

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Institut des Sciences vétérinaires

THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES

EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE CHEZ LES OVINS

Par

SAIDI AMINA

Devant le jury composé de :

A.BERBER	Professeur	Univ. Blida1	Président
K. AIT OUDHIA	Professeure	ENSV Alger	Examinatrice
N.MIMOUNE	MCA	ENSV Alger	Examinatrice
M.ZAOUANI	MCA	ENSV Alger	Examineur
Z.BOUMAHDI-MERAD	Professeure	Univ. Blida1	Promotrice
R. KAIDI	Professeur	Univ. Blida1	Invité

Blida, septembre 2021

RESUME

La néosporose est une maladie parasitaire responsable de paralysie chez le chien, d'avortements et de mortinatalité chez le bovin et les petits ruminants. Le chien est l'hôte définitif principal, alors que le bovin est l'hôte intermédiaire de prédilection. L'ovin et le caprin représentent les hôtes intermédiaires sensibles après les bovins. Bien que plusieurs études épidémiologiques aient été faites dans plusieurs régions du monde chez les chiens et caprins en cohabitation avec les ovins et malgré l'immensité du pays et l'importance de l'élevage ovins, très peu d'études ont fait l'objet de recherche sur ce parasite en Algérie. Le but principal de ce travail était de connaître l'épidémiologie de la néosporose dans les élevages ovins.

Nous avons travaillé d'abord sur la typologie des élevages ovins (195 élevages) et les facteurs liés au risque d'exposition à *Néospora Caninum* dans la région centre nord d'Algérie. Nous avons conclu que le mode d'élevage est extensif à stabulation semi-entravé, avec un effectif petit. La race Ouled Djellal est la race dominante dans la plus part des élevages. Une prédominance de deux pathologies, respiratoires et reproductives. Les avortements sont dominants dans certains élevages.

Ensuite nous nous sommes intéressés à l'étude épidémiologique des avortements. Sur 205 élevages, 88 élevages présentent des épisodes d'avortements, avec une prévalence de 3,66% (3,29%-4,03%) à l'échelle individuelle et 42,92% (36,15%-49,70%) à l'échelle troupeau. L'étude des facteurs de risque par l'analyse des correspondances multiples a révélé qu'il existe une association significative entre la race OD (OR= 1,16), HA (OR= 2,92), Berbère ($p < 0,05$) et les avortements. Et la présence de chiens et les avortements dans les élevages $p=0,0002$: IC 95% (72-6,01).

Enfin nous avons étudié la séroprévalence et les facteurs de risque associés à la néosporose en utilisant le test sérologique ELISA par compétition multi espèces. Le travail a été réalisé sur un total de 667 serums dont 500 prélevés sur des brebis, 25 sur des chiens, et 36 chez des chèvres en cohabitation appartenant à 56 élevages situés dans la région nord centre d'Algérie concernant quatre wilayas : Alger, Boumerdès, Blida, Djelfa, ainsi que 106 chez

des béliers au niveau d'un abattoir à Blida. Pour l'étude épidémiologique, un questionnaire a été destiné aux éleveurs concernant les informations relatives à la néosporose. Sur 500 brebis testés, 1.2% (IC95% 0.246-2.154%) dans 7,14% des élevages (IC 95% 0.396%-13.884%). L'analyse des facteurs liés au risque d'infection par *N. caninum* a mis en évidence que des facteurs comme la répartition géographique et la source d'abreuvement sont significativement associées à la séroprévalence. Ensuite nous avons étudiés la séroprévalence chez les chèvres et chiens qui cohabitaient avec les brebis. Sur un total de 36 chèvres avortantes aucune n'a présenté une séropositivité vis-à-vis de *N. caninum*. Sur un total de 25 chiens la séroprévalence vis à vis du parasite était de 4%. Nous nous sommes intéressés aussi aux béliers au niveau de l'abattoir de la wilaya de Blida. Les échantillons de 106 béliers ont été prélevés et analysés par ELISA multi espèce, la séroprévalence était de 1,88% (2/106) (IC 95% 00-4,48%), ils provenaient de la commune de mouzaia. Les deux facteurs sélectionnés comme l'âge et la race n'ont pas été influents.

Mots clé : Ovins, épidémiologie, typologie, avortement, sero prévalence, néosporose.

ABSTRACT

Neosporosis is a parasitic disease responsible for paralysis in dogs, abortions and stillbirths in cattle and small ruminants. Dogs are the primary definitive host, while cattle are the preferred intermediate host. Sheep and goats are the sensitive intermediate hosts after cattle. Although several epidemiological studies have been carried out in several regions of the world in dogs and goats in cohabitation with sheep, and despite the vastness of the country and the importance of sheep farming, very few studies have been carried out on this parasite in Algeria. The main goal of this work was to understand the epidemiology of neosporosis in sheep farms.

We first worked on the typology of sheep farms (195 farms) and the factors linked to the risk of exposure to *Neospora Caninum* in the north central region of Algeria. We concluded that the farming system is extensive with semi-tie stall housing, with small numbers of sheep. The Ouled Djellal breed is the dominant breed in most of the farms. There is a predominance of two pathologies, respiratory and reproductive. Abortions are dominant in some farms.

Then we became interested in the epidemiological study of abortions. On 205 farms, 88 farms present episodes of abortions, with a prevalence of 3.66% (3.29% -4.03%) on an individual scale and 42.92% (36.15% -49, 70%) at herd level. The study of risk factors by multiple correspondence analysis revealed that there is a significant association between the race OD (OR = 1.16), HA (OR = 2.92), Berber ($p < 0, 05$) and abortions. The presence of dogs and abortions in herds $p = 0.0002$: 95% CI (72-6.01).

Finally, we studied the seroprevalence and the risk factors associated with neosporosis using the ELISA serological test by multispecies competition. The work was carried out on a total of 667 sera including 500 taken from ewes, 25 from dogs, and 36 from cohabiting goats belonging to 56 farms located in the north central region of Algeria concerning four wilayas: Algiers, Boumerdès, Blida, Djelfa, as well as 106 among rams at a slaughterhouse in Blida. For the epidemiological study, a questionnaire was intended for breeders concerning information relating to neosporosis. Out of 500 ewes tested, 1.2% (95% CI 0.246-2.154%) in 7.14% of the herds (95% CI 0.396% -13.884%). Analysis of factors

related to the risk of infection with *N. caninum* showed that factors such as geographic distribution and source of watering are significantly associated with seroprevalence. Then we studied the seroprevalence in goats and dogs which cohabited with the ewes. Out of a total of 36 abortive goats, none were seropositive to *N. caninum*. In a total of 25 dogs, the seroprevalence against the parasite was 4%. We were also interested in rams at the slaughterhouse in the wilaya of Blida. Samples of 106 rams were taken and analyzed by multispecies ELISA, the seroprevalence was 1.88% (2/106) (95% CI 00-4.48%), they came from the commune of mouzaia. The two selected factors as age and race were not influential.

Keywords: Sheep, epidemiology, typology, abortion, seroprevalence, neosporosis.

ملخص

إن مرض نيوسبوروس هو مرض طفيلي مسؤول عن الشلل في الكلاب ، والإجهاض والإملاص في الأبقار والمجترات الصغيرة. الكلاب هي المضيف النهائي الأساسي ، في حين أن الماشية هي المضيف الوسيط المفضل. تعتبر الأغنام والماعز من العوائل الوسيطة الحساسة بعد الماشية. على الرغم من إجراء العديد من الدراسات الوبائية في عدة مناطق من العالم على الكلاب والماعز بالتعايش مع الأغنام وعلى الرغم من اتساع البلاد وأهمية تربية الأغنام ، إلا أنه تم إجراء القليل جدًا من الدراسات. البحث عن هذا الطفيل في الجزائر . كان الهدف الرئيسي من هذا العمل هو فهم وبائيات الإصابة بمرض نيوسبوروسيس في مزارع الأغنام

عملنا أولاً على تصنيف مزارع الأغنام (195 مزرعة) والعوامل المرتبطة بخطر التعرض لنيوسبورا كانينوم في المنطقة الشمالية الوسطى من الجزائر. توصلنا إلى أن طريقة التربية عبارة عن كشك شبه ربطة واسع وبأعداد صغيرة. سلالة أولاد جلال هي السلالة السائدة في معظم المزارع. غلبة مرضين ، الجهاز التنفسي والتناسلية. الإجهاض سائد في بعض المزارع

ثم أصبحنا مهتمين بالدراسة الوبائية لعمليات الإجهاض. في 205 مزرعة ، هناك 88 مزرعة تعرضت لحالات إجهاض ، مع انتشار 3.66% (3.29%-4.03%) على نطاق النعاج و 42.92% (36.15%-49 ، 70%) على مستوى القطيع. كشفت دراسة عوامل الخطر عن طريق تحليل المراسلات المتعددة أن هناك ارتباطاً كبيراً بين العرق والإجهاض. وجود الكلاب والإجهاض في (05 ، p < 0) ، البربر (OR = 2.92) ، HA (OR = 1.16) ، OD (OR = 1.16) ، CI القطعان ع = 0.0002 : 95%.

المصلي عن ELISA أخيراً ، درسنا الانتشار المصلي وعوامل الخطر المرتبطة بالتشخيص الجديد باستخدام اختبار طريق منافسة الأنواع المتعددة. تم تنفيذ العمل على إجمالي 667 مصلة منها 500 نعاج ، و 25 من كلاب ، و 36 من ماعز متعايش في 56 مزرعة تقع في المنطقة الوسطى الشمالية من الجزائر في أربع ولايات: الجزائر العاصمة ، بومرداس ، البلدية ، الجلفة ، وكذلك 106 بين الكباش في مسلخ بالبيدة. بالنسبة للدراسة الوبائية ، كان الاستبيان مخصصاً للمربين فيما يتعلق بالمعلومات المتعلقة بمرض نيوسبوروس. من 500 نعجة تم اختبارها ، 1.2% (95%) من القطعان. أظهر تحليل العوامل المتعلقة (13.884%-0.396% CI في 7.14% (95%) (0.246-2.154% CI أن عوامل مثل التوزيع الجغرافي ومصدر الري ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالانتشار N. caninum بخطر الإصابة بـ المصلي. ثم درسنا الانتشار المصلي في الماعز والكلاب التي تتعايش مع النعاج. من بين إجمالي 36 من الماعز في إجمالي 25 كلباً ، كان معدل الانتشار المصلي ضد N. caninum المجهض ، لم تكن أي منها إيجابية مصلاً لـ الطفيل 4%. كما كنا مهتمين بالكباش في المسلخ بولاية البيدة. تم أخذ عينات من 106 كباش وتحليلها بواسطة أنواع ، أتوا من بلدية الموزية. (00-4.48% CI ، كان الانتشار المصلي 1.88% (106/2) (95%) ELISA متعددة من لم يكن العاملين المختاران مثل العمر والعرق مؤثرين

الكلمات المفتاحية: الأغنام ، علم الأوبئة ، التصنيف ، الإجهاض ، الانتشار المصلي ، التنوعات الحديثة

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements à ma directrice de thèse professeure BOUMAHDJ MERAD Zoubeida pour avoir pris en charge l'encadrement de ce travail de thèse ; merci pour sa disponibilité, sa gentillesse, sa sincérité et sa sympathie.

Un grand remerciement au professeur BERBERE Ali pour avoir accepté la présidence de ce jury de thèse et pour sa bienveillance, qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

Un grand remerciement au professeur AIT OUDHIA Khatima pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse. J'ai apprécié son intérêt pour la recherche et toutes les discussions au sujet de ce travail. Merci pour sa sincérité et simplicité. Je suis honoré de l'avoir rencontré.

Je remercie chaleureusement Dr MIMOUNE Nora d'avoir accepté d'examiner notre travail ; sincères remerciements.

Je remercie chaleureusement Dr ZAOUANI Mohamed d'avoir accepté d'examiner notre travail ; sincères remerciements.

Mes sincères et profonds remerciements au professeur KAIDI pour m'avoir laissé une grande autonomie et une précieuse indépendance dans mes prises d'initiatives, merci pour sa disponibilité, sa patience, son respect et ses conseils à chaque fois que j'en avais besoin.

Je remercie chaleureusement la professeure BOUZEGHOUB Salima Chef du laboratoire VIH LNR VIH/SIDA de Institut Pasteur d'Algérie qui a mis tous les moyens à notre disposition pour la réalisation de nos analyses ELISA, ainsi que tout le personnel du laboratoire et particulièrement Monsieur CHEROUF Abdelhak ; Sincères remerciement pour votre professionnalisme et votre dynamisme.

Je remercie également tout le personnel de laboratoire régional de Draa Ben khadda de Tizi Ouzou et particulièrement Madame KECHIH BOUNAR Saliha la Directrice qui nous a autorisé à pratiquer toutes les étapes de l'ELISA sous le regard bien veillant de son personnel qualifié particulièrement Mr AGAG Cherif.

Merci à Dr MOULA Nassim pour aide précieuse et sa patience pour la réalisation de l'analyse statistique et de m'avoir accueilli pendant mon stage à l'université de Liège en Belgique.

Sincères remerciements au Professeur TOUATI Kamal qui m'a accueilli lors de mes stages à la faculté de médecine vétérinaire de Liège en Belgique

Merci à Dr MEDROUH Bachir pour son aide et sa disponibilité dans la réalisation de l'analyse statistique.

Je suis redevable à tous les collègues qui m'ont aidé activement dans certains aspects de ce travail et particulièrement : Dr KELANEMER Rabah pour son aide sur terrain, Dr ZIAM Hocine pour son aide, les vétérinaires de la direction de services agricoles de la wilaya de Blida (Dr BENSLAMA Fella et Dr BOUZAHER Sihem), Dr Warda vétérinaire au bureau d'hygiène de Bouaarfa et Dr HAMRAT Khadidja vétérinaire au bureau d'hygiène de Guerouaou, Dr DJAZIRI Abdenour. Mes remerciements vont également à tous les éleveurs qui ont accepté de nous laisser travailler sur leurs cheptels.

Mes remerciements s'adressent à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie cette thèse

A la mémoire de mon père

A la mémoire de ma sœur Wahiba

A la mémoire de mon frère Fares

Le vide que vous avez laissé est immense, aucun mot ne pourra exprimer mon actuel sentiment.

A ma très très chère maman pour m'avoir toujours soutenu et aidé dans les moments où j'en avais vraiment besoin, en me gardant les enfants et en les chouchoutant merci pour tant de Patience et de dévouement.

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

A ma chère nièce louisa pour sa présence, son aide, son soutien et sa gentillesse.

A mes frères pour tous leurs soutiens.

A mes enfants Mehdi, Leila, Zahra pour tout le bonheur qu'ils nous offrent.

A Djallel pour sa présence, son soutien ,sa confiance, sa gentillesse, sa patience et sa sagesse. Merci.

A mon beau père avec toute l'affection et le respect que je lui porte.

A Hadjira, issam, Madiha, Wissem, et Nazim pour leur présence.

A tous mes ami(e)s

Avec tous mes Respects.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES FIGURES, ET TABLEAUX	
INTRODUCTION GENERALE.....	16

CHAPITRE 1 GENERALITES SUR L'ELEVAGE OVINS EN ALGERIE

1.1. Introduction.....	18
1.2. Effectifs.....	18
1.3. Les races ovines en algerie et leur localisation.....	19
1.3.1. Principales races Algérienne.....	20
1.3.2. Les Races secondaires.....	22
1.4. Systemes d'élevage ovin.....	24
1.4.1. Système Extensif.....	24
1.4.2. Système Intensif.....	24

CHAPITRE 2 : NEOSPOROSE CHEZ LES OVINS

2.1. Introduction.....	26
2.2. Connaissances actuelles sur la Néosporose.....	27
2.3. Structure et biologie.....	29
2.3.1. Structure.....	29
2.3.2. Cycle biologique.....	34
2.3.3. Epidémiologie.....	35

CHAPITRE 3: CARACTERISTIQUES TYPOLOGIQUES DES ELEVAGES OVINS EN RAPPORT AVEC UN RISQUE POTENTIEL DE CONTAMINATION A *NEOSPORA CANINUM* DANS LA REGION CENTRE DE L'ALGERIE.

3.1. Introduction.....	66
3.2. Materiel et methode.....	67

3.2.1. Zone d'étude.....	67
3.2.2. Questionnaire.....	67
3.2.3. Échantillonnage et collecte des données.....	68
3.3. Analyses statistiques.....	68
3.4. Resultats.....	70
3.4.1. Signalétique des élevages.....	70
3.4.2. Caractéristiques zootechniques.....	71
3.4.3. Statut sanitaire.....	72
3.5. Facteurs de risques liés à l'exposition à <i>néospora caninum</i>	73
3.6. Typologie.....	75
3.6.1. Analyse des correspondances multiples.....	75
3.6.2. Classification hiérarchique et description des clusters.....	77
3.7. Discussion.....	82
3.7.1. Caractéristiques zootechniques.....	82
3.7.2. Suivi sanitaire.....	83
3.7.3. Facteurs de risques.....	83
3.8. Conclusion.....	84

CHAPITRE 4: ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE SUR LES AVORTEMENTS DANS LA ZONE D'ETUDE

4.1. Introduction.....	86
4.2. Matériel et méthode.....	87
4.2.1. Population étudiée et taille de l'échantillon.....	87
4.2.2. Zone d'étude.....	87
4.2.3. L'Enquête.....	87
4.2.4. Analyse statistique.....	88
4.3. Resultats.....	88
4.3.1. Prévalence des avortements dans les élevages.....	88
4.3.2. Prévalence d'avortements individuelle.....	89
4.3.3. Etude des Facteurs épidémiologiques potentiellement liés aux avortements a <i>Neospora caninum</i>	91
4.3.4. Analyse multi-dimensionnelle.....	93

4.4. Discussion.....	95
4.5. Conclusion.....	97
4.6. Recommandations.....	98

CHAPITRE 5 : SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE DANS LES ELEVAGES OVINS

5.1. Introduction.....	99
5.2. Matériel et méthodes.....	99
5.3. Resultats.....	106
5.3.1. Séroprévalence dans les élevages.....	106
5.3.2. Séroprévalence individuelle.....	106
5.3.3. Etude de l'effet des différents facteurs de risques.....	107
5.4. Discussion.....	113
CONCLUSION GENERALE.....	123
RECOMMANDATION.....	125
APPENDICE	
REFERENCES	

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Tableau 1.1.	Répartition des races ovines en Algérie.....	19
Tableau 2.1.	Comparaison des sensibilités et spécificités des différents tests sérologiques avec le test de référence, l'IFAT.....	58
Tableau 3.1.	Codes des variables et des modalités incluses dans l'analyse des correspondances multiples (ACM).....	68
Tableau 3.2.	Répartition des élevages dans les wilayas étudiées.....	71
Tableau 3.3.	Répartition des élevages en fonction des paramètres zootechniques.....	71
Tableau 3.4.	Répartition des élevages en fonction du statut sanitaire.....	73
Tableau 3.5.	Répartition des élevages en fonction du risque d'exposition a <i>N caninum</i>	74
Tableau 3.6.	Répartition des élevages en fonction des avortons et des arrières faix.....	75
Tableau 3.7.	Degrés de lien statistique entre les variables et les trois Premiers axes.....	75
Tableau 3.8.	Distribution des modalités les plus significatives dans les trois groupes en pourcentage.....	78
Tableau 3.9.	La répartition des élevages dans les groupes par modalités.....	79
Tableau 4.1.	Taux de prévalence des avortements dans les élevages ayant connu des avortements dans les différentes wilayas.....	89
Tableau 4.2.	Taux de prévalence des brebis ayant connu des avortements dans les différentes wilayas.....	90
Tableau 4.3.	Effet de la mixité des élevages sur les avortements.....	91
Tableau 4.4.	Rapport entre la Race et la présence d'avortements.....	91
Tableau 4.5.	Rapport entre l'origine des animaux et la présence d'avortements.....	92
Tableau 4.6.	Relation entre la vaccination et la présence d'avortements...	92

Tableau 4.7.	Présence des chiens en relation avec les avortements.....	93
Tableau 4.8.	Codes des variables et modalités utilisées dans l'analyse des correspondances multiples.....	93
Tableau 5.1.	Séroprévalence dans les élevages des wilayas étudiées.....	106
Tableau 5.2.	Séroprévalence individuelle dans les différentes wilayas étudiées.....	106
Tableau 5.3.	Répartition géographique des élevages.....	108
Tableau 5.4.	Répartition des brebis séropositives et séronégatives à <i>N. caninum</i> , en fonction des facteurs testés dans l'analyse univariée par le test du Khi-deux de Pearson.....	110
Tableau 5.5.	Analyse multivariée de la séroprévalence de <i>N. caninum</i>	111
Tableau 5.6.	Séroprévalence de la néosporose au niveau de L'abattoir de Boufarik.....	112
Tableau 5.7.	Rapport entre les Facteurs épidémiologiques et les résultats sérologiques pour <i>Neospora caninum</i> au niveau de l'abattoir de Boufarik (Blida).....	112
Figure 1.1.	Brebis de race Ouled Djellal.....	20
Figure 1.2.	Brebis de race El Hamra.....	21
Figure 1.3.	Brebis de race Rembi.....	21
Figure 1.4.	Brebis Tazegzawth.....	22
Figure 1.5.	Bélier de race Barbarine.....	23
Figure 1.6.	Bélier de race D'men.....	23
Figure 1.7.	Brebis de race Sidaou.....	24
Figure 2.1.	Taxonomie de <i>N. caninum</i>	28
Figure 2.2.	Un amas de Tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i> dans une vacuole parasitophore.....	30
Figure 2.3.	Principales structures et organites de Tachyzoïtes de <i>N. caninum</i>	31
Figure 2.4.	Bradyzoïtes enfermés dans un kyste tissulaire.....	32
Figure 2.5.	Oocyste <i>Neospora caninum</i> dans les intestins d'un chien 8 ans.....	33
Figure 2.6.	Cycle évolutif de <i>N. caninum</i>	35
Figure 2.7.	Voie de Transmission de <i>Neospora caninum</i>	37
Figure 2.8.	Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de	

	<i>Neospora caninum</i>	43
Figure 2.9.	Résultats histopathologies des échantillons de tissu pulmonaire.....	49
Figure 2.10.	Résultats histopathologies d'échantillons de tissus cardiaques.....	50
Figure 2.11.	Résultats histopathologies des tissus placentaires et fœtaux des fœtus Avortés chez les brebis.....	51
Figure 2.12.	Histopathologie du cerveau chez les brebis avortantes.....	52
Figure 2.13.	Coupes histologiques d'échantillons de tissus Hépatiques.....	52
Figure 2.14.	Cinétique des Ac rNcSAG4 et rNcGRA7 en fonction de la chronicité de l'infection.....	58
Figure 3.1.	Carte géographique présentant la zone d'étude.....	67
Figure 3.2.	Représentation graphique des modalités sur les axes 1 et 2...	77
Figure 3.3.	Représentation graphique des modalités sur les axes 2 et 3...	77
Figure 3.4.	Représentation graphique des clusters sur les axes 1 et 2.....	81
Figure 4.1.	Zone d'étude (Région nord centre Algérie).....	87
Figure 4.2.	Prévalence des avortements dans les élevages des différentes wilayas.....	89
Figure 4.3.	Prévalence des brebis ayant connu des avortements dans Les différentes Wilayas.....	90
Figure 4.4.	Plan des variables sur les deux axes voir.....	94
Figure 4.5.	Plan factoriel des individus.....	94
Figure 4.6.	Plan factoriel des modalités.....	95
Figure 5.1.	La zone d'étude région nord centre de l'Algérie.....	100
Figure 5.2.	Kit ELISA ID-Screen de <i>Neospora caninum</i> Multi-species.....	100
Figure 5.3.	Distribution de solution d'arrêt dans chaque puits avant la lecture des Résultats.....	101
Figure 5.4.	Lecteur de microplaque Elisa.....	103
Figure 5.5.	Laveur de microplaques.....	103

INTRODUCTION

L'élevage ovin en Algérie se caractérise par des pratiques et des systèmes de production extensifs, des cultures fourragères peu développées avec utilisation d'un matériel biologique local (bovin, caprin, ovin) [1; 2]. Actuellement, le cheptel ovin est estimé à 28,4 millions de têtes dont 16,8 millions brebis [3]. Il occupe une place importante dans l'économie du pays et contribue à plus de 50% de la production nationale de viande rouge et de 10% à 15 % du produit intérieur brut agricole [4;5].

En Algérie, l'élevage ovin compte parmi les activités agricoles les plus traditionnelles, qui assurent un revenu entier de la population active algérienne. Il est localisé essentiellement dans les régions d'accès difficile [6]. Il est le principal fournisseur de viande rouge, [7]. Il s'impose comme une nécessité à l'égard d'une demande de plus accrue de la part d'une population en plein essor démographique.

Quel que soit le but de l'élevage : production de lait, de laine ou de viande, la plus grande partie de cette activité repose sur la capacité de l'animal à se reproduire avec succès. Par conséquent, toute diminution de l'efficacité de reproduction d'un groupe d'animaux occasionne des pertes économiques. En effet, un problème de reproduction quel qu'il soit influe sur la rentabilité de l'élevage, notamment les avortements.

L'avortement chez la brebis peut avoir des origines non infectieuses telles que les facteurs nutritionnels, chimiques, physiques, génétiques, endocriniens, immunologiques, iatrogènes ou infectieuses (bactéries, virus, champignons et parasites). Ces derniers tels que *Toxoplasma gondii* dont le chat est l'hôte définitif et *Neospora caninum* dont le chien et le coyote, sont des protozoaires intracellulaires avec une ressemblance structurale, génétique et immunologique [8] et reconnues comme principales causes infectieuses d'avortements chez les bovins et les ovins.

La néosporose est l'une des maladies parasitaires les plus importantes distribuées dans le monde parmi une variété d'animaux domestiques et sauvages [9]. Historiquement, le parasite a été reconnu pour la première fois chez les chiens norvégiens en 1984 et diagnostiqués à tort comme *Toxoplasma gondii*.

Cependant, le parasite est décrit comme nouveau genre et nouvelle espèce en 1988 [10].

Chez les ovins, *N. caninum* est détecté pour la première fois en Angleterre en 1990 chez les agneaux infectés congénitalement avec présence du parasite dans le cerveau et la moelle épinière [11]. Le cycle de vie implique principalement les ruminants et autres ongulés comme hôtes intermédiaires et les canidés comme hôtes définitifs [12]. Les brebis peuvent infecter leurs fœtus par voie trans placentaire (transmission verticale) pendant la gestation menant à un avortement et à la naissance d'agneaux infectés congénitalement ou après la naissance par ingestion d'oocystes sporulés trouvés dans des aliments ou l'eau (transmission horizontale) [13]. Chez les bovins, *N. caninum* est considéré comme la principale cause d'avortement, bien que l'infection clinique ressemble à la toxoplasmose ovine. Par conséquent, la signification d'infection à *Neospora* chez les ovins, y compris clinique, épidémiologique et économique est encore non révélée [13;14]. Cependant, peu d'études ont montré le rôle potentiel de *N. caninum* chez les ovins [15;16].

Aujourd'hui, de nombreuses techniques de diagnostic sont disponibles pour la détection de la néosporose ovine. Malgré son importance et sa propagation dans le monde. La situation en Algérie chez les ovins est très peu connue. En effet aucune étude, sur une large partie du territoire, n'a été entreprise afin de l'évaluer. Néanmoins, quelques travaux dans le cadre de mémoires de fin d'étude et de thèse de doctorat ont permis de mettre en évidence des taux de prévalence variables. Afin d'être en mesure de comprendre l'épidémiologie de l'infection sur le territoire Algérien et plus précisément dans la partie centre de l'Algérie dans les régions de : Boumerdès, Alger, Blida, Djelfa et dans le but d'apporter un éclairage à cette situation nous nous sommes fixé comme objectifs :

- En premier lieu étudier le système d'élevage dans la région d'étude.
- En second lieu déterminer le taux des avortements dans les élevages
- En troisième lieu évaluer la séroprévalence de l'infection à *N. caninum* chez les ovins.
- Enfin déterminer les facteurs de risques potentiels pouvant être associés à la séropositivité.

CHAPITRE 1: GENERALITES SUR L'ELEVAGE OVINS EN ALGERIE

1.1. Introduction

L'élevage des ruminants est intimement lié à son territoire. Effectivement le sol produit une grande partie de l'alimentation des animaux, et en contrepartie les animaux permettent d'entretenir et de valoriser ce dernier. Il s'agit donc de cultiver cette interdépendance essentielle pour l'éleveur et l'environnement, qui varie d'une région à l'autre.

Le mouton reste, par excellence, l'animal associé aux fêtes religieuses et familiales dans les traditions algériennes. Il joue un rôle économique, social et rituel important dans notre pays. L'élevage des moutons se pratique sur l'ensemble du territoire national. Il est principalement localisé dans les zones rurales difficiles, arides ou semi-arides où il est particulièrement adapté au milieu naturel et aux ressources pastorales spontanées et variables. En effet, les ovins sont par nature capables de digérer l'herbe qui pousse sur des espaces non cultivables, qu'ils transforment en lait et en viande.

L'Algérie continue à être dépendante des importations alimentaires nécessaires à la satisfaction des besoins nationaux, particulièrement en protéines animales, représentées par les viandes et essentiellement le lait [17]. La faible productivité du troupeau national est attribuée à une mauvaise conduite de point de vue sanitaire et zootechnie. Son rôle est donc de plus en plus pris en compte par rapport à l'élevage bovin [18].

1.2. Effectifs

L'espèce ovine, la plus importante en effectif, représente la plus grande ressource animale du pays. Selon les statistiques du Ministère de L'Agriculture 2018, S'agissant des effectifs du cheptel, l'Algérie compte 28,4 millions de têtes d'ovins, 1,9 million de têtes de bovins et de 5 millions de têtes de caprins.

Dans les régions steppiques et présahariennes Le cheptel ovine représente ainsi près de 80% de l'effectif total du cheptel national [19]. Il joue un rôle prépondérant dans l'économie et participe activement à la production des viandes rouges [20]. Et qui en 2017 s'est établie à 5,44 millions de quintaux pour une

valeur 596 milliards de DA selon le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche Par catégorie, la production a été de 3,25 millions de quintaux de viande ovine, de 1,25 million de quintaux de viande bovine, de 0,42 million de quintaux de viande caprine, de 0,1 million de quintaux de viande cameline et de 141 quintaux de viande équine [21]. En ce qui concerne la disponibilité alimentaire en viandes rouges, selon le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche elle est de 14,4 kg/an/habitant [22].

1.3. Les Races ovines en Algérie et leur localisation

Elles sont regroupées en races principales, dominantes : Ouled-Djellal, Hamra, et Rembi et en races secondaires : Berbère, Barbarine, D'men, Sidahou et Tadmit [23]. avec une tendance de croisement entre les races. Ce sont des races d'une excellente résistance et adaptation aux conditions difficiles de milieu de la steppe Les ovins sont répartis sur toute la partie nord du pays, avec 80% de l'effectif total concentré sur la steppe et les hautes plaines semi arides céréalieres. Les populations du Sahara, exploitent les ressources des oasis et des parcours désertiques [24] (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Répartition des races ovines en Algérie [24].

Races ovines	Aire de répartition
Ouled djellal	Steppe et hautes plaines
Rembi	Centre Est (Steppe et hautes plaines)
Hamra ou Beniguil	Ouest de Saida et limites zones Sud
Berbère	Massifs montagneux du Nord de l'Algérie
Barbarine	Erg oriental sur frontières tunisiennes
D'men	Oasis du sud Ouest algérien
Sidahou	Le grand Sahara Algérien

Huit races sont caractérisées par une rusticité remarquable, adaptées à leurs milieux respectifs composant la diversité ovine algérienne [25].

1.3.1. Principales races Algériennes

1.3.1.1. Ouled Djellal

Avec 62,98% du cheptel ovin total, la Ouled Djellal (figure 1.1) encore appelée la race Blanche, est la plus importante race ovine algérienne. Elle est exploitée pour la production de viande. Si historiquement l'habitat de la race est la steppe et les hautes plaines, aujourd'hui, il a vu son aire de distribution progresser pour gagner même les montagnes du Nord du pays [24]. Cette race présente des qualités exceptionnelles pour la production de viande et de laine. Le poids adulte peut atteindre 80 kg pour les béliers et 60 kg pour les brebis [26].



Figure 1.1: Brebis de race Ouled Djellal [27].

1.3.1.2 Hamra

Cette race originaire du Maroc plus précisément du haut atlas marocain où elle est élevée par la tribu Beni Ghil d'où elle tire son nom est encore appelée Beni Iguil dite autochtone d'Afrique de Nord. L'appellation "Hamra" ou "Deghma" donnée à cette race par les éleveurs de la steppe de l'ouest est due à la coloration acajou brunâtre ou marron roussâtre de sa tête et de sa peau (figure 1.2) [23;27]. Comparativement aux autres races locales elle est particulièrement adaptée aux conditions climatiques des parcours plats de la steppe de l'ouest et à son vent glacial "El Gharbi. Le poids des béliers est d'environ 70kg et celui des brebis de 40kg [28].



Figure 1.2: Brebis de race El Hamra [27].

1.3.1.3.Rembi

Considérée comme la plus lourde race ovine algérienne avec des poids avoisinant les 90kg chez le bélier et 60kg chez la brebis, elle est issu d'un croisement entre le Mouflon de Djebel Amour (appelé également Laroui) et la race Ouled Djellal, il aurait ainsi hérité les cornes particulières du mouflon et la conformation de la Ouled Djellal [29].Le nom Rembi proviendrait du mot arabe « El Arnabi » ce qui signifie couleur de lièvre (figure 1.3).



Figure 1. 3: Brebis de race Rembi [27].

Le berceau de la race Rembi s'étend de l'Oued Touil à l'est au Chott Chergui à l'ouest et de Tiaret au Nord à Aflou et El-bayadh au sud [23]. Aujourd'hui, la race représente 11,1% de cheptel national. Il semble ainsi qu'elle est mieux adaptée que la race Ouled-Djellal aux zones d'altitude [30;31].

1.3.2. Les Races secondaires

1.3.2.1. Tazegzawth

Cette race a longtemps été ignorée par la communauté scientifique et n'est pas encore répertoriée officiellement. Elle est reconnaissable à ses tâches noires à reflets bleuâtres (figure 1.4), son nom kabyle signifiant bleu. Son poids peut dépasser 30kg à 6 mois. Tazegzawth se rencontre principalement dans les wilayas de Béjaia et de Tizi-Ouzou. Son effectif représente moins de 0,0002% (~3500 têtes) du cheptel national. Elle est menacée par les croisements non contrôlés avec les autres races et par la généralisation de l'élevage de la race Ouled Djellal [32].



Figure 1.4 : Brebis Tazegzawth [25].

1.3.2.2. Barbarine

Cette race est de morphologie proche de la race tunisienne dont elle se différencie par sa queue moins grasse. La réserve de gras au niveau de la queue et ses gros sabots en font une race adaptée aux conditions de l'Erg oriental (figure 1.5), son habitat principal. Le poids des animaux est de 37 kg chez les brebis et 45 kg chez les béliers. La race représente 0,27% du cheptel national. Ce faible effectif peut être expliqué par la rareté et la pauvreté des pâturages dans sa région

d'élevage et par la concurrence de l'élevage bovin traditionnellement développé au Nord de la ligne Batna-Tébessa [23].



Figure 1.5 : bélier de race Barbarine [27].

1.3.2.3. D'man

Considérée comme la race la plus prolifique du Maghreb, la D'man (ou Daman) (figure 1.6) est originaire du Maroc. La race est répandue dans le Sud-Ouest algérien et le Sud-Est marocain. Son effectif en Algérie est estimé à 34200 têtes, soit 0,19% de l'effectif ovin national. Son poids varie de 30 à 45 kg chez les brebis et de 50 à 70 kg chez les béliers [24].



Figure 1.6: Bélier de race D'men [27].

1.3.2.4. Sidahou

Race originaire du Mali, exploitée essentiellement par les Touaregs, le Sidahou (figure 1.7), encore appelé Targui, est présent dans le Sahara. Les béliers pèsent en moyenne 41 kg et les brebis 33kg. Cette race représente environ 0,13% du cheptel ovin national [24].



Figure 1.7: Brebis de race Sidaou [27].

1.4. Systèmes d'élevage ovin

En Algérie, Le système d'élevage ovin ne constitue pas un ensemble homogène reste largement dominé par les races locales et se distinguent essentiellement par leur mode de conduite alimentaire [33].

1.4.1. Système extensif

En Algérie, ce type de système domine, il est basé sur un système, traditionnel de transhumance dans des zones avec un faible couvert végétal, à savoir les zones steppiques, les parcours sahariens et les zones montagneuses. Il est orienté principalement vers la production de viande [19]. Ce système concerne toutes les espèces animales locales [34].

1.4.2. Système intensif

Contrairement au système extensif, le système intensif fait appel à une grande consommation d'aliments, une importante utilisation de produits vétérinaires ainsi qu'à des équipements pour le logement des animaux [34]. Ce système est destiné à produire des animaux bien conformés pour d'importants

rendez-vous religieux (fête du sacrifice et mois de jeûne) et sociaux (saison des cérémonies de mariage et autres), il est pratiqué autour des grandes villes du nord et dans certaines régions de l'intérieur, considéré comme marché d'un bétail de qualité. L'alimentation est constituée de concentré, de foin et de paille, de nombreux sous-produits énergétiques sont aussi incorporés dans la ration [24].

CHAPITRE 2 : NEOSPOROSE CHEZ LES OVINS

2.1. Introduction

La néosporose, est une maladie infectieuse causée par le protozoaire intra cellulaire *Neospora caninum* appartenant au phylum des apicomplexa, essentiellement responsable d'avortements chez les bovins [35] et de symptômes neurologique chez les chiens [36]. Depuis sa découverte, *N. caninum* a été identifié chez diverses espèces de Bétail, y compris, moutons, chèvres, chevaux et cerfs [37].

Chez les petits ruminants *Neospora caninum* a été déjà signalé par voie transplacentaire. Chez les ovins la transmission de *N.caninum* par voie naturelle a été décrite pour la première fois chez un agneau infecté congénitalement [38]. Par la suite des infections à *N. caninum* chez les ovins ont été rapportées dans le monde entier [39].

La néosporose est une maladie dont l'importance épidémiologique, clinique et économique reste encore à évaluer chez les ovins. L'infection par *Neospora caninum* a été identifiée dans plusieurs pays, Elle touche ainsi tous les continents et constitue la principale cause d'avortement, en Nouvelle-Zélande en Hollande et en Californie [40]. Les travaux sur la néosporose ovine ont été entamés en 1990, en Angleterre par Dubey et collaborateurs, chez un agneau infecté congénitalement [41]. Par la suite, la néosporose ovine a été signalée chez des brebis et leurs foetus au Japon, en Amérique du sud et en Suisse [42;43;44;45].

En Algérie peu d'études ont été faites pour la recherche de néospora caninum chez les ovins car il n'est pas considéré comme un problème majeur par rapport à l'élevage bovin. Compte tenu de l'importance de l'enquête séro épidémiologique dans l'évaluation de l'apparition de l'infection chez l'espèce ovine et en raison de problèmes de reproduction, engendrant des pertes économique importantes, il est important de faire une enquête qui vise à déterminer la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* chez les ovins dans les différents départements du pays

Dans une première partie, nous reviendrons sur les connaissances actuelles concernant la néosporose, ses conséquences cliniques et les méthodes de diagnostics dont nous disposons. Dans une deuxième partie, nous exposerons l'étude mise en place en mettant en évidence la séroprévalence individuelle et par élevage de *N caninum* dans les différentes wilayas de la zone d'étude et les facteurs de risques liés à ce parasite.

2.2. Connaissances actuelles sur la Néosporose

2.2.1. Découverte du parasite

Neospora caninum fut mis en évidence par Dubey et Lindsay [41] chez un agneau atteint de paralysie et dans la même année la première preuve d'une transmission à la descendance fut apportée expérimentalement afin de savoir si le mouton pouvait être un modèle d'étude de la néosporose bovine. Deux brebis furent inoculées, l'une par voie intra veineuse et l'autre par voie sous cutanée à l'aide de tachyzoïtes de *Neospora caninum*, à environ 90 jours de gestation. Les deux brebis avortent chacune de deux fœtus à 25 et 26 jours post inoculation. Les lésions retrouvées sur les avortons étaient compatibles avec celle observées lors de néosporose bovine. Le parasite est mis en évidence dans le système nerveux central des 4 avortons [41].

2.2.2. Classification de *Neospora caninum*

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. De par sa conformation et son historique, *N. caninum*, confondu au début avec *T. gondii* [20], il a été attribué à la classe des Coccidies et dans la famille des Sarcocystidés qui regroupe notamment les genres *Toxoplasma* et *Sarcocystis* (figure 2.1).

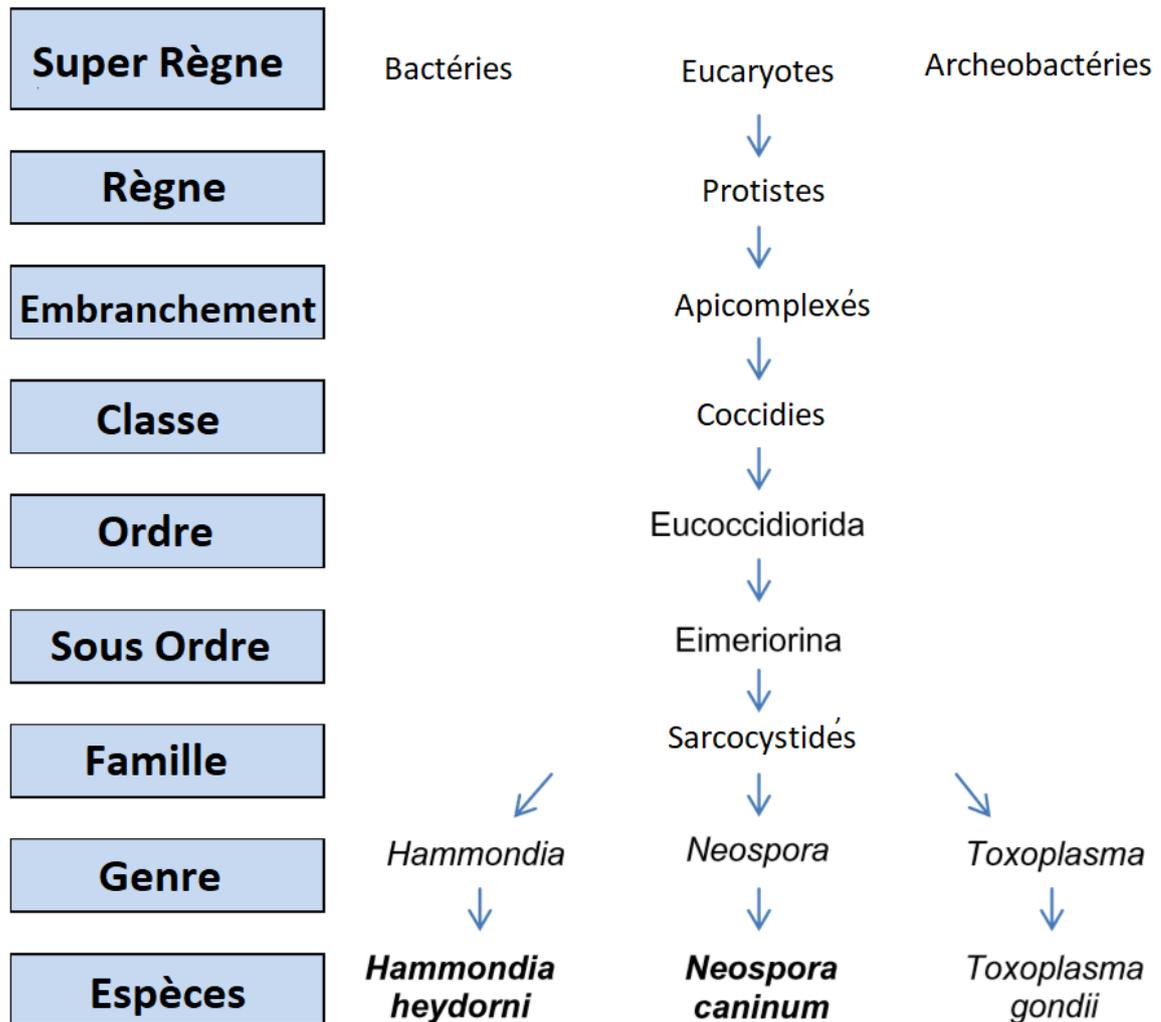


Figure 2.1: Taxonomie de *N. caninum* d'après Goodswen *et al.* (2013) [46].

Des études phylogénétiques ont comparé l'ARN ribosomal de *Neospora caninum* qui a révélé un très haut degré d'homologie avec *Toxoplasma gondii*. Cependant, plusieurs études ont permis de définitivement les séparer en deux groupes distincts en s'appuyant sur des différences à la fois biologiques, morphologiques, moléculaires et antigéniques [47];[48]. La première différence observée concerne les rhoptries des tachyzoïtes des deux parasites, qui diffèrent de par leur localisation et par leur densité [49;50]. Cela a été confirmé quelques années après par l'étude comparative d'ultrastructure des deux parasites [51]. Il a été également mis en évidence que les trois antigènes dominants de *T. gondii* (B1, B22 et B30) n'avaient jamais été retrouvés chez *N. caninum* [52]. Par la suite il y a eu développement d'un test de réaction en chaîne par polymérase (PCR) [53]. Par ailleurs *Neospora hughesi* un autre parasite très peu différent génétiquement, a été mis en évidence chez l'espèce équine en 1996. [54];[55].

D'autres espèces ont été identifiées et comparées à *N. caninum* et *T. gondii* tel que *Hammondia heydorni* (*H. heydorni*) et leur classification a été remise en question de par leurs oocystes très ressemblants [56]. Ainsi il n'était plus question que de deux espèces : *T. gondii* et *H. heydorni*. Cette classification a été remise en question par Dubey et ses collaborateurs qui préfèrent regrouper ces différentes espèces en trois groupes distincts : le premier regroupant *T. gondii* et *H. hammondi*, le deuxième regroupant *N. caninum* et *N. hughesi* (présent chez le cheval) et *H. heydorni* seule dans le troisième groupe [57].

2.3. Structure et biologie

2.3.1. 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.

a. Tachyzoïtes

Les tachyzoïtes sont capables d'infecter différentes catégories de leucocytes chez HI (hôte intermédiaire), y compris les cellules mononuclées qui aident probablement à la dissémination du parasite [58;59]. Ils se multiplient massivement par endodyogénie et on peut en dénombrer jusqu'à une centaine par dans une cellule [60]. Lors de l'observation par microscopie électronique, les tachyzoïtes sont visibles à différents stades de leur division [61], ce sont des structures ovoïdes, globulaires ou en croissant.

On les retrouve au sein d'une vacuole parasitophore qui est un compartiment intracellulaire de la membrane de la cellule hôte modifié et formé par le parasite qui empêchent sa fusion avec des vésicules intra cellulaire [61;59]. Cette vacuole parasitophore est fine et parfois invisible sur certaines préparations. Comme sur (Figure 2.2) une même cellule peut contenir plusieurs vacuoles, qui croissent à mesure des multiplications des tachyzoïtes, ce qui aboutit au final à une lyse cellulaire et à l'infestation de nouvelles cellules [62].

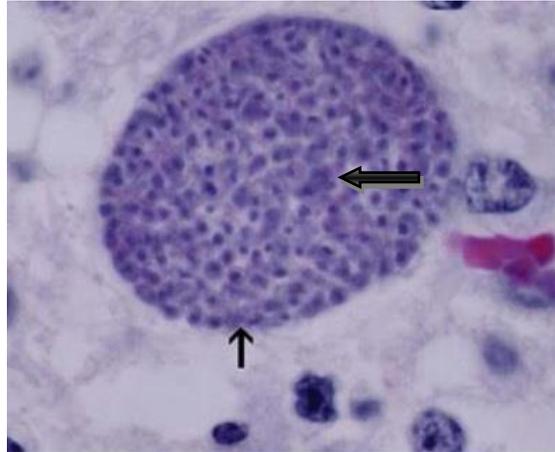


Figure 2.2 : Un amas de Tachyzoïtes de *Neospora caninum* dans une vacuole parasitophore (observés au microscope optique (x 600), coloration HE [63].

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 [63];[57]. Pendant la phase aiguë de l'infection, les tachyzoïtes se multiplient dans le milieu intra cellulaire infectant et détruisant pratiquement toutes les cellules des tissus de l'hôte infecté et leur libération dans cellules environnantes, provoquant des symptômes clinique, et des lésions [64].

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 [51]. De plus ils sont constitués d'un noyau et de son nucléole, de centrioles, de ribosomes, de granules denses 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 [51]. Une des particularités des tachyzoïtes de *Neospora caninum* est l'absence ou le faible nombre de micropores [51]. La figure (2.3) montre les principaux constituants du tachyzoïte de *Neospora caninum*.

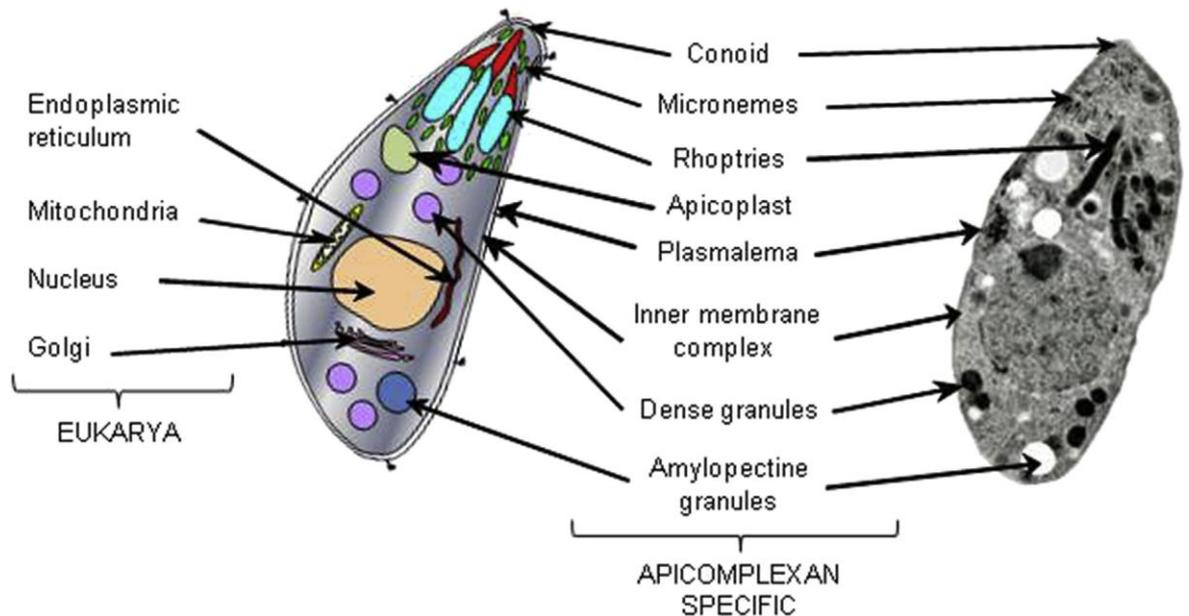


Figure 2.3: Principales structures et organites de Tachyzoïtes de *N caninum* [65].

b. Bradyzoïtes

Les bradyzoïtes constituent la forme quiescente de *Neospora caninum*. Ils se divisent lentement par endodyogénie [66], ils ont un aspect incurvé, avec un noyau proche de l'extrémité postérieure. Mesurant de 6 à 8 μm sur 1 à 1,8 μm , 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 plasmaleme 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 certains postérieurement au noyau, ils ne sont pas répartis selon un schéma particulier [67]. Le noyau se trouve souvent à une extrémité du bradyzoïte [63]. Les rhoptries se répartissent sur toute la longueur du parasite, leur nombre moyen varie selon les études (pas plus de 3 par parasite) [67], alors qu'une moyenne de 6 à 12 rhoptries était souvent observée dans les études antérieures [68;69]. 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 [67].

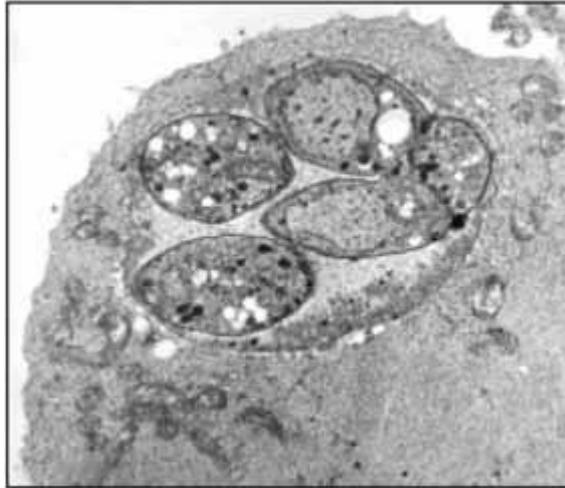


Figure 2.4 : bradyzoïtes enfermés dans un kyste tissulaire [70]

Les bradyzoïtes sont regroupés dans des kystes tissulaires (figure 2.4) retrouvés dans le système nerveux central : cerveau, rétine et moelle épinière [71], 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 μm , ils ont été observés sur des coupes de cerveau de caniche [72]. 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 μm , en fonction du nombre de bradyzoïtes contenus dans le kyste [67]. Un kyste contient plusieurs dizaines (50 à 200) de bradyzoïtes [51], il existe des vésicules tubulaires entre les bradyzoïtes d'un même kyste [51]. Les kystes tissulaires sont peu nombreux chez les animaux infectés naturellement [51]. La figure (2.4) montre un kyste à bradyzoïtes, identifié histologiquement dans la moelle épinière d'un veau nouveau-né, infecté naturellement [12].

Chez un hôte immunisé, les tachyzoïtes se multiplient à environ 20 divisions avant qu'ils ne se différencient en bradyzoïtes, la phase latente du parasite qui se forme sous la pression immunitaire de l'hôte et produit un Kyste tissulaire [46]. Les kystes tissulaires abritent les bradyzoïtes, des facteurs immunologiques de l'hôte Et facilite à long terme la persistance du parasite avec des symptômes chronique et des Infections asymptomatiques [67] ; [64] ; [73]. La recrudescence de l'infection peut se transformer avec le changement de l'état immunitaire de l'hôte (immunomodulation ou immunosuppression) cela peut

entraîner une réactivation des bradyzoïtes et une conversion en tachyzoïtes [67]. Cela a été bien prouvé chez les animaux gestants et permettant la dissémination de tachyzoïtes à d'autres tissus, y compris la contamination par le placenta et l'infection du fœtus nouveau-né [74]. Les formes asexuées c'est les formes infectantes et pathogènes du protozoaire chez l'hôte intermédiaire.

c. Les oocystes

Les oocystes de *N. caninum* sont issus d'une multiplication sexuée dans les cellules épithéliales intestinales de l'hôte définitif [75] qui donne lieu à des sporozoïtes (schizogonie, gamétogonie et formation de zygotes), expulsé dans les excréments sous une forme non sporulé (non infectieuse), les oocystes non sporulés subissent ensuite une sporogonie pour devenir infectieux [75]. Ils sont de forme sphérique à elliptique et mesurent 10 à 12 μm , leur paroi est lisse, non colorée et mesure 0,6 à 0,8 μm d'épaisseur. Avant la sporulation, ils contiennent seulement un sporonte central. Dans le milieu extérieur les oocystes sont sous une forme résistante et subissent une sporulation dans les 24 à 72 heures et développent deux sporocystes (figure 2.5), dont chacun contient quatre sporozoïtes qui les rendent infectant par voie orale [62] [64] ; [76]. L'infection de HI peut se produire lorsque des oocystes sporulés sont ingérés. Dans le tube digestif, les sporozoïtes sont libérés par germination et parasitent les intestins, où ils se transforment en tachyzoïtes [67].

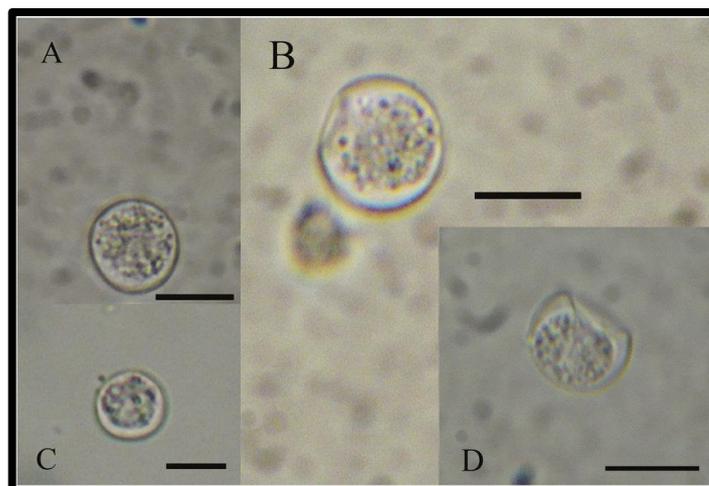


Figure. 2.5. Oocyste *Néospora caninum* dans les intestins d'un chien 8 ans. (a, b, d, x 400);(c, x 250). Barre d'échelle 10 μm [77].

2.3.2. Cycle biologique

Le Cycle de *N. caninum* est un cycle domestique et sauvage il est hétérogène et implique le chien comme hôte définitif dans lequel la multiplication sexuée se produit et plusieurs hôtes intermédiaires dans lesquels la multiplication asexuée a lieu [61] ; [62] ; [64] ; [73]. A ce jour le seul hôte définitif confirmé de *N. caninum* sont des canidés y compris les chiens domestiques et sauvages (*Canis familiaris*) [78], les coyotes (*Canis latrans*) [79], les loups gris (*Canis lupus lupus*) [80] et dingoes (*Canis lupus Dingo*) [81] peuvent d'excréter des oocystes qui sporulent dans le milieu extérieur [82].

Plusieurs hôtes intermédiaires sont décrits mais le principal est le bovin [83], il a été supposé que *N. caninum* pouvait infecter tous les mammifères en tant qu'hôte intermédiaire. Ainsi, il a été démontré que les poules pouvaient également être hôtes intermédiaires [84] de même que les moineaux [85].

Le chien qui est hôte définitif (HD) élimine dans ses fèces des oocystes non sporulés, qui dans le milieu extérieurs vont sporulées et infecter l'hôte intermédiaire (HI) par voie orale (figure 2.6.) *N. caninum* persiste dans le cerveau et le système nerveux central des bovins et un certain nombre d'autres hôtes intermédiaires, comme les ovins, les caprins les cerfs et les buffles d'eau. Au cours de la gestation, le parasite peut se transmettre au fœtus par voie trans-placentaire et peut entraîner généralement, un avortement au cours du premier trimestre de la gestation. La voie trans-placentaire est la voie de transmission la plus importante, mais des études ont prouvées que le maintien de l'infection dans un troupeau nécessite aussi une infection post-natale qui se transmet à l'hôte définitif par l'intermédiaire de fluides ou de tissus adultes (placentas) ou fœtaux (avortons).

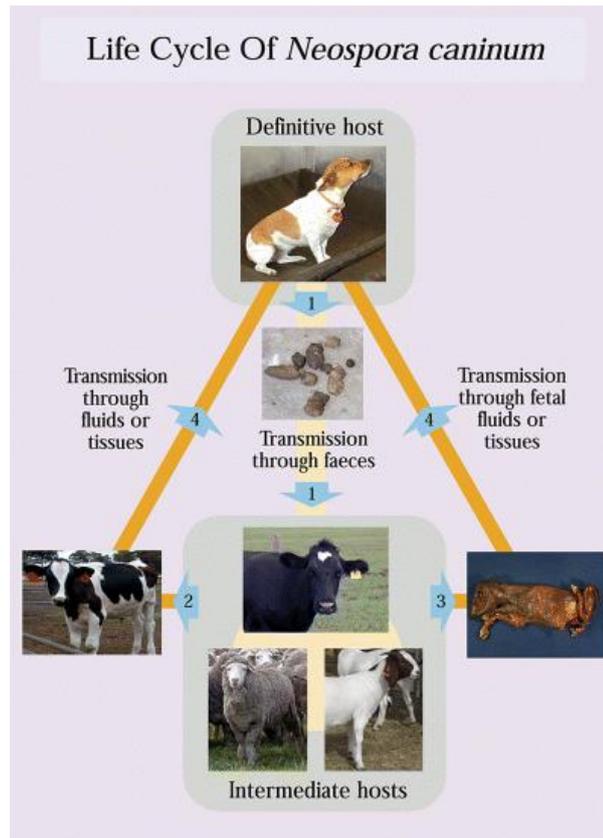


Figure 2.6 : Cycle évolutif de *N.caninum* [76]

2.3.3. Epidémiologie de la néosporose

2.3.3.1. Modes de transmission de *N. caninum*

A l'heure actuelle, les connaissances épidémiologiques de la néosporose ovine, et particulièrement son mode de transmission, sont limitées [86]. Effet sur l'ensemble des études menées, après infection expérimentale des brebis, le taux de transmission de *N. caninum* à la descendance serait supérieur à 90%, ce qui se rapproche du taux de transmission rencontré chez l'espèce bovine [87]. Deux voies de contamination sont possibles (figure 2.7).

2.3.3.1.1. Transmission horizontale

La description du cycle débutera par Le chien étant l'hôte définitif. Ce dernier se contamine en se nourrissant de membranes fœtales issues des hôtes intermédiaires (ovins, bovins) qui contiennent des kystes à bradyzoïtes qui vont

atteindre l'intestin grêle, lieu d'infestation des cellules épithéliales. On suppose un passage par des stades de schizogonie et de gamétogonie. A la suite de cette infestation, le chien va excréter dans les fèces des oocystes durant cinq à treize jours suivant l'infection, et possiblement jusqu'à 27 jours. Les oocystes vont sporuler 24 à 72 heures après l'excrétion et seront alors infectants pour les hôtes intermédiaires [76] (figure 2.6).

Par analogie avec les bovins, les ovins peuvent s'infecter de manière naturelle par leurs fèces en ingérant des oocystes, ce qui laisse à penser qu'une transmission horizontale est possible chez cette espèce [88].

2.3.3.1.2. Transmission verticale

C'est le mode de transmission le plus important, où la femelle subit une primo-infection au cours de sa gestation, ou encore présenter une réactivation de son infection latente si elle est infectée permanente. Diverses expérimentations ont confirmé la possibilité d'une transmission verticale. *Neospora caninum* a ainsi été identifié chez des brebis et leur fœtus [42] ;[44], [89];[88];[90];[91];[92];[93]. La transmission verticale du parasite peut conduire à diverses situations : avortement, naissance d'un agneau atteint de néosporose ou naissance d'un agneau cliniquement sain. De manière expérimentale, il semble que l'infection soit très facilement transmissible à la descendance.

Lors de l'expérimentation, le parasite a provoqué l'avortement de deux brebis inoculées [41]. Dans une autre étude de McAllister (1996), 36 brebis ont été inoculées à des stades de gestations différentes et des lésions compatibles avec la multiplication de *Neospora caninum* ont été retrouvées pour 90% des agneaux et le parasite avait été observé pour 38% des avortons, 25% des agneaux atteints de néosporose à la naissance et pour 39% des agneaux cliniquement sains [94].

a. Transmission verticale exogène

La transmission verticale exogène se produit après une infection primaire horizontale, c'est-à-dire que les oocystes sont ingérés par des femelles gestantes ce qui va provoquer une vague d'épidémie d'avortements. Cette transmission survient principalement après l'ingestion de fœtus ou de tissus placentaires

infectés par des kystes tissulaires. Les infections à *Neospora caninum* ont également été détectées chez des animaux sauvages, mettant en évidence la capacité du parasite à circuler entre animaux domestiques et sauvages.

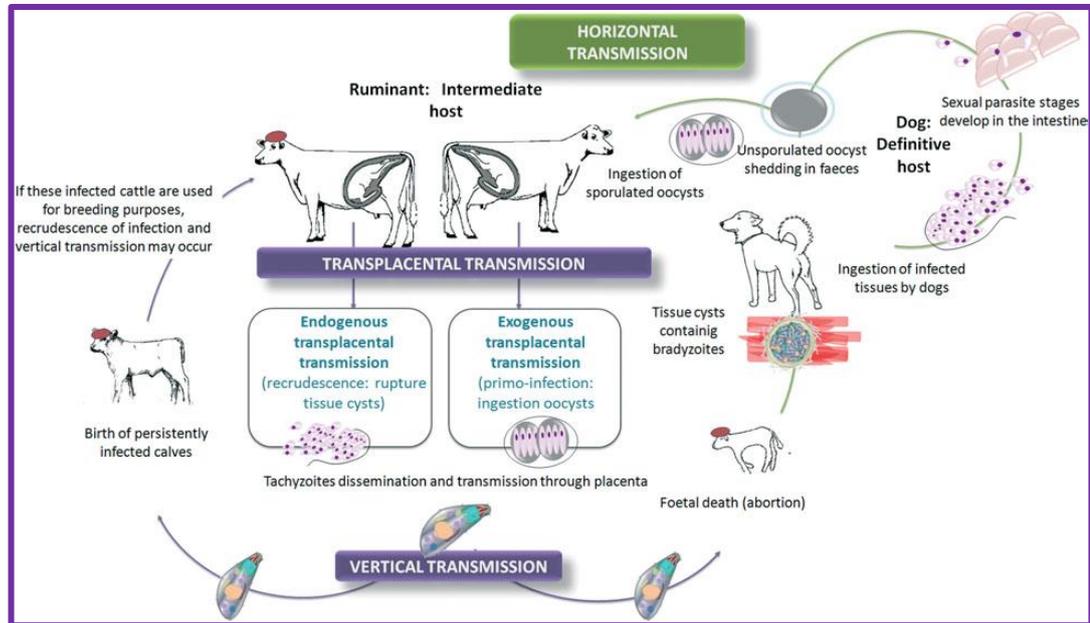


Figure 2.7 : Voie de Transmission de *Neospora caninum*. [95]

De nombreuses études ont montré que la transmission exogène expérimentale est possible chez les ovins. En effet, l'inoculation du parasite à des brebis gestantes entraîne des lésions placentaires et fœtales dans lesquelles le parasite est retrouvé. Par analogie avec les bovins et comme les chiens sont très souvent présents dans les exploitations ovines, les brebis se contaminent naturellement via les fèces de chien au cours de la gestation [88].

b. Transmission verticale endogène

La transmission endogène est causée par la réactivation de kystes tissulaires chez un animal précédemment infecté (de manière persistante) et elle est associée à un schéma endémique de l'échec de la reproduction et le maintien de l'infection dans le troupeau.

Une étude datant de 1999 menée par Jolley et collaborateurs a confirmé la possibilité d'une transmission verticale répétée du parasite chez la brebis au cours de gestations successives en l'absence d'une nouvelle infection, avec des lésions

typiques de néosporose retrouvées chez tous les agneaux et chez tous les avortons qui n'étaient pas autolyse [96] .

D'un point de vue sérologique, les brebis infectées dans la première année avaient gardé un taux d'anticorps élevé dans la deuxième année. De plus, entre 95 et 110 jours de gestation, les taux d'anticorps anti *N. caninum* ont augmenté pour toutes les brebis, ce qui est compatible avec une recrudescence du parasite au cours de la gestation, comme pour l'espèce bovine. Cette étude suggère donc qu'une transmission verticale endogène est possible chez des brebis dont la primo-infection a eu lieu à l'âge adulte. Mais les effectifs impliqués de cette étude sont faibles, et l'inoculation de fortes quantités de tachyzoïtes par voie intraveineuse ne mime pas les conditions naturelles de contamination, les résultats sont donc à interpréter avec précaution.

2.3.3.1.3. Transmission vénérienne

Les voies de contamination naturelles des brebis étant encore incomprises, une étude expérimentale menée en 2013 par Syed-Hussain et ses collaborateurs s'est intéressée au rôle du sperme de béliers contaminé dans la transmission horizontale [86].

Après inoculation intraveineuse de 50 à 107 tachyzoïtes à trois groupes de huit béliers testés sains et issus de fermes sans antécédents de problèmes de reproduction, la semence de ces derniers a été collectée une fois par semaine jusqu'à huit semaines post-inoculation. Une analyse sérologique (ELISA) a aussi été réalisée à un mois post-inoculation. Tous les béliers inoculés étaient séropositifs un mois post-inoculation, la réponse en anticorps étant proportionnelle à la dose infectante. Le groupe témoin était toujours séronégatif.

Le sperme a été analysé par PCR en temps réel, et l'ADN de *Neospora caninum* a été retrouvé de façon intermittente dès la première semaine et pendant quatre semaines pour le groupe ayant reçu la plus forte dose. L'accouplement de ces béliers avec des brebis saines (ayant déjà eu des agneaux) pendant les semaines d'émission d'ADN parasitaire (80% des brebis se sont accouplées lors de leur premier cycle œstral en présence des béliers) n'a entraîné aucune séroconversion chez les brebis et toutes ont agnelé normalement.

Si l'ADN parasite était viable, chaque brebis a reçu lors de son accouplement plus de 5000 tachyzoïtes via la semence. Les résultats de cette expérimentation ont suggéré donc que la transmission de la néosporose via les semences de béliers est négligeable.

2.3.3.1.4. Contamination des aliments

D'une part, l'eau ou les aliments contaminés par des oocystes sporulés de chien sont les matières virulentes les plus probablement à l'origine de la contamination des hôtes intermédiaires. Le chien émet environ dix oocystes par gramme de matières fécales, et quelques centaines d'oocystes viables seraient suffisants pour déclencher un avortement [87]. D'autre part, l'ingestion de tissus contaminés par des kystes et de produits de la parturition contaminés (placenta, lochies, avortons) sont les voies d'infection les plus courantes pour l'espèce canine, bien avant la transmission oro-fécale [73].

2.3.3.2. Résistance du parasite

2.3.3.2.1. Les Oocystes dans le milieu extérieur

Les oocystes sont excrétés dans les excréments de chiens, une fois dans le milieu extérieur et en fonction de la température et de l'humidité ils subissent une sporulation dans les 24 à 72 heures [97]. Les oocystes jouent un rôle important dans le maintien de la maladie mais, il n'a été observé qu'un petit nombre de fois dans les fèces de chiens [98];[99] [100].

Par similitude aux autres coccidies, les oocystes de *N caninum* sont résistants à l'environnement, [73]. Il n'y a pas eu beaucoup d'études sur la viabilité et la résistance des oocystes de *N caninum*. Il a été démontré que les oocystes étaient inactivés lorsqu'ils sont soumis à des températures élevées à 100°C [101];[102].

Il y a beaucoup de variations dans les rapports sur le nombre total d'oocystes excrétés et la période d'élimination. Des études expérimentales ont montré que les chiens excrétaient les oocystes sur une période allant de 5 à 30 jours avec un nombre total réduit. [64]. Il a également été mentionné que les oocystes ont été excrétés plus par des chiots que les chiens adultes et les chiens

immunodéprimés contenaient plus d'oocystes que les chiens immunocompétent [97]. Les chiens qui ont été nourris avec des tissus bovins infectés ont également excrété plus d'oocystes par rapport à ceux nourris avec des tissus murins infectés [103];[104]. La période prépatente est de 5 à 9 jours et la période patente de 11 à 20 jours. L'excrétion varie de quelques oocystes à 100 000 par gramme de fèces [105].

2.3.3.2. Les kystes tissulaires

Les kystes tissulaires de *N. caninum* peuvent survivre jusqu'à 14 jours à une température de 4°C, mais ne sont plus infectieux après une incubation de 24 heures à -20°C [74]. Les bradyzoïtes dans les kystes tissulaires sont résistants à une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine [106]. Ils peuvent persister pendant plusieurs années chez un hôte infecté sans observation des manifestations cliniques et le passage pendant 8 ans de tachyzoïtes sur des cultures cellulaires n'a pas diminué leur pouvoir infectieux chez la souris [106].

2.3.3.3. Prévalence de *N caninum* chez les ovins dans le monde

Néospora caninum a été décrit pour la première fois chez un agneau congénitalement infecté en Angleterre [38]. Pour comprendre l'épidémiologie de *Neospora caninum*, il est important de connaître la portée de l'agent et sa répartition géographique [64]. Des études sérologiques ont révélé une grande variabilité de la séroprévalence à travers le monde selon le pays et la région. Ces variations peuvent se produire en raison de l'exposition aux différents facteurs de risque existant dans chaque région.

Plusieurs études sur la néosporose chez les ovins dans le monde ont rapporté une très grande variabilité dans les chiffres selon la méthode de diagnostic et le seuil de détection. En Australie, la prévalence obtenue chez les ovins Par la méthode ELISA varie de 0% à 2,2% dans cinq élevages [107]. A Galice, à l'extrême nord de l'Espagne une prévalence de 57% a été rapportée, tandis qu'au Nord-Ouest elle a été de 10,1% [108]. En Grèce sur 468 sérums ovins 16,8% étaient positifs [109]. En République tchèque dans une étude réalisée sur 547 sérums ont obtenu une prévalence de 12% [110]. Au Antilles dans l'île de la Grenade sur un total de 138 ovins une prévalence de 13% [111].

Au royaume uni Helmick et collaborateurs, dans un travail sur 660 brebis avortantes et avec antécédents d'infertilités en utilisant la technique d'IFAT ont trouvé un taux de 0,45% [112]. Au sud de la Jordanie 4,3% d'ovins positifs à *Néospora caninum* [113], tandis que au nord le taux a atteint 19% [90]. En Iran, dans un travail réalisé sur des brebis avortantes avec un taux de prévalence de 1,13% dans la région de l'ouest [114], et avec un taux de 1,70% chez des brebis sans antécédents d'avortements. Au nord-ouest il atteint 5,7% chez des brebis avortantes [115] et 2,2% chez des brebis sans problèmes d'avortements [116].

Une prévalence globale de 12,2% chez les brebis a été rapportée en Irak dans un travail réalisé dans six élevages ovin, dont 10,4% de brebis gestantes 18,8% brebis non gestantes et 7,3% avortantes [117]. D'autres travaux au Brésil utilisant le test d'immunofluorescence indirecte ont identifié une prévalence allant de 1,8% sur 409 ovins dans 35 élevages à Mossoró, dans la ville de Rio Grande do Norte [118] à 64,2% dans la région de Pernambuco [119]. En Argentine 3% d'ovins positif sur une étude réalisée dans six élevages [120] et 10,3% chez des brebis ayant des problèmes d'avortements [121].

Au nord de la Jordanie une brebis sur sept a été diagnostiquée positive dans des prélèvements de cerveau par la méthode PCR [90]. En Iran, une prévalence de 8,5% a été rapportée chez des brebis avortantes à partir de placenta [115] et 3,9% chez des brebis en bonne santé [122], chez les fœtus avorté il a été signalé une prévalence de 0,9.% [123]. D'autres auteurs rapportent un taux de 9,86% dans les cerveaux des fœtus avortés au nord de l'Iran [124].

En Italie l'ADN du parasite a été mis en évidence chez 2% des fœtus avortés [125]. Au Mexique il a été rapporté un taux de 27% chez les brebis et 5% chez les béliers [93] et 19% de cas positifs chez les brebis primipares et 31% chez les multipares [126]. En nouvelle Zélande How et collaborateurs ont mis en évidence le parasite dans le sang avec un taux de 13% et dans le cerveau des fœtus avortés avec un taux de 0,36% [127]. Le même auteur en 2012 a obtenu un pourcentage de 6,9 % chez des brebis avortantes et celles non gestantes [128]. Dans le même pays Reichel et al et Filho et al, ont obtenu respectivement une prévalence de 0,6% sur des sérums de béliers infectés expérimentalement [129] et 62,2% chez des animaux infectés naturellement après séroconversion [130].

2.3.3.4. Pathogénie

2.3.3.4.1. Pénétration et évolution du parasite au sein de l'organisme

Dans la pathogénèse de la néosporose les principaux facteurs sont liés à la multiplication rapide des tachyzoïtes et leur invasion dans les cellules à l'aide de récepteurs de surface et de protéines libérées, micronèmes, rhoptries et granules denses, ainsi que la capacité de l'hôte à monter une réponse immunitaire efficace pour inhiber la prolifération et la persistance des parasites. Les tachyzoïtes se multiplient dans les cellules par endodyogenie lors de la dégénérescence cellulaire, ainsi libérés, ils envahissent d'autres cellules de l'organisme.

Trois étapes se succèdent dans le processus d'invasion cellulaire. Une première étape concerne la reconnaissance et l'attachement du parasite à sa cellule hôte grâce à des récepteurs et des protéines libérées par les micronèmes, les rhoptries et les granules denses. La deuxième étape se rapporte à l'invasion active du parasite, et la troisième à son développement intracellulaire [131].

Neospora caninum va tout d'abord se fixer à la cellule, sans orientation particulière, par l'intermédiaire de ses antigènes de surface (*Neospora caninum* SAG-related sequence 2=2 NcSRS2). Puis sous l'effet d'un gradient de distribution des récepteurs ou d'une affinité plus importante, le parasite va se réorienter de manière à présenter son pôle apical contre la membrane cellulaire. Cette réorientation provoque l'invagination de la membrane plasmique par le conoïde. Diverses protéines sont alors sécrétées dans la vacuole parasitophore formée par la membrane plasmique de la cellule hôte. Par ailleurs, les micronèmes synthétisent des adhésines qui permettent au parasite de rester attaché à la membrane de l'hôte (figure 2.8), puis de rentrer progressivement dans la vacuole parasitophore [65].

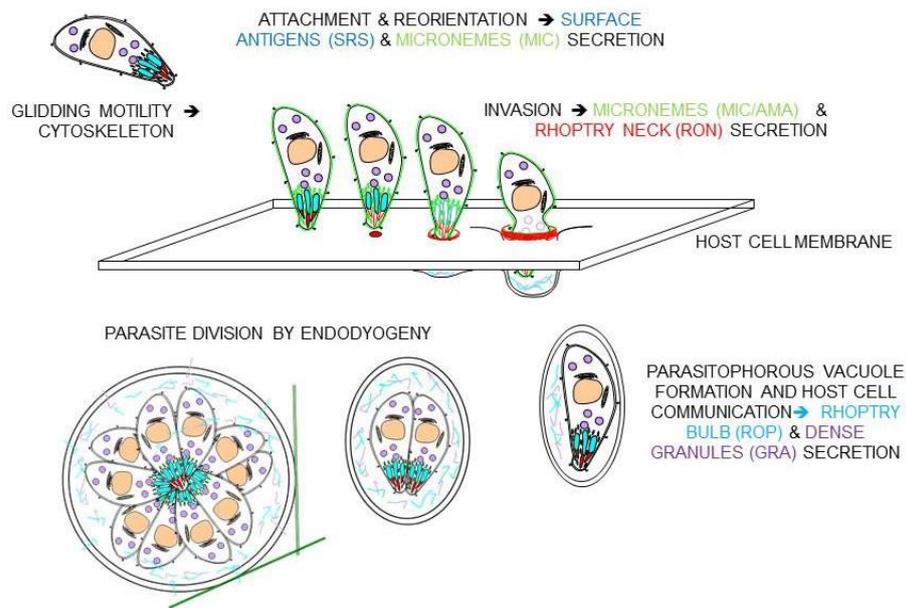


Figure 2.8: Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de *Neospora caninum* [65].

Les granules denses sont alors libérés dans la vacuole et participent à la formation d'une membrane interne. Cependant la vacuole parasitophore ne fusionne pas avec les lysosomes car les protéines transmembranaires de la cellule hôte en sont exclues. Ainsi le processus d'invasion par les Apicomplexa est différent d'un processus phagolytique [131]; [61].

Plus d'une douzaine de protéines et deux antigènes majeurs pour l'invasion cellulaire ont été identifiés chez *Neospora caninum*. Le rôle de peu d'entre eux a été clairement élucidé ; pour les autres, les recherches continuent par analogie avec *Toxoplasma gondii* [61]. Douze anticorps monoclonaux produits expérimentalement ont permis d'établir la présence d'un antigène de surface impliqué dans l'invasion cellulaire [132] alors que jusque-là, ce sont surtout des antigènes localisés à l'intérieur des granules denses, des micronèmes, de la partie postérieure des rhoptries et de la membrane de la vacuole parasitophore qui avaient été répertoriés [53]. Par ailleurs, une nouvelle protéine (NcPI-S) localisée aux granules denses et sécrétée dans la vacuole parasitophore a été mise en évidence [133].

2.3.3.5. Réponse immunitaire des ovins lors de la contamination à *Neospora caninum*

La localisation intracellulaire du parasite chez l'hôte suggère que le rôle de la réponse immunitaire à médiation cellulaire sera prépondérant dans la mise en place d'une immunité protectrice [134]. Une étude récemment faite a montré que l'issue d'une infection expérimentale chez des brebis gravides dépendait fortement du moment de l'infection pendant la gestation [135]. Les résultats de la réponse immunitaire périphérique ont montré une production précoce d'INF- γ pour toutes les brebis infectés au début de la gestation, qui a diminué à des taux non détectables à partir de la deuxième semaine post infection, coïncidant avec une augmentation progressive des niveaux spécifiques d'IgG. Ces résultats démontrent une nette prédominance des niveaux d'INF- γ pendant la réponse immunitaire innée [136]. La même cinétique décrit dans des rapports antérieurs effectués sur des bovins infectés par *Neospora*, où une augmentation précoce de production l'INF- γ , avec une prédominance notable sur l'IL-4, détectée lors de la stimulation des cellules mononucléaires sanguines (PBMC) entre le 5^{ème} jour et le 7^{ème} jour post infection [137],[138].

L'absence de détection de l'IL-4 périphérique peut s'expliquer par leurs faibles quantités présentes dans les sérums donc indétectables, et peut être due à des réponses différentes entre les ovins et les bovins. L'infection a été rapportée de manière similaire chez les deux espèces bovines et ovines [139];[138];[140]. les taux d'IgG augmentent dès la deuxième semaine post infection jusqu'à la mort fœtale qui se produit entre 19-21 jours post infection.

L'analyse des placentas de brebis infectées par *N. caninum* en début de gestation a démontré une très grande charge parasitaire, seulement avec des lésions légères, qui peut être attribuée au laps de temps court qui sépare l'infection de l'avortement [135]. De plus, l'analyse par la technique immunohistochimie a confirmé la présence d'une grande quantité de structures ressemblant à des tachyzoïtes, principalement sous forme de tachyzoïtes libres, et a montré que le parasite est principalement localisé dans la partie fœtale du placenta. De même, dans une étude récente réalisée chez les bovins infectés par le même isolat Nc-Espagne7, la charge parasitaire s'est révélée très importante au niveau des cotylédons [138]. Ce fait peut être en rapport avec le système

immunitaire du fœtus encore immature à ce stade, ce qui permet au parasite de franchir la barrière placentaire avant que la réponse immunitaire maternelle ne se mette en place et permettant ainsi sa multiplication dans les tissus fœtaux librement sans restriction [135]. Cela explique la faible quantité de cellules inflammatoires situées presque exclusivement dans la partie maternelle du placentome trouvée dans le groupe de brebis infectées en début de gestation. Il semble clair que la réponse immunitaire induite dans le placenta pourrait contrôler la multiplication du parasite dans la zone maternelle, mais pas dans la zone fœtale, comme le montre l'immunohistochimie. Au final, ces faits indiquent la multiplication incontrôlée du parasite dans les tissus fœtaux, et probablement les dommages occasionnés, comme une cause d'avortement chez les brebis infectés en début de la gestation [135].

En revanche, il a été décrit dans le placenta des vaches lors de l'infection au début de la gestation de sévères lésions et infiltrations diffuses des cellules inflammatoires [137];[141];[138];[142]. Le fait que très peu et seulement de légères lésions ont été observées au niveau du placenta des brebis contrairement au placenta des vaches, peut indiquer qu'en plus des lésions tissulaires fœtales retrouvées, il pourrait y avoir également un composant local à médiation immunitaire dans le placenta qui participe à la pathogénie de l'avortement chez les brebis.

L'IL-12 peut avoir un rôle moins important pour la réponse immune placentaire chez les ovins par rapport aux bovins, ou, très probablement, que son expression peut rapidement diminuer après un pic d'expression précoce juste après l'infection. De plus, les taux les plus élevés d'IFN- γ d'ARNm à l'interface materno-foetale ont été trouvés chez les brebis en début de gestation. Ce fait a déjà été signalé dans des études comparant des bovins infectés aux jours 70 et 210 de la gestation [143];[142].

Comme rapporté plus haut, les taux élevés d'expression des transcrits IFN- γ pourraient être dus à la forte charge parasitaire trouvée dans les placentas de brebis en début de gestation, qui stimule efficacement une réponse immunitaire biaisée Th1. De plus, la prolifération incontrôlée de tachyzoïtes dans la partie fœtale du placentome aurait pu être continuellement stimulée la réponse immunitaire dans la zone maternelle. D'autre part, l'expression de la cytokine régulatrice des transcriptions chez les brebis en début de gestation affichent un

comportement contrasté avec IL-10 régulé à la hausse et TGF- β régulé à la baisse. L'augmentation d'IL-10 a déjà été décrite dans les infections bovines, suggérant qu'il pourrait être sécrété en réponse aux niveaux élevés d'IFN- γ , et, dans une moindre mesure, les cytokines de type TNF- α Th1 [138];[143];[144] ; [145]. De manière similaire, la relation entre la charge parasitaire et la production de l'IL-10 dans le placenta a été retrouvée dans le modèle de souris gestante, comme moyen de régulation de la réponse immune Th1 [146]. En revanche, TGF- β est considérée comme une cytokine de signature pour l'activité des lymphocytes T régulateurs, agissant comme un inhibiteur de croissance [147] Donc, cette régulation négative peut être la conséquence de faibles fonctions suppressives des T régulatrices à l'interface materno-fœtale, ce qui peut potentiellement faciliter l'équilibre biaisé d'IFN- γ , réponses Th1 / Th2 avec des effets néfastes sur la gestation [148];[149].

L'infection en milieu de gestation présente une cinétique dans les réponses immunitaires périphériques similaire à celle en début de gestation. Les taux d'anticorps IgG spécifiques de *N. caninum* sont maintenus élevés jusqu'à la mort fœtale qui se produit entre 34 et 48 jours post infection. Néanmoins, la production d'IFN- γ montre des taux bas en comparaison avec des brebis en début de gestation indiquant une stimulation plus faible de la réponse immunitaire initiale chez les brebis en milieu de gestation. Ce fait pourrait avoir conduit à un contrôle initial de la parasitémie au niveau périphérique, permettant à un grand nombre de parasites de franchir le placenta [148];[150]. Ceci peut avoir entraîné une stimulation initiale plus élevée de la réponse immunitaire à l'interface materno-fœtale par une tentative de contrôler la dissémination des parasites chez le fœtus.

Cette présence de lésions sévères associée à une plus faible charge parasitaire trouvées en milieu de gestation indique une réponse inflammatoire (lymphocytes T) développée dans les placentas pour contrôler efficacement la prolifération des tachyzoïtes. Cela s'explique par l'intervalle plus long entre l'infection et l'avortement, mais ce contrôle endommage aussi les tissus placentaires. De plus, le développement du système immunitaire fœtal à ce stade pourrait également avoir aidé la réponse immunitaire maternelle à contrôler partiellement la transmission transplacentaire, mais pas à un degré protecteur.

Ceci est en corrélation avec la charge parasitaire et lésions trouvées dans les organes fœtaux de ce groupe [135].

Chez les brebis infectées à la moitié de la gestation, la mort fœtale est probablement une conséquence des lésions sévères provoquées dans le placenta, avec la prédominance de CD8+ sur les cellules CD4+. Contrairement aux bovins, la prédominance des CD4+ ont un rôle protecteur contre la néosporose [151].

La raison du nombre élevé de cellules CD8+ chez les moutons n'est pas claire. Il a été constaté que les cellules CD8+ pouvaient prédominer sur CD4+ en tant que répondeurs précoces à *N. caninum* 48h post infection [152]. Le profil des cytokines observé dans les placentas de brebis infectées en milieu de gestation s'est révélé très similaire à celle de de brebis infectées en début de gestation, mais dans l'ensemble moins intense et avec la régulation à la hausse de l'IL-6, peut être une conséquence du control partiel du parasite réalisé à l'interface materno-fœtale.

Lors de l'infection en fin de gestation, la réponse IgG chez les brebis est moins prononcée par rapport en début et mi gestation. Ces différences peuvent suggérer qu'à la fin de la gestation il y'a une régulation différente de la réponse immunitaire induite contre le parasite, attribué au système immunitaire fœtal mature et au stade gestationnel avancé.

D'autre part, la charge parasitaire et les lésions trouvées dans le placenta des brebis en fin de gestation est plus faibles et moins fréquentes, similaires à celles observées chez les brebis en mi gestation [135] et s'explique par la grande capacité du fœtus à contrôler le parasite à ce stade, mais aussi pour le court laps de temps entre l'infection et la mise bas.

En conclusion, si l'avortement en début de gestation peut être principalement causé par la multiplication incontrôlée du parasite chez le fœtus, l'avortement en milieu de gestation est plus susceptible d'être déclenché par les lésions développées dans le placenta. Le fait qu'aucun avortement ne se produit en fin de gestation peut être dû au court laps de temps entre l'infection et la naissance d'un nouveau-né et à la maturité du système immunitaire fœtal. De plus, des anticorps très similaire, des profils de cytokines et de population cellulaires ont été décrits chez les bovins. Cependant, un certain nombre de différences entre les ovins et les bovins sont évidentes, tels que la sécrétion d'IL-

12 beaucoup plus faible et l'équilibre inversé du rapport de population CD4+/CD8+ dans les placentas des brebis.

Le maintien de la gestation est fortement influencé par le stade de la gestation, la maturité du fœtus et le développement d'une immunité protectrice suite à une infection naturelle par le parasite est essentielle pour explorer la faisabilité de la vaccination en tant que stratégie de lutte contre la néosporose [153].

2.3.3.6. Etude clinique et lutte contre la néosporose

2.3.3.6.1. Manifestations cliniques et lésionnelles

a. Chez les ovins

- **Manifestations cliniques**

Les manifestations cliniques de la néosporose varient d'une espèce à une autre. Nous étudierons ici les manifestations cliniques et lésionnelles chez les ovins, et les chiens.

À l'instar des vaches infectées, la seule manifestation clinique de la néosporose chez la brebis est souvent l'avortement [94]. Bien que cela ne soit pas la seule issue d'une transmission verticale du parasite au fœtus.

Après une réexamenation par Dubey et collaborateurs [38] d'un agneau âgé d'une semaine suspecté de toxoplasmose par Hartley et Bridge [154]. Les signes cliniques étaient : une incapacité à se lever dès la naissance, avec des mouvements cloniques des membres antérieurs. 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 et confirmé par analyse immunohistochimie et par microscopie électronique [38].

D'autres signes observés chez une brebis adulte décédée suite à une métrite et sur ses fœtus jumeaux [42] avec des kystes tissulaires, une gliose focale, des manchons péri vasculaires de cellules mononuclées au niveau du cerveau de la brebis, et présence de nodules gliales et des manchons péri vasculaires avec des cellules mononuclées dans les cerveaux des fœtus jumeaux.

Dans la majorité des études, l'ADN de *N. caninum* a été détecté dans des échantillons de cerveaux de brebis avortantes ou naturellement infectés

[41];[155];[107];[115];[123], dans le sperme de béliers séropositif infectés expérimentalement [156], dans le sang [157], également dans le cœur, qui selon Arbabi est plus sensible à l'infection à *N caninum* par rapport au cerveau chez les l'espèce ovine [158].

- **Lésions**

A l'Autopsie, une encéphalomyélite a été observé chez des nouveaux nés infectés congénitalement qui ont subis une nécropsie peu après la naissance Bien que les signes cliniques soient rarement observés [159];[160];[161].

Une inflammation lymphoïde légère a été constatée Dans les échantillons de poumons obtenus à partir de fœtus avortés [162]. Présence d'un épaissement septal inter lobulaire mésenchymateux, Présence de proliférations cellulaires, Présence d'œdèmes (Figure 2.9.A), présence des structures sous forme de kystes tissulaires avec épaissements des vaisseaux sanguins et une hyperplasie de l'épithélium bronchique, dépôt de collagène avec congestion et dilatation capillaire (figure 2.9 B).

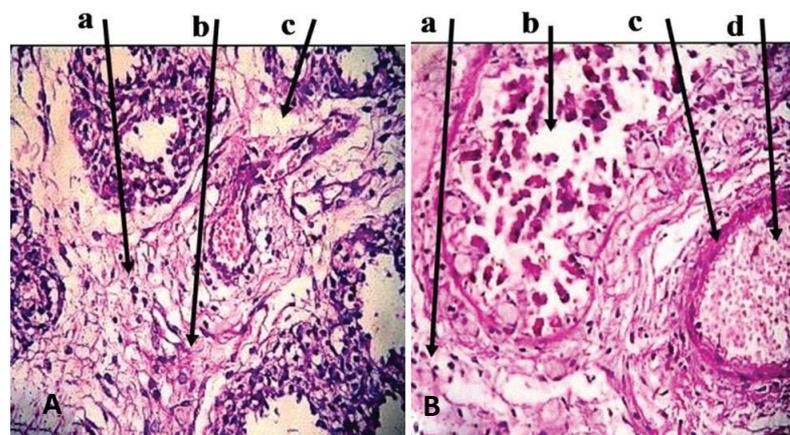


Figure 2.9: résultats histopathologiques des échantillons de tissu pulmonaire [163].

Echantillons (A):(a) Épaississement des parois intra valvulaires. (b) Prolifération des cellules mésenchymateuses. (c) Œdème. (B):(a) Nécrose profonde de la paroi épithéliale bronchique. (b) kyste tissulaire. (c) épaissement des vaisseaux sanguins (d) Congestion et dilatation capillaire.

Dans le myocarde, il a été observé un foyer de nécrose avec une inflammation lymphoïde légère associée à une minéralisation [162]. Présence d'un dépôt de fibres et de graisses et une légère infiltration de cellules mononuclées (CMN), stéatose, kyste tissulaire et fibres nécrotiques (figures 2.10 A et B).

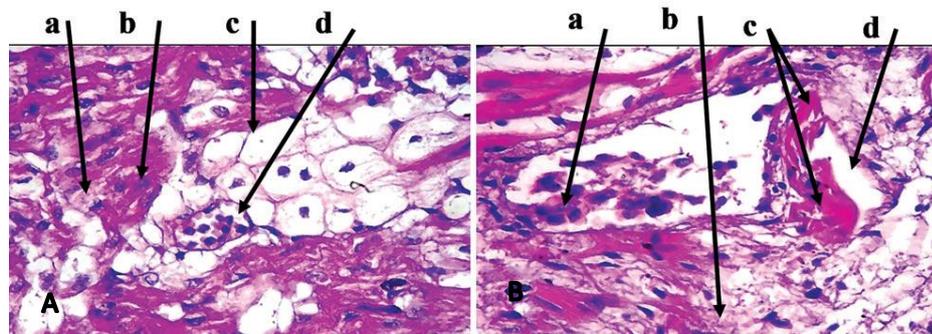


Figure 2.10 : résultats histopathologies d'échantillons de tissus cardiaques(x40)
Coloration HE [163].

Echantillon (A):(a) Dépôt de fibres. (b) Infiltration des cellules mononuclés .(c) Stéatose. (d) kyste tissulaire. Echantillon(B):(a) Infiltration des cellules mononuclés (b) Dépôt fibreux de la zone d'infarctus. (c) nécrose des Fibres musculaires. d) Zone nécrotique.

Au niveau du placenta des lésions nécrotiques sont multiples avec une accumulation de débris et de kystiques tissulaires, un épaissement dans la plaque chorionique et une minéralisation dans les foyers nécrotiques (figure 2.11.A). De plus, une agrégation de cellules nucléaires polymorphes multifocales et une nécrose des villosités placentaires (figure 2.11.B) [163]. Une infiltration de cellules mononuclés et des kystiques irréguliers (Figure 2.11 (C)). Des zones de décoloration focales dans les cotylédons placentaires peuvent également être trouvées [164].

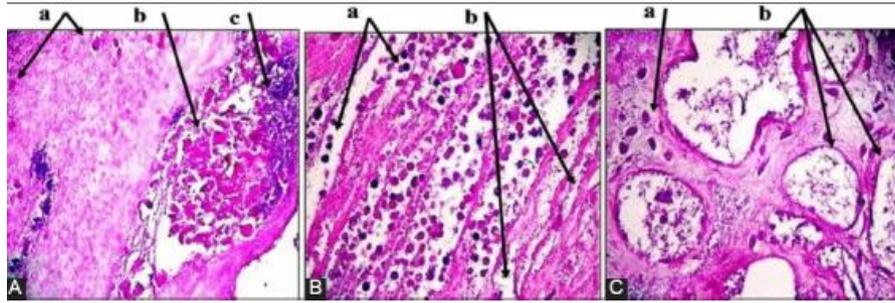


Figure 2.11: Résultats histopathologiques des tissus placentaires et fœtaux des fœtus Avortés chez les brebis (coloration HE, 40)[163].

Echantillon (A):(a) Plaque chorionique épaissie. (b) Minéralisation dans les foyers nécrotiques. (c) Débris tissulaires et structure ressemblant à un kyste. Echantillon (B):(a) Agrégation de cellules nucléaires polymorphes multifocales.(b) structure kystique irrégulière.

Au niveau du cerveau on note un élargissement des espaces péri vasculaires, une sévère vacuolisation au niveau des neurones, une microgliose et une congestion des vaisseaux sanguins (Figure 2.12 : A). Des cellules microgliales et des neurones morts (figure 2.12 : B). En plus de vacuoles intracellulaires importantes avec zones nécrotiques, une légère prolifération de la microglie, une démyélinisation et un œdème (figure 2.12 : C) ainsi que l'irrégularité de la cavité kystique et la prolifération des astrocytes et les débris cellulaires (figure 2.12 : D). [163].

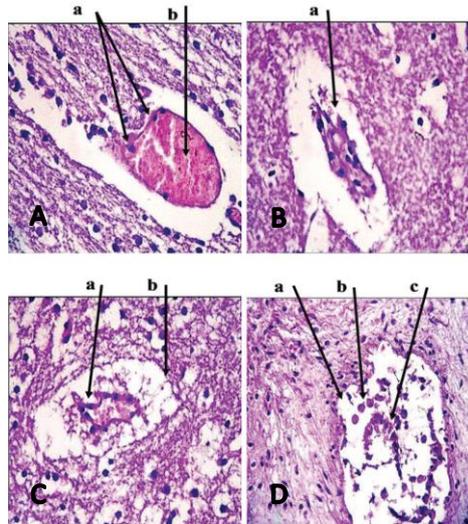


Figure 2.12 : histopathologie du cerveau chez les brebis avortantes coloration HE x 40 [163].

Au niveau du Foie, une nécrose hépatique focale a été observée [162];[163], des kystes tissulaires, une atrophie sévère (Figure 2.13 : A). une vacuolisation des hépatocytes (figure 2.13 :B).infiltration des cellules mononuclés, en particulier dans les sinusoides, présence des cellules géantes multi nucléés ,une fibrose portale avec prolifération du tissu conjonctif fibreux (figure 2.13:C),une mégacaryocytose et une destruction sévère du parenchyme hépatique (Figure 2.13 :D)[163].

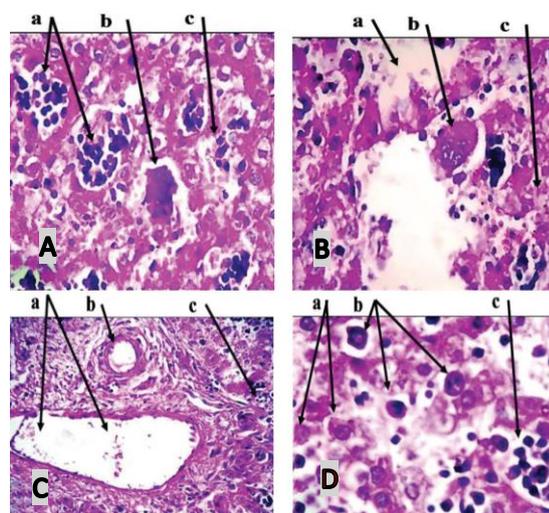


Figure 2.13: coupes histologiques d'échantillons de tissus Hépatiquesx40 coloration HE [163].

Echantillon tissulaire (A):(a) forme ressemblant à un kyste tissulaire.(b) corps étranger à cellules géantes.(c) infiltration des cellules mononuclés
 .Echantillon(B):(a) Vacuolisation et hyalinisation des hépatocytes.
 (b)Mégacaryocyte. (c)nécrose du Parenchyme. Echantillon(C): (a) Agrégation des cellules mononuclés dans sinusoïde. (b) prolifération fibreuse du tissu conjonctif. (c) forme ressemblant à un kyste tissulaire. Echantillon (D): (a) importante lésion du parenchyme hépatique. (b) Mégacaryocyte. (c) formes de type kyste tissulaire.

b. Chez le chien

- **Manifestations cliniques**

La néosporose est généralement asymptomatique chez les chiens qui sont les hôtes intermédiaires et définitifs du parasite [78]. Il a été montré que les chiots étaient plus à risque que les adultes [165];[166];[58];[167].

L'infection à *Neospora caninum* a été détectée pour la première fois chez des chiots qui ont connu une paralysie et une mort précoce. L'affection neuromusculaire à progression rapide est l'un des symptômes que l'on observe chez les animaux atteints. Plus précisément, chez les jeunes animaux, le signe clinique fondamental est une paralysie évolutive avec des dommages plus importants aux pattes postérieures. Les cas les plus sévères sont ceux dus à la néosporose congénitale. Parfois, les chiots sont mort-nés. Sinon, les signes cliniques fondamentaux découlent d'une paralysie ascendante caractéristique :

- Parésie puis paralysie des membres postérieurs avec atrophie musculaire. Ceux-ci sont souvent tenus en hyperextension et l'animal présente alors la position dite du « phoque ». Celle-ci est sans doute due à une atteinte combinée des neurones moteurs et des muscles ce qui conduit à une contracture associée à de la fibrose progressive [168].
- Parésie des membres antérieurs
- Déficit des nerfs crâniens avec des symptômes tel qu'une difficulté à avaler ou une paralysie mandibulaire.

La mort du chiot résulte d'une paralysie évolutive et d'une méningo-encéphalite, voire même d'une défaillance cardiaque causée par une myocardite qui peut se développer entre deux jours et dix mois. La maladie peut évoluer de façon très rapide avec une mort survenant en quelques jours, ou, au contraire, s'installer dans la chronicité avec une aggravation des symptômes sur plusieurs semaines [169].

- Des difficultés de déglutition, une paralysie de la mâchoire, une flaccidité et une atrophie musculaire, une insuffisance cardiaque, une pneumonie ou une augmentation de la taille du foie ont également été observées chez les chiots ayant la néosporose du chien (*Neospora caninum*). Des dermatites peu fréquentes dues à un état d'immunosuppression généré par la maladie elle-même ont parfois été notées.

- **Lésions**

Les lésions siègent principalement dans le système nerveux central mais aussi dans le foie, les muscles et la peau. Ces lésions apparaissent en quelques jours et on observe de multiples foyers de nécrose et de minéralisation dans les muscles squelettiques (notamment dans le diaphragme et les membres postérieurs) ainsi que de sévères amyotrophies des muscles, notamment des membres postérieurs. Le foie est souvent hypertrophié. Les poumons peuvent être le siège d'une pneumonie [136]. Dans le tissu nerveux, on peut observer des lésions multifocales et non suppurées et il est possible de mettre en évidence des plages de nécrose dans les substances grises et blanches de l'encéphale [99].

Il a été récemment observé dans l'intestin grêle de nombreux schizontes de *N. caninum* dans l'épithélium intestinal et cela a été associé à une nécrose épithéliale, une desquamation, une atrophie villositaire et une nécrose des cryptes. Ces lésions intestinales étaient caractéristiques d'une entérite fibrino-hémorragique et la gravité de la nécrose épithéliale observée semble être liée au nombre de schizontes présent [75].

2.3.3.7. Présentation des différentes méthodes de diagnostic

N. caninum est un agent infectieux difficile à identifier chez les animaux ne présentant pas de signes cliniques, ces derniers peuvent héberger une infection latente et ne pas montrer de symptômes [58]. Les animaux infectés par *néospora caninum* présentent des fluctuations d'anticorps au cours d'une gestation qui peut être en dessous de la valeur du seuil utilisée [170];[171]. Toute fois un animal infecté ne présente pas une preuve que le parasite néospora est la cause de

l'avortement, de même que si l'ADN du parasite est détecté, cela ne signifie pas nécessairement que le parasite est l'agent causal de l'avortement [73]. Afin d'établir le lien de cause à effet entre *N. caninum* et l'avortement, l'utilisation d'une approche diagnostique globale est cruciale.

2.3.3.7.1. Diagnostic nécropsique

Les fœtus peuvent être morts in utero, résorbés, momifiés, autolysés ou mort nés. Des lésions macroscopiques peuvent être présentes dans plusieurs organes tels que le cœur, le placenta, ou encore dans les liquides ou le sérum mais le cerveau du fœtus reste l'organe le plus souvent infecté ce qui en fait un échantillon de choix [58]. En rapport avec la présence d'avortements, une proportion marquée de fœtus momifiés peut être évocatrice d'une infection par *N. caninum* [172]. De minuscules foyers de nécrose observés dans le cerveau, une hydrocéphalie ou encore des zones locales d'auréoles décolorées au niveau des cotylédons qui sont liées à l'inflammation placentaire associée à l'avortement [173].

2.3.3.7.2. Observation Histopathologique

Bien que les lésions à *N. caninum* ne soient pas pathognomoniques, elles suggèrent une infection parasitaire [58]. Les Tachyzoïtes de *N. caninum* dans la coloration hématoxyline éosine (H&E) sont habituellement de forme ronde à légèrement allongés avec un noyau vésiculaire qui permet de les différencier des cellules dégénérées [58].

L'infection à *N. caninum* chez les bovins peut être supposée si des protozoaires de types apicomplexes se trouvent dans le cerveau comme d'autres protozoaires abortifs tels que *sarcocystis cruzi* et *T. gondi* qui sont des affections différentes [58], le premier a une multiplication asexuée seulement comme schizontes dans les cellules endothéliales et le second est rare chez les bovins. Cependant, chez les ovins, il est possible de confondre *T. gondi* avec *N. caninum* [58].

2.3.3.7.3. Immuno-Histochimie IHC

L'immunohistochimie est basée sur l'utilisation d'AC anti- *N. caninum* sur des lésions histologiques pour marquer la présence d'antigènes parasitaires (tachyzoïtes et/ou bradyzoïtes) et faciliter ainsi leur détection au sein des tissus infectés y compris le cerveau fœtal, le foie, le cœur, le muscle et les tissus pulmonaire[58];[174];[175].

Toutefois il n'a pas été observé une sensibilité importante de cette technique surtout lorsqu'elle a été appliquée sur des tissus autolysés [83];[176] bien que les seuls anticorps disponibles dans le commerce soient polyclonaux, de sorte que certaines réactions croisées sont encore possibles avec d'autres protozoaires d'apicomplexas comme *T. gondii*, *Sarcocystis spp* et *besnoitia besnoiti* [177];[178];[176];[175];[179].

Cette méthode nécessite une réalisation de plusieurs coupes à différents endroits de l'organe. Elle tend à se développer progressivement dans les laboratoires d'analyse. En effet, la méthode de fixation des tissus entraîne l'inactivation des pathogènes, ce qui facilite la manipulation et le stockage des lames, autorisant même des études rétrospectives [168].

2.3.3.7.4. Diagnostic indirect

La détection d'anticorps spécifiques dans le sérum des brebis peut se révéler utile pour le diagnostic des avortements à *N. caninum* et pour étudier l'épidémiologie du parasite au sein des troupeaux. Plusieurs techniques immuno-enzymatiques (ELISA) et plusieurs tests d'immunofluorescence (IFAT) ainsi qu'un test d'agglutination ont été développés [168].

Chez les brebis, le diagnostic se fait préférentiellement par sérologie, avec une méthode ELISA. Elle n'est pas nécessaire ni recommandée en première intention sur un avortement. En revanche, si l'agent étiologique des avortements au sein d'un élevage donné ne figure pas parmi la liste des pathogènes majeurs, ça peut être dirigé dans cette direction [112]. Cependant, il est important de souligner que l'absence d'anticorps spécifiques chez le fœtus n'exclut pas la présence du parasite : le fœtus peut être trop jeune et par conséquent immuno-incompétent ou bien l'infection peut être trop récente donnant des tests sérologiques négatifs [168].

1. Sérologie

Dans la néosporose la sérologie a été l'un des outils diagnostiques les plus couramment utilisés, mais l'interprétation du statut sérologique d'un animal peut être difficile [73]. Différentes méthodes ont été développées, notamment le test d'immunofluorescence (IFAT), le test d'agglutination directe (DAT), le test d'agglutination au latex (LAT), le western blot et une gamme de test immuno-enzymatiques (ELISA) [58];[180];[181];[182].

a. ELISA

Depuis le premier test ELISA développé en 1994, des progrès n'ont pas cessé d'évoluer pour déterminer l'efficacité de ce test. Il faut tenir compte de sa sensibilité et de sa spécificité [180]. La sensibilité est définie comme la proportion d'animaux infectés correctement identifiés par le test et la spécificité comme la proportion d'animaux non infectés qui sont correctement identifiés [180]. Des études récentes ont toutes utilisées des tests ELISA commerciaux validés dans leurs diverses études épidémiologiques de la néosporose [58].

Cette méthode indirect qui détecte les anticorps contre *N. caninum* chez les ruminants a été utilisé dans des études chez les ovins et les caprins en utilisant des sérums d'ovins infectés expérimentalement [129];[183][107];[184]. Par exemple, des tests ELISA recombinant basés sur des protéines de NcGRA7 (tachyzoites et à base de bradyzoites) et avec l'antigène NcSAG4 (à base de bradyzoites) sont capable de distinguer les infections aiguës des infections chroniques et la recrudescence de la maladie chez certains animaux (figure 13.2) [185]. Alors que les tests ELISA antérieurs n'étaient pas capable de réaliser cette différenciation [180], l'utilisation des antigènes NcSAG4 s'est révélée prometteuse pour indiquer une réactivation de l'infection à *N. caninum* et être un bon marqueur de la néosporose chez les bovins avortés [186];[187].

Un test d'agglutination de bille de latex utilisant la protéine granulaire dense NcGRA6 s'est révélé être un test sérologique facile et rapide pouvant être utilisé sur le terrain [188]. D'autres tests ELISA ont utilisés une compétition par inhibition (CI ELISA) qui ont l'avantage de ne pas être spécifique à une seule espèce tout en conservant une grande sensibilité [189];[190][182];[191].

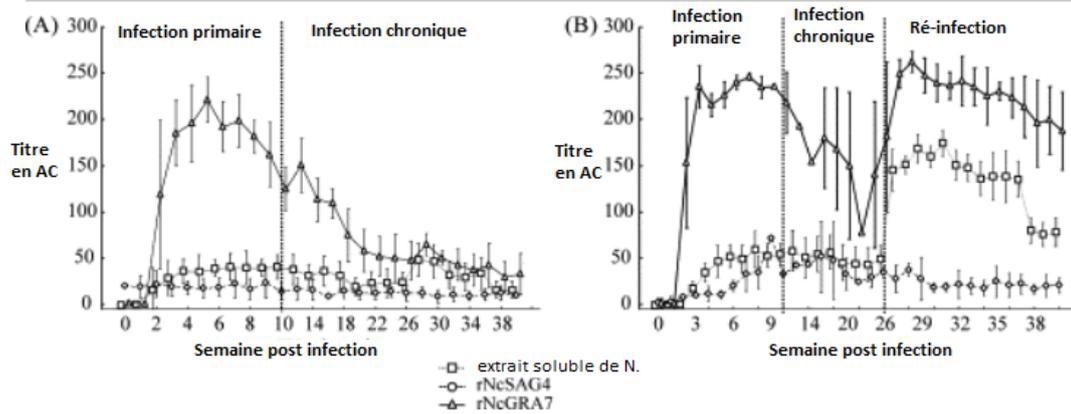


Figure 2.14 : Cinétique des Ac rNcSAG4 et rNcGRA7 en fonction de la chronicité de l'infection [185].

Outre l'utilisation de sérum dans les tests ELISA, des échantillons de lait individuels et de lait de tank ont également été testés en utilisant certains de ces tests. Qui ont permis de mettre en évidence une corrélation entre la valeur de l'ELISA sur lait de tank et le nombre de vaches séropositives de l'élevage [192]. L'ELISA est le test sérologique le plus souvent étudié et utilisé ; il présente une sensibilité et une spécificité comparables à l'IFAT [188] (tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Comparaison des sensibilités et spécificités des différents tests sérologiques avec le test de référence, l'IFAT [188].

Méthode d'analyse	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Index de Youden (%)	Index kappa	(évaluation)Test McNemar(Pvalue)
ELISA-H	85	98	83	0,85(presque parfait)	0,13
ELISA-X	77	100	77	0,81(presque parfait)	<0,01
DAT	65	100	65	0,69 (solide)	<0,0
IB	100	100	100	1 (presque parfait)	1

b. Immunofluorescence indirecte IFAT

C'est une méthode sérologique qui a longtemps été une référence. Elle permet de détecter des anticorps IgM et IgG 7 à 20 jours post-infection, le pic étant atteint entre 30, 45 et 113 jours après celle-ci. Le taux d'anticorps reste ensuite élevé pendant plusieurs mois. La principale contrainte liée à ce test est l'indécision face au seuil de positivité du fait de la grande variabilité du taux d'anticorps circulants observée chez les animaux infectés ainsi que la prévalence élevée de l'infection au sein des exploitations. Malheureusement, aucune dilution limite de référence (cut-off) n'a pu être déterminée de façon absolue pour le sérodiagnostic de l'infection de *N. caninum* par la méthode IFAT. La difficulté d'identifier les faux positifs et les faux négatifs exclut donc toute décision définitive [193];[169].

Les anticorps dirigés contre *N. caninum* ont été mis en évidence pour la première fois en 1988 [49] en utilisant l'IFAT. Les Tachyzoïtes de *Néospora caninum* sont fixés sur une lame porte-objet. Les sérums sont incubés en présence des tachyzoïtes immobilisés. Après lavage, les anticorps spécifiquement fixés sont mis en évidence par un anticorps secondaire conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine. Les lames sont alors examinées en microscopie à fluorescence.

La fluorescence périphérique claire et ininterrompue des organismes est la norme pour indiquer un résultat positif, alors que la fluorescence d'une partie seulement de l'organisme la partie apicale des Tachyzoïtes, est considéré comme une réaction non spécifique cette coloration "polaire" est considéré comme due à une réaction croisée avec d'autres espèces d'apicomplexes [194], et restent néanmoins peu nombreuses. C'est une technique très standardisée ce qui fait d'elle la technique de référence pour évaluer les autres techniques de sérologie [180];[195]. Néanmoins sur les liquides amniotiques, il a été démontré que la sensibilité de l'IFAT n'était pas très élevée [196] L'IFAT est très spécifique de *N. caninum*. Cependant, la comparaison des résultats entre les laboratoires est difficile car elle varie en fonction de nombreux facteurs [168].

c. Western blot

Western blot ou immuno blot est une technique analytique couramment utilisée pour le diagnostic de *N. caninum*, en particulier à des fins expérimentales

depuis son utilisation en 1992 et 1994. les protéines ou les antigènes utilisés sont ceux de 19, 29, 30, 33 et 37 kilos daltons [197]. Dans cette technique les antigènes sont séparés par électrophorèse sur gel polyacrylamide et migrent en fonction du poids moléculaire. Les protéines de plus petite taille migrent plus rapidement ceux de plus grande taille, puis transférées sur une membrane de nitrocellulose.

Après avoir inhibé les sites de liaison non spécifiques pour empêcher les résultats faussement positifs. La membrane est ensuite incubée avec les anticorps couplés à une enzyme. Les anticorps non liés sont éliminés pendant le processus de lavage et un anticorps secondaire ou un conjugué est ensuite ajouté à la membrane pour détecter les anticorps primaires. Après une dernière étape de lavage, un substrat est ajouté qui permettra la détection des anticorps primaires liés qui seront visualisés sous la forme d'une bande sur la membrane de transfert. Toutes les études réalisées ont montré que la sensibilité et la spécificité de l'immunoblot est presque parfaites (par rapport à celle de l'IFAT) pour le diagnostic de la néosporose [197];[188]. De plus il serait plus sensible et spécifique sur les liquides amniotiques comparés aux autres tests sérologiques [198]. C'est une technique de choix pour la recherche, mais elle n'en demeure pas moins trop coûteuse et compliquée pour le diagnostic de routine.

2.3.3.7.4. Méthode directe

a. PCR (Polymérase chaîne réaction)

La détection d'acide nucléique de néospora est de plus en plus utilisée en routine du fait de son coût en constante baisse et de l'équipement des laboratoires, son principe est d'amplifier une zone spécifique d'une cible d'ADN produisant des copies de ce segment particulier d'ADN.

L'ADN de *N. caninum* a été détecté dans divers tissus d'avortons et animaux infectés y compris des tissus frais, des tissus congelés, des tissus conservés dans du formol et ceux conservés dans des blocs de paraffine [199];[200]. En général l'ADN de *N. caninum* est plus concentré dans les tissus cérébraux [199];[201] également été trouvé dans divers tissus, notamment les muscles, les reins, le foie, les poumons, l'utérus, la peau et le placenta [202];[203];[199];[204] et aussi dans le liquide amniotique [202], le liquide céphalo-rachidien [162], dans les matières fécales de chiens et coyotes [205];[79], dans du

sang [206];[201], dans du sérum [207], le lait [208];[209] et le sperme de taureau [210];[211]. Ceci indique que la PCR est une technique extrêmement utile qui peut détecter *N. caninum* dans un large éventail de tissus. Le développement de la PCR Pour détecter *N. caninum* en utilisant diverses cibles dans l'ADN ribosomal et les gènes, tels que NC5 a été revu par Dubey et collaborateurs [58]. L'une des premières méthodes d'estimation de la charge parasitaire était la PCR quantitative compétitive (Qc-PCR) qui s'est révélé laborieuse [212] comparativement à la PCR quantitative (qPCR) développé plus tard [200];[213];[176].

b. PCR en temps réel ou Quantitative (qPCR)

La PCR en temps réel est basé sur un signal ou un marquage fluorescent qui est généré pendant chaque cycle et ou l'augmentation des signaux émis sera directement proportionnelles au nombre d'amplicons produits. Le dosage est surveillé en temps réel et les réactions sont mesurées au cours des premières étapes du cycle qui est à la phase exponentielle de la PCR. Elle peut alors à la fois identifier et quantifier le nombre de modèles de départ dans l'échantillon testé. Elle a beaucoup d'avantages: ne nécessitant pas d'analyse post PCR, elle est rapide et efficace, avec une réduction des contaminations, Elle est très sensible, et les résultats sont reproductibles [200];[214]. Il a été utilisé pour : déterminer la pathogénicité et la charge parasitaire dans les tissus [200];[201];[215];[216]: quantifier l'ADN parasitaire dans le sperme [200];[210];[217];[218];[219];[220]: quantifier l'ADN de *N. caninum* dans le sang [201]. Pour ce dernier, ce test a montré un haut degré de sensibilité dont il est capable de détecter la présence d'ADN de *N. caninum* à partir d'au moins un tachyzoite de *N. caninum*/ml. Cette approche particulière présente l'avantage de pouvoir tester un grand nombre d'échantillons de sang sans avoir à abattre des animaux.

Parmi la qPCR utilisés dans les études la méthode SYBR Green développé par collantes-Fernandez et collaborateurs [201]. Ce colorant (SYBR Green) émet une lumière fluorescente lorsqu'il est lié spécifiquement à l'ADN bicaténaire. La technique SYBR Green est couramment utilisée pour sa simplicité, sa fiabilité et son cout. Néanmoins, une conception d'amorce précise ainsi que des conditions de réactions optimisées sont nécessaires puisque le colorant se lie à tous les produits de PCR spécifiques et non spécifiques conduisant à des amplicons non

spécifiques. Une autre technique plus spécifique que le SYBR Green est la sonde de Taqman qui nécessite une hybridation spécifique entre les sondes et la séquence d'ADN cible. Il a été démontré récemment dans une étude expérimentale qu'il était sensible sur des vaches [221], la sonde Taqman est cependant plus coûteuse et prend plus de temps que la SYBR Green. En général, l'utilisation de qPCR s'est avérée être un test sensible et semble être un outil analytique pratique dans l'étude de la néosporose, en particulier lorsqu'il s'agit d'un plus grand nombre d'échantillons.

c. Amplification recombinaise polymérase (RPA)

Le test d'amplification de la recombinaise polymérase (RPA) est une nouvelle méthode d'amplification iso thermique pour la détection d'acides nucléiques de divers agents infectieux [222];[223];[224];[225].

L'amplification de la recombinaise polymérase (RPA), combinée à des bandes à flux latéral (LF), est une nouvelle approche permettant d'amplifier et de visualiser rapidement l'ADN. Le principe du test LF-RPA, est l'utilisation des amorces et une sonde qui cible une séquence spécifique du gène *N. caninum* NC-5. Il a été testé sur l'ADN purifié d'oocystes et sur l'ADN amplifié de *N. caninum* à des niveaux détectables en 10 minutes, à une température constante et nécessite pas l'utilisation d'un thermocycleur. Les amorces et sondes RPA conçues ont montré une spécificité de 100% pour la détection de *N. caninum* sans réaction croisée avec l'ADN de neuf protozoaires apparentés. (par exemple : *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis gigantean*, *Sarcocystis zuoi*, *Hammondia hammondi*, *Hammondia heydorni*, *Eimeria cylindrica*, *Plasmodium falciparum*, *Theileria annulata* et *Babesia bigemina*).

Bien que ce test ait détecté des quantités aussi faibles que 50 brins d'ADN de *N. caninum*, il est presque 5 fois moins sensible que les tests de PCR et de PCR nichée cités en haut.

Il a également été utilisé pour la détection de l'ADN de *N. caninum* dans des échantillons de tissu fœtal de bovin avortés et comparé les résultats avec ceux obtenus par PCR nichée. Sur les 75 échantillons examinés, 18 (24%) et 17 (22,6%) étaient positifs en LF-RPA et en PCR nichée, respectivement. Et les résultats ont montrés que la LF-RPA est un test approprié pour la détection rapide et fiable de *N. caninum*.

2.3.3.8. Moyens de lutte

2.3.3.8.1. Prophylaxie sanitaire

On peut prévenir la présence du parasite dans les élevages en empêchant l'hôte définitif de se contaminer. Les chiens ne devraient donc pas avoir accès aux tissus infectés issus des hôtes intermédiaires (avortons, arrières faix). De plus, il faut éviter au maximum le contact entre les matières fécales de chien et l'alimentation ou l'eau d'abreuvement destinée aux ovins, la contamination horizontale via les oocystes étant la seule supposée [87]. Ces mesures font partie des gestes hygiéniques de base à appliquer dans tout élevage, qu'il y ait des antécédents de pathologies abortives ou non. Une réforme de tous les animaux séropositifs, ou une exclusion du troupeau de renouvellement de toutes les agnelles issues de mères séropositives en les remplaçant par des animaux séronégatifs.

2.3.3.8.2. Prophylaxie médicale

a. Chimiothérapie curative

Une chimiothérapie curative a été pensée pour traiter des veaux nouveaux nés issus de mères séropositives afin d'éviter l'installation d'une infection chronique, mais aucune molécule n'a actuellement prouvé son efficacité sur le terrain [87].

b. Vaccination

Les ovins représentent un excellent modèle pour tester l'efficacité des vaccins qui luttent contre les avortements dus à la néosporose [73]. Cependant, aucun vaccin n'est actuellement disponible, ni pour les ovins ni pour les caprins et bovins.

2.3.3.9. Risque zoonotique

A l'heure actuelle, aucun cas de néosporose humaine n'a été décrit, et le parasite *Néospora caninum* n'est pas classé parmi les agents de zoonose. La question d'un potentiel pouvoir zoonotique a tout de même été étudiée en 1994 par BARR et collaborateurs [226]. L'inoculation intraveineuse et sous-cutanée de $1,6 \times 10^7$ tachyzoïtes à deux femelles macaques rhesus gestantes de 43 jours a

montré une transmission verticale du parasite à leurs fœtus. Dans un délai de 67 à 70 jours post-inoculation, l'autopsie de celles-ci a permis d'établir des lésions typiques de néosporose, à savoir une méningo-encéphalite nécrotique multifocale accompagnée d'une inflammation nécrotique modérée de l'amnios. La présence de *N. caninum* dans les tissus fœtaux a d'ailleurs été confirmée par immunohistochimie ainsi que par isolement in vitro. *Neospora caninum* fait donc partie des parasites dont le rôle pathologique chez l'homme reste à éclaircir.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 3: CARACTERISTIQUES TYPOLOGIQUES DES ELEVAGES OVINS EN RAPPORT AVEC UN RISQUE POTENTIEL DE CONTAMINATION A *NEOSPORA CANINUM* DANS LA REGION CENTRE DE L'ALGERIE

3.1. Introduction

L'élevage ovin joue un rôle prépondérant dans l'économie rurale en Algérie, du fait des habitudes alimentaires d'une population en constante croissance et qui avoisine les 42 millions d'habitants [227]. Le cheptel ovin est estimé à 28,4 millions de têtes d'ovins [3], la production annuelle de viande rouge ovine est évaluée à 3,25 millions de quintaux. En ce qui concerne la disponibilité alimentaire en viandes rouges, elle est de 14,4 kg/an/habitant [228].

Malgré un effectif important et en croissance, le rendement reste faible, cela est dû principalement à une mauvaise maîtrise de la conduite d'élevage. Une grande partie du cheptel ovin est concentrée dans les régions steppiques [229] et les hautes plaines semi-arides céréalières (80% de l'effectif total). Le mode d'élevage dominant est le mode extensif, fortement influencé par les aléas climatiques sans prise en charge sanitaire adéquate. Les races dominantes sont la "*Ouled Djella*", "*Hamra*", "*Rembi*" et "*D'men*", le reste est composé de races secondaires telles que la race *berbère*, *D'man*, *Barbarine* et la race *Sidaou-Targuia* [5] Le mode de rationnement reste aléatoire et dépend de la disponibilité des aliments, la ration est constituée généralement de fourrages sec et de concentré, les troupeaux transhumants peuvent bénéficier de fourrages vert en fonction des conditions climatiques. En stabulation entravée ou semi entravée les ovins vivent souvent en promiscuité avec d'autres espèces tel que les bovins, les caprins, les équins, la volaille et les chiens.

Cette pratique de l'élevage augmente les risques liés à l'apparition de certaines maladies abortives. C'est le cas de l'infection à *Néospora caninum*. En effet le mode d'alimentation et d'abreuvement, la proximité avec d'autres animaux et notamment le chien et la prise en charge des avortons et des arrière faix accroît la possibilité de contact avec le parasite.

Notre enquête a pour objectif de réaliser une typologie des élevages ovins dans cinq wilayas de la région centre de l'Algérie. Ce travail va nous permettre

d'identifier les facteurs de risques liés à la conduite d'élevage et augmentant la possibilité de contact des ovins avec l'agent parasite de la néosporose. Ces connaissances sont indispensables pour définir l'épidémiologie de la néosporose, ce qui permettra une meilleure prise en charge de la maladie et mettre en place des actions prophylactiques efficaces.

3.2. Matériel et méthode

3.2.1. Zone d'étude

La zone d'étude est située entre les latitudes 43° et 36° Nord et les longitudes 3° et 5° Est. Elle est caractérisée par un climat tempéré à subsaharien avec des précipitations moyennes annuelles de 338 mm à 830 mm. la région d'étude concerne cinq wilayas: Blida, Bejaia, Boumerdès, Bouira, Djelfa (figure 3.1).

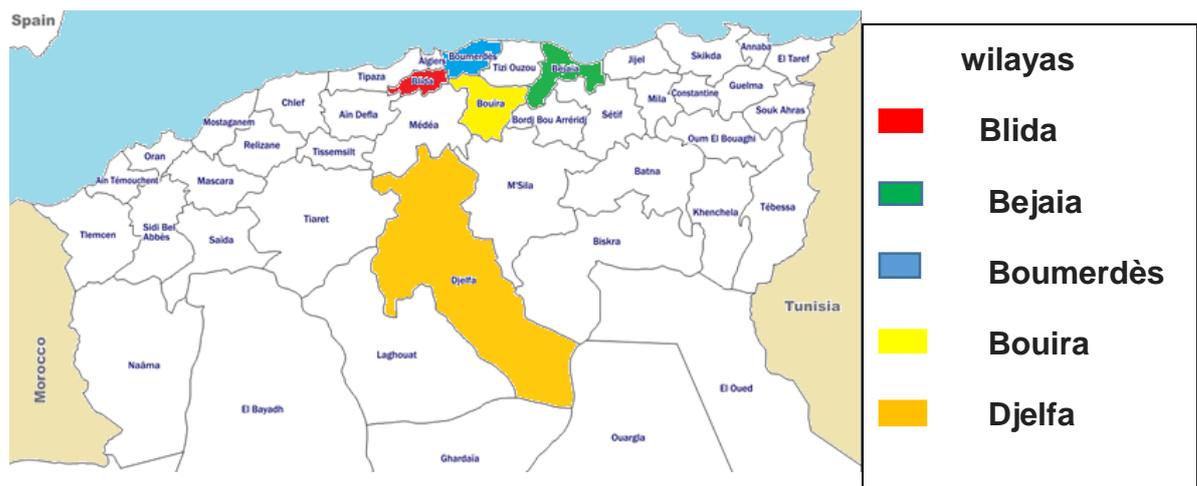


Figure 3.1. Carte géographique présentant la zone d'étude.

3.2.2. Questionnaire

Le questionnaire utilisé pour cette étude est de type semi-dirigé ; le questionnaire est traduit en langue locale (Arabe) par une personne maîtrisant le français et l'Arabe. Des questions ouvertes permettent à la personne enquêtée d'orienter la discussion sur les sujets lui semblant importants voir appendice (B, C, D). Le questionnaire concerne quatre volets :

- Le premier volet lié à la signalétique permettant d'identifier : l'éleveur, le vétérinaire traitant, la wilaya concernée et le statut juridique de l'exploitation.
- Le deuxième volet décrit les paramètres zootechniques : la catégorie d'ovins présentes, la taille des élevages, les principales races exploitées, les classes d'âge, le type d'élevage et le mode de stabulation.
- Le troisième volet renseigne sur les paramètres sanitaires : les pathologies les plus fréquentes dans l'élevage et la présence d'avortements.
- Le quatrième volet concerne les facteurs de risque liés à l'exposition à néospora caninum : l'origine des animaux dans l'élevage, devenir de l'avorton et des arrières faix, présence d'autres animaux domestiques dans l'exploitation, la présence de chiens.

3.2.3.Echantillonnage et Collecte des données

L'enquête a concerné 195 élevages ovins choisis de manière aléatoire sur chaque zone étudiée. Le cheptel est réparti sur cinq wilayas de façon inégale en fonction de l'importance de l'élevage ovin dans chacune d'elles. L'étude s'est étalée du mois de mars 2016 au mois de mars 2018. Les données ont été obtenues par interrogatoire direct pour éviter les incompréhensions.

3.3.Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (version 3.5.2). Outre les statistiques descriptives, analyse de correspondance multiple (ACM) et classification hiérarchique (ACH) ont été effectuées pour établir une typologie.

Tableaux 3.1: Codes des variables et des modalités incluses dans l'analyse des correspondances multiples (ACM).

Variables	code	Modalités
Espèces présentes dans l'élevage autres que l'ovin	Bvs1	Présence de bovins dans l'élevage
	Bvs0	Absence de bovins dans l'élevage
	Cap1	Présence de caprins dans l'élevage
	Cap0	Absence de caprins dans l'élevage

	Atr1	Présence d'autres animaux dans l'élevage
	Atr0	Absence d'autres animaux dans l'élevage
Races	OD1	Présence de la Race ouled djellal
	OD0	Absence de la Race ouled djellal
	HA1	Présence de la Race Hamra
	HA0	Absence de la Race Hamra
	RB1	Présence de la Race Rembi
	RB0	Absence de la Race Rembi
	NNK1	Présence de la race berbère, kabyle
	NNK0	Absence de la Race berbère, Kabyle
Effectifs	Efp	Nombre d'ovins < 50 têtes
	Efm	Nombre d'ovins entre 50 et 100 têtes
	Efg	Nombre d'ovins entre 100 et 200 têtes
	Efh	Nombre d'ovins entre 200 et 300 têtes
AGE	AgA1	Présence des ovins entre 0 et 6 Mois
	AgA0	Absence des ovins entre 0 et 6 Mois
	AgB1	Présence des ovins entre 6 et 12 Mois
	AgB0	Absence des ovins entre 6 et 12 Mois
	AgC1	Présence des ovins entre 1 et 4 Années
	AgC0	Absence des ovins entre 1 et 4 Années
	AgD1	Présence des ovins supérieurs à 4 Années
	AgD0	Absence des ovins supérieurs à 4 Années
Type d'élevage	Intf	Elevage Intensif
	extf	Elevage Extensif
Stabulation	Entv	Entravés
	Lib	Libre
	sEntv	Semi entravé
	Tranh	Transhumance
Source d'eau	Pf	Eau de Puit ou Forage
	Res	Eau de Réseau
	RS	Eau en surface

	ER	Eau de rivière
Origine	Mxt	Elevage mixte (achetés et nés dans l'élevage)
	NDE	Ovins nés dans l'élevage
	ACHT	Ovins achetés du marché à bestiaux
Pathologies	GEN	Maladies liées la Reproduction
	PRZ	Maladies Parasitaires
	PMS	Maladies Respiratoires
	LCM	Maladies lies a l'appareil locomoteur
Avortements	AV1	Présence d'avortements dans les élevages
	AV0	Absence d'avortements dans les élevages
Devenir des avortons	AVJ1	Avortons jetés
	AVJ0	Avortons Non jetés
	AVef1	Avortons enfouis
	AVef0	Avortons Non enfouis
	AVCN1	Avortons donnés aux chiens
	AVCN0	Avortons Non donnés aux chiens
Devenir des arrières faix	Afxe1	arrières faix enfouis
	Afxe0	arrières faix Non enfouis
	Afxj1	arrières faix jetés
	Afxj0	arrières faix Non jetés
	AfxCN1	arrières faix donnes aux chiens
	AfxCN0	arrières faix Non jetés
Présence de chiens	PrCN	Présence de chiens dans l'élevage
	AbCN	Absence de chiens dans l'élevage

3.4. Résultats

3.4.1. Signalétique des élevages

Les élevages enquêtés sont répartis dans la zone d'étude de la manière suivante : Bejaia (21.02%), Blida (10.8%), Boumerdès (3.07%), Bouira (21.53%), Djelfa (43.58%). Concernant le statut juridique, il est à signaler que la totalité des

élevages enquêtés (100%) est constitué d'élevages privés ou l'éleveur est propriétaire (tableau 3.2).

Tableau 3.2: répartition d'élevage dans les wilayas étudiées.

Wilayas	Nombre d'élevage	Pourcentage
Bejaia	41	21.02%
Blida	21	10.8%
Bouira	42	21.53%
Boumerdès	06	3.07%
Djelfa	85	43.58%
Total	195	100%

3.4.2.Caractéristiques zootechniques

L'enquête montre que la majorité des élevages (60%) adoptent un mode d'élevage extensif et un mode de stabulation semi entravée (65.64%), en cohabitation avec l'espèce caprine (36,92%). La majeure partie des élevages (75,90%) sont mixtes (nés dans les exploitations ou achetés dans les marchés à bestiaux) La taille la plus dominante celle dont le nombre d'ovins est petit (< 50 têtes (50,8 %), suivit de l'effectif moyen entre 50 et 100 têtes avec (27.18 %), et le grand effectif entre 100 et 200 têtes (21,54%) et les élevages dont le nombre dépassant les 300 têtes d'ovins présentent seulement 1%. La race Ouled Djellal est prédominante à 30, 76 % voir tableau (3.2).

Tableau 3.3: Répartition des élevages en fonction des paramètres zootechniques.

paramètres		Bejaia	Blida	Boumerdès	Bouira	Djelfa	Total
Mode d'élevage	<i>intensif</i>	41	07	03	7	21	40,5%
	<i>extensif</i>	00	14	03	35	64	59,5%
stabulation	<i>Entrave</i>	09	02	00	07	06	12%
	<i>Libre</i>	02	07	05	05	06	13%
	<i>Semi entrave</i>	30	12	01	30	55	65,64%
	<i>Transhumance</i>	00	00	00	00	18	09%

Cohabitation avec d'autres animaux domestique	<i>ovins</i>	01	04	04	21	29	30,7%
	<i>Bvs,Ovs</i>	10	08	00	09	11	19,5%
	<i>Ov,Cp</i>	24	05	02	09	32	36,92%
	<i>Ovins,equins ,vollaile</i>	06	04	00	03	13	13,33%
Origine des animaux	<i>Elevage mixte</i>	39	14	06	21	68	75,90%
	<i>Brebis Nées dans l'élevage</i>	02	06	00	19	10	16%
	<i>Brebis Achetées du marché</i>	00	01	00	02	07	05%
Taille de l'élevage	<i><50 têtes</i>	33	13	01	29	23	50,76%
	<i>[50<100[têtes</i>	07	07	04	11	24	27,18%
	<i>[100<200[têtes</i>	01	01	02	02	36	21,54%
	<i>[200<300[têtes</i>	00	00	00	00	02	1,02%
Races	<i>OD</i>	11	02	00	02	45	30,76%
	<i>Hamra</i>	00	06	00	00	03	4,61%
	<i>Rembi</i>	00	00	00	00	01	0,51%
	<i>croisée</i>	30	13	06	00	02	26,15%
	<i>Berbère</i>	00	00	00	40	00	20,51%
	<i>Mixte OD/H</i>	00	00	00	00	18	9,23%
	<i>Mixte OD/R</i>	00	00	00	00	16	8,20%

3.4.3.Statut sanitaire

Nous avons recensé plusieurs pathologies avec des fréquences proches pour les maladies d'origine parasitaire, respiratoires et de reproduction avec des taux respectifs de 33,85%, 32,82% et 29,23%. Les problèmes locomoteurs n'ont été signalés que dans 4,10%. Il est à noter enfin que 35,38% des éleveurs ont confirmé la présence d'épisodes d'avortements sans que l'origine ne soit définie voir tableau (3.4).

Tableau 3.4 : Répartition des élevages en fonction du statut sanitaire.

<i>paramètres</i>	Bejaia	Blida	Boumerdès	Bouira	Djelfa	Total%
Pathologies						
reproduction	01	07	06	07	36	29,23%
Parasitaires	35	04	00	12	15	33,85%
Respiratoires	10	06	00	18	30	32,82%
Locomoteurs	04	01	00	02	01	4,10%
Avortements						
Elevage en présence d'avortements	01	03	06	24	35	35,38%
Elevage en Absence d'avortements	40	18	00	18	50	64,6%

3.5.Facteurs de risques liés à l'exposition à *néospora caninum*

Il est important d'étudier les éléments d'épidémiologie, Pour améliorer la connaissance des facteurs impliquant l'apparition des maladies et la circulation des agents pathogènes en s'intéressant aux rapports entre l'environnement, l'hôte, et le parasite.

Parmi les facteurs liés au risque d'exposition à *Neospora caninum* dans les élevages étudiés, la cohabitation avec d'autres espèces domestiques. En effet la plupart des élevages sont mixtes comportant plusieurs espèces animales. Les caprins sont les plus associés aux ovins avec un pourcentage de 36.92, les bovins et les autres espèces (équins et la volaille) y sont associés à des pourcentages plus faibles respectivement de 19.48% et 13.33%. L'abreuvement des animaux pourrait constituer une source de contamination, notamment lorsqu'elle provient d'eau de surface comme c'est le cas pour 21,53% des élevages voir tableau (3.5).

Tableau 3.5: Répartition des élevages en fonction de risque d'exposition à *N. caninum*.

<i>paramètres</i>	Bejaia	Blida	Boumerdès	Bouira	Djelfa	Total%
Cohabitation avec d'autres animaux domestiques						
Ovins	02	04	04	21	29	30,7%
Ovins,bovins	10	08	00	09	11	19,48%
Ovins,Caprins	24	05	02	09	32	36,92%
Ovins,equins ,vollaile	06	04	00	03	13	13,33%
Source d'abreuvement						
Réseau	25	15	06	20	20	44,10%
Puits ou forage	11	06	00	13	22	26,66%
Reserve en surface	00	00	00	00	42	21,53%
Eau de rivière	05	00	00	09	01	7,69%
Présence de chiens						
Oui	23	12	05	31	70	72,30%
Non	18	09	01	11	15	27,69%

Il est à noter que le facteur de risque le plus important est la présence des chiens, hôte définitif de *Néospora caninum*, dans l'élevage. En effet qu'ils soient destinés à la garde ou à la conduite du troupeau, les chiens étaient présents dans la grande majorité des élevages avec un pourcentage de 72,30% voir tableau (3.5).

Il existe une pratique à risque liée à la présence des chiens à proximité des ovins, c'est la prise en charge des avortons et des arrières faix dans 69 élevages présentant des avortements dans les différentes régions qui sont soit jetés soit directement donnés aux chiens. Les résultats indiquent que dans 15.94% des avortons sont jeté et 59.42%, des arrières faix subissent le même sort. Et dans 43.47% des cas ils sont donnés aux chiens. Dans tous les cas les avortons et les arrières faix sont à la disposition des chiens qui perpétuent le cycle parasites de *Néospora caninum* en cas d'infection voir tableau (3.6).

Tableau 3.6: Répartition des élevages en fonction des avortons et des arrières faix.

paramètres	Bejaia 01	Blida 03	Boumerdès 06	Bouira 24	Djelfa 35	Total 69	Total%
Devenir des avortons et des arrières faix							
Jetés	00	01	01	06	03	11	15,94%
enfouis	01	05	03	15	17	41	59,42%
Donnés aux chiens	00	00	02	04	24	30	43,47%

3.6. Typologie

3.6.1. Analyse des correspondances multiples

Analyse des correspondances multiples, appliquée à 13 variables avec 59 modalités, a permis de discriminer trois axes sélectionnés, représentant 47% du total variabilité, Le tableau (3.7) montre le lien statistique entre ces variables et les trois premiers axes, tels qu'il est estimé par l'analyse des variances.

Tableau 3.7. Degrés de lien statistique entre les variables et les trois premiers axes.

Variables	Dim 1	Dim 2	Dim 3
Bovins	***	***	-
Caprins	***	-	-
Autres	***	***	-
OD	***	***	***
Ha	***	***	-
RB	**	**	-
NK	-	-	***
Effectif	***	***	***
AGEA	***	***	**
AGEB	***	***	***

AGEC	*	-	***
AGED	***	**	***
Type Élevage	***	-	*
Stabulation	***	***	***
Source eau	***	***	***
Origine animaux	***	***	***
Présence chiens	***	***	***
Pathologies	***	***	***
Présence AV	***	-	-
Devenir avorton	***	***	***
AVef	***	***	-
AVCN	***	**	-
Devenir arrières faix	***	***	***
Afxj	***	***	-
AfxCN	***	**	-
* p < 0.05 ; **p < 0,01 ; ***p < 0.001 ; -: non significatif.			

- L'axe 1 représente 29,01% du total de la variable. Il est corrélé positivement avec les pathologies ($r= 0,64$), la cohabitation avec les caprins ($r= 0,62$), mode de stabulation ($r= 0,63$), source d'eau d'abreuvement ($r= 0,57$) et la présence d'avortements($r= 0,46$). (Fig. 3.2)
- L'axe 2 représente 10, 28% du total de la variable. il est corrélé avec le mode de stabulation ($r=0,53$), pathologies($r=0,36$), les effectifs d'animaux présents dans l'élevage($r=0,37$) et la source d'eau($r=0,31$) (Fig. 3.2)
- L'axe 3 représente 7,79% du total de la variable.il est corrélé avec la source d'eau ($r=0,69$), la race berbère ($r=0,36$), l'âge ($r=0,23\%$) et l'effectif ($r=0,22$) (Fig. 3.2).

Tableau 3.8 : Distribution des modalités les plus significatives dans les trois groupes en pourcentage

Modalités	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Bvs1	–	–	66,66
Bvs0	100	85,41	–
Cap1	–	–	100
Cap0	100	–	–
Atr1	–	–	58,33
Atr0	100	94,79	–
OD1	–	–	69,44
OD0	100	–	–
HA0	100	98,95	77,77
RBO	100	100	97,22
NNK0	69,84	85,42	80,55
Efp	–	58,33	97,22
Efg	50,79	–	–
AgA1	–	91,66	100
AgA0	98,41	–	–
AgB1	–	89,58	100
AgB0	53,96	–	–
AgC1	90,47	100	100
AgD1	–	–	88,88
AgD0	98,41	52,08	–
Intf	–	–	100
Extf	92,06	60,41	–
sEntv	71,42	77,08	–
tranh	–	–	–
Res	–	51,04	100
Mxt	–	100	100
NDE	58,73	–	–
GEN	–	–	100
PRZ	–	65,62	–
PMS	80,95	–	–
AV1	–	–	94,44
AV0	93,65	67,70	–

AVJ0	100	100	69,44
AVef1	–	–	88,88
AVef0	100	88,54	–
AVCN1	–	–	75
AVCN0	100	96,87	–
Afxe0	100	96,87	64,44
Afxj1	–	–	88,88
Afxj0	100	87,5	–
AfxCN1	–	–	75
AfxCN0	100	96,87	–
PrCN	–	83,33	100
– : indication des pourcentages bas			

Tableau 3.9: la répartition des élevages dans les groupes par modalités

Modalités	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Total
Bvs1	0	14	24	38
Bvs0	63	82	12	157
Cap1	0	36	36	72
Cap0	63	60	0	123
Atr1	0	5	21	26
Atr0	63	91	15	169
OD1	0	34	25	59
OD0	63	62	11	136
HA1	0	1	8	9
HA0	63	95	28	186
RB1	0	0	1	1
RB0	63	96	35	194
NNK1	19	14	7	40
NNK0	44	82	29	155
Efp	8	56	35	99
Efm	21	31	1	53

Efg	32	9	0	41
Efh	2	0	0	2
AgA1	1	88	36	125
AgA0	62	8	0	70
AgB1	29	86	36	151
AgB0	34	10	0	44
AgC1	57	96	36	189
AgC0	6	0	0	6
AgD1	1	46	32	79
AgD0	62	50	4	116
Intf	5	38	36	79
Extf	58	58	0	116
Entv	0	8	16	24
Lib	0	14	11	25
sEntv	45	74	9	128
Tranh	18	0	0	18
Pf	18	34	0	52
Res	2	49	36	87
RS	29	13	0	42
ER	14	0	0	14
Mxt	16	96	36	148
NDE	37	0	0	37
ACHT	10	0	0	10
GEN	1	27	36	64
PRZ	3	63	0	66
PMS	51	2	0	53
LCM	8	4	0	12
AV1	4	31	34	69
AV0	59	65	2	126
AVJ1	0	0	11	11
AVJ0	63	96	25	184
AVef1	0	9	32	41
AVef0	63	85	4	152

AVCN1	0	3	27	30
AVCN0	63	93	9	165
Afxe1	0	0	11	11
Afxe0	63	93	25	181
Afxj1	0	9	32	41
Afxj0	63	84	4	151
AfxCN1	0	3	27	30
AfxCN0	63	93	9	165
PrCN	36	80	36	152
AbCN	27	16	0	43

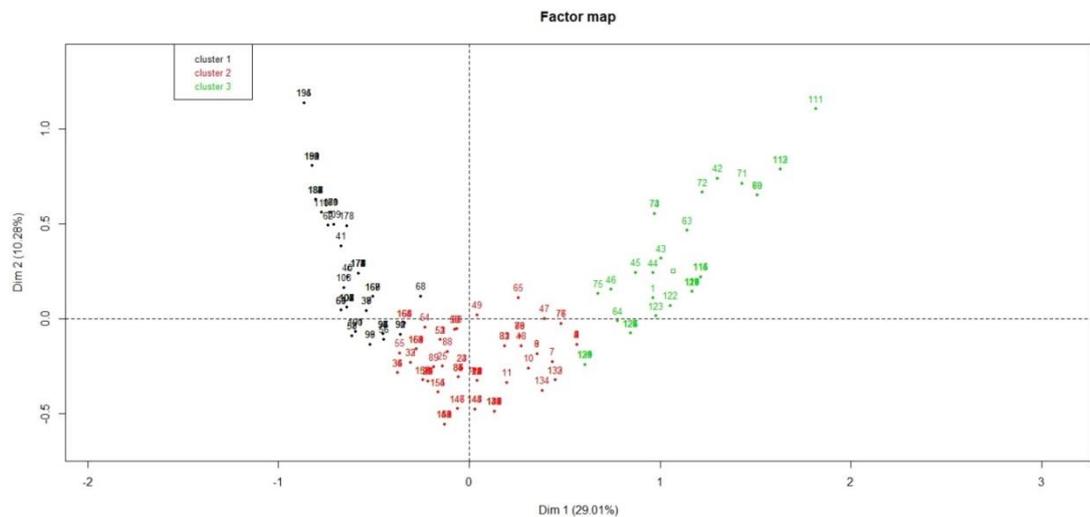


Figure 3.4: Représentation graphique des clusters sur les axes 1 et 2 (les nombres correspondent aux élevages étudiés)

- Le cluster 1 (63 élevages, soit 32,3 % du total) peut être décrit comme des élevages ovins, de grands effectifs (50,79%), type extensif (92,06%), transhumants (28,57%) eau d'abreuvement qui est une réserve en surface (46,03%), et la présence de pathologies respiratoire(80,95%), c'est un groupe qui n'a pas d'avortements (93,65%), et l'espèce canine dans ce groupe est absente (60,31%).
- Le cluster 2 (96 élevages, 49,2% du total) c'est un groupe composé des élevages de petits effectifs (58,33%), de type semi entravé (77,08%), avec

présence de chiens (83,33%), et la pathologie parasitaire est la plus dominante a (65,62%).

- Le cluster 3 (36 élevages, 18,5 % du total) se sont des élevages intensifs (100%) en cohabitation avec l'espèce caprine (100%), bovines (66,66%), (autres animaux domestiques (58,33%), la race dominante est la race principale Ouled Djellal (66,66%), dans ce groupe la présence de chiens (100%), et la présence d'avortements (94,44%) et présence de pathologies de reproduction (100%) qui dominent.

Le lien statistique avec la variable groupe est hautement significatif ($p < 0,001$) pour toutes les variables suivantes: effectifs, races, mode de stabulation, source en eau, pathologies, origine des animaux, l'Age, présence de chiens, et présence d'avortements.

3.7. Discussion

3.7.1. Caractéristiques zootechniques :

La plupart des élevages visités dans la région d'étude sont des élevages mixtes, comprenant plusieurs espèces animales composés plus d'ovins et de caprins a (36,92%). en effet le caprin est utilisé pour sa viande, son lait et sa laine [230, 231] ainsi que pour l'autoconsommation et la conduite des troupeaux ovins en pâturage [232]. ce système de production ovin-caprin sédentaire extensif (32,2%), est couramment adopté dans toutes les régions d'Algérie avec une stabulation semi-entravée en majorités (65.64%). Le même constat a été fait dans la région de la Kabylie [233, 234]. Yabrir et collaborateurs ayant conduit une typologie de l'élevage ovin dans la zone steppique du centre Algérien (région de Djelfa) a noté une réorientation des pratiques d'élevage d'un type transhumant à une stabulation semi-entravée sédentaire en bergerie fermée ou semi ouverte [235]. D'autre part Les classes d'effectifs (petits, moyens, grand) ont été constaté dans notre étude avec une majorité des élevages de petits effectifs (50,8%), les autres classes sont présentés respectivement (27.18 %, 21,03%,) et seulement 01,03%, ont dépassés les 300 têtes qui sont classés comme très grand effectif. Les trois classes (petits, moyens et gros éleveurs) ont été aussi constatées par Kanoun-Meguellati et Yakhlef dans la région de Djelfa [236].

Une diversité raciale a été observée dans la zone d'étude avec, cependant, une prédominance de la race Ouled Djellal à (29.74%) qui est classée parmi les races principales, Djaout et collaborateurs rapporte le même constat dans la région du tell et de la steppe [7].

3.7.2. Suivi sanitaire

Un suivi sanitaire rigoureux est indispensable pour optimiser les performances d'un élevage. Il convient non seulement d'éviter les lourdes pertes dues aux épizooties, mais aussi de maintenir les animaux en bonne santé pour extérioriser leurs capacités de production, toute maladie atteignant l'intégrité de l'organisme.

Pour protéger les animaux d'élevages il faut mettre en place un protocole de prévention qui est la principale voie. En effet, l'accès aux soins curatifs est limité du fait que sur le terrain la capacité financière des éleveurs est souvent limitée. L'emplacement des élevages dans des zones très retirés et la non déclaration de leurs existence n'est pas en faveurs de ces élevages qui aggrave la sante de ses animaux

Sur le plan sanitaire (32,82%) des élevages enquêtés présentant essentiellement des pathologies respiratoires. Cela a été aussi constaté par Saidani et al [233] ce qui concorde avec le mode d'élevage extensif dominant. Dans le groupe 3 on a constaté la présence d'avortements a (94,44%), ceci est compatible avec une faible maitrise de la conduite d'élevage qui est anarchique et aléatoire.

3.7.3. Facteurs de risques

Dans le cycle de *Néospora caninum* le chien représente l'hôte définitif, sa présence est souvent associée à la néosporose, cela a été démontré chez les bovins [237] et les ovins [15]. Dans notre enquête cela est mis en évidence notamment dans les clusters 2 et 3 avec un taux de (83,3%) et (100%) respectivement dont la présence du chien a été signalée en concomitance avec les avortements [238], [16],[239]. les aliments contaminés par des oocystes sporulés de chiens sont les matières virulentes les plus probablement à l'origine

de la contamination des hôtes intermédiaires et quelques centaines d'oocystes viables seraient suffisants pour déclencher un avortement [87]

Certaines pratiques augmentent le risque d'exposition au parasite et au maintien de son cycle, tel est le cas de la démarche adoptée concernant le devenir des arrières faix notamment lorsqu'ils sont jetés tel qu'il apparaît dans le cluster 3. Ce qui concorde avec les observations faites en Algérie dans l'élevage bovin par Ghalmi [240] ou les chiens infectent le bétail à travers la nourriture contaminé ou l'eau et le bétail infectent les chiens via les avortements contaminés (avortons et arrières faix). Une observation similaire a été signalée au Brésil [241] montrant une corrélation entre la séropositivité à *N. caninum* chez les chiens de fermes et une forte séroprévalence de la néosporose chez les bovins.

Ceci est mis en évidence par la typologie, en effet l'axe 2 oppose les pratiques à risque tel que la présence d'animaux sensibles à l'infection (notamment les caprins), la présence de chiens et le devenir des avortons et des arrières faix (données aux chiens ou jetés) en relation avec l'apparition des avortement, et les pratiques associées à l'absence d'avortements et notamment ceux liés à l'infection par *Néospora caninum* tel que l'absence de chiens et des animaux sensible à l'infection et des pratiques non risqué concernant le devenir des avortons et des arrières faix (figure3.3). Il est à noter que dans les fermes où les chiens ont accès librement aux animaux et aux arrière-faix, tous les éléments du cycle sont présents pour une contamination maximale des brebis et des chiens. Dans les fermes où les chiens sont absents, le cycle ne peut être complet et le niveau de contamination des animaux devrait être plus faible [168].

3.8. Conclusion

La première étape de notre travail sur le système d'élevage ovin dans la zone d'étude nous a permis de proposer une typologie. Cette première analyse nous a fourni les éléments nécessaires pour décrire la diversité des systèmes d'élevage ovin. Elle nous a aussi permis d'identifier les élevages ayant des problèmes de sante animales tels que les pathologies de reproductions et parasitaires et les facteurs pouvant engendrés ses troubles.

Un travail important doit se faire en direction des éleveurs pour les sensibiliser sur l'importance de la maîtrise des techniques d'élevage dans la

prévention des problèmes sanitaires tel que la néosporose. Cette étude doit être complétée par des travaux sur l'aspect sanitaire qui permettront d'identifier et d'analyser les élevages et les brebis présentant des épisodes d'avortements. Cette deuxième étape de l'étude sur les avortements avec pour objectif d'évaluer le risque de la circulation du parasite *Neospora caninum* dans les élevages ovins du nord centre du pays.

CHAPITRE 4: ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE SUR LES AVORTEMENTS DANS LA ZONE D'ETUDE

4.1. Introduction

Un avortement est défini légalement comme l'expulsion d'un fœtus durant la période de gestation ou mise bas d'un animal mort-né, en excluant les cas de dystocies dues à une disproportion fœto-maternelle ou une malposition [242].

La mort d'un agneau ou chevreau dans les 48h suivant la naissance est aussi considéré dans les pertes par avortement [242]. Dans la pratique, l'avortement se définit comme l'interruption de la gestation entre la fin de la période embryonnaire (42^{ème} jour de gestation) et le 140^{ème} jour de gestation, suivie ou non de l'expulsion d'un fœtus viable. Au-delà du 140^{ème} jour de gestation, on parlera d'un prématuré [243].

L'Algérie, est l'un des sept pays africains comptant le plus grand nombre de petits ruminants [244] avec un troupeau estimé à plus de 28,4 millions d'ovins et 4,8 millions de chèvres [245], malheureusement ce nombre ne couvre pas les besoins nationaux en viande rouge, ce qui oblige l'état à recourir à l'importation [246]. Dans nos élevages le système extensif est dominant et dépend des aléas climatiques, de la disponibilité fourragère et des difficultés liées à la santé animale.

Le problème lié à la santé animale est largement dominé par la perte de produits causée par les mortalités embryonnaire, les avortements, et les mortinatalités. Ce qui représente une perte économique pour l'industrie du bétail [247]. Le risque sanitaire des avortons pour la sante publique, dont peu d'éleveurs semblent avertis, peut également représenter un impact économique [248].

Plusieurs facteurs peuvent déclencher un avortement, certains sont intrinsèques, comme l'âge, la génétique ou l'état de santé, d'autres sont extrinsèques, comme la gestion du bétail, l'alimentation ou le stress [249; 250]. L'incidence de l'avortement est difficile à évaluer et donc sous-estimée. En général, un taux variant de 2 à 5% est considéré comme normal dans l'élevage ovin [251].

En Algérie, l'évaluation des avortements et des facteurs de risques chez les ovins est très difficile du fait que les avortements ne sont ni soumis à un recensement par les services compétents ni déclarés par les éleveurs. De plus,

aucune maladie abortive en dehors de la brucellose n'est légiférée. De ce fait après avoir étudié la typologie des élevages dans plusieurs wilayas du nord du pays. Notre objectif est d'évaluer la situation épidémiologique des avortements dans notre région d'étude et d'identifier certains facteurs de risque pouvant être liés à l'infection *Neospora caninum*.

4.2. Matériel et méthode

4.2.1. Population étudiée et taille de l'échantillon

De mars 2016 à juillet 2019, nous avons étudié un total de 12844 animaux dont 10060 Brebis provenant de 205 élevages dans les 06 wilayas du centre nord du pays : Bejaia, Bouira, Boumerdès, Alger, Blida, Djelfa, Ces femelles sont, de différents âges et races.

4.2.2. Zone d'étude

La zone d'étude est déjà citée dans la première partie concernant la typologie en incluant en plus la région d'Alger (figure 4.1) dont les éleveurs nous ont sollicités pour cause d'avortements répétés.



Figure 4.1 : Zone d'étude (Région nord centre Algérie)

4.2.3. L'Enquête

La collecte des données a été réalisée au moyen d'un questionnaire (appendice B, C) rempli lors d'un entretien avec l'éleveur lors de visite à la ferme. Il comprend des questions fermées (réponses à choix multiples) qui traitent de la situation des avortements, des caractéristiques, des pratiques et de la gestion de l'élevage et l'historique des épisodes d'avortements qui est défini dans notre étude comme l'observation visuelle par l'éleveur du rejet d'un fœtus non viable chez une brebis diagnostiquée gestante. Un troupeau «avec avortement» est

qualifié comme tel lorsqu'au moins un avortement a été enregistré au cours de l'année précédant l'enquête.

4.2.4. Analyse statistique

L'étude de cette enquête est réalisée par une analyse statistique descriptive générale avec le logiciel systat version 10. L'étude des facteurs de risque Les relations entre chacune des variables potentiellement explicatives et le statut «en présence ou en absence d'avortement» sont étudiés par l'analyse des correspondances multiples.

L'association entre l'avortement et les facteurs de risques potentiels à la présence de *N. caninum* a été mesurée par le biais du test de khi-deux de Pearson (χ^2) et de l'odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). la variable est considérée comme facteur de risque lorsque l'OR et la valeur de p (χ^2) sont significatifs (OR>1 et valeur de p< (0,05).

L'interprétation de l'OR se fait de la façon suivante:

- OR= 1, p (χ^2)>0,05 ou [IC95%] incluant la valeur 1:absence de relation entre le facteur de risque et la maladie
- OR>1, p (χ^2)<0,05 ou [IC95%] excluant la valeur 1:risque accru de la maladie (facteur de risque).
- OR<1, p (χ^2)<0,05 ou [IC95%] excluant la valeur 1:risque réduit de la maladie (facteur protecteur).

4.3.Résultats

4.3.1. Prévalence des avortements dans les élevages.

Le taux d'avortement dans notre étude, est exprimé par le rapport entre le nombre total des élevages ayant connu des épisodes d'avortements sur le nombre total d'élevages étudiés. En somme sur 205 élevages enquêtés 88 élevages ont présenté au moins un avortement au cours de l'étude ce qui correspond à un taux de prévalence global de 42,92%. Les élevages n'ayant pas eu d'épisodes d'avortement étaient de 57,07% (tableau 4.1 et figure 4.2).

La prévalence des avortements dans les élevages obtenus par un calcul de l'intervalle de confiance à 95% est comprise entre 36,15% et 49,70% voir tableau (4.1).

Tableau 4.1: Taux de prévalence des avortements dans les élevages ayant connu des avortements dans les différentes wilayas

Wilayas	Nombre total des élevages	Nombre d'élevage ayant présente des avortements	Nombre d'élevage n'ayant pas eu d'avortements	Taux d'avortements % (IC)
Bejaia	41	01	40	2,44 (00%-7,16%)
Bouira	42	29	13	69,04 (55,06%-83,02%)
Boumerdès	09	09	00	100 (66,6%-100%)
Alger	02	02	00	100 (00%-100%)
Blida	25	11	14	44 (24,54%-63,46%)
Djelfa	86	36	50	41,86 (31,43%-52,29%)
Total	205	88	117	42,92 (36,15%-49,70%)

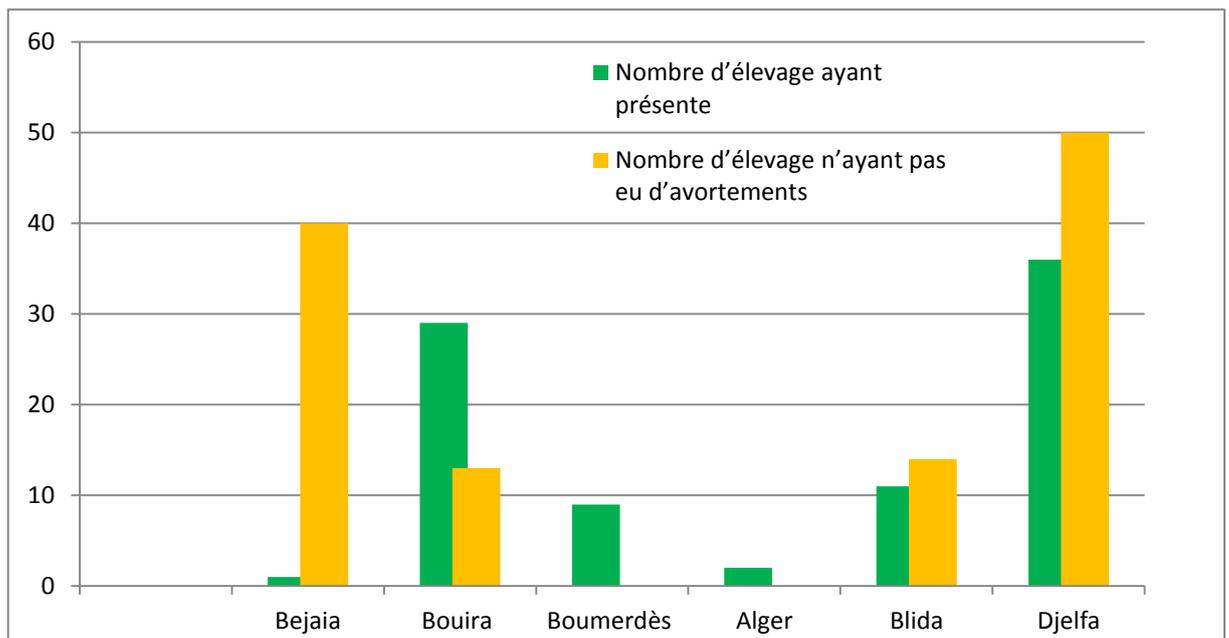


Figure 4.2: prévalence des avortements dans les élevages des différentes wilayas

4.3.2. Prévalence individuelle des avortements

Le taux d'avortements calculé dans l'enquête correspond au nombre de brebis ayant connu des épisodes d'avortements sur le nombre total de brebis étudiées. Ainsi sur 10060 brebis enquêtées 369 brebis ayant avortés ce qui correspond à un taux de prévalence de 3,66%. Les brebis n'ayant jamais connus

d'épisodes d'avortements sont au nombre de 9691 ce qui correspond à un taux de 96% (tableau 4.2).

Tableau 4.2: Taux de prévalence des avortements dans les différentes wilayas

Wilayas	Nombre total des animaux présents dans les élevages	Nombre total des brebis étudiées	Nombre de brebis ayant avortés	Nombre de brebis n'ayant pas avortés	Taux d'avortements % (IC)
Bejaia	1377	792	01	791	0,12 (0%-0,36%)
Bouira	1656	890	115	775	12,92 (10,71%-15,12%)
Boumerdès	430	203	63	140	31,03 (24,66%-37,39%)
Alger	240	130	13	117	10 (4,84%-15,16%)
Blida	636	371	17	354	4,58 (2,45%-6,71%)
Djelfa	8505	7674	160	7514	2,08 (1,76%-2,40%)
Total	12844	10060	369	9691	3,66 (3,29%-4,03%)

La prévalence des avortements chez les brebis obtenus par un calcul d'intervalle de confiance à 95% est comprise entre **3.29%** et **4,03%**.

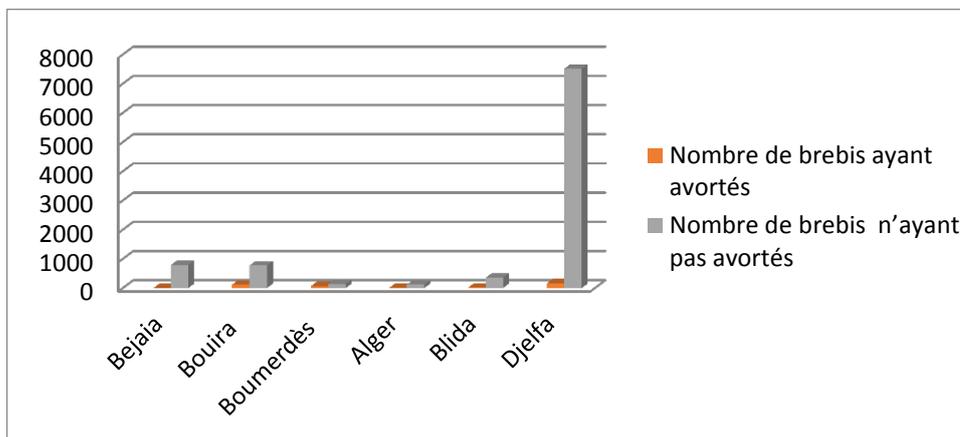


Figure 4.3: prévalence des avortements dans les différentes Wilayas.

4.3.3. Facteurs épidémiologiques potentiellement liés aux avortements à *Neospora caninum* .

Nous avons voulu étudier quelques facteurs de risques qui pourraient être associés aux avortements à *Neospora caninum*, tels que la mixité, l'origine des animaux, la race, la vaccination et la présence de chiens (tableau 4.3).

L'objectif est de tenter d'identifier les élevages pouvant être infectés par le parasite.

Tableau 4.3: Effet de la mixité des élevages sur les avortements.

Paramètres mixité	Elevage ayant Présenté avortements		Elevage en Absence avortements		résultats		
	présence	absence	Présence	Absence	OR	IC%	P=
Présence ovins seuls	54	34	67	50	1,19	0,68-2,09	0,5548
Présence Bovins	20	68	28	89	0,93	0,48-1,79	0,84
Présence caprins	19	69	44	73	0,46	0,24-0,86	0,0139

Les résultats obtenus révèlent que la présence dans les élevages de l'espèce caprine réduit le risque d'avortement de manière significative (OR =0,46 ;p <0,05) avec IC 95 % (0,24-0,86).

Tableau 4.4: Rapport entre la Race et la présence d'avortements

Paramètres Race	Elevage ayant Présenté avortements		Elevage en Absence avortements		résultats		
	présence	absence	Présence	Absence	OR	IC%	P=
OD	60	28	76	41	1,16	0,64-2,09	0,63
HA	22	66	12	105	2,92	1,35-6,29	0,005
RB	11	77	23	94	0,58	0,27-1,26	0,18
BBR	25	63	00	117	-	-	0,000 0
croise	13	75	31	86	0,48	0,23-0,98	0,04

L'analyse statistique des taux d'avortements selon les différentes races a montré un lien très significative ($p=0,0000$) dans les élevages présentant la race berbère et la race Hamra $p<0,05$.

Tableau 4.5: Rapport entre l'origine des animaux et la présence d'avortements

paramètres	Elevage ayant Présenté avortements		Elevage en Absence avortements		Résultats		
	présence	absence	Présence	Absence	OR	IC%	P
Achetés	42	46	101	16	0,14	0,07-0,27	0,0000
Nés dans l'élevage	22	66	16	101	2,01	1,03-4,29	0,0389

Un Rapport statistique très significatif entre l'avortement et l'origine des animaux en faveur des élevages ayant des brebis achetés dans les marchés à bestiaux présentant un facteur protecteur $OR=0,14$, par contre les animaux nés dans l'élevage est un facteur de risque ($OR=2,01$, $p=0,0389$) (tableau 4.5).

Tableau 4.6: Rapport entre la vaccination et la présence d'avortements

paramètres	Elevage ayant Présenté Avortements		Elevage en Absence avortements		résultats		
	présence	absence	Présence	Absence	OR	IC%	P=
Vaccination	76	12	102	15	0,93	0,41-2,1	0,8642

Les Résultats statistiques montrent que la mise en place de la vaccination dans les élevages est un facteur réduisant l'avortement avec un $OR < 1$ sans que cela ne soit significatif (tableau 4.6.).

Tableau 4.7: Rapport entre avortements et présence de chiens

	Elevage ayant Présenté avortements		Elevage en Absence avortements		résultats		
	présence	absence	Présence	Absence	OR	IC%	P
Présence de chiens	69	19	62	55	3,22	1,72-6,01	0,0002

L'enquête a révélé un lien hautement significatif ($p > 0,001$) entre l'avortement et la présence de chiens dans les élevages, l'OR montre que c'est un facteur de risque (>1) (tableau 4.7.)

4.3.4..Analyse multi-dimensionnelle

L'analyse multidimensionnelle met en évidence les facteurs potentiels. Le nuage des variables de l'analyse en composante multiple concerne les différents facteurs risque appliquées à 05 variables et 12 modalités (tableau 4.8), (figure 4.4).

Tableau 4.8: Codes des variables et modalités utilisées dans l'analyse des correspondances multiples.

Variables	Modalités
Mixité	OV
	BV
	CP
Race	OD
	RB
	HM
	BBR
	Croisé
Origine	NDE
	ACHT
Vaccination	Vacciné
Présence de chiens	Prs CNS

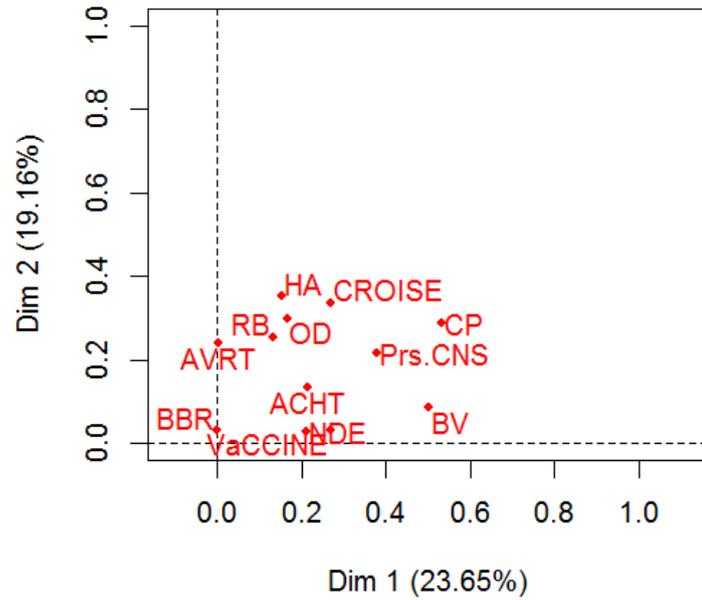


Figure 4.4: plan des variables sur les deux axes voir tableau (4.1).

L'analyse multidimensionnelle représentée sur la figure (4.5) indique qu'il n'y a aucun individu excentrique, ce qui nous amène à dire que le groupe d'animaux faisant l'objet de cette enquête est homogène.

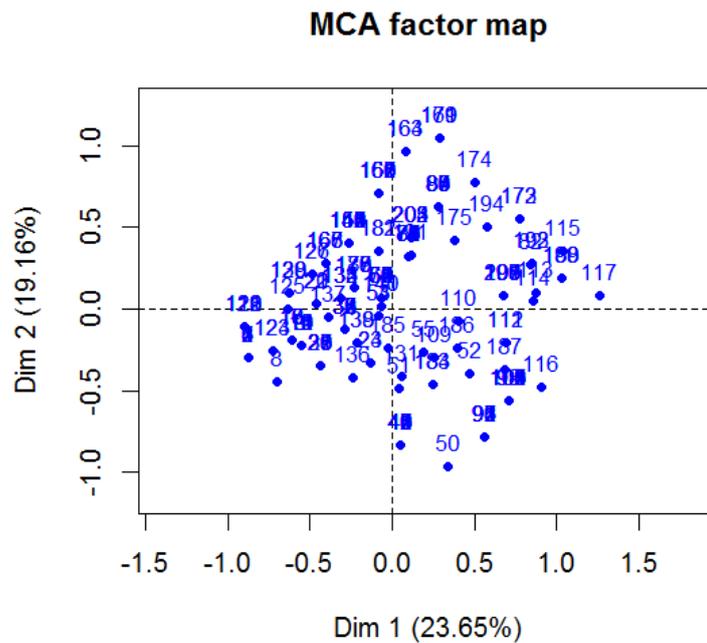


Figure 4.5 : Plan factoriel des individus.

L'analyse factorielle des correspondances multiples nous révèle six groupes d'affinités entre les modalités des variables (figure 4.6).

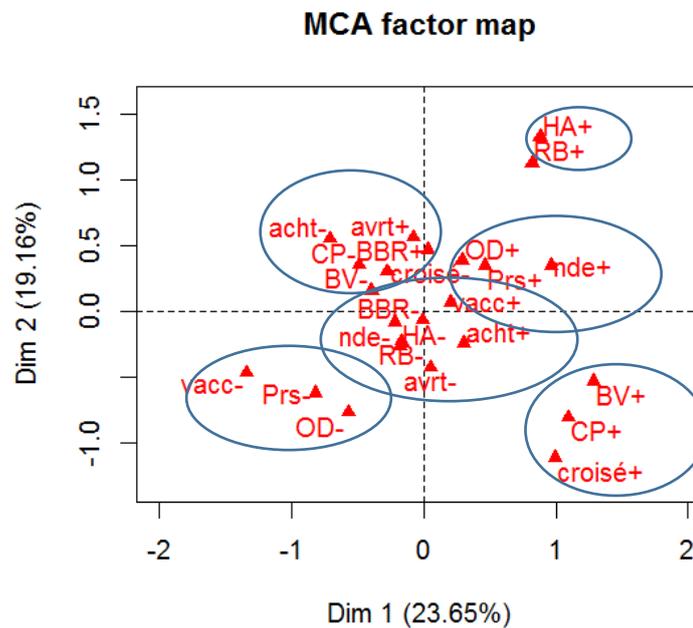


Figure 4.6 : plan factoriel des modalités

4.4.Discussion

Après l'étude précédente sur la typologie, nous avons voulu identifier les élevages ayant présentés des avortements et les facteurs de risques favorisant l'apparition potentielle de *N caninum*. Notre enquête épidémiologique a révélé un taux d'avortement dans les élevages par wilayas entre 2,44%, dans la région de Bejaïa et 100 % dans les deux régions Boumerdès et Alger respectivement. A l'échelle individuelle le taux varie de 0,12% à 31,03 dans la wilaya de Bejaia et Boumerdès respectivement.

L'analyse descriptive a montré que sur un total de 205 élevages étudiés, 88 présentent des épisodes d'avortements. Ceci nous donne une prévalence globale de 42,92% (IC 36,15%-49,70%), ces taux sont supérieurs à ceux trouvés dans d'autres études par exemple en Mauritanie le taux d'avortements était de 3% [252] et au Maroc 7% [253];[254]. Il est proche de celui de 47% enregistré dans une autre étude marocaine [255]. Cette évaluation du taux d'avortement est déterminante pour le maintien et la rentabilité économique d'un élevage. En fait,

une perte fœtale de 2 à 5% dans un élevage ovin est considérée comme acceptable [256],[257].

A l'échelle individuelle le taux d'avortement chez les brebis est de 3,66%. Il est inférieur à celui estimé dans des études précédentes faites en Algérie 25% et 75,33% respectivement pour Abed et Ghalmi [258] et Mc Geady et al [243], et au Togo 10% [259], mais similaire à ceux de la côte d'ivoire 3,3 % [260]. Cette variabilité des taux d'avortements peut s'expliquer par une dépendance aux conditions du milieu et à l'alimentation des animaux, ainsi que les effectifs échantillonnés. Le taux peut être aussi différent par rapport à l'étiologie des avortements sporadiques causés par des agents infectieux tels que les bactéries, les champignons et les parasites. On peut de temps en temps retrouver des cas positifs à *Neospora caninum* lors d'avortement chez les petits ruminants [248].

Des études montrent qu'un taux élevé d'avortements (31,2%) est multifactoriel. Il peut être dû à l'interaction des agents classiques et opportunistes de l'avortement [248]. En revanche, les avortements répétés sont plus susceptibles de résulter d'agents infectieux tels que la chlamydie [261;262], ou la salmonellose [263].

Nous avons étudié les données récoltées grâce au questionnaire afin d'évaluer l'influence ou non de certains paramètres comme la mixité, la race, la vaccination et la présence de chiens.

Ces Facteurs sont nécessaires pour la compréhension de l'épidémiologie des avortements. L'analyse descriptive des élevages concernant la mixité, ne montrent pas de liens de causalité entre les avortements et la présence d'autres espèces (caprins et bovins), elle pourrait être même un facteur protecteur tel que cela a été rapporté chez les caprins (OR =0,46).

Contrairement aux observations antérieures faites par Khammassi-Khabou [264] et Yahyaoui et al [265], ces auteurs rapportent que la mixité des élevages et la promiscuité de l'espèce caprine constituent un facteur de risque majeur d'avortement dans l'élevage. D'autres auteurs déduisant que la plupart des agents abortifs sont communs aux ruminants. [266,267].

Pour la race, globalement elle est associée aux avortements. Cependant, certaines races sont considérées comme un facteur de risque accru tel que la race Ouled djellal (OR= 1,16) et la race Hamra (OR= 2,92), avec une influence significative en faveur de la race Berbère ($p < 0,05$).

Cependant ces résultats doivent être interprétés avec prudence du fait que presque tous les élevages des différentes wilayas étaient hétérogènes, à l'exception de la wilaya de Bouira où la race Berbère était la seule présente dans son berceau. Néanmoins on pense que les animaux provenant d'autres régions reçoivent beaucoup plus de soins en termes d'habitat et des soins vétérinaires. Les animaux de race locale sont souvent considérés comme des individus résistants, de ce fait ils bénéficient rarement de suivi sanitaire ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la prévalence des avortements chez cette catégorie ($p=0,0000$).

La présence de chiens dans les élevages augmente de manière très significative le risque des avortements IC 95% (1,75-6,01), OR=3,22 et $p=0,0002$. Notre résultat correspond à celui obtenu par Corbellini et al. [268], Dubey et Schares [73] et Romo-Gallegos et al [269]. Les chiens sont souvent présents dans les élevages pour la surveillance des ovins dans les pâturages mais ils sont identifiés comme facteur de risque s'ils ont accès zones de stockage des aliments et consomment des débris placentaires, des fœtus et des agneaux mort-nés. Ce qui est possible dans les élevages inclus dans l'étude car les chiens errent librement à travers les installations avec la possibilité de disséminer les agents parasitaires par les matières fécales dans les aliments et l'eau.

4.5. Conclusion

Nous pouvons déduire que les résultats de ce travail ont permis de faire ressortir que :

- La prévalence globale des avortements par élevages est très élevée dans la zone d'étude. Une très forte présence dans les wilayas Alger Boumerdès et Bouira respectivement, suivi d'un taux moyen dans la wilaya Blida et Djelfa et le taux le plus bas est retrouvé dans la wilaya de Bejaia.
- La prévalence individuelle des avortements est faible dans les wilayas Bejaia, Djelfa, Blida. Un taux moyen dans la wilaya d'Alger et Bouira et un taux élevée dans la wilaya de Boumerdès.
- La présence des avortements dans les élevages étudiés a un lien avec l'origine des brebis (brebis nées dans l'élevage), la race (race Berbère) et la présence de chiens.

4.6. Recommandations pour la prévention des avortements.

Lors d'achat d'animaux :

- s'efforcer de connaître le statut sanitaire du cheptel d'origine et isoler les animaux achetés, en particulier des lots en gestation.
- S'assurer d'un bon déparasitage du troupeau, tenir les points d'eau propres et éviter la l'accés aux chiens. Ramasser et éliminer les produits de la mise-bas (placenta) et les metre hors de portée des chiens.
- Il est important de vacciner les animaux contre les maladies abortives.

Lors d'avortements:

- Isoler les femelles ayant avorté sans les mélanger avec des animaux destinés au renouvellement, ne pas faire adopter des agneaux par des femelles ayant avorté.
- S'engager dans une démarche diagnostique avec son vétérinaire pour identifier la cause.
- Eliminer les produits de la mise-bas pouvant être contaminants (placenta, foetus, litière souillée ...), ne pas les laisser trainer ni donner au chien, et désinfecter les locaux et le matériel ayant été en contact avec ces produits.

Ces mesures sont difficiles à mettre en œuvre, mais sont capables de réduire et diminuer de manière sensible l'apparition des infections.

CHAPITRE 5 : SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE DANS LES ELEVAGES OVINS

5.1. Introduction

Neospora caninum est un protozoaire intracellulaire obligatoire, ce parasite est considéré comme l'une des principales causes de l'avortement d'origine parasitaire chez les bovins dans le monde entier [240;270]. Il a été observé chez différentes espèces animales domestiques et sauvages y compris les bovins, les caprins, les ovins, les équins et les cervidés [271;272;273;274]. Bien que les bovins, hôtes intermédiaires (HI) représentent la cible la plus importante pour *N. caninum* [270;275]. La présence d'une transmission trans placentaire de ce parasite chez les ovins a également été rapportée par Syed et al [153].

Neospora caninum a été signalé d'abord comme une contamination naturelle chez des ovins chez un agneau infecté de manière congénitale en Angleterre [41]. Peu après, la présence de la néosporose d'origine naturelle chez les moutons a été découverte dans le monde entier [276;277]. Comme le parasite *Toxoplasma gondii*, *N. caninum* était également associé à un échec de la reproduction et considéré comme la principale cause d'avortement et de mortinatalité chez les bovins, alors que *T. gondii* a été considéré comme l'un des principaux agents responsables de l'avortement ovins. Cependant, il a également été suggéré par des études récentes que *N. caninum* a joué un rôle essentiel dans les avortements chez les ovins [16;15]. La séroprévalence de *N. caninum* chez le mouton a été rapporté dans le monde entier [90;278; 279].

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Données générales

L'étude a été réalisée entre le mois de mars 2016 et juin 2019. Elle a concerné 500 brebis, 36 chèvres et 25 chiens provenant de 56 élevages. La zone d'étude est constituée de quatre wilayas (Boumerdès, Alger, Blida, Djelfa). Elle est située dans la région centre nord du pays entre les latitudes 43° et 36° Nord et les longitudes 3° et 5° Est. Elle est caractérisée par un climat tempéré à

subsaharien avec des précipitations moyennes annuelles de 338 mm à 830 mm (Figure 5.1).

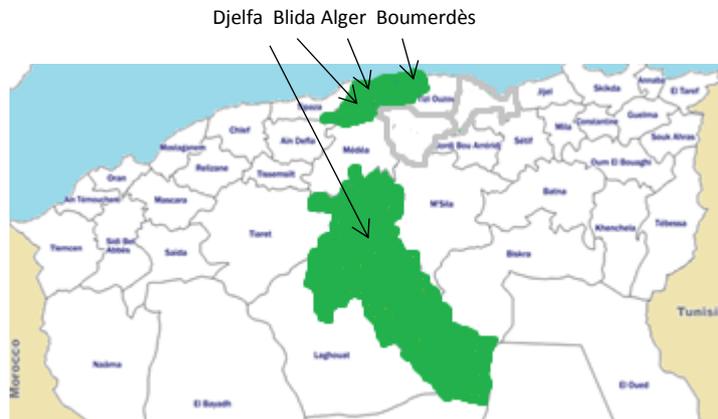


Figure 5.1: la zone d'étude région nord centre de l'Algérie.

5.2.2. Kit de dosage :

La présence d'anticorps anti *Neospora caninum* a été détectée au moyen d'un kit commercial ID Screen *Neospora caninum* de compétition développé par le laboratoire (IDVET, Montpellier France) pour la recherche des anticorps dirigés contre *N. caninum* dans le sérum ou le plasma des ruminants, des carnivores et des autres espèces sensibles (Figure 5.2).



Figure 5.2 : kit ELISA ID-Screen de *Neospora caninum* Multi-species

Les microplaques à 96 puits sont pré sensibilisés avec des extraits purifiés de *Néospora caninum*. Les sérums sanguins et les contrôles sont déposés dans les cupules de la microplaque. Les anticorps anti *N. caninum*, s'ils sont présents, formant un complexe antigène-anticorps qui masque les épitopes de *Neospora caninum* restés libres formant un complexe conjugué-HRP. Après incubation et une étape de lavage, le conjugué anti *N.caninum* à la peroxydase (HRP) est ajouté puis une solution d'arrêt avant la lecture (Figure 5.3). Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérigène. L'interprétation de la coloration est inversement proportionnelle au titre sérique de l'échantillon à tester. Les sérums de contrôle positif et négatif sont fournis avec le kit. Le mode opératoire et l'interprétation des résultats sont détaillés en annexe. La spécificité est optimale par rapport à ELISA indirect et la sensibilité diagnostique est élevée selon le fabriquant. La composition du kit ELISA utilisés pour la présente étude ainsi que le mode opératoire sont mentionnés en annexe (appendice E).

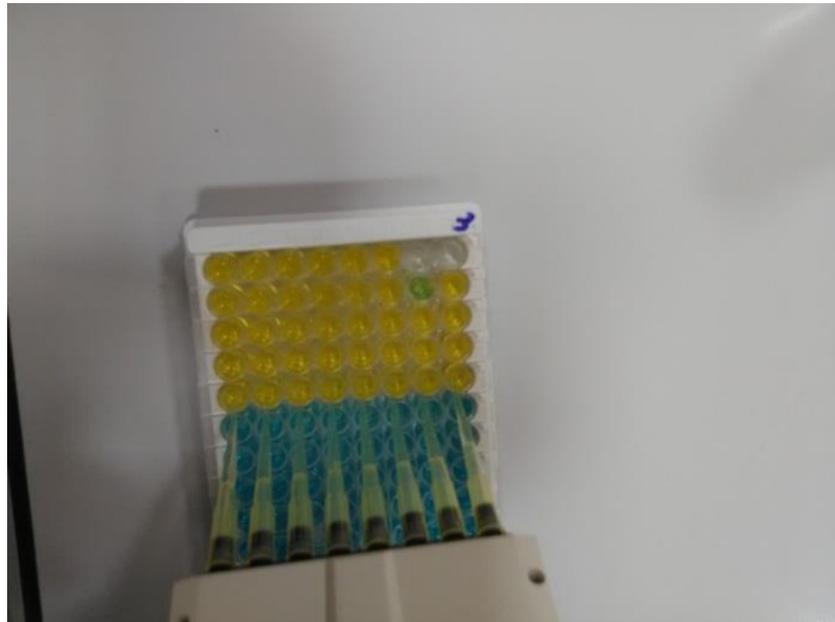


Figure 5.3 : Distribution de solution d'arrêt dans chaque puits avant la lecture des Résultats

5.2.3. Prélèvement

Chaque brebis et chaque chèvre échantillonnées a fait l'objet d'un prélèvement de 5 ml de sang, réalisé par un vétérinaire, au niveau de la veine

jugulaire. Les chiens ont été prélevés au niveau de la veine céphalique au moyen d'un tube sec de type vacutainer. Les prélèvements ont été réalisés dans un délai n'excédant pas six mois après la déclaration de chaque avortement, ce qui rend possible la découverte des anticorps à *Neospora caninum* chez ces femelles sélectionnées. Sachant qu'il a été démontré que les anticorps pourraient être détectables pendant plus de deux ans [153]. Le sang a été ensuite acheminé dans une glacière à une température de +4°C puis centrifugés pendant 5 minutes à 3000 tours par minute. Les sérums ont été recueilli grâce à une micropipette et mis dans des cônes Eppendorf de 1,5 ml puis conservés à une température de -20°C jusqu'au moment de la réalisation des tests sérologiques.

Les analyses sérologiques ont été réalisées pour une première partie au niveau du laboratoire de virologie (HIV) de l'institut Pasteur de sidi Fredj à Alger. Une deuxième partie des analyses a été réalisée au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Draa Ben khedda.

Une étude transversale descriptive réalisée dans l'abattoir de Boufarik situé dans la wilaya de Blida durant la période entre septembre 2018 et mars 2019. Les échantillons de sang ont été prélevés sur 106 béliers au niveau de l'abattoir qui accueille tous les ovins des communes avoisinantes, quel que soit la race et l'âge. Le sang a été prélevé au niveau de la veine jugulaire et a été centrifugé à 1500 g pendant 10min pour obtenir du sérum, puis récupéré à l'aide de micropipettes dans des Eppendorf et stocké à -20 °C jusqu'à la réalisation des tests sérologique. La collecte des données en relation avec les caractéristiques des béliers abattus a été faite sur place avec l'éleveur. Ces données regroupaient, l'âge et la race. L'âge a été réparti en 3 catégories : <1 ans, 1<n<2ans, 2<n<3ans. La race a été répartie en trois catégories OD, HA, rembi et croisée.

5.2.4. Validation du Test

L'analyse a été réalisée avec un lecteur ELISA Bio Rad Pr 3100 TSC (figure 5.4) associé à un laveur de microplaque Bio Rad PW 40 (figure 5.5). Le test est valide si :

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs (DOcn) est supérieure à 0,700

$$\text{DOcn} > 0,700$$

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{cp}) est inférieure à 30% de la DO_{cn}.

$$DO_{cp}/DO_{cn} < 0,3$$

Ces deux conditions étant réunies, une mesure des densités optiques des échantillons testés à une longueur d'onde de 450 nm a été réalisée.

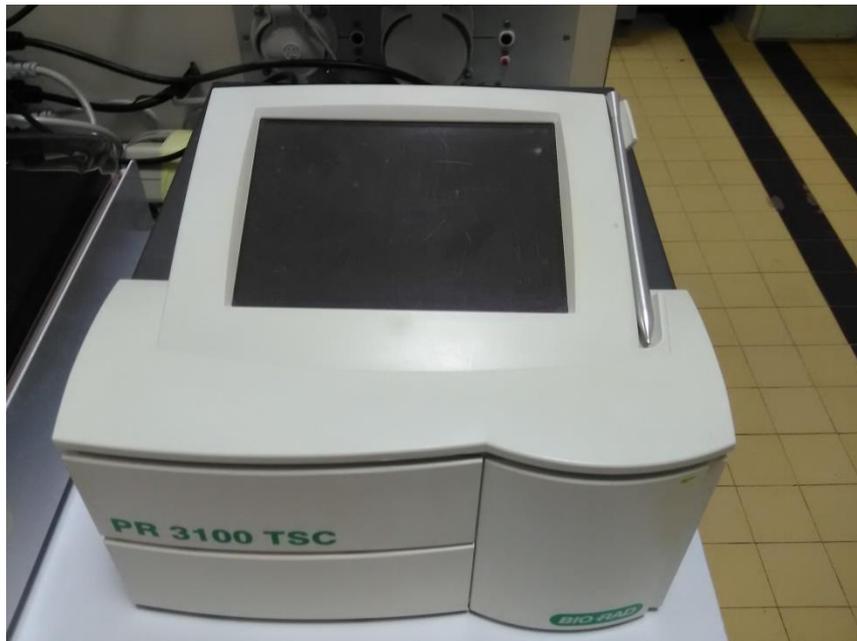


Figure 5.4 : Lecteur de microplaque ELISA



Figure 5.5 : Laveur de microplaques.

Les pourcentages S/N (sample [pour échantillon] / négatif pour sérum de contrôle négatif ont été calculés interprétés selon la notice du fabricant des tests ELISA.

5.2.5. Interprétation

Pour chaque échantillon, on calcule le pourcentage de compétition (S/N%)

$$S/N \% = DO \text{ échantillon} / DO_{cn} \times 100$$

Les seuils recommandés par le fabriquant étaient:

Résultats	statut
S/N % ≤ 50%	POSITIF
50% < S/N% ≤ 60%	DOUTEUX
S/N% > 60%	NEGATIF

L'ELISA de compétition a été réalisée avec le protocole d'incubation pendant la nuit, comme décrit par le fabricant.

5.2.6 Analyse statistiques

Dans les échantillons de sérums enquêtés, le pourcentage de séroprévalence animale apparente (p) de la néosporose a été défini comme étant le rapport du nombre d'animaux infectés sur le nombre total d'animaux examinés. Le pourcentage de la séroprévalence troupeau a été défini comme étant le rapport du nombre de troupeaux infectés sur le nombre total de troupeaux testés.

Prévalence animale (p) = $\frac{\text{Nombre d'animaux positifs à la néosporose}}{\text{Nombre total des animaux testés}} \times 100$

Prévalence troupeau (p) = $\frac{\text{Nombre de troupeaux positifs à la néosporose}}{\text{Nombre total de troupeaux testés}} \times 100$

Le calcul de l'intervalle de confiance (IC) des proportions est donné par la formule suivante, avec un risque d'erreur consentie de 5% (Toma et al., 2011) :

$$IC = \hat{p} \pm z_{\alpha} \sqrt{\frac{\hat{p} \times (q)}{N}}$$

Avec : \hat{p} (proportions estimées de la prévalence apparente de la maladie); q (complément à 1 de la proportion ($1 - p$)); N (nombre d'unités dans l'échantillon); Z_{α} (écart réduit correspondant au risque α).

La liaison statistique entre les variables étudiées a été mesurée à l'aide du test du Chi deux de Pearson et du test exact de Fisher, pour un seuil significatif correspondant à $\alpha = 5\%$. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel version 2007.

Afin d'étudier l'influence de certains facteurs de risques, nous avons utilisé le test du χ^2 d'ajustement. Ce test se base sur une hypothèse, que nous nommerons H_0 , qui montre que les deux facteurs étudiés sont indépendants l'un de l'autre. Le calcul est le suivant et ne peut être réalisé que si les effectifs calculés sont supérieurs à cinq. Dans le cas où les effectifs calculés sont inférieurs ou égal à cinq les calculs sont impossibles à effectuer par des méthodes classiques et nous verrons que les effectifs réels sont trop faibles pour utiliser une autre méthode.

L'analyse des facteurs de risque dans notre étude a été réalisée sur la base des informations recueillies avec le questionnaire établie pour les éleveurs. Premièrement, une analyse uni-variée a été réalisée en considérant le statut de l'exploitation («séropositif» ou «séronégatif») comme variable dépendante et les facteurs de risque potentiels inclus dans le questionnaire comme variables indépendantes. Un élevage a été considérée comme «séropositif» pour *N. caninum* lorsqu'au moins un des animaux testés dans la ferme a donné un résultat sérologique positif pour ce parasite. Tous les facteurs de risque ont été testés en tant que variables catégoriques avec le test du chi carré de Pearson et le rapport de vraisemblance pour estimer l'association entre la variable dépendante et les variables indépendantes lorsque les conditions sont valides. p-value est considéré significatif lorsqu'il est inférieur à 0,05. L'hypothèse nulle (H_0) visait à prouver l'indépendance entre le statut infectieux et les facteurs de risque correspondants (variables catégorielles). Deuxièmement, la modélisation multivariée a été réalisée en utilisant le logiciel R version : 3.5.0. (2018).

Pour mettre en évidence l'association entre chaque facteur et la néosporose chez les béliers à l'abattoir, les analyses statistiques ont été réalisées sur SPSS version 13. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05 utilisant le test de

KHI2 de Fisher adapté pour les variables qualitatives Les résultats ont été exprimés sous forme de pourcentage. L'association entre chaque facteur et la néosporose est estimée avec intervalle de confiance à 95 %.p-value est considéré significatif lorsqu'il est inférieur à 0,05.

5.3. Résultats

5.3.1. Séroprévalence dans les élevages

A l'échelle troupeau sur 56 élevages étudiés, 04 élevages se sont révélés positifs à *N. caninum*. La séroprévalence globale des troupeaux dans la région centre nord (Blida, Alger, Boumerdès, Djelfa) pendant la période étudiée est de 7,14%.

Concernant la séroprévalence par wilayas, on note un taux élevée dans La wilaya d'Alger (100%), suivie par la wilaya de Boumerdès et de Djelfa avec respectivement 10% et 5,88%. La wilaya de Blida en revanche n'a enregistré aucun cas positif (tableau 5.1). l'analyse statistique a révélé que la séroprévalence des élevages par wilaya est significative ($p < 0,01$).

Tableau 5.1: Séroprévalence dans les élevages des wilayas étudiées.

Wilayas	Elevages prélevés	Positifs	Prévalence %	IC	Valeur p
Boumerdès	10	01	10	0.00-28.59	0.007
Alger	2	02	100	0.00-100.00	
Blida	27	00	00	0.00-11.11	
Djelfa	17	01	5,88	0.00-17.64	

5.3.2. Séroprévalence individuelle

Avec un total de 500 brebis, 36 chèvres et 25 chiens testés, 06 brebis positives à *néospora caninum* soit un taux de séroprévalence individuelle de **1,2%** dans la région centre pendant la période étudiée (tableau 5.2.).

Tableau 5.2 : Séroprévalence individuelle dans les différentes wilayas étudiées.

Wilayas	Brebis prélevés	Positifs	Prévalence %
Boumerdès	103	02	1,94

Alger	47	03	6,38
Blida	202	00	00
Djelfa	148	01	0,67
Total	500	06	1,2

On remarque que le taux de prévalence individuel le plus élevé est constaté dans la wilaya d'Alger (6,38%) alors que la wilaya de Blida n'a signalé aucun cas de néosporose.

Il est à noter que les 36 chèvres en cohabitation avec les brebis étaient toutes avortantes et ont été prélevées et analysées en même temps que les brebis étudiées. Dix-neuf chèvres dans la région de Blida, cinq dans la région de Boumerdès et douze dans la région d'Alger. L'analyse sérologique n'a détecté aucun anticorps anti *N. caninum* chez cette espèce. Concernant la race canine il a été constaté une séropositivité de 4% (01/25).

5.3.3. Etude de l'effet des différents facteurs de risques

Nous avons étudié les données récoltées grâce au questionnaire afin d'évaluer l'influence ou non de la séroprévalence calculées précédemment sur certains paramètres comme les facteurs zootechniques (l'âge, Race, mode de l'élevage, origine des animaux), la santé animale (les avortements et les mortalités) et les facteurs susceptible d'être directement lié à la néosporose (présence de chiens, le contact avec la faune sauvage et la contamination des aliments).

5.3.3.1. Région

Nos résultats révèlent que la variable région est hautement significative dans l'analyse uni variée par le test du Khi carré de Pearson ($p = 0.003$). Malgré un échantillon faible au niveau de la wilaya d'Alger (47 brebis) on remarque que le taux de présence des anticorps anti *N. caninum* est important (6,28%) par rapport à ceux dans les autres wilayas tels que Boumerdès : 103 brebis (1,94%) et Djelfa : 148 brebis (0,67%) alors que la wilaya de Blida avec le plus grand échantillon analysée (202 brebis) n'a présenté aucun anticorps anti *N. caninum*.

5.3.3.1.1. Répartition géographique

La localisation géographique des élevages dans les différentes wilayas sont défini par la zone cotière qui borde la mer méditerranéenne notamment Alger et Boumedès et la zone arrière centre du tell et les hauts plateaux concernant Blida et Djelfa (tableau 5.3).

Tableau 5.3: Répartition géographique des élevages

Zones homogènes	Nombre des élevages	positif	negatif	Seroprevalence (%) (IC 95%)	Valeur p
Zone cotière	12	03	09	25(0,50- 49,50)	0,0067
Zone arrière	44	01	43	2,27(0,00- 6,67)	

5.3.3.2. Age

Nous avons étudié l'effet de l'âge des brebis en utilisant la répartition des classes d'âges adopté par Figluolo et ses collaborateurs en 2004. Cette répartition concerne les brebis <1ans, 1 à 4 ans, > 4 ans. Sur un total de 500 brebis étudiées le pourcentage de la séroprévalence est de 06 (2,4%) chez les brebis entre 1 à 4 ans (IC 95%: 0.42-3.65;P=0,972). La répartition des classes d'âges ne montre aucune association significative avec la séroprévalence à *N. caninum* ($p > 0,05$).

5.3.3.3. Race

Sur les différentes races étudiées, les deux races positives à néospora caninum étaient Ouled Djallal (1,97%) avec (IC 95%:0.05-3.88), et la race croisée (1,06%) avec (IC 95%:0.00-2.52). L'analyse statistiques chez brebis de race n'a montré aucune association avec la séroprévalence ($p > 0,50$) (tableau 5.4)

5.3.3.4. Mode d'élevage

La séropositivité était retrouvée dans les élevages extensifs 04 (9,52%) avec (IC 95%:0.28-2.48;p=0,3408). Le mode d'élevage n'influence pas la séropositivité vis-à-vis de *N.caninum* ($p > 0.05$).

5.3.3.5. Source d'abreuvement

Le Tableau (5.4) ci-dessous ne montre pas de lien significatif entre la source d'abreuvement des brebis et la seroprévalence de *N. caninum* dans les élevages ($p=0,085$). En effet, il est noté dans 16,7 et 18,75% des fermes, utilisent une source d'abreuvement (puit, forage) ou réserve en surface.

5.3.3.6. Origine des animaux

La séroprévalence de *N. caninum* chez des brebis nées dans l'élevage est plus élevée (14,28% ; IC 95%, 0,04-3,08) par rapport aux brebis mixtes (nés dans l'élevage et achetés) qui est de (5,71% ; IC 95%:0,000-2,29). Aucune association significative entre l'origine des brebis et la séropositivité n'a été observée ($p>0,05$) (tableau 5.4).

5.3.3.7 Présence d'avortements

L'analyse statistique a révélée une association très significative entre la présence des avortements, des mortinatalités et *N. caninum* chez les brebis étudiés ($p=0,015$). Il a été noté que parmi les 56 élevages ayant un antécédent d'avortement et de mort nés, 04 (09,53%) possédaient des anticorps anti *N. caninum*.

5.3.3.8. facteurs de risques liés directement à la néosporose

De nombreuses études décrites dans la littérature confirment que la présence de chiens (hôte définitif) et le devenir des avortons et arrières faix, ainsi que le contact avec la faune sauvage et la contamination des aliments sont liés directement à la présence de *N. caninum*, les résultats sont mentionnés dans le tableau (5.4).

5.3.3.8.1. Présence de chien

On remarque que toutes les brebis en contact avec les chiens sont positives à *N. caninum* (1,46%), (IC : 0,30-2,63; $P=0,25$) contrairement a celles appartenant aux élevages ne possédant pas de chiens. Cependant les tests statistiques n'ont révélés Aucune différence significative entre la présence de

chiens et la séroprévalence de *N. caninum* chez les brebis ($p > 0,05$). Dans ce cas-là on rejette l'hypothèse d'indépendance: la séroprévalence vis-à-vis de la néosporose est liée à l'accès des chiens dans les élevages, ce dernier étant HD de *Neospora caninum*.

5.3.3.8.2. Accès des chiens aux aliments

Aucune différence significative n'a été observée entre les élevages dont les chiens ont accès aux aliments et ceux dont les chiens n'y ont pas accès ($p > 0,05$).

5.3.3.8.3. contact avec la faune sauvage

Aucune différence significative entre la prévalence des élevages ayant une possibilité d'être en contact avec la faune sauvage et les élevages n'ayant pas cette possibilité (IC 95%:0.312-2.72 ; $P=0,079$).

Tableau 5.4 : répartition des brebis en fonction des facteurs testés dans l'analyse univariée par le test du Khi-deux de Pearson.

Variables	Catégorie	Nbre	Néospora caninum			p
			Positifs (%)	Négatifs (%)	IC	
Région	Boumerdès	103	02(1.94)	101(98.06)	0.00-4.61	0.003
	Alger	47	03(6.38)	44(93.62)	0.00-13.37	
	Blida	202	00(00)	00(100)	0.00-1.48	
	Djelfa	148	01(0.68)	147(99.32)	0.00-1.99	
Age	<1ans	26	00(00)	26(100)	-	0.117
	1 à 4 ans	293	06(2,04)	287(97,95)	0.42-3.65	
	> 4 ans	181	00(00)	181(100)	-	
Race	OD	203	04(1,97)	199(98,03)	0.05-3.88	0.499
	HA	99	00(00)	99(100)	0.00- 3.03	
	RB	10	00(00)	10(100)	0.00-30.00	
	Croisés	188	02(1,06)	186(98,93)	0.00-2.52	
Mode d'élevage	Intf	65	00(00)	65(100)	0.00-4.62	0.340
	Extf	435	06(1,38)	429(98.62)	0.28-2.48	
Origine des animaux	Acht	36	00(00)	36(100)	0.00-8.33	0.663
	Mxt	208	02(0,96)	206(99,04)	0,00-2.29	
	NDL	256	04(1,56)	252(98,4)	0.04-3.08	

Source d'eau	Réseau	244	00(00)	244(100)	0.00-1.23	0,085
	Puits, forage	189	05(2,65)	184(97,35)	0.36-4.93	
	Reserve en surface	55	01(1,82)	54(98,2)	0.00-5.35	
	Eau de source	12	00(00)	12(100)	0.00-25.00	
Avortements mortinatalités	Présence	73	03(4,11)	70(95,90)	0.00-8.66	0.015
	Absence	427	03(0,70)	424(99,3)	0.00-1.49	
Présence de chiens	Oui	410	06(1,46)	404(98,54)	0.30-2.63	0.251
	Non	90	00(00)	90(100)	0.00-3.34	
Accès à l'alimentation	Oui	396	06(1,52)	390(98,48)	0.312-2.72	0.210
	Non	104	00(00)	104(100)	0.00-2.88	
Contact avec la faune sauvage	Non	261	01(0,38)	260(99,62)	0.00-1.14	0.079
	Possible	239	05(2,09)	234(97,91)	0.28-3.91	

Tableau 5.5: Analyse multivariée de la séroprévalence de *N. caninum*

Coefficients	Estimation	Erreur standard	z value	Pr (> z)
(Intercept)	-3.1287	0.7407	-4.224	0.000024 ***
Régions [BLIDA]	-18.5441	2043.1630	-0.009	0.9928
Régions [Boumerdès]	-1.2848	0.9379	-1.370	0.1707
Régions [Djelfa]	-2.0801	1.1863	-1.754	0.0795
avortements. Mortinatalité.	1.1465	0.8548	1.341	0.1798

z value: valeur de *wald*.

Nous avons traités l'ensemble des variables par régression logistique dans le but d'identifier et de quantifier les facteurs de risques les plus influents. Aucun facteur n'est significatif par l'analyse multivariée (tableau 5.5).

5.3.3.12. Prévalence de la néosporose au niveau de l'abattoir

Sur un total de 106 béliers La séroprévalence total de *Neospora caninum* chez les béliers au niveau de l'abattoir de Blida entre janvier et mars 2018 est de 1,88% (tableau 5.6), avec un IC à 95% **(00%-04,48)**.

Tableau 5.6: séroprévalence de la néosporose au niveau de L'abattoir de Boufarik.

Wilaya de Blida	Nombre	positifs	Négatifs	Sero-prévalence	IC95 %
Abattoir Boufarik	106	02	104	1,88%	00-4,48

Nous avons étudiés deux facteurs qui pourraient influencer la séropositivité des béliers dans l'abattoir (tableau 5.7). Les seuls facteurs qu'on a pu recenser lors des prelevements dans près abattage sont la race, et l'âge. Concernant le sexe, la législation en Algérie interdit d'abattre les femelles sauf cas de pathologies apparente.

Tableau 5.7. Rapport entre les Facteurs épidémiologiques et les résultats sérologiques pour *Neospora caninum* au niveau de l'abattoir de Boufarik (Blida).

Variables		Nombre	Positifs	%	IC95%	P
BLIDA Boufarik	Race					1 NS
	OD	32	00	00	0.00-9.37	
	HA	07	00	00	0.00-42.85	
	Croisée	67	02	2,98	0.00-7.05	
	Age					0.252 NS
	<1 ans	09	01	11,11	0.00-31.64	
1<n<2ans	67	01	1,49	0.00-4.39		
2<n<3ans	30	00	00	0.00-10.00		

La race croisée a montré des d'anticorps anti néospora caninum, avec (2,98 %) 2/67 béliers séropositifs avec un IC 95% (0.00-7.05). Et Les résultats statistiques ne révèlent aucune relation significative entre la séropositivité des béliers et le facteur race ($p= 01$). En ce qui concerne l'âge, la séroprévalence a concerné les béliers inférieurs à 1ans (11,11%) 1/9 ; IC 95% (0.00-31.64) et entre 1 à 2 ans (1,49%) 1/67; IC 95%(0.00-4.39). Les résultats statistiques ne révèlent aucune relation significative entre la séropositivité des béliers et le facteur âge $p= 0,25$.

5.4. Discussion

Ces dernières années plusieurs études de différente répartition géographique ont fait l'objet sur la néosporose ovine et cela pour la mise en œuvre efficace d'un protocole de contrôle [280]. En effet l'infection a *N. caninum* chez l'espèce ovine est capable de provoquer des avortements, mais elle n'a pas la même ampleur que chez l'espèce bovine [73;91;16;135]. La néosporose ovine est très peu étudiée en Afrique même si les données moléculaires ont confirmé l'infection en Tunisie [281].

La séroprévalence de néospora caninum chez les brebis avortantes et non avortantes identifiée dans notre étude est de 1,2 % (6\500) impliquant des brebis séropositives dans 07,14%(4/56) des élevages. Ces résultats sont proche de l'enquête faite dans région de Constantine 2.2% [282] et dans d'autres pays utilisant la même technique de diagnostic (ELISA) tel que rapportés en Australie avec une séroprévalence entre 0% et 2,2% [107], en Slovaquie 3,7%[283], en Espagne 1,9% [284], au royaume uni 0,45% [112], et en Iran de l'ouest 1,13% chez les moutons avortés et de 1,7% chez les moutons sans antécédents d'avortements [114], dans une autre étude il a été noté 2.2% (8/358) et 1,9% (3/155) respectivement chez des brebis avortantes et brebis sans antécédents d'avortements [116], en Italie 2% [89], en Turquie 2,1% [285]. Cependant notre séroprévalence est inférieur aux taux identifiés dans la région Est d'Alger 22,82% [286], en Tunisie 10,6% [281], dans le centre de la chine 7,32% [287]. Au Sénégal 41,9% [288], à Galice en Espagne 10,1% [108], en république tchèque 12% [110], au nord de la Jordanie 19% [90], au nord Est de la pologne 13% [289], 57% dans la région de Tibet en chine [290].

D'autres études dans le monde utilisant différentes techniques tels que l'IFAT au Brésil dont la séroprévalence était aussi faible 1,8% [118], et parfois aussi élevée que 64,2% [119]. Cette variation des taux sériques positifs de *N. caninum* dans le monde diffèrent par rapport aux tests utilisés et le seuil retenu, mais aussi à l'âge, la race, le sexe et le mode d'élevage [291]. En effet il a été suggérée que bien que les ovins soient sensibles à l'infection parasitaire, ils n'atteignent pas les niveaux des bovins et des chiens, même s'ils sont situés dans la même région, ils sont exposés à des risques et des conditions de confinement similaires à celles des bovins [292], ce qui est en accord avec la perception générale que la néosporose ovine est moins fréquente et moins importante que chez les bovins et les canins [73].

Les séroprévalences de la néosporose obtenues dans les élevages des cinq wilayas étudiés est très faible. Il est à noter que la wilaya de Blida est la seule à ne présenter aucun cas positif (100% des élevages séronégatifs). Le pourcentage des brebis séropositives est toute fois plus élevé dans la région d'Alger que dans la région de Boumerdès et Djelfa, respectivement 100% ,10%, 5,88 %, une différence statistiquement très significative ($p=0,007$). Rappelons que l'échantillon étudié dans la région d'Alger n'est pas important par rapport aux autres régions cela ne nous permet pas de comparer ces résultats avec les autres wilayas. En effet, des différences importantes entre les pays et dans le même pays, entre les régions ont été rapportées par plusieurs auteurs [293;294;[295];[296];[118]. Une étude réalisée dans les différentes régions du Brésil a identifié 7,45% (21/282) de moutons positifs à Bahia [297], 1,71% (7/409) dans Rio Grande Norte [118], 10,12% (16/158) à Pernambuco [298], 9,62% (33/343) dans Alagoas [299], 4,69% (3/64) dans Maranhão [300], 55.88% (380/680) dans Sergipe [301] et 68,33% (41/60) dans le sud Est de Bahia [302]. Ceci est en accord avec l'effet région statistiquement significatif, démontré dans notre étude. Mais il est important de souligner qu'on ne peut extrapoler les résultats d'une analyse des facteurs de risques d'une région à l'autre. Cela est dû à la possibilité d'exposition à différentes sources d'infection dues à *N. caninum* : diversité dans la gestion sanitaire et type d'exploitation parmi les troupeaux [303], l'âge des animaux, la taille de l'échantillon [73] et les systèmes de production [304]

On a pu définir dans notre étude en fonction de la zone d'étude : la zone côtière notamment la wilaya d'Alger et Boumerdès et la zone non côtière (zone arrière) : Blida et Djelfa. On a relevé une différence statistiquement significative entre les deux zones ($p < 0,05$). Ainsi les élevages de la zone côtière (Alger, Boumerdès) ont une séroprévalence plus grande (25%) que ceux de la zone non côtière (2,27%) (Blida et Djelfa). Ces différences sont attribuées à de plus grandes possibilités d'exposition à différentes sources d'infection [293], comme le facteur climatique qui influence le maintien et la viabilité des oocystes dans l'environnement [303;305;306].

Dans une étude faite au Brésil il a été observé que *N. caninum* présente une distribution limitée dans les zones à forte humidité relative, ce qui pourrait maintenir la survie des oocystes de *N. caninum* dans l'environnement [307]. Une autre étude utilisant différentes méthodes sérologiques, suggèrent que les variations du taux de prévalence peuvent également être dues à une contamination environnementale et des conditions climatiques différentes. En effet, les régions qui présentent un indice de pluviométrie annuelle élevée, présentent aussi un taux de prévalence plus élevé pour *N. caninum* [9]. La même différence a été observés entre les zones côtières (Alger) et non côtières (Mitidja) par Ghalmi [188] à l'est d'Alger chez l'espèce bovine. Cela est en accord avec nos résultats malgré le fait que la prévalence chez les bovins reste plus élevée que chez les ovins, et cela pourrait s'expliquer par la forte sensibilité des bovins à l'infection à *N. caninum* [308].

Nos résultats révèlent que la sensibilité de *N. caninum* chez les ovins dans la région d'étude est très faible. A l'échelle internationale, de nombreux auteurs ont réalisé des études de prévalence concernant *N. caninum* chez les petits ruminants. Les estimations de prévalence obtenues sont extrêmement variables en fonction de l'échantillonnage, l'année d'études, la localisation géographique des animaux et des fermes étudiés, le type d'étude, les méthodes diagnostiques utilisées ainsi que les critères définissant un résultat positif et le type de prévalence étudié. Il est donc généralement très difficile de comparer les résultats des différentes études entre elles.

Nos résultats de l'analyses univariés démontrent une association significative entre l'infection par *N. caninum* et les problèmes de reproduction (avortements et mortinatalités). Ce qui est en accord avec les résultats des

différentes études épidémiologique trouvés par des chercheurs au Bresil [309;277] et en Algérie dans la région Est d'Alger [258]. Même constat dans une autre étude faite dans l'état de São Paulo au Bresil ou les auteurs ont trouvé une association significative de séropositivité de *N. caninum* avec les avortements [310;311], déduisant que les causes infectieuses peuvent avoir moins d'importance par rapport aux avortements.

Le même résultat concernant la mortinatalité, nos résultats corroborent ceux rapportés dans d'autres études ou les auteurs ont pu déterminer que la néosporose ovine était liée aux mortinatalités dans les troupeaux [41;312;16 ; 313]. Cependant, on connait que l'échec de la reproduction est multifactorielle et donc la contribution possible à d'autres facteurs biologique et non biologique ne peut être totalement exclue. En outre il faut signaler que les anticorps anti *Neospora caninum* chez la brebis séropositive de la région de Djelfa étaient très élevés par rapport à ceux retrouvés chez les brebis des autres régions sachant que le chien (hôte définitif) dans cet élevage était diagnostiqué positif à *Neospora caninum*, le même constat a été fait par González-Warleta Marta [16] reflétant l'existence d'une infection active qui peut provoquer un échec de la reproduction dans laquelle la transmission horizontale est la plus probable.

Il faut savoir que la présence d'anticorps chez les brebis ne fournit pas de diagnostic concluant de néosporose qui doit être confirmée par l'analyse des fœtus et ou agneaux par d'autres techniques, telle que la PCR (pour détecter l'ADN du parasite) et l'histologie (pour mettre en évidence les lésions associées aux protozoaires et ou antigènes parasitaires). Néanmoins, l'analyse des fœtus et/ou les agneaux est généralement difficile à effectuer dans les troupeaux ovins, car les avortements passent souvent inaperçus ou encore trouvés autolysees sur le terrain.

Dans la présente étude, la séroprévalence de *N. caninum* a été rapportée chez les brebis appartenant à la classe d'âge de 1 à 4 ans (2,4%) mais aucune différence significative n'a été enregistrée. De même pour deux études similaire faites en Irak [314] et en Turquie [315], ou la séroprévalence était élevé chez les brebis de plus de 1 et 3 ans en déduisant que la séropositivité augmente avec l'âge. En revanche nos résultats diffèrent des études réalisées au Brésil [296] en l'Italie [108] et en Espagne [316;278] dans la région de Henan au centre de la

chine [287] ou la séroprévalence de *N. caninum* varie considérablement entre les différents groupes d'âge.

Concernant la race, la race ouled djellal et la croisée (66,66% et 33,33%) respectivement semblent plus à risque par rapport aux autres races incluses dans l'enquête (Hamra et Rembi). Nous n'avons pas pu mettre en évidence un lien entre la séropositivité de *N. caninum* et la race étudié ($p > 0,05$). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres études au Brésil, [317;306] et aussi dans une étude dirigée par Moura et al en 2014 [327] où il a signalé que la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* était plus élevée chez les ovins de la race croisée.

Pour le facteur mode d'élevage, Les brebis séropositives à *N. caninum* ont été élevées dans un système extensif à 100%. Les résultats de l'analyse univariée ne montre pas de lien significatif ($p > 0,05$). Ils diffèrent de ceux rapportés dans des études antérieures, au Nord Est du Brésil [299];[279] et dans la région centre de la chine [287]. où les auteurs suggèrent que le système d'élevage extensif est un facteur de risque très important associé à l'infection à *N. caninum* chez les ovins qui peuvent être plus exposés dans l'environnement au contact étroit avec l'hôte définitif qui excrète des oocystes ou à des points d'eau stagnants contaminés, même si les oocystes peuvent être plus dispersés dans l'environnement.

Nous avons pris en considération l'origine des brebis dans les élevages, en premier lieu les brebis qui sont nées dans l'élevage et en second les brebis achetées des marchés à bestiaux, mais en faisant le dépouillement des questionnaires un troisième type d'élevage a été ajoutée : les élevages mixtes qui contiennent les deux origines en même temps.

Dans nos résultats nous avons remarqué que les élevages séropositifs sont partagés entre les élevages mixtes et les élevages présentant des brebis nées dans l'élevage à 100% par rapport aux élevages achetées des marchés à bestiaux qui sont tous négatifs. L'analyse des résultats ne révèlent pas de différence statistiques ($p > 0,05$) cela peut être expliqué par le fait que les brebis nées dans les élevages peuvent maintenir l'infection sachant que la transmission verticale est la voie la plus importante donc le parasite se transmet de la mère à la fille. Alors que dans les élevages achetées il y'a un renouvellement du cheptel ce qui explique l'absence de *N. caninum* dans ces élevages.

Les chiens (hôtes définitifs) jouent un rôle essentiel dans la transmission de la néosporose en sécrétant des oocystes dans l'environnement [277];[318];[287]. Ils peuvent transmettre le parasite aux hôtes intermédiaires tels que les bovins, les ovins ou être eux même cliniquement atteints. De nombreuses études de la séroprévalence chez le chien sont décrites dans la littérature que ce soit chez les chiens de campagne et ou chiens de ville.

En Algérie dans des études antérieures la séroprévalence chez les chiens étaient de 21,90 % dont 44,44% appartenaient aux chiens de fermes dans la région d'Alger [319] et 12,42% dont 20,6% appartenaient aux chiens de campagnes dans la région de Blida [320].

Dans les 56 élevages prélevés dans cette étude, 44 élevages ovins avaient au moins un chien. Le nombre total de sérums de chiens analysés dans ces élevages est de 25 dont un s'est révélé positif, donc une séroprévalence de 04% obtenue avec le même test utilisé pour les brebis des élevages étudiés.

La séroprévalence des chiens dans les élevages ovins est de 4% dont le seul est retrouvé dans la région de Djelfa 01/03 (33,4%), alors que les chiens des autres régions : Boumerdès (00/02), Alger (00/02), et Blida (00/18) se sont révélés négatifs. Dans tous les élevages concernés les chiens pouvaient circuler au milieu des ovins et avaient la possibilité de consommer les placentas et les arrières faix (même lorsque ceux-ci étaient jetés). Cela n'a pas eu d'influence sur la séroprévalence ($p > 0,05$) ceci va dans le même sens que les études antérieures rapportées par Figliuolo et al. [293] et Machado et al, [277] dans la région de sao paulo, Romanelli et al., [295] dans la région de Paraná ;souza neto et al [298] dans la region de Pernambuco ;saores et al [118] dans la region Mossoró, Rio Grande; Salaberry et al., [309] a Uberlandia au Bresil et rapporté par Lopez et al 2010 [146] à Madrid en Espagne, Castaneda-Hernandez et al, [93] à Aguascalientes au Mexique.

L'absence de corrélation entre la présence de chiens et la séropositivité à *Neospora caninum* dans notre étude implique que la transmission de la maladie dans notre cheptel est verticale, ceci concorde avec les observations faites par Hall et collaborateurs [321] et Syed- hussain et al [322] qui rapportent que chez les chiens la transmission postnatale, impliquant des oocystes, se produit rarement dans la nature et que la transmission verticale du parasite est le principal moyen d'infection pour les ruminants chez les femelles infectées avant et/ou

pendant la gestation. Gazzonis et collaborateurs [323] et Cerqueira-Cézar et al [324] expliquent que les chiens n'ont pas toujours été identifiés comme facteur de risque vis-à-vis de *N. caninum*. Ceci est contraire à la conclusion de Abo-Shehada et Abu-Halaweh [90], Salaberry et al [309], Wang Shuai [287], la présence continue de chiens à proximité des troupeaux ont été confirmés comme un des facteurs de risque de survenue à une infection à *N. caninum* chez les ovins. Ainsi Al-Madjali et al [113] a constaté que la présence d'un chien sur la propriété, qu'il soit infecté ou non, est un facteur de risque de néosporose. Il est important de souligner que la taille de l'échantillon sélectionné est très faible dans les différentes régions. En effet les chiens sont difficile à prélever en sachant que dans la plus part du temps ils vivent en liberté.

Concernant le facteur accès des chiens aux aliments, 75% des élevages avaient des chiens en contact avec les aliments. Nos résultats n'ont pas été statistiquement significatifs ($p > 0,05$). En revanche plusieurs études montrent que les ovins peuvent être infectés principalement par la consommation de boissons et d'aliments contenant des oocystes sporulés de *N. caninum* [277];[318];[325]. Dans notre étude les chiens examinés dans ces élevages étaient séronégatifs à 66,6%, cela implique que les brebis sont contaminés par une autre source à savoir la contamination trans placentaire qui est le principale mode chez les ovins [321];[322]. L'analyse statistique fait ressortir une association non significative ($p > 0,05$) entre la source d'abreuvement et la séropositivité vis avis de *N. caninum* ce qui va à l'encontre des résultats d'autres études menés par Machado [277]; Moreno [92]; Gonzalez [16] et Wang [287] qui ont démontrés que l'eau potable contaminés par des oocystes sporulés de *N. caninum* est considérée comme une source potentielle d'infection post-natale pour les ovins. Ainsi la contamination des sources d'eaux stagnantes ou les sources d'eaux courantes avec les matières fécales des animaux domestiques ou sauvages peut conduire à une plus grande présence d'ovins séropositifs [298];[293];[118];[326];[327]. Les résultats de l'analyse par régression logistique multivariée finale montrent que pour les élevages ovins, aucun facteur étudié ne constitue un risque à *Neospora caninum*.

Enfin on parlera brièvement de la néosporose chez les caprins et des résultats obtenus pour les chèvres cohabitant avec les brebis et les chiens dans les élevages étudiés.

La néosporose chez les chèvres est répandue dans plusieurs régions du monde [328]; [329], [330]; [312]; [92], la séropositivité dans un élevage caprin est généralement associée aux avortements et à aux mortinatalités [328]; [331]; [329]; [43]; [332]; [333]; [334]: [92]; [333].

La séroprévalence des anticorps anti- *N. caninum* ont été retrouvés en France 8,9% [335], en Autriche 68,7% [336], en Pologne 0,47% [337], en Turquie 10,2% [338], en Slovaquie 15,5% [339], en République tchèque 6% [280], en Roumanie 2,3% [340], dans la région de Qinghai en Chine 7,23% [341], en Italie 5,7% [342], en Espagne [5,6% [343]; 6% [344]; 1,08 [345]], au Brésil 3,3%, 2,9% ,6,4% respectivement [357]; [307]; [346].

En Algérie la néosporose chez les caprins est méconnue. En effet la pratique d'élevage en Algérie est mixte (ovin et caprin) et cela a été confirmé dans la région d'étude [348] on a prélevé des chèvres avortantes qui cohabitent avec les ovins. Des anticorps anti *Neospora caninum* n'ont été retrouvés chez aucune des chèvres analysées 00/36. Ces résultats sont proches des études antérieures faites au Brésil à Mossoro, dans le nord-est de l'État de Rio Grande do Norte 1,05% (4/381) [349]. Cependant il a été rapporté au Brésil 17,39% (8/46) chez 46 caprins dans cinq fermes [300] et au nord-est de l'État de Bahia, 15% (58/384) [350] et à Sao Paulo, 19,77% (161/923) [351], en Tunisie 8,89% [352], en Grèce 21% (8/21) chèvres et 6,9% sur 375 caprins dans 50 élevages mixtes respectivement [289]; [353], en Chine 7,23% (47/650) [354], au sud-ouest de l'Iran avec 185 chèvres 20 (10,8%) [355].

Il est difficile de comparer les fréquences d'infections entre les régions car les études utilisent des tests sérologiques, des valeurs seuils et des méthodes d'échantillonnage différents. Les différences de séropositivité entre les régions d'un même pays peuvent s'expliquer par des conditions climatiques différentes qui interfèrent avec le maintien et la viabilité des oocystes dans l'environnement, ainsi que par différents types de gestion sanitaire et d'échantillons d'animaux [303] et la sensibilité ou/et spécificité des tests de diagnostic [191]; [339]; [344]. Il convient de mentionner que le nombre de chèvres analysées est limité et aucun cas positif n'a été détecté malgré les épisodes d'avortements signalés chez toutes les femelles vivant dans les élevages ovins sachant que ces derniers ont révélé une prévalence très faible.

Nous concluons que l'infection à *N. caninum* ne se produit pas chez les chèvres des élevages ovins de la région d'étude. Néanmoins, l'échantillon étant très faible, d'autres études sont nécessaires pour obtenir plus d'informations sur la situation dans les populations de petits ruminants dans d'autres régions avec un plus grand nombre d'élevages caprins pour comparer avec d'autres études dans différents pays.

Concernant la séroprévalence chez les béliers d'abattoir une infection à *Neospora caninum* a été signalée dans différentes régions du monde et elle est actuellement observée sur les cinq continents [66]. Les études séro-épidémiologiques chez les béliers sont rares, avec une séropositivité de 0,45% (3/660) rapportée en Angleterre [112] alors que la prévalence au Brésil varie de 1,8% dans l'état de Rio Grande do Norte [118] à 64,2% à Pernambuco [119].

Lors de la présente enquête dans l'abattoir de Boufarik situé dans la wilaya de Blida, la prévalence de la néosporose chez les béliers abattus est estimée à 1,88 %. Aucune étude à l'échelle nationale mesurant la prévalence de la néosporose chez les béliers n'a été menée auparavant. Ce taux est inférieur aux études faites en Chine 6.16 % (18/292) [287].

Notre étude a concerné des béliers au niveau de l'abattoir de Blida car ces derniers afflux de différentes communes de la wilaya. Ce choix est fait en raison de la possibilité d'accès. La séroprévalence à *Neospora caninum* chez les béliers déterminée dans cette étude est de 1,88% (2/106). Nos résultats sont proches de ceux réalisés en Espagne avec une prévalence de (3,9%) chez les béliers infectés naturellement [356]. En revanche nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés dans des études faites au niveau des abattoirs au Brésil avec un taux de 7,69% (1/13) [357] et 9,6% [299], en Iran 6,1% (10/163) [355], au Tibet en Chine 10,8% (69/638) [290], en Tunisie 25% [281].

Cette différence peut être attribuée à de nombreux facteurs tels que le système de gestion des élevages [64] et le climat [315]; [239]. L'analyse de nos données par âge a montré que la séroprévalence de la néosporose chez les béliers est inférieure à 1 an (11,11%) 1/9 ; IC 95% (0.00-31.64) et entre 1 à 2 ans (1,49%) 1/67; IC 95%(0.00-4.39) et par race (2,98%) 2/67 ; IC95% 0.00-7.05 résultats statistiques ne sont pas significatifs ce qui va à l'encontre des études faites par Barber [36]. Même observations constatés par Figliuolo et collaborateurs

[293], Romanelli et al [295], Soares et al [118], Ueno et al [296] et Salaberry et al [309].

5.5. Conclusion

L'étude de la séroprévalence nous a donné un faible taux de positivité chez toutes les espèces étudiées (ovins, caprins et chiens). Ce résultats peut être du à une sensibilité diminuée vis avis du parasite notamment chez les ovins, mais aussi une faible possibilité de contact avec *N. caninum* malgré une promiscuité entre les différentes espèces dont l'hôte définitif (le chien). L'étude a démontré que l'avortement reste la manifestation la plus importante de la maladie à travers l'étude univariée qui a mis en évidence le lien entre ce symptôme et la séroprévalence.

Il est à signaler, malgré tout, que le faible nombre de brebis positives (6/500) ne nous permet pas une extrapolation sur la totalité du cheptel en Algérie, une variation peut exister en fonction de la situation géographique telle qu'il a été démontré dans notre travail entre la région côtière et intérieure.

Enfin, notre travail peut être considéré comme référence en matière de néosporose ovine car c'est l'une des rares études réalisée à cette échelle et ayant pris en considération certains facteurs épidémiologiques, comme la présence de l'hôte définitif, la conduite d'élevage et le suivi sanitaire, une étude plus large sur d'autre région du pays devrait confirmer le caractère multifactoriel de l'infection à *Neospora caninum* chez les ovins.

CONCLUSION GENERALE

La typologie réalisée nous a permis d'identifier les élevages cibles ayant des pratiques à risque. C'est le cas de ceux où nous avons noté la présence de chiens considéré comme principal vecteur et hôte définitif de *Néospora caninum*. Laisser libre accès aux chiens des zones de stockage des aliments et des points d'abreuvement permet une distribution directe du parasite aux hôtes intermédiaire. Sur le plan sanitaires la coexistence d'avortement chez les brebis, des mortalités néonatales d'une part et une prise en charge incorrecte des avortons et des arrières faix (données aux chien, enfuis) d'autre part entretient le cycle biologique du parasite dans l'élevage et augmente le taux de prévalence de la maladie notamment chez des espèces plus sensibles tel que les bovins.

Les avortements chez la brebis est un des indicateurs clinique les plus importants de la présence du parasite dans l'élevage. Dans notre travail plus de 42% des élevages ont présenté des épisodes d'avortements. L'enquête a mis en évidence une association entre les avortements et le facteur race notamment la Ouled Djellal, la Hamra et la Berbère. La présence de chiens dans les élevages étudiés a été considérée comme un facteur de risque, c'est un animal présent presque de manière naturelle avec les ovins, d'abord pour le gardiennage mais aussi pour la conduite des troupeaux. La disponibilité de substances infectées (placentas et avortons) fait jouer au chien un rôle prépondérant dans la dissémination de certains agents abortifs. Cette enquête a été un élément important dans notre travail épidémiologique, les informations fournies peuvent être considérées comme des données d'orientation pour des études épidémiologiques et cliniques.

La partie séro-épidémiologique de notre travail a révélé la faible sensibilité des ovins (1,2%) vis avis du parasite qui est confirmée par la littérature scientifique. Néanmoins nous avons pu confirmer l'association très significative avec les avortements et la région géographique. Il est à noter que les brebis vivant

dans les régions côtières ont plus de chance de rencontrer le parasite, la majorité des cas positifs ont été détectés dans la région d'Alger et Boumerdes.

Enfin, au regard des résultats de la typologie, de l'enquête sur les avortements et l'étude séro-épidémiologique, malgré la faible sensibilité des brebis, nous pouvons conclure que la présence de chiens dans l'élevage et l'existence d'épisodes avortements sont des éléments diagnostiques d'une grande fiabilité pour mettre en place une suspicion de néosporose, il faudrait cependant éliminer les causes infectieuses tel que la brucellose.

Recommandations et perspectives

Il n'existe hélas aucun traitement curatif efficace pour la neosporose. Certains produits semblent montrer une activité sur la réduction du nombre d'avortement mais aucun ne garantit l'éradication du parasite ni ne permet d'éviter la transmission transplacentaire.

Nous recommandons à l'éleveur de :

- limiter l'accès des lieux d'abreuvement et protéger les aliments des ovins, la destruction systématique des avortons et arrières faix.
- Limiter la circulation des chiens dans les élevages, en évitant une promiscuité excessive entre les chiens et les ovins.
- l'isolement avec retrait de la reproduction et réforme des brebis séropositives.

Aux autorités sanitaires de :

- Réaliser des dépistages dans les élevages ovins suspects d'avortements en association avec d'autres pathologies lors de campagnes de vaccination.
- Indemniser les éleveurs dont les animaux présentent des avortements, ou d'autres problèmes sanitaires, ce qui permet de faciliter la déclaration
- Financement des laboratoires de recherches pour mieux cerner et étudier les pathologies engendrant des pertes économiques importantes.

Aux chercheurs de :

- réaliser des études similaires dans d'autres wilayas afin de déterminer la prévalence nationale de la néosporose ovine associées à l'identification par PCR.
- Elargir la recherche sur d'autres espèces domestiques à savoir, les caprins, les camelins et les équidés pour approfondir la connaissance du parasite et de son cycle.
- étudier la prévalence chez l'homme notamment les personnes à risque qui sont en contact avec des animaux séropositifs, tels que les éleveurs, les dresseurs, le personnel des chenils et les vétérinaires.

- d'étudier la relation entre *N. caninum* et les avortements chez la femme, étant donné que des anticorps anti neospora ont été détectés chez les femmes dans beaucoup de pays.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES

- **Ac** : Anticorps
- **ADN**: Acide désoxyribonucléique
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **Ag** : Antigène
- **DAT** : Direct Agglutination test
- **DO** : Densité optique
- **ELISA**: Enzyme linked Immunosorbent Assay
- **HD**: Hôte définitif
- **HE** : Hématéine éosine
- **HI**: Hôte intermédiaire
- **IC** : Intervalle de confiance
- **IFAT**: Indirect Immunofluorescent Antibody Test
- **IFI** : Immunofluorescence Indirecte
- **IFNY** : Interféron gamma
- **Ig** : Immunoglobuline
- **IgG**: Immunoglobuline G
- **IHC** : Immuno Histo Chimie
- **IL**: Interleukine
- **LT** : Lymphocyte T
- **OR** : Odds Ratio
- **PCR**: Polymerase Chain Reaction
- **TGF**: Transforming growth factor
- **TNF**: Tumor necrosis factor

APPENDICE B

QUESTIONNAIRE EPIDEMIOLOGIQUE OVINS.

Élevage N°

Date des prélèvements:

1. N° du Cheptel : (réservé à l'enquêteur) :

2. Commune:.....

3. Nom du vétérinaire traitant

4. Statut juridique de l'exploitation : Privé Etatique

5. Catégories d'ovins présents (Effectif)

Brebis Antenaises Agnelles Béliers Agneaux

6. Effectif total d'ovins.....

7. Autres animaux présents dans l'exploitation

Bovins Caprins Canins Autres (préciser.....)

8. Race Ouled djellal Rembi Hamra Autre (préciser.....)

09. Catégories d'âge (Effectif)

< 1 ans 1 à 4 ans > 4 ans

10. Nombre de femelles mises à la reproduction dans les 12 mois :.....

11. Nombre de femelles ayant mis-bas dans l'année :.....

12. Type d'élevage

a. Mode d'élevage : Intensif extensif

b. Mode de stabulation Entravé Libre semi entravé

Transhumance

c. Animaux nés dans l'élevage %.....

d. Animaux achetés du marché à bestiaux %.....

13. Quelle est la source de l'eau de boisson ?

Réseau Puits ou forage Réserve en surface Eau de rivière

14. Quelles sont les pathologies les plus fréquemment observées chez les brebis?

15. Mesures sanitaires

Vaccination contre la chlamydieuse Oui Non

Vaccination contre la brucellose Oui Non

Vaccination contre la clavelée Oui Non

Vaccination contre l'entérotaxémie Oui Non

Vaccination contre la Fièvre Q Oui Non

16. Problèmes de mortalités ? Oui Non

Si Oui (Nombre d'agneaux morts nés / Nb total de mise bas)
:.....

17. présence d'avortements au cours des 12 mois? Oui Non

18. Fréquence des avortements Très fréquents peu fréquents absents

19. A quel stade de gestation en moyenne?

1ère moitié 2ème moitié Préciser ____ ème mois

21. Quel est le nombre de femelles ayant avorté / nombre total de femelles gestantes
dans l'année ?

22. Réforme des femelles ayant avorté ?

Oui Non Pas systématiquement

23. Nature de l'avorton : momifié malformé (préciser

a. Devenir de l'avorton : jeté enfoui donné aux chiens

b. Arrières -faix : enfoui jetés donnés aux chiens

c.

24. Autres signes cliniques éventuellement associés

Troubles neurologiques

Ataxie

Raideur articulaire

Paralysie

Mortinatalité

Infertilité

25. Les chiens sont-ils en contact avec les brebis et leur nourriture?

Oui

Non

26. Contact avec la faune sauvage : possible impossible observé (si oui quelles espèces)?

En cas d'avortement pourriez-vous me prévenir pour que je récupère l'avorton

APPENDICE C

FICHE POUR BREBIS AVORTANTES

Élevage N°

Femelles avortées N° complet de l'animal	Date d'avortement	Race	Age	A-t-elle déjà avorté ? Si oui, Nombre d'avortements?	stade de gestation lors d'avortement	Matrice(s) prélevée(s)
Avortée 1 N°					<input type="checkbox"/> 1ere moitié <input type="checkbox"/> 2ème moitié <input type="checkbox"/> Inconnu	<input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Avorton: encéphale <input type="checkbox"/> Avorton: contenu stomacal <input type="checkbox"/> Avorton: rate, ou foie ou cœur <input type="checkbox"/> Autres:
Avortée 2 N°					<input type="checkbox"/> 1er moitié <input type="checkbox"/> 2ème moitié <input type="checkbox"/> Inconnu	<input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Avorton: encéphale <input type="checkbox"/> Avorton: contenu stomacal <input type="checkbox"/> Avorton: rate, ou foie ou cœur <input type="checkbox"/> Autres:
Avortée 3 N°					<input type="checkbox"/> 1er moitié <input type="checkbox"/> 2ème moitié <input type="checkbox"/> Inconnu	<input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Avorton: encéphale <input type="checkbox"/> Avorton: contenu stomacal <input type="checkbox"/> Avorton: rate, ou foie ou cœur <input type="checkbox"/> Autres:
Avortée 4 N°					<input type="checkbox"/> 1er moitié <input type="checkbox"/> 2ème moitié <input type="checkbox"/> Inconnu	<input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> Placenta <input type="checkbox"/> Avorton: encéphale <input type="checkbox"/> Avorton: contenu stomacal <input type="checkbox"/> Avorton: rate, ou foie ou cœur <input type="checkbox"/> Autres:

APPENDICE D

QUESTIONNAIRE EPIDEMIOLOGIQUE DU CHIEN

Élevage N°

Wilaya :.....

Daïra :.....

Commune :.....

Prélèvement Sanguin N°: **Date du prélèvement :**.....

Nom du propriétaire:

A. Identification de l'animal :

Espèce :.....

Race:

Age :

Sexe :

Etat général : faible moyen Bon

B. Environnement de l'animal :

1. Habitat :

2. Contact avec d'autres animaux domestiques ? (lesquels):.....

Contact étroit Contact peu fréquent Jamais

3. L'élevage a-t-il connu des épisodes de maladies abortives ? Oui Non

Si **Oui – Devenir de l'avorton** : Jeté Enfoui Donné aux chiens
(préciser)

Souvent parfois jamais

– **Arrières -faix** : enfoui jetés donnés aux chiens (préciser)

Souvent parfois jamais

4. Hygiène : Mauvaise Bonne

5. Etat vaccinal : Vacciné Non vacciné

6. Antécédents médicaux (Avortement Troubles neurologique Troubles de la fertilité)

7. Mêmes antécédents chez les parents (Avortement Troubles neurologique Troubles de la fertilité)

Prière de faire un prélèvement de matières fécales

APPENDICE E

NOTICE D'UTILISATION DU KIT ELISA



Certified
management
system



ID Screen[®] Neospora caninum Competition



ELISA de compétition pour la détection des anticorps dirigés contre *N.caninum*
dans le sérum ou le plasma de ruminants, canins ou autres espèces sensibles

Usage *in vitro*

Incubation courte ou de nuit

NCC ver 0616 FR

007879

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95

Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence des anticorps spécifiques dirigés contre *Neospora caninum*. Il s'agit d'un test ELISA de compétition et il peut être utilisé pour des échantillons de sérum ou de plasma de ruminants, canins ou autres espèces sensibles.

Description et principe

Les puits sont sensibilisés avec des extraits de *Neospora caninum*.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps anti-*N. caninum*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps qui masque les épitopes de *Neospora caninum*.

Un conjugué anti-*N. caninum* marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux épitopes du parasite *Neospora caninum*, restés libres, formant un complexe antigène-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt.
- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec des extraits purifiés de <i>Neospora caninum</i>
Conjugué concentré (10X)
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Tampon de dilution 12
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

*La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (\pm 3°C).
2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.
3. Les solutions de lavage concentré, de révélation et d'arrêt peuvent être utilisées dans l'ensemble de la gamme IDvet. Les tampons de dilution portant les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi -canaux capables de délivrer des volumes de 50 μ l et 100 μ l et 300 μ l.
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Eau distillée ou désionisée.
4. Système de lavage manuel ou automatique.
5. Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La solution de révélation peut être irritante pour la peau.
3. La solution d'arrêt (0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion et peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R22-43). Eviter le contact avec la peau (S24-37).
4. Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Eliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Préparation des échantillons

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une plaque de pré-dilution, format 96 puits, contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.

Préparation de la solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (**20X**) à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la Solution de lavage (**1X**) par dilution au $1/20^{\text{ème}}$ de la Solution de lavage (**20X**) dans de l'eau distillée/désionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande à info@id-vet.com

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

Incubation courte

1. Distribuer:
 - 50 μl de **Tampon de Dilution 14** dans chaque puits.
 - 50 μl de **Contrôle positif** dans les puits A1 et B1.
 - 50 μl de **Contrôle négatif** dans les puits C1 et D1.
 - 50 μl de chaque échantillon à tester dans les puits restants.
2. Couvrir la microplaque et incuber **45 min \pm 4 min** à 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).

Incubation de nuit

1. Distribuer:
 - 90 μl de **Tampon de Dilution 14** dans chaque puits.
 - 10 μl de **Contrôle positif** dans les puits A1 et B1.
 - 10 μl de **Contrôle négatif** dans les puits C1 et D1.
 - 10 μl de chaque échantillon à tester dans les puits restants.
2. Couvrir la plaque et incuber **sur la nuit (16h-20h)** à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).

Pour tous les protocoles

3. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 μl de **Solution de lavage**. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
4. Préparer le **Conjugué 1X** en diluant le **conjugué concentré 10X** au $1/10^{\text{ème}}$ en **Tampon de dilution 12**.
5. Distribuer 100 μl de **Conjugué 1X** dans chaque puits.
6. Couvrir la plaque et incuber **30 min \pm 3 min** à 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
7. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 μl de **Solution de lavage**. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
8. Distribuer 100 μl de **Solution de révélation** dans chaque puits.

- 9 Couvrir la plaque et incuber **15 min ± 2 min** à 21°C (±5°C) à l'obscurité.
- 10 Distribuer 100 µl de **Solution d'arrêt** dans chaque puits, en suivant le même ordre qu'en étape n°8, pour arrêter la réaction.
- 11 Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est validé si :

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 0,700.

$$DO_{CN} > 0,700$$

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est inférieure à 30% de la DO_{CN}.

$$\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} < 0,3$$

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage de compétition (S/N %) :

$$S/N \% = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{CN}} \times 100$$

Les échantillons présentant un S/N% :

- inférieur ou égal à 50% sont considérés comme positifs.
- compris entre 50% et 60% sont considérés comme douteux.
- supérieur à 60% sont considérés comme négatifs.

Résultats	Statut
S/N % ≤ 50 %	POSITIF
50% < S/N % ≤ 60%	DOUTEUX
S/N % > 60%	NEGATIF

Note : Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@id-vet.com

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P ou S/N, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des animaux testés.

REFERENCES

- 1- Feliachi, k., " Point focal Algérien pour les ressources génétiques", Rapport National sur les ressources génétiques animales, (2003), 29-30.
- 2- Alexandra, G., Arquet, R., Fleury, J., Troupé, W., Boval, M., Archimede, H., Mandonnet, N., "Systèmes d'élevage caprins en zone tropicale : Analyse des fonctions et des performances", INRA Prod. Anim., (2012), 305-316.
- 3- Ministère de l'agriculture et développement rural, " Production algérienne de viande Rouge" (2018).
- 4- Moula, N., Tennah S., Philippe F.X., Farnir, F., Leroy, P., Antoine-Moussiaux N., Les ressources génétiques ovines en Algérie, 11èmes Journées Internationales des Sciences Vétérinaires (2013).
- 5- Moula, N., "Caractérisation de la race ovine algérienne Tazegzawth", Tropicultura, (2018). 36 (1), 43-53.
- 6- Kerboua, M., Feliachi, K., Abdelfettah, M., Ouakli, K., Selhab, F., Boudjakdji, A., Takoucht, A., Benani, Z., Zemour, A., Belhadj, N., Rahmani, M., Khecha, A., Haba, A. et Ghenim, H.," Rapport national sur les ressources génétiques animales en Algérie". Ministère de l'agriculture et du développement rural, commission nationale AnGr., (2003) p : 46.
- 7- Djaout, A., Afri-Bouzebda, F., Chekal, F., El-Bouyahiaoui, R., Rabhi, A., Boubekour, A., Benidir, M., et al .," Etat de la biodiversité des « races » ovines algériennes", Gen. Biodiv. J., (2017) 1 (1): 1-17.
- 8- Dubey, J.P., "Examen de *Neospora caninum* et de la néosporose chez les animaux", Coréen J. Parasitol, (2003a), 41.
- 9- Rossi, F., Cabral, D.D., Ribeiro, d.p., Pajuaba, A.C.A.M., Corrêa, R.R., Moreira, R.Q., Mineo, T.W.P. , Mineo, J.R. , Silva, D.A.O., "Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State Brazil, by different serological methods" Vet. Parasitol., 175 (2011), pp. 252-259.
- 10- 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.
- 11- Dubey, J.P., Miller, S., Lindsay, D.S., Topper, M.J.M., " Neospora caninum-

- Associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf", J. Vet. Diagn. Invest., (1990), 2:66–69.
- 12- Dubey J.P., Barr B.C, Barta J.R, Bjerkas I, Bjorkman C, Blagburn B.L., "Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia". Int. J. Parasitol. (2002),32:929–946.
 - 13- González-Warleta, M., Castro-Hermida, JA., Calvo, C., Pérez, V., Gutiérrez Expósito, D., Regidor-Cerrillo, J., "Endogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* during successive pregnancies across three generations of naturally infected sheep". Vet Res. (2018); 49:106
 - 14- Sánchez-Sánchez, R., Ferre. I., Re, M. Regidor-Cerrillo, J. Blanco-Murcia, J., Ferrer, LM., Navarro, T., Pizarro Díaz, M., González-Huecas, M., Tabanera, E., Benavides, J., Ortega-Mora, LM., "Influence of dose and route of administration on the outcome of infection with the virulent *Neospora caninum* isolate Nc- Spain7 in pregnant sheep at mid-gestation". Vet Res. (2018) May 8;49(1):42.
 - 15- Howe, I., M.G., Pattison, R.S., Marshall, J, West, D.M., pomroy, w.f, " potential Involvement of *Neospora caninum* in naturally occurring ovine abortion in New Zealand". Veterinary parasitology (2012)185, 64, 71.
 - 16- González-Warleta, M.,Castro-Hermida,Ja., Regidor-Cerrillo,J., Benavides, J., Alvarez-Garcia, G., Fuertes, M.,Ortega-Mora,LM.,Mezo,M., "*Neospora caninum* infection as a cause of reproductive failure in a sheep flock". Vet Res (2014) 45:88.
 - 17- Kacimi El Hassani, S., "La dépendance alimentaire en Algérie : importation de Lait en poudre versus production locale, quelle évolution" ? *Mediterranean Journal of Social Sciences* MCSER Publishing Rome-Italy. (2013). 4 (11): 152-158.
 - 18- Belkasmi F," Effet de la synchronisation et de l'insémination artificielle sur les performances de reproduction et la productivité de l'élevage ovin dans la région semi-aride Algérienne". Thés. Mgst (2012). Université ferhat abbas – setif.
 - 19- Nedjraoui, D., "Profil fourrager – Algérie". Document (2012). FAO.
 - 20- Harkat, S., Lafri, M., "Effet des traitements hormonaux sur les paramètres de reproductions chez des brebis «Ouled- djellal»".*Courrier du Savoir* (2007)., 08,125-132.

- 21- Ministère de l'agriculture et développement rural," Production algérienne de viande Rouge". (2017).
- 22- Journal économie mars. (2019).
- 23- Chellig, R., "Les Races Ovines Algérienne, "Office des Publications Universitaires Alger. (1992) p 80.
- 24- Commission nationale AnGR, "Rapport national sur les Ressources Génétiques Animales en Algérie. Ministère de l'agriculture et du développement rural. (2003) p 46.
- 25- Moula, N., Philippe, F. X., Luc,D. D., Farnir,F., Antoine-Moussiaux,N., et Leroy P," Caractérisation de la race ovine Tazegzawth en Algerie: description morpho-biométrique et détermination d'une formule baryométrique". 3rd Scientific Meeting of the Faculty of Veterinary Medicine, October (2013) ULg, Belgium.
- 26- Norme Algérienne.NA 15457,"Standard de la race ovine Ouled-Djellal. 2ème éditions Institut Algérien de Normalisation". Algérie(2007).Pages:07.
- 27- Chekkal,F.,Benguiga, Z., Meradi, S., Berredjough, D., Boudibi, S., Lakhdari,F., "Guide de caractérisation phénotypique des races ovines de l'Algérie" CRSTRA, (2015) Biskra, Algérie.
- 28- Meradi, S., Moustari A., Chekkal,F., Benguigua, Z., Ziad, M., Mansori, F., et Belhamra, M., "Situation de la Population Ovine «la Race El Hamra» en Algérie. Journal Algérien des Régions Arides, N° Spécial (2013).
- 29- Norme algérienne. NA 15329, "Caractérisation de la race ovine Rembi".1ème éditions. Institut Algérien de Normalisation. Algérie (2013). Pages:06. 30- Belaid, D., "Aspect de l'élevage ovin en Algérie ", (1986), OPU, Page:107
- 31- Nedjraoui, D., "Profil fourrager Algérie". Université des sciences et de la Technologie. Houari Boumediène (USTHB). Alger (2003). pp: 30.
- 32- Moula, N., Caractérisation de la race ovine algérienne Tazegzawth Tropicultura 2018, 36, 1, 43,53.
- 33- Rondia, P.,"Aperçu de l'élevage ovin en Afrique du Nord". Filière ovine Caprine. (18). (2006):11-14.

- 34- Adamou, S., Bourennane, N., Haddadi, f., Hamidouche, S., Sadoud, S., "Quel rôle pour les fermes-pilotes dans la préservation des ressources génétiques en Algérie", Série de Documents de Travail. (2005). N° 126 Algérie.
- 35- Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Barr, B.C., Dubey, J.P., Hoffmann, R.L., Conrad, P.A., "Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle". J Am Vet Med (1991) Assoc 198:241–244.
- 36- Barbier, J.S., Trees, A.J., "Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs" (1998). Int J Parasitol 28:57–64.
- 37- Dubey, J.P., "Neosporosis in cattle", J. Parasitol. 89 (2003b) : Supplement, (in press).
- 38- Dubey, J.P., Hartley, W.J., Lindsay, D.S., Topper, M.J., "Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb", *Journal of Parasitology* (1990a); 76 (1): 127–130.
- 39- Dubey, J.P., "Review of *Neospora caninum* and Neosporosis in animals", Korean J Parasitol (2003c) 41: 1–16.
- 40- Anderson, M., Andrianarivo, L., Conrad, P.A., "Neosporosis in cattle. Animal reproduction science, (2000), 60- 61, 417-431.
- 41- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., " *Neospora caninum* induced abortion in sheep. J Vet Diagn Invest (1990b) 2: 230–233.
- 42- Kobayashi, Y., Yamada, M., Omata, Y., Koyama, T., Saito, A., Matsuda, T., Okuyama, K., Fujimoto, S., Furuoka, H., Matsui, T., " Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses, » J Parasitol 87, (2001)434-436.
- 43- Koyama, T., Kobayashi, Y., Omata, Y., Yamada, M., Furuoka, H, Maeda, R., Matsui, T., Saito, A., Mikami, T., "Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep," *Journal of Parasitology* (2001), 87(6): 1486-1488.
- 44- Hassig, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., Strabel, D., Gottstein, B. "*Neospora caninum* in sheep: a herd case report". *Veterinary Parasitology* (2003), 117 (3): 213-220.
- 45- Moore, D.P. "Neosporosis in South America". *Veterinary Parasitology* (2005) 127 (2): 87–97.

- 46- Goodswen, S.J., Kennedy, P.J., Ellis, J.T., "A review of the infection, genetics, And evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present. Infect. Genet. (2013). *Evol.* 13, 133–150.
- 47- 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.
- 48- 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.
- 49- 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.
- 50- Lindsay, DS., Speer, C.A, Toivio-Kinnucan, M.A., "Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*". *Am J Vet Res* (1993), 54:103–106.
- 51- Speer, C.A., Dubey, J.P .MC Allister, M.M., Blixt J.A.," Comparative Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*". *Int. J. Parasitol.* (1999), **29**, 1509-1519.
- 52- Brindley, P.J., Gazzinell, R.T., Denkers, E.Y., Davis, S.W., Dubey, J.P., Belfort J.R., R, Martins, M.C., Silveira, C., Jamra, L., Waters, A.P., Sher, A., "Differentiation of *Toxoplasma gondii* from closely related coccidia by riboprint analysis and a surface antigen gene polymerase chain reaction". *Am. J. Trop.Med. Hyg.* (1993). 48, 447–456.
- 53- Hemphill, A., "The host-parasite relationship in neosporosis". *Advances in Parasitology.* (1999), 43: 47-104.
- 54- 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.
- 55- 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, 575-1582.
- 56- Mehlhorn, H., Heydorn, A.O., "Neospora caninum Is it really different from Hammondia heydorni or is it a strain of Toxoplasma gondii"? An opinion *Parasitol Res* (2000) 86: 169±178.
- 57- 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.
- 58- Dubey, J.P., Schares, G., "Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol*" (2006a), 140, 1-34.
- 59- Hemphill, A., Vonlaufen, N., Naguleswaran, A., "Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with *Neospora caninum*". *Parasitology.* (2006)133, 261–278.
- 60- Barta, B.C., Bjerkas, J. R. I. Bjorkman, C., Blagburn, B.L., "Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related Coccidian". *Int. J. Parasito.* (2002), I, 32, 929–946.
- 61- Buxton, D., Mc Allister, M.M., Dubey, J.P., "The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.* (2002) 18, 546–552.
- 62- Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W., "Pathogenesis of bovine neosporosis". *J.comp. Path* (2006b). 134, 267-289.
- 63- Dubey J.P., Lindsay D.S." A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol*". (1996a), 67, 1–59.
- 64- Dubey, J.P., Schares, G, Ortega-Mora, L.M. "Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*". *Clin. Microbiol.* (2007) Rev. 20, 323–367.
- 65- Marugan-Hernandez, V., "Neospora caninum and Bovine Neosporosis" *Current Vaccine Research The Royal Veterinary College, University of London, Hawkshead Lane, North Mymms, UK J. Comp. Path.* (2017), Vol. 157, 193, 200.

- 66- Dubey, J.P, "Recent advances in Neospora and neosporosis", *Vet. Parasitol.* (1999), 84, 349-367.
- 67- Dubey, J.P., Sreekumar, C., Knickman, E., Miska, K.B., Vianna, M.C., Kwok, O.C., et al., "Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs" *Int. J. Parasitol.* (2004), 34, 1157–1167.
- 68- Bjerkas, I., Presthus, J, "Immuno-histochemical and ultrastructural Characteristics of a cyst-forming sporozoan associated with encephalom" (1988).
- 69- 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.
- 70- 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, (2011).85 – 0307.
- 71- 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.
- 72- 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.
- 73- Dubey, J.P., Schares, G., Neosporosis in animals—the last five years, *Vet, Parasitol*, (2011) 180, 90–108.
- 74- Williams, D.J., Hartley, C.S, Bjorkman, C, Trees, A.J., "Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* – how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease, *Parasitology*, (2009)136,1895–1900.
- 75- Kul, O., Atmaca, H. T., Antepioglu, T., Ocal, N. and Canpolat, S. "Neospora caninum: the First Demonstration of the Enteroepithelial Stages in the Intestines of a Naturally Infected Dog", *J Comp Pathol*, (2015),153, 9-13.
- 76- Reichel, M.P., Ellis, J.T, Dubey, J.P.," Neosporosis and hammondiosis in dogs", *J, Small Anim, Pract*,(2007) 48, 308–312.
- 77- Stefania Perruccje., Alessandra Gavazza., Guido Rocchigiani., Simona Nardon., Alina Zbriger, George Lubas, Francescun Manciantje, "Neospora

caninum oocyst shedding in a naturally infected dog from Italy Vet Parasitol Reg Stud Rep, (2017),8: 10-2.

- 78- Mc Allister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills R. A., Mc Guire U. A.M., "Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*". Int. J. Parasitol, (1998), 28, 1473-1478.
- 79- Gondim, L.F., McAllister, M.M., Pitt, W.C., Zemlicka, D.E., " Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*", Int., J. Parasitol 2004, 34, 159–161.
- 80- Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Rajendran, C., Miska, K., Ferreira, L.R., Martins, J., et al, "Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*", Vet, Parasitol, (2011b) 181, 382–387.
- 81- King, J.S., Slapeta, J., Jenkins, D.J., Al-Qassab, S.E., Ellis, J.T., Windsor, P.A, "Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*", Int, J, Parasitol, (2010) ,40, 945–950.
- 82- Lindsay, D.S., Upton, S.J., Dubey, J.P., " A structural study of the *Neospora Caninum* oocyst", Int, J, Parasitol, (1999a), 29, 10, 1521-1523.
- 83- Lindsay, D.S., Dubey, J.P., "Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections" Am, J, Vet, Res, (1989), 50, 1981–1983.
- 84- Costa, K.S., Santos, S.L., Uzêda, R.S., Pinheiro, A.M., Almeida, M.A., Araujo F.R., "Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*", Int, J. Parasitol, (2008), 38: 157–159.
- 85- Gondim, I.S.Q., Abe-sandes, K., Uzêda, R.S., et al, "Toxoplasma gondii and *Neospora caninum* in sparrows (*Passer domesticus*) in the Northeast of Brazil, Vet, Parasitol, (2010), 168 (1-2), 121-124.
- 86- Syed-hussain, S.S., Howe, I., Pomroy, W.S., West, D.M., Smith, S.I., Williamson, N.B., "Detection of *Neospora caninum* DNA in semen of experimental infected rams with no evidence of horizontal transmission in ewes", Veterinary Parasitology, (2013), 197, 534-542.
- 87- Sarrazin, C., "Transmission verticale de *Neospora* sp. Chez les mammifères Quelles conséquences pour l'élevage canin ? "Thèse de doctorat vétérinaire, (2009), Faculté de Médecine, Créteil, 173p.
- 88- Howe, I., Collet, M, G., Tattersfield, G., Pattison, R.S., Pomroy, W.E., Kenyon, P.R., Morris, S.T., Williamson, N.B., "The role of *Neospora caninum* in three

- cases of unexplained ewe abortion in the southern North Island of New Zealand. *Small Ruminant Research*,(2008), 75, 115-122.
- 89- Masala, G., Porcu, R., Daga, C., Denti, S., Canu G., Patta, C., "Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia,Italy, by PCR",*J, Vet, Diagn, Invest*, (2007),1, 96-98.
- 90- Abo-Shehada, M.N., Abu-Halaweh, M.M., "Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan", *Preventive Veterinary Medicine*, (2010),93(1), 25-32.
- 91- Howe, L., M.G, Pattison, R.S, Marshall,J, West, D.M,Pomroy,W.f, "Potential Involvement of *Neospora caninum* in naturally occurring ovine abortion in New Zealand, *Veterinary parasitology*, (2012a),185,64,71.
- 92- Moreno, B., Collantes- Fernandes, E ., Villa,A., Navarro, A., Regidor-Cerrillo,J., Ortega.,Morra, L.M.,"Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions *Veterinary Parasitology*, (2012), 187,312,318.
- 93- Castaneda-Hernandez, A., Cruz-Vazquez, C., Medina-Esparsa, L., "*Neospora caninum*, Seroprevalence and DNA detection in blood of sheep from Aguascalientes, Mexico",*Small Ruminant Research*, (2014),119,182,186.
- 94- Mcallister, M.M., McGuire, A.M., Jolley, W.R., Lindsay, D.S., Trees, A.J., Stobart, S.R., "Experimental Neosporosis in pregnant ewes and their offspring". *Vet. Pathol* , (1996a), **33**, 647-655.
- 95- Benavides, J., Collantes-Fernández, E.,Ferre,I.,Perez, V.,Campero, C.,Mota R., Innes, E., Ortega-Mora, L.M., "Experimental ruminant models for bovine Neosporosis "what is known and what is needed", *Parasitology*, (2014) 141:1471-1488.
- 96- Jolley, W.R., Mcallister, M.M., McGuire, A.M., Wills, R.M., "Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes," *Vet. Parasitol*, (1999), 82, 251-257.
- 97- Lindsay, D.S., Dubey, J.P, Duncan, R.B, "Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*", *Vet, Parasitol*,(1999), 82, 327–333.
- 98- Schares, G., Pantche, V.N., Barutzki, D., Heydorn, A.O., Bauer, C., Conrath, F.J."Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany", *Int, J, Parasitol.*, (2005) 35, 1525-1537.

- 99- 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, Parasito*, (2007), 149, 265–270.
- 100- Razmi., G., "Fecal and Molecular Survey of *Neospora caninum* in Farm and Household Dogs in Mashhad Area, Khorasan Province, Iran", *Korean J Parasitol*, (2009), 47, 417-420.
- 101- 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*, (2007a), 45, 295–299.
- 102- Neto, A.F.A., Bandini, L.A., Nishi, S.M., Soares, R.M., Driemeier, D., Antoniassi, N.A.B., Schares, G., Gennari, S.M., "Viability of sporulated oocysts of *Neospora caninum* after exposure to different physical and chemical treatments", *J, Parasitol*, (2011), 97, 135–139.
- 103- 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.
- 104- 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*. (2001), 87, 909-911.
- 105- European scientific conseil companion animal parasites, "traitement et Prévention des parasitoses des carnivores domestiques", *guide de Recommandations*, (2013), V.5.
- 106- Lindsay, D.S., Balgurn, B.I., et Dubey, J.P., "Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues", *J, Parasitol* (1992), 78: 70-72.
- 107- Bishop, S., King, J., Windsor, P., Reichel, M.P., Ellis, J., Slapeta, J., "The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of *Neospora caninum* prevalence in sheep in New South Wales", *Vet, Parasitol*, (2010). 170, 137–142.
- 108- Panadero, R., Panceira, A., Lopez, C., Vazquez, L., Paz, A., Diaz, P., Dacal, V., Cienfuegos, S., Fernandez, G., Lago, N., Diez-Banos, P., Morrondo, P., "Séroprévalence de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* dans

- ruminants sauvages et domestiques partageant des pâturages en Galice (nord-ouest de l'Espagne), *Research in Veterinary Science*, (2010), 88(1), 111-115.
- 109- Diakou, A., Papadopoulos, E., Panousis, N., Karatzias, C., Giadinis, N., "Toxoplasma gondii and Neospora seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming". *Veterinary Parasitology*, (2013), 198, 387–390.
- 110- Bartova, E., Sedlak, K., Literak, I., "Anticorps *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* chez les ovins en République tchèque", *Parasitologie vétérinaire*, (2009), 161 (1-2), 131-132.
- 111- Ravindra, Nath Sharma, Jehna, Bush, Keshaw, Tiwari, Alfred, Chikweto, Muhammad, Iqbal Bhaiyat., "Seroprevalence of *Neospora caninum* in Sheep and Goats from Grenada, West Indies", *Journal of Veterinary Medicine*, (2015), 5, 219- 223.
- 112- Helmick, B., Otter, A., McGarry, J., Buxton, D., "Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*", *Res, Vet, Sci.*, (2002), 73, 187- 189.
- 113- Al-majali, A.N., Jawasreh, K.I., Talafha, H.A., Talafha, A.Q., "Neosporosis in sheep and different breeds of goats from southern Jordan: prevalence and risk factors analysis", *Am, J, Anim, Vet, Sci.*, (2008), 3(2), 47.
- 114- Ezatpour, B., Alirezaei, M., & Hassanvand, A., "The first report of *Neospora Caninum* prevalence in aborted and healthy sheep from west of Iran, (2013), *Comparative Clinical Pathology*, 24, 22– 29.
- 115- Asadpour, R., Jafari-Joozani, R., Salehi, N., "Detection of *Neospora caninum* in ovine abortion in Iran", *J Parasit.*, (2013), Dis, 37:105–109.
- 116- Gharekhani, J. & Heidari, H., "Serology based comprehensive study of *Neospora* infection in domestic animals in Hamedan Province, Iran", *Journal Advances Veterinary Animal Research*, (2014), 1, 119-124.
- 117- AL -Farwachi, M., AL-Badrani, B., and AL-Khafaji, W., "Serodiagnosis of ovine neosporosis in Mosul city, Iraq " *Eurasian J, Vet, Sci.*, (2012) 28: 190-193.
- 118- Soares, H.S., Ahid, S.M.M., Bezerra, A.C.D.S., Pena, H.F.J., Dias, R.A., Gennari S.M., "Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil". *Veterinary Parasitology*, (2009). 160, 211–214.

- 119- Tembue, A. A. S., Ramos, R. A. N., Sousa, T. R., Albuquerque, A. R., Costa, Meunier, M. J., Faustino, N. A. G., Alves, I. C., "Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil", *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, (2011), Jaboticabal, v, 20, n. 3, p. 246- 248.
- 120- Hecker, Y. P., Moore, D. P., Manazza, J. A., Unzaga, J. M., Späth, E. J., Pardini, L. L. *et al.*, "First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina", *Tropical Animal Health and Production* (2013), 45, 1645- 1647.
- 121- Hassing, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., Strabel, D and Gottstein, B., "Neospora caninum in sheep: a flock case report", *Vet, Parasitol*, (2003), 117: 213-220.
- 122- Arbabi, M., Abdoli, A., Dalimi, A., Pirestani, M., & Abdoli, A. "Identification of latent neosporosis in sheep in Tehran, Iran by polymerase chain reaction using primers specific for the Nc-5 gene", *Onderstepoort, j, vet, Res*, (2014) vol, 83 n,1.
- 123- Sasani, F., Javanbakht, J., Seifori, P., Fathi, S., & Hassan, M.A., "*Neospora caninum* as causative agent of ovine encephalitis Iran", *Pathology Discovery*, (2013), 1, 5.
- 124- Razmi, D., Naseri, Z., "Molecular detection of *Neospora caninum* infection in ovine aborted fetuses in the Mashhad area, Iran", *Ann Parasitol*, (2017), 63 (1): 45-47.
- 125- Masala, G., Porcu, R., Daga, C., Denti, S., Canu, G., Patta, C., Tola, S., "Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR", *J, Vet, Diagn Invest*, Jan 2007, 19(1):96-8.
- 126- Romo-Gallegos, J. M., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M., & Romero-Salas, D., "Prevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection in ovine flocks of central-western Mexico", *Acta Vet Hung*, (2019), 51- 59.
- 127- Howe, L., West, D., Collett, M., Tattersfield, G., Pattison, R., Pomroy, W.E., Williamson, N.B., "The role of *Neospora caninum* in three cases of unexplained ewe abortions in the Southern North Island of New Zealand. *Small Ruminant Research*, (2008). 75, 115– 122.

- 128- Howe, L., Collett, M., Pattison, R., Marshall, J., West, D., & Pomroy, W., "Potential participation of *Neospora caninum* in natural occur ovin abortions in New Zealand", *Veterinary Parasitology* (2012 b) 185, 64-71.
- 129- Reichel, M. P., Ross, G. P., Mc Allister, M.M., "Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand", *Vet Parasitol*, (2008),151, 323-326.
- 130- Filho, P.C.G.A., Oliveira, J. M. B., Andrade, M. R., Silva, J. G., Kim, P. C. P., Almeida, J. C, et al,"Incidence and vertical transmission rate of *Neospora caninum* in sheep", *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*,(2017); 52: 19-22.
- 131- Hemphill, A., and Gottstein, B., "Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites, ", *Parasitology Research*,(1996), 82, 497–504.
- 132- Uchida, Y., Ike, K., Kurotaki, T., Ito, A., andImai, S., "Monoclonal antibodies preventing invasion of *Neospora caninum* tachyzoites into host cells", *Journal of Veterinary Medical Science*, (2004), 66, 1355 –1358.
- 133- Morris, M. T., Cheng, W. C., Zhou, X.W., Brydges, S.D., Carruthers,V.B, "*Neospora caninum* expresses an unusual single-domain Kazal protease inhibitor that is discharged into the parasitophorous vacuole", *Int, J, Parasitol*, (2004),34: 693 – 701.
- 134- Innes, E. A., Wright, S. E., Maley, S., Rae, A., Schock, A., Kirvar, E., Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I.M., Buxton, D., "Protection against vertical transmission in bovine neosporosis, " *Int,J,Parasitol*,(2001), 31, 1523 -1534.
- 135- Arranz-Solís, D., Benavides, J., Regidor-Cerrillo, J., Fuertes, M., Ferre, I., Ferreras, M. C., Collantes-Fernández, E., Hemphill, A. Pérez, V., Ortega-Mora, L. M, "Influence of the gestational stage on the clinical course, lesional development and parasite distribution in experimental ovine neosporosis", *Vet, Res*, (2015) 46 (1), 19.
- 136- Arranz-Solís, D., Benavides, J., Regidor-Cerrillo, J., Horcajo, P., Castaño, P., Del Carmen Ferreras, M et al., " Systemic and local immune responses in sheep after *Neospora caninum* experimental infection at early, mid and late gestation", *Vet Res*, (2016), 47: 2.
- 137- Macaldowie, C., Maley, S. W., Wright, S., Bartley, P., Esteban-Redondo, I., Buxton, D., Innes, E. A, "Placental pathology associated with fetal death in

- cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy", *J Comp Pathol*, (2004) Aug- Oct,131 (2-3): 142- 56.
- 138- Regidor-Cerrillo, J., Arranz-Solís, D., Benavides, J., Gómez-Bautista, M., Castro-Hermida, J. A., Mezo, M., Perez, V., Ortega-Mora, L. M., González-Warleta, M., "Neospora caninum infection during early pregnancy in cattle: how the isolate influences infection dynamics, clinical outcome and peripheral and local immune responses", *Vet, Res*, (2014), 45 (10), 9716.
- 139- Bartley, P. M., Katzer, Rocchi, F. M. S., Maley, S. W., Benavides, J. Nath, *Met Al*, "Development of maternal and foetal immune responses in cattle following experimental challenge with *Neospora caninum* at day 210 of gestation", *Vet, Res*, 44 (2013), p. 91.
- 140- O'Handley, R., Liddell, S., Parker, C., Jenkins, M., Dubey, J. P. Experimental Infection of sheep with *Neospora caninum* oocysts, *J Parasitol*, (2002), 88: 1120– 1123.
- 141- Gibney, E. H., Kipar, A., Rosbottom, A., Guy, C. S., Smith., R.F, et al, "The extent of parasite associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death", *Int J Parasitol*, (2008), 38: 579– 588.
- 142- Cantón, G. J., Katzer, F., Maley, S. W., Bartley, P. M., Benavides-Silván, J., Palarea-Albaladejo, J., Pang, Y., Smith, S. H., Rocchi, M. S., Buxton, D., Innes, E. A., & Chianini, F. (2014), "Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy". *Veterinary research*, 45 (1), 11.
- 143- Rosbottom, Anne et al, "Upregulation of cytokines is detected in the placentas of cattle infected with *Neospora caninum* and is more marked early in gestation when fetal death is observed", *Infection and immunity* vol, 76. 6, (2008), 2352- 61.
- 144- Rosbottom, A., Gibney, H., Kaiser, P., Hartley, C., Smith, R. F, Robinson, R., Kipar, A., Williams, D. J, "Up regulation of the maternal immune response in the Placenta of cattle naturally infected with *Neospora caninum*", *PLoS One* 6, (2011): e 15799.
- 145- Almería, S., Araujo, R. N., Darwich, L., Dubey, J. P., Gasbarre, L. C., "Cytokine gene expression at the materno-foetal interface after experimental

- Neospora caninum infection of heifers at 110 days of gestation", *Parasite Immunol*, Sep (2011), 33 (9), 517- 23.
- 146- López-Pérez, I. C., Collantes-Fernández, E., Rojo-Montejo, S., Nava-rro-Lozano, V., Risco-Castillo, V., Pérez-Pérez, V., Pereira-Bueno, J., Ortega-Mora, L. M., " Effects of Neosporacaniuminfection at mid-gestation on placenta in a pregnantmouse model, " *Journal of Parasitology* (2010), 96 1017– 1020.
- 147- Zenclussen, A. C, "Regulatory T cells in pregnancy", *Springer Semin Immunopathol* (2006) 28:31.
- 148- Entrican, G., "Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion", *J Comp Pathol*, (2002), 126: 79- 94.
- 149- Innes, E. A., Andrianarivo, A. G., Björkman, C., Williams, D. J and Conrad, P. A, "Immune responses to Neospora caninum and prospects for vaccination", *Trends Parasitol*, (2002), 18, 497– 504.
- 150- Innes, E. A., Wright, S., Bartley, P., Maley, S., Macaldowie, C., Esteban-Redondo, I., Buxton, D., "The host-parasite relationship in bovine neosporosis", *Vet Immunol Immunopathol* (2005) 5;108:29–36.
- 151- Tanaka, T., Hamada,T., Inoue, N., Nagasawa, H., Fujisaki, K., Suzuki, N., Mikami,T., "The role of CD4(+) or CD8(+) T cells in the protective immune response of BALB/c mice to Neospora caninum infection", *Vet Parasitol*,(2000), Jun 27; 90(3): 183-91.
- 152- Correia, A., Ferreirinha, P., Costa, A. A., Dias, J., Melo, J., Costa, R., Ribeiro, A., Faustino, A., Teixeira, L., Rocha, A., Vilanova, M., "Mucosal and systemic T cell response in mice intragastrically infected with Neospora caninum tachyzoites, " *Vet Res*. Aug (2013),10; 44 (1).
- 153- Syed-Hussain, S. S., Howe, L., Pomroy, W. E., West, D. M., Hardcastle, M., Williamson, N. B, "Vertical transmission in experimentally infected sheep despite previous inoculation with Neospora caninum NcNZ1 isolate", *Vet, Parasitol*, (2014) 208, 150–158.
- 154- Hartley, W.J. & Bridge, P.S, "A case of suspected congenital *Toxoplasma* encephalomyelitis in a lamb associated with a spinal cord nomaly, " *British Veterinary Journal*, (1975), 131,380–3.
- 155- Silva, M. S., Uzeda, R. S, Costa, K. S., Santos, S. L., Macedo, A. C., Abe-Sandes, K., Gondim,L.F.P.," Detection of Hammondia heydorni and related

- coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil", *Vet Parasitol*, (2009), 162: 156–159.
- 156- Syed-Hussain, S. S., Howe, I., Pomroy, W. E., West, D. M., Smith, S. L., Williamson, N. B., "Detection of *neospora caninum* dna in semen of experimental infected rams with no evidence of horizontal transmission in ewes", *Veterinary parasitology*, (2013), 197, 534-542.
- 157- Castañeda-Hernández, A., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., "*Neospora Caninum*, Seroprevalence and DNA detection in blood of sheep from Aguascalientes, Mexico", *Small Ruminant Research Volume 119, Issues 1-3*, (2014), 182-186.
- 158- Arbabi, M., Abdoli, A., Dalimi, A & Pirestani, M., "Identification of latent neosporosis in sheep in Tehran, Iran by polymerase chain reaction using primers specific for the *Nc-5* gene" *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, (2016), 83(1), 1058.
- 159- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., " Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs", *Am, J, Vet, Res*, (1989) 50, 578–1579.
- 160- Barr, B.C., P.A., Conrad, R., Breitmeyer, K., Sverlow, M.L., Anderson, J., Reinolds, A.E., Chauvet, Dubey, J.P. & Ardans, A.A., "Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: Four cases (1990-1992).*Journal of the American Veterinary Medical Association*, (1993), 202, 113-117.
- 161- Zhang, W., Deng, C., Liu, Q Liu, J., Wang, M., Tian, K.G., Yu, X.I., Hu, D.M., "First identification of *Neospora caninum* infection in aborted bovine foetuses in China", *Vet. Parasitol*, (2007), 149:72–76.
- 162- Buxton, D., Wright, S., Maley, S.W., Rae, A.G., Lundén, A & Innes, E.A., "Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep",*Parasite Immunol*, (2001), 23:85-91.
- 163- Al-Shaeli, S.J.J., Ethaeb, A.M., Gharban, H.A.J., "Molecular and histopathological identification of ovine neosporosis (*Neospora caninum*) in aborted ewes in Iraq", *Veterinary World*, (2020),13 (3): 597-603.
- 164- Fioretti, D.P., Pasquai, P., Diaferia, M., Mangili, V., Rosignoli, L.,"*Neospora caninum* infection and congenital transmission : serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation". *Journal of Veterinary Medicine*,(2003),B 50, 399–404.

- 165- Barber, J., Trees, A.J., "Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs Veterinary Records", 139 (1996b), pp. 439-443.
- 166- Lindsay, D.S., Dubey, J.P "Canine neosporosis"., J Vet Parasitol, (2000), 14: 1-11.
- 167- Gondim, L.F.P., McAllister, M.M and 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.
- 168- Ghalmi, F., China, B., Losson, B., "Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum* ", Ann. Méd. Vét, (2007), 151, 123-149.1.
- 169- Foulon, G., "Étude de la prévalence de la néosporose dans les avortements bovins du département du Rhône", Th, Med vet, Lyon, (2002), Université Claude Bernard- Lyon, 1, 112.
- 170- Okeoma, C.M., Williamson, N.B.W.E., Pomroy, K.M., Stowell and Gillespie, L.M., "Isolation and molecular characterization of *Neospora caninum* in cattle in New Zealand", (2004a), N.Z, Vet, J, 52: 364–370.
- 171- Lopez-Gatius, F., Garbayo, J.M.P., Santolaria, J.L., Yaniz, S., Almeria, A., Ayad, N.M., de Sousa and Beckers, J.F, "Plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) concentrations during gestation in *Neospora* infected dairy cows", Theriogenology, (2007), 67:502–508.
- 172- Salat, O., "Néosporose : Une affection de mieux en mieux comprise". Bull. GTV, (2009), n°48, 33-40.
- 173- PiergiliFioretti, D., Pasquali, P., Diaferia, M., Mangili, V., Rosignoli, L., "Neospora caninum infection and congenital transmission serological and parasitological: study of cows up to the fourth gestation". J. Vet, (2003), Med. B Infect Dis. Vet. Public Health 50 (8), 399-404.
- 174- Collantes-Fernandez, E., Rodriguez-Bertos A., Arnaiz-Seco I., Moreno B., Aduriz G., Ortega-Mora L.M.," Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine fetuses". Therio-genology, (2006) 65, 629-641.
- 175- Pescador, C.A., Corbellini, L.G., Oliveira, E.C., Raymundo, D.L & Driemeier, D., "Histopathological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses" Vet, Parasitol, (2007). 150 (1/2): 159-163.

- 176- Van Maanen, C., Wouda, W., Schares, G. et al "An interlaboratory Comparison of immunohistochemistry and pcr methods for detection of neospora caninum in bovine foetal tissues". *Vet, Parasitol*, (2004), 126 (4), 351-364.
- 177- Mcallister, M.M., Parmley, S.F., Weiss, I.M., Welch, V.J., Mcguire, A.M, "An immunohistochemical Method for detecting bradyzoite antigen (bag5) in toxoplasma gondii- infected tissues cross-reacts with a neospora caninum bradyzoite antigen", *J. Parasitol*, (1996b), 82(2), 354-355.
- 178- Sundermann, C.A., Estridge, B.H., Branton, M.S., Bridgman, C.R., Lindsay, D.S., "Immunohistochemical diagnosis of *Toxoplasma gondii*: potential for cross-reactivity with *Neospora caninum*", *J, Parasitol*, (1997) 83, 440–443.
- 179- Uzêda, R.S., Schares, G., Ortega-Mora, L.M., Madruga, C.R., Aguado-Martinez, A., Corbellini, L.G., Driemeier, D., Gondim, L.F., "Combination of monoclonal antibodies improves immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum*", *Vet Parasitol*, (2013) Nov 8 ; 197 (3-4): 477-86.
- 180- Björkman, C., Uggla, A., "Serological diagnosis of *Neospora Caninum* infection. *Int. J.Parasitol*, (1999). p.29, p.1497-1507.
- 181- Ortega-Mora, L.M., FernándeZ-García, A. and Go´mez-Bautista, M., "Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives". *Acta Parasitol*, (2006), 51:1–14.
- 182- Wapenaar, W.H.W., Barkema, G., Schares, K., Rouvinen-Watt, L., Zeijlemaker, B., Poorter, R.M., O’Handley, O.C.H., Kwok and Dubey, J.P "Evaluation of four serological techniques to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) in Prince Edward Island, Canada" *Vet. Parasitol*, (2007), 145: 51–58.
- 183- Weston, J.F., Howe, L., Collett, M.G., Pattison, R.S., Williamson, N.B., West, D.M., Pomroy, W.E., Syed-Hussain, S.S., Morris, S.T., Kenyon, P.R., "Dose-titration challenge of young pregnant sheep with *Neospora caninum* tachyzoites", *Vet, Parasitol*, (2009), 164, 183–191.
- 184- Czopowicz, M., Kaba, J., Szalus-Jordanow, O., Nowicki, M., Witkowski, L., Frymus, T, "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland", *Vet. Parasitol*, (2011), 178, 339–341.
- 185- Aguado-Martínez, A., Álvarez-García, G., Fernández-García, A., RiscoCastillo, V., Arnaiz-Seco, I., Rebordosa-Trigueros, X., Navarro-

- Lozano, V., Ortega-Mora, L.M., " Usefulness of rNcGRA7- and rNcSAG4-based ELISA tests for distinguishing primo-infection, recrudescence, and chronic bovin neosporosis. *Vet. Parasitol*, (2008), 157, 182–195.
- 186- Huang, P., Liao, M., Zhang, H., Lee, E.G., Nishikawa, Y., Xuan, X., " Dense-granule protein NcGRA7, a new marker for the serodiagnosis of *Neospora caninum* infection in aborting cows". *Clin. Vaccine Immunol*, (2007), 14, 1640-1643.
- 187- Hiasa, J., Kohara, J., Nishimura, M., Xuan, X., Tokimitsu, H., Nishikawa, Y., "ELISAs based on rNcGRA7 and rNcSAG1 antigens as an indicator of *Neospora caninum* activation", *Vet. Parasitol*, (2012), 187, 379–385.
- 188- Ghalmi, F., China, B., Jenkins, M., Azzag, N., Losson, B., "Comparison of different serological methods to detect antibodies specific to *Neospora caninum* in bovine and canine sera", *J. Vet. Diagn. Invest.*, (2014), 26, 136-140.
- 189- Baszler, T.V., Knowles, D.P., Dubey, J.P., Gay, J.M., Mathison, B.A., Mc Elwain, T.F., "Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora Caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzymelinked immunosorbent assay", *J. Clin. Microbiol*, (1996), 34, 1423–1428.
- 190- Baszler, T.V., Adams, S., Vander-Schalie, J., Mathison, B.A., Kostovic, M., "Validation of a commercially available monoclonal antibodybased competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle", *J. Clin. Microbiol.* (2001), 39, 3851–3857.
- 191- Alvarez-Garcia, G., Garcia-Culebras, A., Gutierrez-Exposito, D., Navarro-Lozano, V., Pastor-Fernandez, I., Miguel Ortega-Mora, L., " Serological diagnosis of bovine neosporosis: a comparative study of commercially available ELISA tests", *Vet. Parasitol*, (2013), 198, 85–95.
- 192- González-Warleta, M., Castro-Hermida, J.A., Carro-Corral, C., Mezo, M., "Anti-*Neospora caninum* antibodies in milk in relation to production losses in dairy cattle". *Preventive Veterinary Medicine*, (2011) Aug, 101(1-2): 58-64.
- 193- Buxton, D., Maley, S., Wright, W.S.K., Thomson, M., Rae, A.G & Innes, E. A., "The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *Journal of Comparative Pathology*, (1998), 118, 267-279.

- 194- 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), 7, 273–275.
- 195- Sinnott, F.A., Monte, L.G., Collares, T.F., Silveira, R.M., Borsuk, S., "Review on the immunological and molecular diagnosis of neosporosis (years 2011-2016)", *Vet. Parasitol*, (2017), 239, 19-25.
- 196- Alvarez-Garcia, G., Collantes-Fernandez, E., Costas, E., Rebordosa, X., Ortega-Mora, L.M., "Influence of age and purpose for testing on the cut-off selection of serological methods in bovine neosporosis", *Vet Res*, (2003), 34: 341-352.
- 197- Atkinson, R., Harper, P.A.W., Reichel, M.P., Ellis, J.T., "Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle", *Parasitol*, (2000). Today, 16, 110-114.
- 198- Álvarez-García, G., Pereira-Bueno, J., Gómez-Bautista, M., Ortega-Mora, L.M., "Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoite antigens by naturally infected pregnant cattle and aborted fetuses", *Vet, Parasitol* (2002), 107, 15– 27.
- 199- Baszler, T.V., Long, M.T., Mc, Elwain, T.F., Mathison, B.A., "Interferon gamma and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice", *International Journal for Parasitology*, (1999), 29, 1635–1646.
- 200- Collantes-Fernandez, E., Zaballos, A., Alvarez-Garcia, G., OrtegaMora, L.M., "Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real-time PCR", *J, Clin, Microbiol*, (2002). 40, 194-1198.
- 201- Okeoma, C.M., Stowell, K.M., Williamson, N.B., Pomroy, W.E., "*Neospora caninum*: quantification of DNA in the blood of naturally infected aborted and pregnant cows using real-time PCR", *Exp. Parasitol*, (2005), 110 pp. 48-55.
- 202- Ho, M.S.Y., Barr, B.C., Rowe, J.D., Anderson, M.L., Sverlow, K.W., Packham, A., Marsh, A. E. and Conrad, P. A. "Detection of *Neospora* sp. From Infected bovine tissues by PCR and probe hybridization". *Journal of Parasitology*, (1997). 83, 508–514.
- 203- Gottstein, B., Hentrich, B., Wyss, R., Thur, B., Busato, A., Stark, K.D. C. And Muller, N. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine

- neosporosis in Switzerland. *International Journal for Parasitology* (1998). 28, 679–691.
- 204- Kritzner, S., Sager, H., Blum, J., Krebber, R., Greif, G., Gottstein, B., "An Explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in Calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, (2002), 1, 4.
- 205- Basso, W., Venturini, L., Venturini, M.C., Hill, D.E., Kwok, O.C., Shen, S.K., Dubey, J.P., "First isolation of *Neospora caninum* from the feces of A naturally infected dog"., *J Parasitol*, (2001), 87 (3): 612–618.
- 206- Okeoma, C.M., Williamson, N.B., pomroy, W.E., Stowell, K.M., Gillespie, L., "the use of PCR to detect *Neospora caninum* DNA in the Blood of naturally infected cows ", *Veterinary, parasitology*, (2004b),122, 307-315.
- 207- Innes, M.C., Ryan, L.M., O'Handley, U.M., Sager, R., Froshaw, H., Palmer, D.G., " Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum", *Vet Parasitol*, (2006),142:207–13.
- 208- Moskwa, B., Cabaj, W., Pastusiak, K and Bien, J., "The suitability of milk in detection of *Neospora caninum* infection in cows", *Acta Parasitol* (2003).48:138-141.
- 209- Moskwa, B., Pastusiak, K., Bien, J., and Cabaj, W., "The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows". *Parasitol. Res*, (2007),100:633-636.
- 210- Ortega-Mora, L.M., Ferre, I., del Pozo, I., Caetano da Silva, A., Collantes-Fernández, E., Regidor-Cerrillo, J., Ugarte-Garagalza, C and Aduriz, G., "Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls", *Vet. Parasitol* (2003). 117:301-308.
- 211- Staubli, D., Sager, H., Haerdi, C., Haessig, M., Gottstein, B., "Precolostral serology in calves born from *Neospora*-seropositive mothers" *Parasitol Res*, (2006) Sep, 99 (4): 398-404.
- 212- Liddell, S., Jenkins, M.C., Collica, C.M., Dubey, J.P., "Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination. *J Parasitol*, (1999) Dec 85 (6): 1072-5.
- 213- Muller, N., Vonlaufen, C., Gianinazzi, S.L., Leib, A., "Hemphill Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora*

- caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue", J. Clin. Microbiol, 40, (2002), pp. 252-255.
- 214- Arya, M., Shergill, IS., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., Patel, H.R., "Basic principles of real-time quantitative PCR", Expert Rev Mol Diagn, (2005) Mar,5(2):209-19.
- 215- Pinitkiatisakul,S.,Mattsson,J.G., Lunden, A., "Quantitative analysis of parasite DNA in the blood of immunized and naive mice after infection with *Neospora caninum*", Parasitology, (2008), 135:175–182.
- 216- Nishimura, M., Kohara, J., Hiasa, J., Muroi, Y., Yokoyama, N., Kida, K., Nishikawa, Y., "Tissue distribution of *Neospora caninum* in experimentally infected cattle", Clin. Vaccine Immunol, (2013), 20 (2): 309–312.
- 217- Caetano-da-Silva, A., Ferre, I., Collantes-Fernández, E., Navarro, V., Adu G., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora, L.M., "Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls", Theriogenology, (2004), Oct 1, 62 (7): 1329-36.
- 218– Ferre,I.,Aduriz,G.,Del-Pozo,I.,Regidor-Cerrillo,J.,Atxaerandio,R.,Collantes-Fernández,E.,Hurtado,A.,Ugarte-Garagalza,C.,Ortega-Mora,L.M.,"Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls". Theriogenology, Mar ,(2005)15;63(5):1504-18.
- 219- Serrano-Martínez, E., Ferre, I., Martínez, 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.
- 220- Ferre, I., Serrano-Martínez, E., Martínez, A., Osoro, K., Mateos-Sanz, A., Del-Pozo , I., Aduriz, G., Tamargo, C., Hidalgo, C.O., Ortega-Mora, L.M, "Effects of re-infection with *Neospora caninum* in bulls on parasite detection in semen and blood and immunological responses", Theriogenology, (2008) Apr 15, 69 (7): 905-11.
- 221- Pereira, L.M., Baroni, L., Yatsuda, A.P., "A transgenic *Neospora caninum* strain based on mutations of the dihydrofolate reductase-thymidylate synthase gene," Exp. Parasitol, (2014) 138, 40–47.
- 222- Guimin, Z., Hongmei, W., Peili, H., Chengqiang, H., Hongbin, H., "Rapid and visual detection of *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis by

- recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow dipstick", *J.Vet. Sci*, (2018),19 (2), 242-250.
- 223- Hou, P., Zhao, G., Wang, H., He, C., Huan, Y., He, H., "Development of a recombinase polymerase amplification combined with lateral-flow dipstick assay for detection of bovine ephemeral fever virus", *Mol, Cell, Probes*,pii, (2017), S0890- 8508, (17) 3012, 1-4.
- 224- Lai, M.Y., Ooi, C.H., Lau, Y.L., "Recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow strip for the detection of Plasmodium knowlesi", *AM, J, Trop, (2017), Med, Hyg.*
- 225- Kissenkötter, J., Hansen, S., Böhlken-Fascher, S., Ademowo, O.G., Oyinloye, O.E., Bakarey, A.S., Dobler, G., Tappe, D., Patel, P., Czerny, C.P., Abd El Wahed, A.,"Development of a pan-rickettsial molecular diagnostic test based on recombinase polymerase amplification assay", *Anal. Biochem*, (2017), 544, 29.
- 226- Barr, B.C., Conrad, P.A., Sverlow, K.W., Tarantal, A.F., Hendrickx, A.G "Experimental fetal and transplacental Neospora infection in the nonhuman primate." *Lab Invest*, (1994), 71 (2): 236-42.
- 227- ONS, Office National des Statistiques, (2018).
- 228- APS, (Agence presse service), "Viandes rouges: une production nationale de plus de 5 millions de quintaux en (2017)".
- 229- Aidoud, A., Le Floc'h, E and Le Houérou, H.N, "Les steppes arides du nord de l'Afrique, Sécheresse", (2006), 1, 19-30.
- 230- Hafid, N., "L'influence de l'âge, de la saison et de l'état physiologique des caprins sur certains paramètres sanguins", *Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en science vétérinaires*, (2006), Université de Batna, 101p.
- 231- Boulakhras, Z., "Evaluation des performances de croissance des chevreaux de la race Alpine en fonction de la taille de la portée, le sexe et la parité au niveau de l'ITDAS Biskra". *Master Sciences Agronomiques* (2018). Univ de Biskra.
- 232- Moula, N., Ait Kaki, A., Touazi, L., Farnir, F., Leroy, P & Antoine-Moussiaux, N., "Goat breeding in the rural district of Chemini (Algeria)", *Nat. & Technol*, (2017), 16, 40- 48.

- 233- Saidani, K., Ziam, H., Hamiroune, M., Righi, S., Benakhla, A., "Elevage des petits ruminants en Kabylie, Algérie, et perspectives de développement", *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, (2019), 72 (2), 49-54.
- 234- Kardjadj, M., Kouidri, B., Metref, D., Luka, P.D., Ben-Mahdi MH., " Abortion and various associated risk factors in small ruminants in Algeria", *Prev Vet Med*, (2016)123, 97-101.
- 235- Yabrir, B., Laoun, A., Chenouf, N.S., Mati, A., "Caractéristiques des élevages ovins de la steppe centrale de l'Algérie en relation avec l'aridité du milieu : cas de la wilaya de Djelfa", *Livest Res Rural Dev*, (2015), 27, 207.
- 236- Kanoun-Meguellati, A et Yakhlef, H., "Contraintes et stratégies d'adaptation des éleveurs de moutons dans un milieu à composante pastorale: Cas de Djelfa, Algérie", in Colloque international «Développement durable des productions animales: enjeux, évaluation et perspectives», Alger, 20-21 avril, (2008).
- 237- McAllister, M.M., "Diagnostic et contrôle de la néosporose bovine", *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, (2016), 32 (2), 443-463.
- 238- Moreno, B., Collantes-Fernández, E., Villa, A., Navarro, A., Regidor-Cerrillo, J., Ortega-Mora, L.M, "Occurrence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii infections in ovine and caprine abortions", *Vet. Parasitol*, (2012).187 (1–2), 312–318.
- 239- Gharekhani, J., Esmailnejad, B., Rezaei, H., Yakhchali, M., Heidari, H., Azhari, M., "Prevalence of anti-Neospora caninum antibodies in Iranian goats", *Ann Parasitol*,(2016), 62, 2, 111-114.
- 240- Ghalmi, F., China, B., Kaidi, R., Losson, B., "Neospora caninum is associated with abortion in Algerian cattle", *J Parasitol*, (2011), 97, 1121-1124.
- 241- Guimares, J.S., Souza, S.L.P., Bergamaschi, D.P., Gennari, S.M., "Prevalence of Neospora caninum antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Parana state, Brazil", *Vet Parasitol*, (2004), 124, 18.
- 242- Centre d'expertise en production ovine du Québec. Fiches techniques "santé biodiversité, avortement, reproduction", (2018). <https://cepoq.com/fiches>

- 243- McGeady, T.A., Quinn, P.J., Fitzpatrick, E.S., Ryan, M.T., Kilroy, D., Lonergan, P., "Veterinary Embryology", John Wiley & Sons, (2017), p. 331-336.
- 244- Akakpo, A.J., Teko-agbo, A., Kone, P., "L'impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique", Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaire (EISMV), Conf. OIE (2009). 71-84.
- 245- Anagriculture., "Assises nationales de l'agriculture", Statistiques. <https://www.anagriculture>, (2018), dz.
- 246- Bessaoud, O., Pellissier, J.P., Rolland, J.P., Khechimi, W., "Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie", Rapport de recherche CIHEAM-IAMM, (2019), pp, 82.
- 247- Verhelst, D., De Craeye, S., Vanrobaeys, M., Czaplicki, G., Dorny, P., Cox, E., "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic sheep in Belgium", *Vet, Parasitol*, (2014), 205, 57–61.
- 248- Schnydrig, P., Vidal, S., Brodard, I., Frey, C., Posthaus, H., Perreten, V., Rodriguez Campos, S., "Bacterial, fungal, parasitological and pathological analyses of abortions in small ruminants from 2012-2016", *Schweiz. Arch.Tierheilkd*, (2017),159, 647–656.
- 249- Clothier, K., Anderson, M., "Evaluation of bovine abortion cases and Tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012", *Theriogenology*, (2016), 15; 85 (5): 933-938.
- 250- Rani, P., Dutt, R., Singh, G., Chandolia, R.K., "Embryonic Mortality in Cattle- A Review", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, (2018), Vol 7 (7): 1501-1516.
- 251- Menzies, P.A., "Abortion in sheep: diagnosis and control. In Youngquist RS, Threlfall WR, editors. *Current therapy in large animal theriogenology*", (2007), 2nd ed, St Louis, Elsevier p: 667–80.
- 252- Chartier, C., Chartier, F., "Enquête séroépidémiologique sur les avortements infectieux des petits ruminants en Mauritanie, " *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, (1988), 41:23-34.
- 253- Benkirane, A., Jabli, N., Rodolakis, A., "Fréquence des avortements et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives dans la

- région de Rabat (Maroc), "*Annales de Recherches Vétérinaires*, (1990) 21: 267-273.
- 254- El Jai et al., "Suivi épidémiologique des avortements de petits ruminants dans Les zones pastorales du Maroc, "Actes Inst. Agron, Vet, (Maroc) (2003), Vol. 23 (2- 4): 95-100.
- 255- Hamzy-El Idrissi, A., Manyari, A., Benkirane, A., "Fréquence des Avortements infectieux des ovins au Maroc (régions des Zaer et du Moyen Atlas)", *Actes de l'Institut Agronomique Vétérinaire*, 15, (1995), (4): 11-14.
- 256- Menzies, P .I., Miller, R., "Abortion in sheep: Diagnosis and control Young quistRS ED Current therapy in large animal., "therigenology,(1997),ed 1 Philadelphia, W. B ,Saunders p: 617-627.
- 257- Dubreuil, p., Arsenault, J., "Les avortements chez les ruminants, le médecin vétérinaire du québec., "(2003).., vol 33, n°1 et 2.
- 258- Abed, H, Ghalmi, F., "approche séro-épidémiologique des avortements à *T. gondii* et *N. caninum* chez la brebis dans la région est d'Alger., "Mémoire de Magistère, (2016), Sciences vétérinaire: Immunologie Animale: Alger: École Nationale Supérieure Vétérinaire: Bibliogr, 19 f, Annexes 15 f.
- 259- Guingouain, C. H. G. I. N., " L'élevage des petits ruminants en milieu paysan dans les régions de la Kara et des Savanes au Togo: Diagnostic technico-économique., "Thèse Doct, Vét, (2017), Ecole nationale vétérinaire, Maisons Alfort, France, 209 p.
- 260- Kouame., Adam. Camille., Kouakou, eugène. Kouadio., Gouagoua. Séverin Kouadja., Olga. Sidonie. Assemien - Diarrassouba et Kouassi. Cyrille. N'gouan., " l'élevage ovin (*ovis aries*) en côte d'ivoire: caractéristique démographique du cheptel des localités de touba (ouest), korhogo (nord) et de bouaké (centre) laciné kalo bamba., "Afrique science 16 (5), (2020), 8-16.
- 261- Rodolakis, A., Laroucau, K., " Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep or goats., " Vet Microbiol, (2015) Dec 14: 181(1-2):107-18.
- 262- Yin, L., Scutteet, K., Kalmar, I. D., Bertels, G., VanDriessche, E., Czaplicki, G., Borel, N., Longbottom, D., Frélin, D., Dispas, M., Van Rompay, D., "Prevalence of *Chlamydia abortus* in Belgian ruminants"., *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, (2014), 164: 83-164.
- 263- Wirz-Dittus, S., Belloy, I., Doherr, M. G., Hussy, D., Sting, R., Gabioud, P et al., "Use of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of

- antibodies in sheep naturally infected with Salmonella Abortusovis", J, Vet, (2010), Diag. Invest, 22, 531-536.
- 264-Khammassi-Khabou, M., Hammami, S., Cherif, A., Majok, A., " séroprévalence des majeures maladies infectieuses causant l'avortement chez les petits ruminants. Durabilité des systèmes d'élevage des petits ruminants en Tunisie: Une approche de santé animale et marketing", *International Livestock Research Institute*, (2009), 17: 5-24.
- 265- Yahiaoui, W. I., Afri-Bouzebda, F., Bouzebda, Z., Dahmani, A., " Sondage sérologique de la fièvre Q chez les ovins par la méthode ELISA et prévalence des avortements dans la région de Ksar El Boukhari (Algérie). *Tropicultura*,(2013),32 (1) :22-27.
- 266- Lacheheb, A., " La Fièvre Q: maladie Émergente méconnue en Algérie", Première Journée de Microbiologie Clinique, 29 mai, (2008), Alger, Algérie.
- 267- Ouertani, I., Sghairi-Jaoudi, H., Jaoudi, K & Benzarti M., " Causes infectieuses et parasitaires isqueKasserine-Tunisie", Recueil du 27ème Congrès Vétérinaire Maghrébin, (2010), Hammamet-Tunisie.
- 268- Corbellini, L. G., Smith, D. R., Pescador, C. A., Schmitz, M., Correa, A., Steffen, D. J and Driemeier, D., " Herd-level risk factors for Neospora caninum Seroprevalence in dairy farms in southern Brazil", *Prev, Vet, Med*, (2006), 74:130–141.
- 269- Romo-Gallegos, J. M., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M and Romero-Salas, D., "Prevalence and risk factors of Neospora caninum infection in ovine flocks of Central-Western Mexico"., *Acta Veterinaria Hungarica*, (2019), 67: 51-59.
- 270- Reichel, M. P., Alejandra Ayanegui-Alcerreca, M., Gondim, L. F., Ellis, J. T., " What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle _the billion dollar question". *International Journal for Parasitology*, (2013), 43 (2), 133-142.
- 271- Campero, L. M., Venturini, M. C., Moore, D. P., Massola, L., Lagomarsino, H., Garcia, B., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Leunda, M. R., Schares, G., Campero, C. M., " Isolation and molecular characterization of a new Neospora caninum isolate from cattle in Argentina, *Experimental Parasitology*, (2015), 155, 8-12.

- 272- Diakou, A., Papadopoulos, E., Panousis, N., Karatzias, C., Giadinis, N., " Toxoplasma gondii and Neospora caninum seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming ", Veterinary Parasitology, (2013),198 (3-4), 387- 390.
- 273- Meng, Q. F., Li, Y., Zhou, Y., Bai, Y. D., Wang, W. L., Wang., W. L., Cong, W., " Seroprevalence of Neospora caninum infection in farmed sika deer (Cervus nippon) in China ", Veterinary Parasitology, (2015), 211(3-4), 289-292.
- 274- Pitel, P. H., Pronost, S., Romand, S., Thulliez, P., Fortier, G., Ballet, J. J., "Prevalence of antibodies to Neospora caninum in horses in France",Equine Veterinary Journal, (2001), 33 (2), 205-207.
- 275- Wilson, D. J., Orsel, K., Waddington, J., Rajeev, M., Sweeny, A. R., Joseph, T., Grigg, M. E., Raverty, S. A., " Neospora caninu is the leading cause of bovine fetal loss in British Columbia, Canada. Veterinary Parasitology", (2016), 218, 46–51.
- 276- Bishop, S., King, J., Windsor, P., Reichel, M. P., Ellis, J., Slapeta, J, "The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of Neospora caninum prevalence in sheep in New South Wales", Veterinary Parasitology, (2010), 170 (1-2), 137-142.
- 277- Machado, G. P., Kikuti, M., Langoni, H., Paes, A. C., " Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms ", Veterinary Parasitology, (2011),182 (2-4), 356-358.
- 278- Nasir, A., Ashraf, M., Khan, M. S., Javeed, A., Yaqub, T., Avais, M., Reichel, M. P., "Prevalence of Neospora caninum antibodies in sheep and goats in Pakistan" Journal of Pasitology, (2012), 98 (1), 213-215.
- 279- Paiz, L. M., da Silva, R. C., Menozzi, B. D., Langoni, H., " Antibodies to Neospora caninum in sheep from slaughterhouses in the state of Sao Paulo, Brazil ", Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, (2015), 24 (1), 95-100.
- 280- Bártová, E., Sedlák, K., " Toxoplasma gondii and Neospora caninum antibodies in goats in the Czech Republic ", Vet, Med, (Praha), (2012), 57, 111–114.
- 281- Amdouni, Y., Rjeibi, M. R., Awadi, S., Rekik, M., Gharbi, M., "First detection and molecular identification of *Neospora caninum* from naturally infected

- cattle and sheep in North Africa", *Transbound Emerg Dis*, (2018); 65: 976–82.
- 282- Hireche Sana., " l'avortement enzootique des brebis: Séroprévalence et caractérisation moléculaire de *Chlamydia abortus* dans la wilaya de Constantine Thèse De Doctorat Es Sciences en Sciences Vétérinaires, (2014).
- 283- Spilovska, S., Reiterova, K., Kovacova, D., Bobakova, M., Dubinsky, P., "The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia", *Vet. Parasitol*, (2009), 164, 320–323.
- 284- Astorga, R. J., Reguillo, L., Hernández, M., Cardoso-Toset, F., Tarradas, C., Maldonado, A., Gómez-Laguna, J., "Serosurvey on schmallenberg virus and selected ovine reproductive pathogens in culled ewes from southern Spain " *Transbound Emerg Dis*, (2014), Feb: 61(1): 4-11.
- 285- Gökçe, G., Mor, N., Kırmızıgül, A., Bozukluhan, K. & Erkilic, E., " The first report of seropositivity for *Neospora caninum* in sheep from Turkey", *Israel Journal of Veterinary Medicine*, (2015), 70, 40–44.
- 286- Abed, H., Ghalmi, F., Hafsi, F., Azzag, N., "Evaluation de l'infection par *N. caninum* chez les ovins dans la région d'Alger ", IXème séminaire international de médecine vétérinaire filiaire ovine en Algérie et au Maghreb "enjeu et stratégies d'avenir " 15 et 16 décembre,(2018).
- 287- Wang, S., Li, L., Lu, Y., Zhang, H., Xie, Q., Zhang, Z., " Seroprevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection among domestic sheep in Henan province, central China ", *Parasite*. (2018); 25:15.
- 288- Dahourou, L.D., Gbati, O.B., Savadogo, M., Yougbare, B., Dicko, A., Combari, A.H.B., Kamga-Waladjo, A.R., "Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in households sheep elevage en case" in Dakar, Senegal ". *Vet World*, (2019) Jul; 12 (7): 1028-1032.
- 289-Moskwa, B., Kornacka, A., Cybulska, A., Cabaj, W., Reiterova, K., Bogdaszewsk, M., Steiner-Bogdaszewska, Z., Bien, J., " Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in sheep, goats, and fallow deer farmed on the same area ", *J Anim Sci*, (2018), Jun 4;96 (6): 2468-2473.
- 290-Nie, L. B., Cong, W., Zou, Y., Zhou, D. H., Liang, Q. L., Zheng, W. B., M.a, J. G., D.U. R., Zhu, X. Q., " First Report of Seroprevalence and Risk Factors

- of *Neospora caninum* Infection in Tibetan Sheep in China". Biomed Res Int, (2018), May 29: 2098908.
- 291- Dubey, J. P. Hemphil., Calaero-Bernal, A et Schares, G., " Néosporose des animaux ", CRC Press, Boca Raton, Floride, États-Unis, (2017), Pp. dans la presse.
- 292- Cruz-Vázquez, C., Vital-Gutiérrez, J., Medina-Esparza, L., Ortega-Mora, L., Valdivia-Flores, A., Quezada-Tristán, T., & Orihuela-Trujillo, A., "*Neospora caninum* Infection during the First Gestation of Holstein Heifers That Consume Food Contaminated Naturally with Zearalenone under Field Conditions", *Iranian journal of parasitology*, (2017).
- 293- Figliuolo, L. P. C., Kasai, N., Ragozo, A. M. A., de Paula, V. S. O., Dias, R. A., Souza, S. L. P., and Gennari, S. M., "Prevalence of Anti-*Toxoplasma gondii* and Anti-*Neospora caninum* Antibodies in Ovine from Sao Paulo State, Brazil", *Veterinary Parasitology*, (2004), 123,161-166.
- 294- Aguiar, D. M., Chiebao, D. P., Rodrigues, A. A. R., Cavalcante, G. T., Labruna, M. B., Gennari, S. M., "Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do Município de Monte Negro, Amazônia Ocidental Brasileira", *Arq Inst Biol*, v. 71, supl. p. 277, (2004).
- 295- Romanelli, P .R., Freire, R. L., Vidotto, O., Marana, E. R., Ogawa, L., De Paula, V. S., Garcia, J. L., Navarro. I.T. "Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana State, Brazil". *Res Vet Sci*, v. 82, p. 202-207, (2007).
- 296- Ueno,T. E., Goncalves, V. S., Heinemann, M. B., Dilli, T. L., Akimoto, B. M., Souza, S. L., Gennari, S. M., Soares, R. M., "Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil", *Trop Anim Health Prod*, v. 41, p. 547-552, (2009).
- 297- Otero, A.R.S., Uzêda, R. S., Jesus, E.E.V., Pinheiro, A. M & Almeida, M. A. O., "Ocorrência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em rebanho de ovinos no Estado da Bahia", *Anais 1º Fórum Brasileiro de Estudos sobre Neospora caninum*, São Paulo, SP. Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, (2005).
- 298- Souza. Neto, O.L., Albuquerque, P.P.F., Santos, A.S., Fernandes, E.F.T.S., Faria, E.B., Moraes, E.P.B X., Rabelo, S. S. A., Silva, L. G. S., & Mota, R. A. "Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e fatores de risco

- associados à infecção em ovinos no município de Gravatá, Pernambuco, Brasil", Anais 9ª Jornada de Ensino,(2009), Pesquisa e Extensão (JEPEX), Recife.
- 299- Faria, E., Cavalcanti, E., Madeiros, E., Pinheiro Júnior, J. Azevedo, S., Athayde, A., Mota, R., "Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil", J Parasitol, (2010), v. 96, p.197-199.
- 300- Moraes, L.M., Raimundo, J.M., Guimarães, A., Santos, H.A., Macedo Junior Gde, L., Massard, C.L., Machado, R.Z., Baldani, C.D., "Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil". Rev Bras Parasitol Vet, v.20, p.312-317, (2011).
- 301- Araújo, A.C., Guimarães, M.F., Machado, D.M.R., Freire, D.P., Labruna, M.B., Pena, H.F.J & Horta, M.C., "*Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em ovinos, caprinos, cães e gatos, Serra das Confusões, Piauí". Anais 18º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, CBPV, Gramado (2014).
- 302- Huber, Rizzo, Taile K. S., de Jesus., Natália Gaeta, C., Jeferson Carvalho, S., José Pinheiro Júnior, W., Lilian Gregory Solange, M., Gennari e Eliana, M.C., Villalobos., "Pesquisa de anticorpos IgG para *Neospora caninum* e avaliação dos fatores de risco em ovinos do Estado de Sergipe", Pesq. Vet. Bras. 37 (8): 813-819, agosto, (2017).
- 303- Georgie, V.A.D.A., "Prelezov, P.N., Koinarski, V.T.S., "*Neospora caninum* and neosporosis in animals", A review. *Bulg. J. Vet. Med.*, (2006), 9, 1-26.
- 304- Melo, C.B., Leite, R.C., Souza, G. N., Leite, R. C., "Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais". *Rev Bras Parasitol Vet*, (2001), 10, 67-74.
- 305- Da Silva. Andrade, G., Bruhn, F. R., Rocha, C. M., Guimaraes Ade, S., Gouveia, A. M., Guimaraes, A. M., "Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in sheep in the state Minas Gerais, southeastern Brazil". *Veterinary Parasitology* , (2012), 188: 168-171.
- 306- Rocha, D. S., Guimarães, L. A., Bezerra, R. A., Mendonça, C. E. D., Dorea, T. G., Munhoz, A. D & Albuquerque, G. R. "Seroprevalence and

- factors associated with *Neospora caninum* infection in sheep from southeastern Bahia, Brazil". *Revta Bras. Med. Vet* , (2014), 36 (4): 443-447.
- 307- Faria, E. B., Gennari, S. M., Pena, H. F. J., Athayde , A. C. R., Silva, M. L. C. R. & Azevedo, S.S., "Prevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast Region of Brazil", (2007), *Vet. Parasitol.* 149: 126-129.
- 308- Pan, Y., Jansen, G. B., Duffield, T. F., Hietala, S., Kelton, D., Lin, C. Y et Peregrine, A. S., "*Sensibilité génétique à l'infection par Neospora caninum* chez les bovins Holstein en Ontario", *Journal of Dairy Science*, (2004), **87** , 3967 - 3975 .
- 309- Salaberry, S. R., Okuda, L. H., Nassar, A. F., de Castro, J. R., Lima- Ribeiro, A. M., "Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlandia county", (2010), MG. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(3), 148-151.
- 310- Carneiro, A. C. A. V., Carneiro, M., Gouveia, A. M. G., Vilas-Boas, L. S., Vitor, R. W. A., "Seroprevalence and risk factors of sheep toxoplasmosis in Minas Gerais, Brazil", (2009), *Revue Méd. Vét.* 160, 527–53.
- 311- Guimarães, A. S., Gouveia A. M. G., Abreu, C. P., Haddad, J. P. A., Leite , R. C., Carmo, F. B., "Características zoossanitárias da ovinocultura em Minas Gerais " *Rev. Vet. Zootec. em MG*, 102, (2009), pp. 33 – 39.
- 312- Corbellini, L. G., Colodel, E. M., Driemeier, D., "Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts", *J. Vet. Diagn. Investig*, 13, (2001), pp. 416-419.
- 313- Villagra-Blanco, R., Barrantes-Granados, O., Montero-Caballero, D., Romero-Zúñiga, J. J., Dolz, G, "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections and associated factors in sheep from Costa Rica", *Parasite Epidemiol Control*, (2019), Jan 10; 4: e 00085.
- 314- Cayvaz, M., Karatepe, M., "Seroprevalence of *Neospora caninum* in goats in Niğde province", *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, (2011), 17, 935-939.
- 15- Ghattof, H. H., Faraj, A. A., "Séroprévalence de *Neospora caninum* chez les chèvres dans la province de Wasit en Iraq". *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, (2015), 4 (7): 182–191.

- 316- Ezatpour, B., Alirezaei, M., Hassanvand, A., Zibaei, M., Azadpour, M., "The first report of *Neospora caninum* prevalence in aborted and healthy sheep from Lorestan province of Iran", (2012), *Asian Pac J Trop Biomed* 1, 1-3.
- 317- Andrade, G. S., Brhuna, F. R. P., Rocha, M. B. M., Guimarães, A. S., Gouveia, A. M. G., Guimarães, A. M., "Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in sheep in the state Minas Gerais, southeastern Brazil", *Veterinary Parasitology*, (2012), Amsterdam, v. 188, p. 168-171.
- 318- Nazir, M. M., Maqbool, A., Akhtar, M., Ayaz, M., Ahmad, A. N., Ashraf, K., Ali, A., Alam, M. A., Ali, M. A., Khalid, A. R., Lindsay, D. S., "*Neospora caninum* Prevalence in dogs raised under different living conditions. *Veterinary Parasitology*, (2014), 204 (3-4), 364-368.
- 319- Ghalmi, F., China, B., Kaidi, R. & Losson, "First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers District (Algeria), *Parasitol*, (2009), int., 58, 444 - 450. 36 (6): 1948-1951.
- 320- Saidi, A., "Etude de la prévalence de la néosporose (*Neospora caninum*) chez les chiens de ville et de campagne dans la région de Blida (Algerie), "Mémoire de Magister, (2012), Université Saad dahlab Blida.
- 321- Hall, C. A., Reichel, M. P., Ellis, J. T., "*Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control", *Veterinary Parasitology*, (2005), 128, 231–241.
- 322- Syed Hussain, S. S., Howe, L., Pomroy, W. E., West, D. M., Hardcastle, M., Williamson N. B., "Transmission verticale chez des moutons infectés expérimentalement malgré l'inoculation précédente avec l'isolat *Neospora caninum* NcNZ1", *Parasitologie vétérinaire*, (2015), 208 (3-4), 150-158.
- 323- Gazzonis, A.L., Veronesi, F., Di, A.R, Cerbo , Zanzani, S. A., Molineri, G., Moretta, I., Moretti, A., Fioretti, D. P., Invernizzi, A., Manfredi, M. T., *Toxoplasma gondii* chez les petits ruminants dans le nord de l'Italie - prévalence et facteurs de risque *Ann. Agric. Environ. Med.* , 22 (2015), pp. 62 – 68.
- 324- Cerqueira-Cézar, C. K et al., "All about neosporosis in Brazil". *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, (2017), v. 26, p. 253- 279.
- 325- Wang, S., Yao, Z., Zhang, N., Wang, D., Ma, J. B., Liu, S. G., Zheng, B., Zhang, B., Liu, K., Zhang, H.Z.," Serological study of *Neospora caninum* infection in dogs in central China., (2016), *Parasite*, 23, 25.

- 326- Rizzo, H., Gregory, L., Beraldi, F & Villalobos, E. C. M., " Análise de fator de risco e avaliação clínica de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos pertencentes à criatórios do estado de São Paulo, infectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*", Vet. Zootec, (2011), 18 (4) Supl. 3: 908-911.
- 327- Moura, A.B., Güths , M.F., Farias , J.A., Souza, A.P., Sartor, A.A. & Quadros R. M., "*Neospora caninum* seroprevalence and risk factors for ewes from Santa Catarina Plateau, Brazil. Semina, Ciênc. Agrárias ", (2014), 35 (5): 2591- 2600.
- 328- Barr, B.C, Anderson, M.L., Woods, L.W., Dubey, J.P., Conrad, P.A "Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats", J, Vet, (1992), Diagn Invest 4: 365–367.
- 329- Dubey, J. P., Morales, J. A., Villalobos, P., Lindsay, D. S., Blagburn, B. L., Topper, M. J Neosporosis-associated abortion in a dairygoat (1996b), J, Am Vet Med Assoc 208: 263–265.
- 330- Ooi, H. K., Huang, C. C., Yang, C. H., Lee, S. H., " Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle", Vet Parasitol, (2000), 90: 47–55.
- 331- Lindsay, D. S., Rippey ,N. S., Powe, T. A., Sartin ,E. A., Dubey, J. P., Blagburn, B. L., "Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum* ", Am, J, Vet Res, (1995), 56: 1176–1180.
- 332- Eleni, C., Crotti, S., Manuali, E., Costarelli ,S., Filippini ,G., Moscati, L., Magnino S., Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat fetus"., (2004): Vet Parasitol 123: 271–274.
- 333- Mesquita, L. P., Nogueira, C. I., Costa, R. C., Orlando, D. R., Bruhn, F. R. P., Lopes, P. F. R., Nakagaki , K. Y. R., Peconick, A. P., Seixas, J. N., Bezerra, O. S. Jr., Raymundo, D. L., "Varaschin MS (2013): Antibody kinetics in goats and conceptuses naturally infected with *Neospora caninum*", Vet Parasitol 196: 327–333.
- 334- Costa, R. C., Orlando, D. R., Abreu, C. C., Nakagaki, K. Y., Mesquita, L. P., Nascimento, L. C., Silva, A. C., Maiorka, P. C., Peconick, A. P., Raymundo , D.L., Varaschin, M.S., "Histological and immunohistochemical characterization of the inflammatory and glial cells in the central nervous

- system of goat fetuses and adult male goats naturally infected with *Neospora caninum*", (2014), BMC Vet Res 10: 291.
- 335- Chartier, C., Baudry, C., Losson, B., De Meerschman, F., Romand, S., Thuillier, P., "La néosporose chez la chèvre: résultats de deux enquêtes sérologiques dans l'Ouest de la France", Le Point Vétérinaire, (2000), 31: 65–70.
- 336- Edelhofer, R., Peschke, R., Perz, I., "Seroepidemiological studies of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Austrian sheep and goats", 20th Internat. Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, (2005): Christchurch, New Zealand, 16.–20. Oct. 2005.
- 337- Czopowicz, M., Kaba, J., Szalus-Jordanow, O., Nowicki, M., Witkowski, L., Frymus, T., "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland", Vet Parasitol, (2011): 178: 339–341.
- 338- Ütük, A. E., Şimşek, S., Pişkin, Ç., Balkaya, İ., "Detection of *Neospora caninum* IgG antibodies in goats in Elazığ, Erzurum and Kırşehir provinces of Turkey", (2011), Isr J Vet Med. 66: 157-160.
- 339- Cobádiová, A., Reiterová, K., Derdáková, M., Špilovská, S., Turčeková, L., Hviščová, I., Hisira, V., "Toxoplasma gondii, Neospora caninum and tick-transmitted bacterium Anaplasma phagocytophilum infections in one selected goat farm in Slovakia", (2013), Acta Parasitol 58: 541–546.
- 340- Iovu, A., Gyorke, A., Mircean, V., Gavrea, R., Cozma, V., "Seroprevalence of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dairy goats from Romania", Vet. Parasitol, (2012), 186 (3), 470–474.
- 341- Luo, H.Q., Li, K., Zhang, H., Wu, B., Wang, J., Shahzad, M., Tu, Y.Q., Song, X.Z., Sun, S.W., "Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and Neospora caninum infections in goats in Hubei province, China", Trop Biomed, (2016), 33: 285–289.
- 342- Gazzonis, A.L., Alvarez-García, G., Zanzani, S.A., Ortega-Mora, L.M., Invernizzi, A., Manfredi, M. T., "Neospora caninum infection in sheep and goats from north-eastern Italy and associated risk factors", Small Ruminant Res, (2016), 140: 7–12.
- 343- García-Bocanegra, I., Cabezon, O., Pabon, G., Gomez-Guillamon, A., Arenas, A., Alcaide, E., Salas-Vega, R., Dubey, J. P., Almeria, S., "Prevalence of

- Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*)", (2012), Vet J, 191:257–260.
- 344- Díaz, P., Cabanelas, E., Díaz, J.M., Viña, M., Béjar, J.P., Pérez-Creo, A., Prieto, A., López, C.M., Panadero, R., Fernández, G., Díez-Baños, P., Morrondo, P., "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Goats from north-western Spain, (2016), Ann Agric Environ Med 23: 643–646.
- 345- Rodríguez-Ponce, E., Conde, M., Corbera, J.A., Jaber, J.R., Ventura, M.R., Gutiérrez, C., "Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goat population in Canary Islands (Macaronesia Archipelago, Spain), (2016), Small Ruminant Res 147: 73–76.
- 346- Arraes-Santos, A. I., Araújo, A. C., Guimarães, M. F., Santos, J. R., Pena, H. F.J., Gennari, S.M., Azevedo, S.S., Labruna, M.B & Horta, M.C, "Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil, (2016), Vet, Parasitol. 5:14-18.
- 347- Kim Pomy, C.P., Renata, P.B., Melo, Jonatas, C., Almeida, José, G., Silva, Muller, Ribeiro-Andrade, Wagner, J.N., Porto, José, W., Pinheiro Junior and Rinaldo, A., Mota., " Serological response to *Neospora caninum* infection in goats and agreement between three diagnostic techniques to detect caprine neosporosis, janeiro(2019), Pesq. Vet. Bras. 39 (1): 25-31.
- 348- Saidi, A., N., Moula., R., Kaidi., Z., Boumahdi-Merad., Typological characteristics of sheep farms in relation to a potential risk of contamination with *Neospora caninum* in the central region of Algeria, Agricultura, (2020), no. 3 - 4 (115-116).
- 349- Lima, J.T.R. et al., "Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte", Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science, v. 45, n. 2, p. 81-86, (2008).
- 350- Uzeda, R.S., Pinheiro, A.M., Fernandez, S.Y., Ayrez, M.C.C., Gondim, L.F.P., Almeida, M.A.O., "Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil", Small Rumin. Res, (2007b), 70 (2), 257–259.
- 351- Modolo, J.R., Stachissini, A.V.M., Gennari, S.M., Dubey, J.P., Langoni, H., Padovani, C.R., Barrozo, L.V., Leite, B.L.S., "Frequency of antibodies anti-

- Neospora caninum in sera of goats of the State São Paulo and its relationship with flock management", *Pesqui. Veterinária Bras*, (2008). 28 (12), 597–600.
- 352- Ayouni, T., "Contribution à l'étude de la néosporose caprine : enquête sérologique chez des chèvres ayant avortées en Tunisie "École Nationale vétérinaire de sidi Tbet thèse soutenu (2011).
- 353- Anastasia, D., Elias, P., Nikolaos, P., Charilaos, K., Nektarios, G., "Toxoplasma gondii and Neospora caninum seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming". *Veterinary parasitology*, (2013), In press.
- 354- Liu, Z.K., Li, J.Y., Pan, H., "Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. *Preventive Veterinary Medicine*, (2015),118: 488-492.
- 355- Gharekhani, J., Yakhchali, M., Esmailnejad, B., Mardani, K., Majidi, G., Sohrabi, A., Berahmat, R., Hazhir Alaei, M. "Seroprevalence and Risk Factors of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in Small Ruminants in Southwest of Iran", *Archives of Razi Institute*, Vol. 73, No. 4 ,(2018), 305-310.
- 356 - Ruiz, Elena Jiménez., Álvarez-García, Gema, Ortega-Mora, Luis M. "Low rates of Neospora caninum infection reactivation during gestation are observed in both chronically and congenitally infected mice "October (2012) *Parasitology* 140 (2):1-9.
- 357- Nunes, A.C.B.T., da Silva, E.M.V., de Oliveira, J.A., Kim, P.de C. P., Almeida, J.C., Nunes, K. B., Ramos, R.A.N., Mota, R. A. " Detection of anti-Neospora caninum antibodies in slaughtered sheep", (2020), *Medicina Veterinária (UFRPE)*, v.14, n.4 (oct-dec), p.283-286,