., Crocci A.J. :Ocorrencia de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caes da microrregiao da Serra de Botucatu, Estado de Sao Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2008). 17, 1–6.
301. Salb A.L., Barkema H.W., Elkin B.T., Thompson R.C.A., Whiteside D.P., Black, S.R., Dubey J.P., Kutz S.J.: Dogs as sources and sentinels of parasites in humans and wildlife, Northern Canada. *Emerg. Infect. Dis.*, (2008).14, 60–63.
302. Dubey J.P., Stone D., Kwok O.C.H., Sharma R.N.: *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in dogs from Grenada, West Indies. *J. Parasitol.* (2008), 94, 750–751.

303. Kubota N., Sakata Y., Miyazaki N., Itamoto K., Bannai H., Nishikawa Y., Xuan X., Inokuma H.: Serological survey of *Neospora caninum* infection among dogs in Japan through species-specific ELISA. *J. Vet. Med. Sci.* (2008).70, 869–872.
304. Cruz-Vazquez C., Medina-Esparza L., Marcentes A., Morales-Salinas E., Garcia-Vazquez Z.: Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.* (2008), 157, 139–143.
305. Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B.: Evaluation of a SRS2 sandwich commercial enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in bovine and canine sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* (2009c) 21, 108–111.
306. Benetti A.H., Schein F.B., dos Santos T.R., Toniollo G.H., da Costa A.J., Mineo J.R., Lobato J., de Oliveira Silva D.A., Gennari S.M. : Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, caes e trabalhadores rurais da regioao Sudoeste do Estado de Mato Grosso. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2009),18 (Suppl 1), 29–33.
307. Guimaraes A.M., Rocha C.M., Oliveira T.M., Rosado I.R., Morais L.G., Santos R.R.: Fatores associados a soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em caes atendidos em nove clinicas veterinarias do municipio de Lavras MG. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, (2009), 18 (Suppl 1), 49–53.
308. Millan J., Candela M.G., Palomares F., Cubero M.J., Rodriguez A., Barral M., de la Fuente J., Almeria S., Leon-Vizcaino L.: Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Vet. J.* (2009), 182, 114–124.
309. Hosseinejad M., Hosseini F., Mosharraf M., Shahbaz S., Mahzounieh M., Schares G.: Development of an indirect ELISA test using an affinity purified surface antigen (P38) for sero-diagnosis of canine *Neospora caninum* infection. *Vet. Parasitol.* (2010),171, 337–342.
310. Vega O.L., Chávez V.A., Falcón P.N., Casas A.E. : Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de una empresa ganadera de la sierra sur del Perú. *Rev. Inv. Vet. Perú.* (2010).21, 80–86.
311. Kamga-Waladjo A.R., Gbati O.B., Kone P., Lapo R.A., Chatagnon G., Bakou S.N., Pangui L.J., Diop P.H., Akakpo J.A., Tainturier D.: Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar-Senegal West Africa. *Trop. Anim Health Prod.* (2010). 42, 953–959.

312. Regidor-Cerrillo J., Pedraza-Diaz S., Rojo-Montejo S., Vazquez-Moreno E., Arnaiz I., Gomez-Bautista M., Jimenez-Palacios S., Ortega-Mora L.M., Collantes-Fernandez E.: Neospora caninum infection in stray and farm dogs: seroepidemiological study and oocyst shedding. *Vet. Parasitol.* (2010a), 174, 332–335.
313. Regidor-Cerrillo J., Gomez-Bautista M., Del Pozo I., Jimenez-Ruiz E., Aduriz G., Ortega-Mora L. M.: Influence of Neospora caninum intra-specific variability in the outcome of infection in a pregnant BALB/c mouse model. *Vet. Res.* (2010 b), 41, 52.
314. Cabezon O., Millan J., Gomis M., Dubey J.P., Ferroglio E., Almeria S.: Kennel dogs as sentinels of Leishmania infantum, Toxoplasma gondii, and Neospora caninum in Majorca Island, Spain. *Parasitol. Res.* (2010), 107, 1505–1508.
315. Lopes M.G., Mendonca, I.L., Fortes K.P., Amaku M., Pena H.F.J., Gennari S.M.: Presence of antibodies against Toxoplasma gondii, Neospora caninum and Leishmania infantum in dogs from Piauí. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* (2011), 20, 1–4.

## APPENDICE A

Excrétion d'oocystes par le chien : synthèse des études réalisées. Repris par Dubey [50].

| Source alimentaire<br>(souche de <i>N. caninum</i> ) | Nombre de chiens |           | Jours d'excrétion, après ingestion                   | Nombre d'oocystes isolés                      | Période d'observation, en jours | Séroconversion (Nombre de chien/total) | Référence |
|--|------------------|-----------|--|---|---------------------------------|--|-----------|
|  | Total            | Excrétant |  |   |                                 |  |           |
| <b>Tissu infecté obtenu expérimentalement</b>        |                  |           |  |   |                                 |  |           |
| Cerveau souris (NC2)                                 | 3                | 2         | 8-27<br>13-23  | ND*   | 37                              | 3/3                                    | [22]      |
| Cerveau souris (NC beef)                             | 2                | 1         | 13-20  | ND  | 37                              | 1/2                                    | [22]      |
| Cerveau souris (NC Liverpool)                        | 2                | 1         | 13-20  | ND  | 37                              | 2/2                                    | [22]      |
| Cerveau Souris (NC beef)                             | 2                | 2         | 5,6  | 4500 000<br>Peu                               | 42                              | 1/2                                    | [4]       |
| Cerveau souris (CKO)                                 | 3                | 1         | 13   | Peu   | 36                              | 3/3                                    | [280]     |
| Cerveau souris (CKO cloné)                           | 3                | 2         | 7-14<br>8-13, 15                                     | 810 000<br>161 000                            | 36                              | 2/3                                    | [280]     |
| Cerveau souris (NC 2)                                | 2                | 2         | 17, 19, 21,22, 24<br>6-11, 13-17                     | 700<br>29 900                                 | 30                              | ND                                     | [5]       |
| Cerveau de souris (NC beef)                          | 2                | 2         | 9, 17, 21, 25<br>9,10, 12-14                         | 500<br>1200                                   | 30                              | ND                                     | [5]       |
| Cerveau de souris (NC IL)                            | 2                | 2         | 10, 13, 16, 17,<br>6                                 | 300<br>100                                    | 30                              | ND                                     | [5]       |
| SourisBALB/c   | 1                | 0         |  |   | ND                              | 0/1                                    | [281]     |
| Rat (HY Berlin 1996)                                 | 1                | 1         | 9-13   | 0   | ND                              | ND                                     | [281]     |
| Cochon d'inde (HY Berlin 1996)                       | 5                | 5         | 5-12<br>5-11<br>5-14<br>8-13<br>11-13                | 2 000 000<br>1 000 000<br>0<br>Peu<br>Peu     | ND                              | 1/4<br>(1 ND)                          | [260]     |
| Cœur et muscle ovin (HY Berlin 1996)                 | 8                | 7         | 9-13<br>6-10<br>6-10<br>7-11<br>7-13<br>8-13<br>8-13 | 1 500 000<br>Peu<br>0<br>Peu<br>Peu<br>0<br>0 | ND                              | 0/5<br>(3 ND)                          | [260]     |
| Cœur et muscle caprin (HY Berlin 1996)               | 1                |           | 0  | 0   | ND                              | ND                                     | [260]     |
| Cœur, Muscle et cerveau caprin (HY Berlin 1996)      | 3                | 3         | 7-12<br>7-10<br>6-12                                 | 0<br>Peu<br>80 000                            | ND                              | 0/3                                    | [260]     |

| Source alimentaire<br>(souche de <i>N. caninum</i> ) | Nombre de chiens |           | Jours<br>d'excrétion,<br>après ingestion                    | Nombre<br>d'oocyste<br>isolés          | Période<br>d'observa<br>tion, en<br>jours | Séroconversi<br>on<br>(Nombre de<br>chien/total) | Référénc<br>e |
|--|------------------|-----------|---|--|---|--|---------------|
|  | Total            | Excrétant |   |  |   |  |               |
| Veau (NC beef)                                       | 4                | 3         | 5-8, 11, 14-17<br>5-14, 16, 19                              | 54 100<br>392800                       | 30  | ND   | [5]           |
| Veau (NC IL)   | 4                | 4         | 8-10,13-16,19,20<br>7-9<br>10-13, 18,26, 29 6-<br>10, 14-16 | 25 100<br>5 700<br>345 900<br>95 700   | 30  | ND   | [5]           |
| Veau<br>(NC beef, NC Liv)                            | 5<br>adultes     | 3         | ND  | 2 000<br>1 200<br>11 400               | 28  | 4/5  | [6]           |
| Veau<br>(NC beef, NC Liv)                            | 3<br>chiots      | 3         | ND  | 504 400<br>45 2000<br>500              | 28  | 2/3  | [6]           |
| <b>Tissu infecté obtenu naturellement</b>            |                  |           |   |  |   |  |               |
| Placenta bovin                                       | 3                | 3         | 13, 15, 16, 25, 27,30<br>11-16, 18<br>10-19, 21             | <10 opg                                | 60  | 0/3  | [282]         |
| Cerveau de buffle                                    | 7                | 4         | 26<br>17 (dure<br>7 excrét<br>9 ion                         | 275 969<br>820 655<br>21 265<br>43 500 | 30  | 2/4  | [113]         |

\*ND : Non déterminé

## APPENDICE B

La séroprévalence des chiens de 2001 à 2011.

| Année | Pays                 |                 | Espèce                    | Technique     | Prévalence | Référence |
|-------|----------------------|-----------------|---------------------------|---------------|------------|-----------|
| 2001  | Argentine            |                 | Chien de fermes (vaches)  | IFAT          | 48%        | [129]     |
|       |                      |                 | Chiens de fermes (boeufs) | IFAT          | 54,20 %    |           |
|       |                      |                 | Chiens de la clinique     | IFAT          | 26,20 %    |           |
| 2001  | Chili                |                 | Chiens ruraux             | IFAT          | 26 %       | [265]     |
|       |                      |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 12,50 %    |           |
| 2002  | Italie               |                 | Chiens                    | IFAT          | 6,40 %     | [283]     |
| 2002  | Brésil               |                 | Chiens                    | Agglutination | 10 %       | [260]     |
|       |                      |                 | Chien errants             | Agglutination | 25 %       |           |
|       |                      |                 | Chiens de ferme           | IFAT          | 21,60 %    |           |
| 2003  | Nouvelle- Zélande    |                 | Chiens de ferme           | IFAT          | 96,80 %    | [284]     |
| 2003  | Brésil               |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 8,30 %     | [285]     |
| 2003  | Corée                |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 8,30 %     | [128]     |
|       |                      |                 | Chiens de ferme           | IFAT          | 21,60 %    |           |
| 2003  | Mexique              |                 | Chiens de ferme           | ELISA         | 57 %       | [130]     |
|       |                      |                 | Chiens urbains            | ELISA         | 20 %       |           |
| 2004  | Italie               |                 | Chiens                    | ELISA         | 10,90 %    | [286]     |
| 2004  | Brésil               |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 10,20 %    | [264]     |
|       |                      |                 | Chiens péri urbains       | IFAT          | 18,90 %    |           |
|       |                      |                 | Chiens ruraux             | IFAT          | 21,70 %    |           |
| 2004  | Thaïlande            |                 | Chiens                    | ELISA         | 1,20 %     | [287]     |
| 2005  | Nouvelle- Zélande    |                 | Chien de ferme            | IFAT          | 74,50 %    | [284]     |
|       |                      |                 | Chien de ville            | IFAT          | 30,80 %    |           |
| 2005  | Brésil               |                 | Chien                     | IFAT          | 8,40 %     | [288]     |
| 2005  | Italie               |                 | Chiens                    | IFAT          | 11 %       | [289]     |
| 2005  | Autriche             |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 2,10 %     | [266]     |
|       |                      |                 | Chiens ruraux             | IFAT          | 5,30 %     |           |
| 2006  | Hongrie              |                 | Chiens                    | IFAT          | 1,20 %     | [290]     |
| 2006  | Israël               |                 | Chiens en meute           | IFAT          | 29,30 %    | [291]     |
| 2007  | Brésil               | Bahia, Salvador | Chiens urbains            | Wb, ELISA     | 32.7%      | [292]     |
|       |                      | São Paulo       | Chiens urbains            | IFAT          | 15.7       | [293]a    |
| 2007  | Costa Rica           |                 | Farm                      | cELISA        | 48.4%      | [294]     |
| 2007  | Iran                 |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 11.3%      | [133]     |
|       |                      |                 | Chiens de ferme           | IFAT          | 28%        |           |
| 2007  | Italie               |                 | Chiens urbains            | NAT           | 20.2%      | [268]     |
|       |                      |                 | Chiens errants            |               | 36.4%      |           |
|       |                      |                 | Chiens de chenil          | ELISA         | 14.6%      |           |
| 2007  | Mexique Durango City |                 | Chiens de ferme           | ELISA         | 26.5%      | [295]     |
|       |                      |                 | Chiens errant             | IFAT          | 2%         | [296]     |
| 2008  | Brésil               |                 | Chiens urbains            | IFAT          | 32.9%      | [297]     |
|       |                      | Mato Grosso     | Chiens Clinics            | IFAT          | 45,0%      | [298]     |
|       |                      | Parana state    | Chiens urbains            | IFAT          | 12.7%      | [131]     |
|       | Chiens Periurbains   |                 |                           | 15.7%         |            |           |
|       | Perna mbuco          | Paulista        | Chiens a domicile         | IFAT          | 26. 0%     | [299]     |

| Année | Pays                             |                          | Espèce                          | Technique | Prévalence | Référence |
|-------|----------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------|------------|-----------|
| 2008  | Brésil                           | Amaraji                  | Chiens a domicile               |           | 26.2%      | [299]     |
|       |                                  | Garahuns                 | Chiens a domicile               |           | 34.5%      |           |
|       |                                  | Rio Grande do Sul        | Chiens ruraux                   | IFAT      | 20.4%      | [132]     |
|       |                                  |                          | Chiens urbains                  | IFAT      | 5.5%       |           |
|       | Sao Paulo                        | Chiens de Fermes bovines | IFAT                            | 25.4%     | [300]      |           |
| 2008  | canada territoires du nord ouest |                          | Chiens de la clinique           | IFAT      | 3.7%       | [301]     |
| 2008  | Costa Rica Grenada, West Indies  |                          | Chiens de Fermes                | IFAT      | 2%         | [302]     |
| 2008  | Inde                             |                          | Rural                           | ELISA     | 21.4%      | [134]     |
| 2008  | Japon                            |                          | Chiens de la clinique           | ELISA     | 10.4%      | [303]     |
| 2008  | Mexique                          | Aguascalientes           | Chiens urbains                  | ELISA     | 20%        | [304]     |
|       |                                  |                          | Chiens de fermes laitières      | ELISA     | 40.7%      |           |
| 2008  | Pologne                          |                          | Chiens de la clinique           | IFAT      | 16.3%      | [256]     |
|       |                                  |                          | Chiens de la clinique           | ELISA     | 21.7%      | [274]     |
| 2008  | Espagne Several areas            |                          | Chiens d'intérieur              | IFAT      | 2.9%       | [269] a   |
|       |                                  |                          | Chiens errants                  |           | 24,5%      |           |
|       |                                  |                          | Chiens de chasse                |           | 23%        |           |
|       |                                  |                          | Chiens de fermes                |           | 51%        |           |
| 2009  | Algerie                          |                          | Chiens errants                  | ELISA     | 21.0%      | [305]     |
|       |                                  |                          | Chiens policiers                | IFAT      | 22.5%      | [11]      |
|       |                                  |                          | Chiens de propriétaires         |           | 6.6%       |           |
|       |                                  |                          | Chiens de fermes                |           | 12%        |           |
|       |                                  |                          | 44.4%                           | [306]     |            |           |
| 2009  | Brésil                           | Mato Grosso              | Chiens de fermes laitières      | IFAT      | 67.6 %     |           |
|       |                                  | Minas Gerais             | Chiens de la clinique           | IFAT      | 3.1%       | [307]     |
| 2009  | Espagne Andalusia                |                          | Chiens sauvages                 | ELISA     | 17%        | [308]     |
| 2009  | Turquie Kirikkale                |                          | Chiens errants                  | IFAT      | 28.9%      | [261]     |
| 2010  | Brésil Para                      |                          | Chiens ruraux                   | IFAT      | 11.1%      | [275]     |
|       |                                  |                          | Chiens urbains et Chiens ruraux |           | 14%        |           |
| 2010  | Iran                             |                          | Chiens de la clinique           | ELISA     | 10.3%      | [309]     |
| 2010  | Urmia                            |                          | Chiens errants                  | IFAT      | 27 %       | [262]     |
| 2010  | Pérou                            |                          | chiens de fermes                | IFAT      | 14.8%      | [310]     |

| <b>Année</b> | <b>Pays</b> |                | <b>Espèce</b>         | <b>Technique</b> | <b>Prévalence</b> | <b>Référence</b> |
|--------------|-------------|----------------|-----------------------|------------------|-------------------|------------------|
| <b>2010</b>  | Senegal,    | West Africa    |                       | ELISA            | 17.9%             | [311]            |
| <b>2010</b>  | Espagne     | Galicia        | chiens de fermes      | IFAT             | 47.5%             | [312];[313]<br>a |
|              |             |                | Chiens errants        | IFAT             | 39.5%             | [312];[313]      |
|              |             | Majorca island | Chiens de chenil      | ELISA            | 0%                | [314]            |
| <b>2011</b>  | Brésil      | Piaui          | Chiens urbains        | IFAT             | 30.2%             | [315]            |
| <b>2011</b>  | Pologne     |                | Chiens de la clinique | ELISA            | 21.7%             | [274]            |

## APPENDICE C

### Questionnaire épidémiologique du chien

Wilaya :

Daïra :

Commune :

Prélèvement N°:

Date du prélèvement :

#### **Propriétaire :**

Nom du propriétaire:

#### **Identification de l'animal :**

Espèce :

Race :

Age :

Sexe :

Robe :

Etat général :  faible  moyen  Bon

Signes particuliers :

#### **Environnement de l'animal :**

Habitat :

Origine du chien :

Proximité d'autres animaux (lesquels):

Animaux sauvages :  oui  non

Rongeurs :  oui  non

Antécédents médicaux (avortement, troubles neurologique, troubles de la fertilité) :

Mêmes antécédents chez les parents

Etat vaccinal :

Alimentation :  crue  cuite  en conserve

Hygiène :  mauvaise  Bonne

Alimentation :  crue  non crue

Hygiène :  mauvaise  Bonne

## APPENDICE D

**Questionnaire envoyé aux éleveurs concernés par l'enquête**      N° de cheptel :

Daïra :

Commune :

Prélèvement N°:

Date du prélèvement :

### Propriétaire

#### **I Informations générales concernant votre exploitation.**

##### **A- Présence d'un chien sur l'exploitation.**

Possédez-vous un ou plusieurs chiens ?

1- Oui

2- Non

Si oui,

1-Combien ? .....

2-Remplissez le tableau suivant :

| Age du chien | Sexe | race | origine | Etat vaccinal | Etat général |           |       | alimentation |           |                 | Hygiène         |           |
|--------------|------|------|---------|---------------|--------------|-----------|-------|--------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|
|              |      |      |         |               | f a i b l e  | m o y e n | B O n | c r u e      | C u i t e | C o n s e r v e | m a u v a i s e | B o n n e |
| 1            |      |      |         |               |              |           |       |              |           |                 |                 |           |
| 2            |      |      |         |               |              |           |       |              |           |                 |                 |           |
| 3            |      |      |         |               |              |           |       |              |           |                 |                 |           |
| 4            |      |      |         |               |              |           |       |              |           |                 |                 |           |

6. Ont-ils accès à l'alimentation pour les vaches ?

1-Oui

2-Non

Si oui, à quel endroit (lieu d'abreuvement, lieu de stockage...)?

.....

7- Ont-ils accès à l'alimentation pour les veaux ?

1-Oui

2-Non

Si oui, à quel endroit (lieu d'abreuvement, lieu de stockage...)?

.....

8- Ont-ils accès au lieu où les vaches mettent bas ?

1-Oui

2-Non

### **B- Présence de volailles sur l'exploitation.**

Y a-t-il des volailles ou des pigeons dans votre exploitation ?

1-Oui

2-Non

## **II Les problèmes de reproduction.**

### **A- Les avortements.**

Y a-t-il eu des avortements dans votre troupeau depuis 2007 ?

1-Oui

2-Non

Si oui,

1-De quel type ?

1-Un avortement isolé et unique

2-Des avortements répétés sur une courte période (Moins d'une année)

3-Un taux d'avortements élevé, d'une longue durée (plus d'une année)

4-Autres (préciser) :

.....

3-Dans le cas où plusieurs animaux ont avorté au cours d'une année

3.1.-Quel est le nombre d'avortements successifs au cours de cette période :

1-Deux avortements

2-Trois avortements

3-Quatre ou cinq avortements

4-Plus de cinq avortements

**3.2-Pouvez-vous définir un groupe d'animaux particulier qui a avorté ?**

1-Oui

2-Non

Si oui,

**3.2.2-Précisez lequel ?**

1-Animaux du même âge

2-Animaux ayant pâTURÉ au même endroit

3-Animaux ayant partagé le même bâtiment pendant une certaine période

4-Animaux d'une même « famille » ou lignée

5-Autres (préciser)

.....

## **B- Autres problèmes de reproduction**

**1- Existe-t-il des problèmes de reproduction autres que les avortements dans votre élevage ?**

1-Oui

2-Non

Si oui,

De quels types ?

1-Retours en chaleurs fréquents

2-Retours en chaleurs tardifs

3-Infertilité

4-Autres (préciser)

.....

## **C- Conduite lors d'un avortement :**

- Lors d'un avortement, quel est le devenir des placentas et des avortons dans votre Exploitation

## APPENDICE E

Résultats des taux d'inhibition chez les chiens séropositifs

| N1    | N2    | DOm CN | P1    | P2    | DOm CP | % Inh CP |
|-------|-------|--------|-------|-------|--------|----------|
| 0,838 | 0,884 | 0,861  | 0,275 | 0,317 | 0,296  | 65,6     |

| CALCUL   |
|--|
| $\% \text{ Inh} = (\text{DOm CN} - \text{DO échantillon}) * 100 / \text{DOm CN}$ |

| Test de validité                |
|---------------------------------|
| $1,600 > \text{DOm CN} > 0,600$ |
| $\% \text{ Inh CP} > 40\%$      |

| INTERPRETATION           |         |
|--------------------------|---------|
| $\% \text{ Inh} < 30$    | NEGATIF |
| $\% \text{ Inh} \geq 30$ | POSITIF |

| N° d'ordre | D.O.  | % Inh | Obs |
|------------|-------|-------|-----|
| 5CV        | 0,566 | 34,26 | POS |
| 11CV       | 0,275 | 68,06 | POS |
| 35CV       | 0,590 | 31,48 | POS |
| 47CV       | 0,592 | 31,24 | POS |
| 69CV       | 0,546 | 36,59 | POS |
| 73CV       | 0,492 | 42,86 | POS |
| 74CV       | 0,591 | 31,36 | POS |

|       |       |              |            |
|-------|-------|--------------|------------|
| 81CV  | 0,267 | <b>68,99</b> | <b>POS</b> |
| 86CV  | 0,514 | <b>40,30</b> | <b>POS</b> |
| 103CV | 0,177 | <b>79,44</b> | <b>POS</b> |
| 109CC | 0,245 | <b>71,54</b> | <b>POS</b> |
| 114CC | 0,438 | <b>49,13</b> | <b>POS</b> |
| 115CC | 0,146 | <b>83,04</b> | <b>POS</b> |
| 127CC | 0,535 | <b>37,86</b> | <b>POS</b> |
| 130CC | 0,474 | <b>44,95</b> | <b>POS</b> |
| 131CC | 0,191 | <b>77,82</b> | <b>POS</b> |
| 141CC | 0,434 | <b>49,59</b> | <b>POS</b> |

CC : chien de campagne  
CV : chien de ville

### Résultats des taux d'inhibition chez les chiens séropositifs

Test ID: Neospora caninum

|   | 1                | 2                 | 3                 | 4                | 5                | 6                 | 7                | 8                | 9                | 10               | 11                | 12                |
|---|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| A | 05<br>01<br>275  | 13<br>01<br>.586  | 21<br>01<br>.888  | 29<br>01<br>.755 | 37<br>01<br>.783 | 45<br>01<br>.821  | 53<br>01<br>.738 | 61<br>01<br>.736 | 69<br>01<br>.814 | 77<br>01<br>.546 | 85<br>01<br>.642  | 93<br>01<br>.633  |
| B | 06<br>01<br>.317 | 14<br>01<br>1,302 | 22<br>01<br>.812  | 30<br>01<br>.673 | 38<br>01<br>.72  | 46<br>01<br>.782  | 54<br>01<br>.8   | 62<br>01<br>.853 | 70<br>01<br>.822 | 78<br>01<br>.776 | 86<br>01<br>.663  | 94<br>01<br>.514  |
| C | 07<br>01<br>.838 | 15<br>01<br>.589  | 23<br>01<br>.86   | 31<br>01<br>.815 | 39<br>01<br>.78  | 47<br>01<br>.697  | 55<br>01<br>.592 | 63<br>01<br>.882 | 71<br>01<br>.867 | 79<br>01<br>.735 | 87<br>01<br>.75   | 95<br>01<br>.822  |
| D | 08<br>01<br>.884 | 16<br>01<br>.856  | 24<br>01<br>.839  | 32<br>01<br>.677 | 40<br>01<br>.814 | 48<br>01<br>.666  | 56<br>01<br>.871 | 64<br>01<br>.743 | 72<br>01<br>.853 | 80<br>01<br>.785 | 88<br>01<br>.658  | 96<br>01<br>.685  |
| E | 09<br>01<br>.772 | 17<br>01<br>.736  | 25<br>01<br>.833  | 33<br>01<br>.817 | 41<br>01<br>.746 | 49<br>01<br>1,031 | 57<br>01<br>.767 | 65<br>01<br>.807 | 73<br>01<br>.874 | 81<br>01<br>.492 | 89<br>01<br>.267  | 97<br>01<br>.724  |
| F | 10<br>01<br>.892 | 18<br>01<br>.875  | 26<br>01<br>.807  | 34<br>01<br>.899 | 42<br>01<br>.955 | 50<br>01<br>.898  | 58<br>01<br>.716 | 66<br>01<br>.884 | 74<br>01<br>.734 | 82<br>01<br>.591 | 90<br>01<br>.861  | 98<br>01<br>.659  |
| G | 11<br>01<br>.886 | 19<br>01<br>.275  | 27<br>01<br>1,141 | 35<br>01<br>.864 | 43<br>01<br>.59  | 51<br>01<br>.89   | 59<br>01<br>.934 | 67<br>01<br>.882 | 75<br>01<br>.786 | 83<br>01<br>.653 | 91<br>01<br>.688  | 99<br>01<br>.805  |
| H | 12<br>01<br>.813 | 20<br>01<br>.908  | 28<br>01<br>.859  | 36<br>01<br>.752 | 44<br>01<br>.773 | 52<br>01<br>.936  | 60<br>01<br>.879 | 68<br>01<br>.897 | 76<br>01<br>.719 | 84<br>01<br>.786 | 92<br>01<br>1,034 | 100<br>01<br>.733 |

Test II: *Neospora caninum*

|       | 1                            | 2                            | 3                            | 4                            | 5                            | 6                            | 7                            | 8    | 9    | 10   | 11   | 12 |
|-------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------|------|------|------|----|
| 934 + | <sup>93</sup> <sub>01</sub>  | <sup>101</sup> <sub>01</sub> | <sup>109</sup> <sub>01</sub> | <sup>117</sup> <sub>01</sub> | <sup>125</sup> <sub>01</sub> | <sup>133</sup> <sub>01</sub> | <sup>141</sup> <sub>01</sub> |      |      |      |      |    |
|       | .761                         | 245                          | .772                         | .877                         | 8                            | 434                          | .14                          | .147 | .143 | .159 | .162 |    |
| 726 + | <sup>94</sup> <sub>01</sub>  | <sup>102</sup> <sub>01</sub> | <sup>110</sup> <sub>01</sub> | <sup>118</sup> <sub>01</sub> | <sup>126</sup> <sub>01</sub> | <sup>134</sup> <sub>01</sub> | <sup>142</sup> <sub>01</sub> |      |      |      |      |    |
|       | .912                         | 841                          | .803                         | .863                         | .753                         | 635                          | .129                         | .145 | .145 | .151 | .148 |    |
| 769 - | <sup>95</sup> <sub>01</sub>  | <sup>103</sup> <sub>01</sub> | <sup>111</sup> <sub>01</sub> | <sup>119</sup> <sub>01</sub> | <sup>127</sup> <sub>01</sub> | <sup>135</sup> <sub>01</sub> | <sup>143</sup> <sub>01</sub> |      |      |      |      |    |
|       | .177                         | 814                          | .893                         | .535                         | .754                         | 674                          | .123                         | .143 | 13   | .157 | .147 |    |
| 785 - | <sup>96</sup> <sub>01</sub>  | <sup>104</sup> <sub>01</sub> | <sup>112</sup> <sub>01</sub> | <sup>120</sup> <sub>01</sub> | <sup>128</sup> <sub>01</sub> | <sup>136</sup> <sub>01</sub> | <sup>144</sup> <sub>01</sub> |      |      |      |      |    |
|       | .786                         | .716                         | .873                         | .91                          | 1 152                        | .789                         | .134                         | .149 | .158 | .152 | .158 |    |
| 867 - | <sup>97</sup> <sub>01</sub>  | <sup>105</sup> <sub>01</sub> | <sup>113</sup> <sub>01</sub> | <sup>121</sup> <sub>01</sub> | <sup>129</sup> <sub>01</sub> | <sup>137</sup> <sub>01</sub> | <sup>145</sup> <sub>01</sub> |      |      |      |      |    |
|       | .768                         | .955                         | .812                         | .752                         | .821                         | .768                         | .145                         | .144 | .153 | .145 | .161 |    |
| 755 - | <sup>99</sup> <sub>01</sub>  | <sup>106</sup> <sub>01</sub> | <sup>114</sup> <sub>01</sub> | <sup>122</sup> <sub>01</sub> | <sup>130</sup> <sub>01</sub> | <sup>138</sup> <sub>01</sub> |                              |      |      |      |      |    |
|       | .987                         | .438                         | .907                         | .474                         | .843                         | 1.131                        | .166                         | .15  | .16  | .138 | .148 |    |
| 83 -  | <sup>98</sup> <sub>01</sub>  | <sup>107</sup> <sub>01</sub> | <sup>115</sup> <sub>01</sub> | <sup>123</sup> <sub>01</sub> | <sup>131</sup> <sub>01</sub> | <sup>139</sup> <sub>01</sub> |                              |      |      |      |      |    |
|       | .883                         | .146                         | .722                         | .191                         | .807                         | .963                         | .139                         | .149 | .145 | .147 | .166 |    |
| 853 - | <sup>100</sup> <sub>01</sub> | <sup>108</sup> <sub>01</sub> | <sup>116</sup> <sub>01</sub> | <sup>124</sup> <sub>01</sub> | <sup>132</sup> <sub>01</sub> | <sup>140</sup> <sub>01</sub> |                              |      |      |      |      |    |
|       | .715                         | .735                         | .842                         | .85                          | .908                         | 1.013                        | .173                         | .128 | .157 | .143 | .161 |    |