

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر -

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE - ALGER -

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de magister en Sciences Agrovétérinaires

Ecole doctorale : Production, hygiène et santé animale

Option : AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE ET REPRODUCTION DES ANIMAUX

Thème

Étude de l'impact de *Neospora caninum* comme agent abortif chez la vache gestante de race locale dans la région de Jijel

Réalisé Par : Dr. ABDELTIF Besma

Soutenu le 23/06/2014

Membres de Jury :

Président : Pr. TEMIM S. (ENSV d'Alger)

Promoteur : Dr. GHALMI F. (ENSV d'Alger)

Examineurs : Dr. TENNAH S. (ENSV d'Alger)

Pr. KHALEF D. (ENSV d'Alger)

Année universitaire 2013-2014

Remerciement

Je remercie **Dieu ALLAH** le tout puissant qui m'a donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce travail

"EL HAMDOU LI ALLAH"

Un grand merci à **Dr GHALMI F.**, la directrice de ce mémoire, je lui exprime ma profonde gratitude d'avoir accepté de guider mes tous premiers pas sur le laborieux chemin de la recherche. Ses conseils visés, ses enseignements continuellement actualisés, sa clairvoyance et sa disponibilité constante ont été des stimulateurs pour moi tout au long de cette étude.

Je remercie vivement **Dr TENNAH S.**, pour son aide combien inestimable et ses précieux conseils, pour ses qualités scientifiques et surtout humaines. J'ai beaucoup appris à son contact et qui m'a fait l'honneur de suivre ce travail et de participer au jury de mémoire.

Je remercie **Pr TEMIM S.** qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommage respectueux.

Mes remerciements s'adressent au **Pr KHELEF D.** d'avoir accepté d'être un examinateur de ce travail. Remerciements respectueux.

Je remercie **Dr KEREOUAZ M., Dr BLOUD K. et Dr CHEKRI A.** Pour m'avoir prêté le matériel et les connaissances m'ayant permis de mener à bien cette étude, et cela avec une très grande gentillesse.

Je remercie **Mon père et Ami mahmoud** pour l'intérêt qu'ils portés à mon étude, qui y ont consacré beaucoup de leurs temps et de leurs énergie et sans eux l'expérimentation n'aurait pas été possible. Tous les éleveurs pour leur disponibilité et leur accueil chaleureux au cours de mes visites. L'ensemble du personnel de la polyclinique publique Alalouche Abdelhamide d'EL Milia pour leurs aides. L'ensemble du personnel de la bibliothèque de l'ENSV. Mme la directrice du laboratoire centrale de l'INMV d'Alger. Tous mes enseignants de l'ENSV pour les efforts fournis durant ces années de formation. Ainsi que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail

- *À mes parents, pour m'avoir encouragé, soutenu, aidé,... je suis fier, chaque jour un peu plus, de l'éducation que vous m'avez donnée, sans laquelle je n'aurais sans doute jamais envisagé d'aller aussi loin.*
- *À mes chers frères et sœurs, pour l'amour de ce même sang qui coule dans nos veines.*
- *À ma tante et à mon frère, pour eux, chaque jour, je prie Dieu ALLAH pour les guérir.*
- *À l'ensemble de ma famille.*
- *À qui m'apporte tellement de bonheur. J'espère que l'avenir sera aussi beau*
- *À mes proches, mes amies et mes collègues de magistère.*

Résumé

En Algérie, le bovin de race locale est caractérisé par un niveau faible de productivité pouvant être expliqué essentiellement par les contraintes génétiques, alimentaires, climatiques et sanitaires. Parmi tous ces facteurs, les avortements constituent un réel problème économique pour les éleveurs. Ainsi, l'amélioration de la fertilité demeure un des objectifs prioritaires pour optimiser le potentiel de reproduction et donc de production de l'élevage bovin. Les données de la littérature indiquent que *Neospora caninum* est une cause majeure d'avortement chez le bovin partout dans le monde y compris en Algérie.

Le statut sérologique vis-à-vis de *N. caninum* a été analysé chez 179 vaches gestantes de race locale issues de 60 fermes différentes de la région de Jijel. La séroprévalence déterminée par la technique ELISA était de 85%. L'étude cas-témoin n'a pas mis en évidence une association entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements OR= 0,3 (IC 95% 0,03-2,86) p=0,3.

Notre étude sur l'évolution du statut sérologique de 23 vaches gestantes (sur chaleurs synchronisées) a montré ce qui suit : 8 vaches sur les 23 testées étaient séropositives à *N. caninum* durant toute la gestation et ont vêlé de veaux séropositifs cliniquement sains ; les 15 autres se sont révélées séronégatives et ont mi-bas de veaux séronégatifs sans aucun signe clinique. Aucun avortement n'a été enregistré à l'exception d'une seule vache qui a avorté de 4 fœtus. Cette dernière était séronégative durant toute la gestation.

Les résultats obtenus, semblent montrer que la race bovine locale est résistante aux avortements liés à *N. caninum*, malgré une forte exposition au parasite.

Mots clés : vaches, race locale, gestation, avortement, sérologie, *Neospora caninum*, Jijel

Summary

In Algeria, the local cattle breed is characterized by a low level of productivity explained primarily by genetic, nutritional, health and climatic constraints. Among all these factors, abortion is a real economic problem for farmers. Thus, improving the fertility remains a priority objective to optimize reproductive potential and thus producing cattle. Data from the literature indicate that *Neospora caninum* is a major cause of abortion in cattle worldwide including Algeria.

Serological status against *N. caninum* was analyzed in 179 pregnant cows of local breeds from 60 different farms in the region of Jijel. The seroprevalence determined by ELISA was 85 %. The case-control study did not reveal an association between seropositivity to *N. caninum* and abortions OR= 0,3 (IC 95% 0,03 -2,86) p=0,3.

Our study on the evolution of the serological status of 23 pregnant cows (on heat synchronized) shows the following: 8 out of 23 cows tested were seropositive to *N. caninum* throughout gestation calved calves seropositive and clinically healthy and 15 These were found seronegative cows calved calves seronegative without clinical signs. A cow aborted seronegative 5th and a half months gestation fetus 4.

The results obtained suggest that the local cattle breed is resistant to abortions due to *N. caninum*, despite a high exposure to the parasite.

Keywords: cattle, local breed, pregnancy, abortion, serology, *Neospora caninum*, Jijel

تتميز سلالة الأبقار المحلية في الجزائر بضعف الانتاجية، ويمكن تفسير ذلك أساسا بعوائق وراثية غذائية، مناخية وصحية. ومن بين كل هذه العوامل، يمثل الإجهاض مشكلة اقتصادية حقيقية للمربين. إن تحسين الخصوبة يبقى أحد الأهداف الجوهرية في تربية البقر. وتشير المعلومات المستخلصة من المؤلفات العلمية أن الطفيلي *Neospora caninum* يشكل أحد الأسباب الرئيسية للإجهاض لدى الأبقار في جميع أنحاء العالم بما في ذلك الجزائر.

إن الحالة المصلية ضد *N. caninum* قد تم تحليلها لدى 179 بقرة حامل من السلالة المحلية في 60 مزرعة مختلفة في منطقة جيجل. وقد كان الانتشار المصلي المحدد بتقنية ELISA 85٪. إلا أن دراسة الحالات والشواهد لم تكشف عن وجود أي صلة بين إيجابية المصل إلى *N. caninum*. والإجهاض $p=0,3$ (IC 95% 0,03 -2,86) $OR= 0,3$.

إن دراستنا لتطور الحالة المصلية لـ 23 بقرة حامل قد أظهرت النتائج التالية: 8 بقرات من أصل 23 بقرة كان مصلها إيجابيا لـ *N. caninum* طوال فترة الحمل، وقد ولدت عجولا مصلها إيجابيا لكنها سليمة صحيا، أما البقرات الأخرى (15) فقد كان مصلها سلبيا وولدت عجولا مصلها سلبيا وصحتها سليمة. ولم تسجل أية حالة إجهاض بينها باستثناء بقرة واحدة أجهضت أربعة (04) أجنة، هذه الأخيرة كان مصلها سلبيا خلال مدة الحمل.

وقد بينت النتائج المتحصل عليها أن أبقار السلالة المحلية مقاومة للإجهاض الناتج عن *N. caninum* رغم التعرض العالي لهذا الطفيلي.

كلمات مفتاح: بقرة، سلالة محلية، إجهاض، مصل، *Neospora caninum*، جيجل.

Liste des abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité.
DO :	Densité optique
DSA :	Direction des services agricoles
eCG :	equine Chorionic Gonadotropin
ELISA:	Enzyme Linked immunosorbent Assay
FSH :	Follicle-stimulating hormone
GnRH:	Gonadotrophin releasing hormone = gonadolibérine
GPG :	Gonadolibérine-Prostaglandine -Gonadolibérine
HD :	Hôte définitif
HI :	Hôte intermédiaire
IFAT :	Indirect fluorescent antibody test
Ig :	Immunoglobuline
IGF-1- :	Insulin-like Growth Factor 1
IL :	Interleukine
ITEBO :	Institut technique d'élevage bovin
IV-SF :	Intervalle vêlage- saillie fécondante
I-V-V :	Intervalle vêlage-vêlage
LH :	Luteinizing hormone
Lymphocyte T CD4+ :	Lymphocyte T interagissant avec les molécules du CMH de classe II.
Lymphocyte TCD8+ :	Lymphocyte T interagissant avec les molécules du CMH de classe I.
MADR :	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
<i>N. caninum</i> :	<i>Neospora caninum</i>

Liste des abréviations

P4:	Progesterone
PAG :	protéine associée à la gestation
PGF2 α :	Prostaglandine F2 α
PMSG:	Pregnant Mare Serum Gonadotropin
PSP-60 :	Pregnancy-specific protein 60
PSPB :	Pregnancy-specific protein B
REL/ REG :	Réticulum endoplasmique lisse et rugueux
Réponse Th1 :	Réponse de lymphocytes TCD4+ qui sécrètent principalement de l'IL-2 et de l'IFN gamma.
Réponse Th2 :	Réponse de lymphocytes TCD8+ qui sécrètent principalement de l'IL-4, IL-5, IL-6 et IL-10.

Liste des illustrations

Figure 1:	Répartition géographique des populations bovine (<i>ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014</i>).....	11
Figure 2:	Régulation neuro-endocrinienne lors du cycle sexuel de la vache (<i>BONNAND et al., 2007</i>).....	18
Figure 3:	Protocole de synchronisation des chaleurs à base de PGF ₂ α (<i>GRIMARD et al., 2003</i>).....	19
Figure 4:	Protocole de synchronisation associant GnRH et PGF ₂ α (<i>GRIMARD et al., 2003</i>).....	20
Figure 5:	Protocole classique de synchronisation à base de progestagènes (Crestar®) (<i>GRIMARD et al., 2003</i>).....	22
Figure 6:	Nouveau protocole CRESTAR SO® (<i>PICARD-HAGEN et al., 2005</i>).....	22
Figure 7:	Protocole classique de synchronisation à base de progestérone PRID® (<i>GRIMARD et al., 2003</i>).....	23
Figure 8:	Traitement à base d'un dispositif vaginal pour l'induction et la synchronisation de l'œstrus (<i>DEZAUX, 2001</i>).....	24
Figure 9:	Schéma des différentes phases de l'implantation (<i>GUILLOMOT, 2001</i>)	26
Figure 10:	Placentation synépithélio-choriale de la vache (<i>SENGER, 2005</i>).....	27
Figure 11:	Placentation et annexes extra-embryonnaires chez les bovins (<i>GILBERT et al, 2005</i>).....	28
Figure 12:	Représentation schématique de la migration des cellules binucléées chez la vache (<i>SENGER, 2005</i>).....	29
Figure 13:	Périodes des mortalités embryonnaires et fœtales (<i>PICARD-HAGEN, 2003</i>).....	32
Figure 14:	Cycle de développement et de transmission de <i>N. caninum</i> (<i>LOSSON et BOURDOISEAU, 2000</i>).....	38
Figure 15:	Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de <i>N. caninum</i> (<i>BUXTON et al., 2002</i>).....	43
Figure 16:	Evolution de la relation Hôte-Parasite lors d'une infection par <i>N. caninum</i> chez l'animal non gestant (i) et en cours de gestation (ii, iii et iv) (<i>INNES et al., 2002</i>).....	47

Liste des illustrations

Figure 17:	Principe de la technique de détection des anticorps anti- <i>N. caninum</i> par immunofluorescence indirecte (PACKHAM, 1998).....	65
Figure 18:	Immunofluorescence indirecte des tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> d'un sérum de bovin positif (REICHEL et DRAKE, 1996).....	65
Figure 19:	Localisation des régions sélectionnées pour les prélèvements (ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014).....	81
Figure 20:	Identification d'un prélèvement sanguin (PHOTO PERSONNELLE, 2013).....	83
Figure 21:	Composition de la trousse ELISA <i>N. caninum</i> BIO X (PHOTO PERSONNELLE, 2013).....	85
Figure 22:	Sérums sanguins et sérums de référence après dilution et distribution dans la plaque ELISA (PHOTO PERSONNELLE, 2013).....	86
Figure 23:	Plaque ELISA après la distribution de TMB(a) et la solution d'arrêt(b) avec lecteur de plaques a droit(c) (PHOTOS PERSONNELLE, 2013)....	87
Figure 24:	Situation des fermes sélectionnées pour les prélèvements (ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014).....	88
Figure 25:	Protocole de traitement de synchronisation des chaleurs par l'implant (ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014).....	90
Figure 26:	Protocole des prises de sang (ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014)	91
Figure 27:	Étapes de diagnostic de gestation par échographie (PHOTOS PERSONNELLE, 2013).....	93
Figure 28:	Composition de la trousse ELISA <i>N. caninum</i> IDvet (PHOTO PERSONNELLE, 2014).....	94
Figure 29:	Dilution des sérums dans une plaque et leurs transferts dans la plaque ELISA (PHOTO PERSONNELLE, 2014).....	96
Figure 30:	Dilution et distribution du conjugué (PHOTOS PERSONNELLE, 2014).	96
Figure 31:	Plaque ELISA après la distribution de la solution de révélation (PHOTO PERSONNELLE, 2014).....	98
Figure 32:	Plaque ELISA pendant la distribution de la solution d'arrêt (PHOTO PERSONNELLE, 2014).....	98

Liste des illustrations

Figure 33:	Pourcentages des vaches séropositives et séronégatives.....	101
Figure 34:	Nombre de sérums positifs en fonction du pourcentage d'inhibition....	102
Figure 35:	Nombre de fécondations réussies pour 33 inséminations artificielles...	108
Figure 36:	Confirmation du diagnostic de gestation par contrôle échographique (Photos échographiques des fœtus âgés entre j 40 et j 60) (PHOTOS PERSONNELLE, 2013).....	109
Figure 37:	Taux de gestation des vaches séropositives et séronégatives.....	110
Figure 38:	Répartition des vaches séropositives et séronégatives.....	111
Figure 39:	Variation du degré de positivité des vaches durant la période gestation.....	112
Figure 40:	Profil sérologique durant la période de gestation des 3 vaches fortement séropositives.....	112
Figure 41:	Profil sérologique des vaches séropositives (présentant des variations dans les titres en anticorps) durant la période gestation.....	113
Figure 42:	Profil sérologique durant la période de gestation des 3 vaches moyennement séropositives.....	114
Figure 43:	Profil sérologique des veaux issus de vaches séropositives avant la prise du colostrum.....	114
Figure 44:	Photos des 8 vaches séropositives avec leurs veaux après vêlage (PHOTOS PERSONNELLE, 2014).....	115
Figure 45:	Profil sérologique de la vache ayant avorté.....	116
Figure 46:	Vache ayant avorté et ses quatre avortons (PHOTOS PERSONNELLE, 2013).....	116
Figure 47:	Profil sérologique des 14 vaches séronégatives.....	117

Liste des tableaux

Tableau 1:	Effectifs du cheptel bovins (<i>MADR, 2003</i>).....	7
Tableau 2:	les principales caractéristiques des populations de la Brune de l'Atlas en Algérie (<i>KHACHA, 1988; NEDJRAOUI, 2003; ABDELTIF et al., 2013</i>).....	8
Tableau 3:	Caractéristiques moyennes de reproduction de la Brune de l'Atlas.....	13
Tableau 4:	Etiologie des avortements chez la vache (<i>TAINTURIER et al., 1997</i>).....	33
Tableau 5:	<i>Taxonomie simplifiée de Neospora caninum (CHERMETTE et MARQUER, 2000)</i>	36
Tableau 6:	Description des stades parasitaires de <i>Neospora caninum (CHERMETTE et MARQUER, 2000)</i>	40
Tableau 7:	Séroprévalence des anticorps anti- <i>N. caninum</i> chez la vache dans différents pays du monde.....	59
Tableau 8:	Nombre de vaches et fermes prélevées	82
Tableau 9:	identification et caractéristiques des femelles de l'étude.....	89
Tableau 10:	Caractéristiques des fermes.....	103
Tableau 11:	Séroprévalence en fonction du statut des fermes.....	103
Tableau 12:	cas-témoin au niveau des fermes.....	104
Tableau 13:	Cas-témoin au niveau individuel.....	104
Tableau 14:	Analyse des facteurs de risque.....	106

Sommaire

Introduction Générale	1
Revue de la littérature	4
Chapitre I: Aperçu sur le bovin local en Algérie : la brune de l'atlas et ses variétés.....	5
I.1. Origine.....	6
I.2. Effectifs.....	7
I.3. Populations de la race la Brune de l'Atlas.....	7
I.4. Répartition géographique des populations bovine.....	10
I.5. Caractères généraux de la Brune de l'Atlas.....	11
I.5.1. Morphologie.....	11
I.5.2. Caractéristiques de production.....	12
I.5.3. Caractéristiques de reproduction.....	13
Chapitre II : Physiologie de la reproduction de l'espèce bovine.....	14
II.1. Vache non gravide.....	15
II.1.1. Caractéristiques du cycle œstral.....	15
II.1.1.1. Folliculogénèse.....	16
II.1.1.1.1. Croissance folliculaire et sa régulation hormonale.....	16
II.1.1.1.2. Maturation folliculaire.....	17
II.1.1.2. Formation du corps jaune.....	17
II.1.2. Régulation du cycle sexuel.....	18
II.1.3. Protocoles de maîtrise des cycles sexuels chez la vache.....	18
II.1.3.1. Méthode par lutéolyse.....	19
II.1.3.1.1. Traitement à base de prostaglandine F2 α seule.....	19
II.1.3.1.2. Associations GnRH et PGF $_2\alpha$ (protocole GPG).....	19
II.1.3.2. Méthode de blocage du cycle.....	20
II.1.3.2.1. Implants auriculaires.....	21
II.1.3.2.2. Spirales vaginales.....	22
II.1.3.2.3. Dispositif vaginal.....	23
II.2.Vache gravide.....	24

Sommaire

II.2.1. Vie libre de l'œuf.....	24
II.2.2. Phase de l'implantation.....	25
II.2.3. Formation du placenta et annexes fœtales.....	26
II.2.3.1. Formation du placenta.....	26
II.2.3.2. Formation des annexes fœtales.....	28
II.2.4. Physiologie du placenta.....	28
II.2.4.1. Fonction métabolique du placenta.....	28
II.2.4.2. Fonction endocrine du placenta.....	29
II.2.5. Diagnostic de gestation (gravidité).....	30
II.2.6. Mortalités embryonnaires et avortements.....	31
II.2.6.1. Mortalité embryonnaire.....	31
II.2.6.2. Avortements.....	32
Chapitre III : Néosporose bovine.....	34
III.1. Historique.....	35
III. 2. Biologie de <i>Neospora caninum</i>	36
III.2.1. Classification.....	36
III. 2.2. Cycle évolutif.....	37
III. 2.3. Morphologie-Structure.....	39
III. 3. Pathogénie.....	40
III.3.1. Immunologie de la gestation.....	40
III.3.2. Pénétration et évolution du parasite dans l'organisme.....	42
III.3.2.1. Réponse immunitaire de l'hôte.....	43
III.3.2.1.1. Réponses immunitaires des bovins non gestants.....	43
III.3.2.1.2. Réponses immunitaires des bovins gestants.....	45
III.4. Manifestations cliniques et tableau lésionnel.....	48
III.4.1. Chez les bovins adultes.....	50
III.4.2. Chez le veau nouveau-né.....	51
III.4.3. Chez le chien adulte.....	51
III.4.4. Chez le chiot.....	53
III.5. Impact économique de la néosporose bovine.....	53

Sommaire

III.6. Epidémiologie.....	55
III.6.1. Sources de parasites.....	55
III.6.1.1. Chien.....	55
III.6.1.2. Bovins.....	55
III.6.1.3. Autres espèces.....	55
III.6.1.4. Milieu extérieur.....	56
III.6.2. Espèces sensibles.....	56
III. 6.3. Modes de transmission.....	56
III.6.3.1. Transmission verticale ou transplacentaire.....	57
III.6.3.2. Transmission horizontale ou post-natale.....	58
III.6.3.2.1. Contamination de l'hôte définitif.....	58
III.6.3.2.2. Contamination des hôtes intermédiaires.....	58
III.6.4. Prévalence.....	59
III.7. Diagnostic.....	60
III.7.1. Epidémiologique et Clinique.....	60
III.7.2. Expérimental.....	61
III.7.2.1. Méthodes directes.....	61
III.7.2.1.1. Anatomopathologie.....	61
III.7.2.1.2. Histologie.....	61
III.7.2.1.3. Immunohistochimie.....	62
III.7.2.1.4. Outil de génétique moléculaire.....	63
III.7.2.1.5. Isolement sur culture cellulaire et inoculation.....	63
III.7.2.2. Méthodes indirectes.....	64
III.7.2.2.1. Indirect fluorescent antibody test (IFAT).....	64
III.7.2.2.2. Séro-Agglutination directe ou direct agglutination test DAT.....	66
III.7.2.2.3. Méthodes immunoenzymatiques ou ELISA.....	67
III.7.2.2.4. Western blot.....	68
III.7.2.3. Interprétation des résultats de sérologie.....	69
III.8. Pronostic.....	71
III.9. Lutte contre la néosporose.....	71

Sommaire

III.9.1. Traitement de la néosporose.....	71
III.9.1.1. <i>In vitro</i>	71
III.9.1.2. <i>In vivo</i>	72
III.9.1.2.1. Souris.....	72
III.9.1.2.2. Chien.....	72
III.9.1.2.3. Bovins.....	72
III.9.2. Prophylaxie.....	74
III.9.2.1. Prophylaxie médicale.....	74
III.9.2.2. Prophylaxie Sanitaire.....	75
III.9.2.2.1. Mesures défensives.....	75
III.9.2.2.2. Mesures offensives.....	75
Partie expérimentale.....	78
I. Objectifs et stratégies.....	80
II. Matériel et méthodes.....	81
II.1. Etude séroépidémiologique de l'infection à <i>Neospora caninum</i> chez la vache gestante de race locale.....	81
II.1.1. Description de la région d'étude et stratégie d'échantillonnage.....	81
II.1.2. Collecte des prélèvements et conservation.....	82
II.1.3. Analyse sérologique.....	83
II.1.3.1. Principe.....	83
II.1.3.2. Matériel.....	84
II.1.3.3. Méthode.....	85
II.2. Étude longitudinale sur le suivi sérologique vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i> chez des vaches gestantes.....	88
II.2.1. Sélection des groupes d'animaux.....	88
II.2.2. Synchronisation et insémination des vaches.....	89
II.2.3. Prélèvements sanguins.....	90
II.2.3. Diagnostic de gestation.....	91
II.2.4. Analyse sérologique.....	94
II.2.4.1. Matériel.....	95

Sommaire

II.2.4.2. Méthode.....	95
II.3. Méthodes statistiques.....	98
III. Résultats.....	100
III.1. Étude séro épidémiologique de l'infection à <i>Neospora caninum</i> chez la vache gestante de race locale.....	101
III.1.1. Séroprévalence par la technique ELISA.....	101
III.1.2. Etude cas-témoins.....	102
III.1.3. Etude des facteurs de risque.....	105
III.1.3.1. Avortement.....	105
III.1.3.2. Age.....	106
III.1.3.3. Stade de gestation.....	107
III.1.3.3.4. Parité.....	107
III.2. Étude longitudinale de la réponse sérologique vis à vis de <i>Neospora caninum</i> chez des vaches gestantes de race locale.....	107
III.2.1. Diagnostic de gestation par échographie transrectale.....	108
III.2.2. Suivi de la réponse sérologique vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i> chez les vaches gestantes.....	110
IV. Discussion.....	118
IV.1. Effectifs.....	119
IV.2. Tests utilisés.....	120
IV.3. Étude séroépidémiologique.....	121
IV.4. Étude cas-témoin : avortements et séropositivité à <i>Neospora caninum</i>	123
IV.5. Étude des facteurs de risque.....	124
IV.5.1. Avortement.....	124
IV.5.2. Âge.....	125
IV.5.3. Stade de gestation.....	125
IV.5.4. Parité.....	126
IV.6. Étude longitudinale.....	126
IV.6.1. Diagnostic de gestation.....	126

Sommaire

IV.6.2. Suivi de la réponse sérologique vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i> chez les vaches gestantes.....	127
V. Conclusion.....	132
VI. Recommandations.....	133
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction

Générale

Introduction générale

En Algérie, la production bovine est dominée par 3 différentes catégories de populations bovines. Les bovins laitiers modernes (BLM) dont le cheptel est composé de vaches importées à haut potentiel génétique représentant 9% à 10 % de l'effectif national et assurant environ 40% de la production totale de lait; les bovins laitiers améliorés (BLA) qui est un cheptel issu de multiples croisements entre les populations locales et les races importées. Ce cheptel constitue 42% à 43% de l'ensemble du troupeau, et assure près de 40% de la production nationale et enfin, les bovins de race locale (BLL) représentant la moitié des bovins et sont surtout localisés dans les régions de l'Est algérien. Ce cheptel renferme plus de 48% du cheptel national mais n'assure que 20% de la production (*MADR, 2008*).

En effet, en matière de productions animales, le bovin de race locale est caractérisé par un niveau faible de productivité pouvant être expliqué essentiellement par les contraintes génétiques, alimentaires, climatiques et sanitaires.

Cependant, face à une demande constante en lait et en viande suite à l'évolution démographique et à l'élévation du niveau de vie et pour pallier au faible potentiel génétique des races locales notamment en matières de productions laitières et viandeuses, l'Algérie comme beaucoup d'autres pays en voie de développement est contraint de recourir à l'importation coûteuse de ces produits de base ou bien à l'importation de cheptel de remplacement.

Néanmoins, la volonté politique d'assurer leur indépendance alimentaire incite ces pays à réduire le volume de leurs importations. Par conséquent, la seule alternative reste la mise en place rapide d'une filière laitière locale bien adaptée à travers l'élevage des bovins de race locale qui sont dotés du moins d'une rusticité avérée leur conférant d'une part, une résistance naturelle aux maladies et d'autre part, une exigence minorée d'un point de vue alimentaire.

Parmi tous les facteurs qui compromettraient l'évolution de l'élevage laitier et qui empêcheraient toute tentative de reconstitution et d'amélioration du cheptel bovin, les affections susceptibles de provoquer des avortements, des mortinatalités et des cas

Introduction générale

d'infertilité expliqueraient la grosse part des problèmes réels économiques pour les éleveurs.

Parmi ces affections, la néosporose est à l'origine de répercussions **économiques** particulièrement importantes chez la vache. Il s'agit d'une maladie infectieuse parasitaire considérée depuis plus de deux décennies comme une cause majeure d'avortement du bétail dans le monde y compris en Algérie (**DUBEY et al., 2007 ; GHALMI et al., 2011b**).

Dans des travaux antérieurs, **GHALMI et al (2011b)** ont étudié l'impact de *Neospora caninum* comme agent abortif chez différentes populations bovines en Algérie. Leur étude a montré globalement que la présence de bovins séropositifs vis-à-vis de *N. caninum* dans les fermes était un facteur de risque d'avortement. Cependant, la situation considérée au niveau des populations a fait ressortir une association significative entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements pour les populations des BLM et celles des BLA alors que la situation des BLL était particulière puisque bien que ce soit la population qui ait montré la plus grande séroprévalence, aucune association avec les avortements n'a pu être mise en évidence. Ils ont émis alors l'hypothèse que le bovin local pourrait résister naturellement non pas à l'infection par *N. caninum* mais à son effet abortif (**GHALMI et al., 2011b**).

Ce présent travail est une continuité de celui de **GHALMI et collaborateurs (2011b)** portant sur l'étude de la résistance de la race locale aux avortements induits par *N. caninum*.

Pour évaluer l'impact de l'infection par *N. caninum* chez la vache gestante de race locale et afin de vérifier cette hypothèse de résistance nous avons adopté une stratégie qui a consisté à scinder notre étude en 2 parties. Nous avons procédé comme suit :

- Étude I : Étude séroépidémiologique de l'infection à *N. caninum* chez la vache gestante de race locale :

Introduction générale

- Sur la base d'un échantillonnage représentatif, 179 vaches gestantes ont été prélevées dans la région de Jijel pour déterminer leur statut sérologique vis-à-vis de *N. caninum*.
- Étude épidémiologique de type cas-témoin pour vérifier l'existence d'un lien causal entre la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* chez les bovins de race locale et les avortements.
- Étude de quelques facteurs de risque potentiels.
- Ensuite, 2 groupes d'animaux ont été constitués : un groupe + à *N. caninum* (n=15) et un groupe - à *N. caninum* (n=18).

Les vaches participant à l'étude ont subi un traitement de synchronisation et d'induction des chaleurs puis inséminés artificiellement. Une 2^{ème} étude a ainsi été réalisée qui consistait en :

- Une étude longitudinale réalisée durant toute la gestation visant à suivre la réponse sérologique vis à vis de *N. caninum*.



Revue de la Littérature



Aperçu sur le bovin local en Algérie :

La brune de l'atlas et

Ses variétés

Le bovin local en Algérie serait constitué essentiellement par un seul et même groupe dénommé Brune de l'Atlas. Il est souvent cité comme exemple pour sa rusticité qui s'explique par :

- La résistance aux conditions climatiques très difficiles (chaleur, froid et sécheresse);
- L'aptitude à l'alimentation rudimentaire et médiocre (capacité de consommer et de transformer les fourrages grossiers de faible valeur alimentaire);
- L'aptitude à la marche en terrain difficile;
- La résistance aux parasites et aux maladies surtout la résistance aux insectes piqueurs, vecteurs de maladies.

Malgré ces aptitudes; en Algérie et jusqu'à nos jours très peu de travaux de recherche existent pour l'identification et la définition de ce patrimoine génétique par la caractérisation zootechnique et génétique.

I.1. Origine

On englobe sous appellation race Brune de l'Atlas tous les types de bovins autochtones de Tunisie, d'Algérie et du Maroc (*JOSHI et al., 1957*). Ces mêmes auteurs, rapportent que le +

Bœuf **brun** de l'Atlas descend probablement du type établi dans ces régions depuis la plus haute antiquité. Son principale ancêtre serait le *Bos primogenius mauritanicus* découvert par *Thomas (1881)* dans le quaternaire de l'Afrique du Nord.

Selon *BENNEFOY (1900)*, il existe dans les populations bovines de l'Afrique du Nord, non seulement des variétés d'une même race caractérisées par des différences phénotypiques (de taille et de pelage) auxquelles on a donné des noms locaux, mais aussi des groupes à deux races bien distinctes: l'Ibérique et l'Asiatique, la première est autochtone se trouve à l'Est, la seconde est importée répartie à l'ouest. *GEOFFRAY et al. (1919)* rapporte que pour certains zootechniciens, la race qui peuple l'Afrique du Nord appartient à la race ibérique dont l'aire géographique comprendrait tout le bassin de la méditerranée occidentale.

LE VAILLANT (1931), indique que la Brune de l'Atlas a peuplé la région du Maghreb à l'époque la plus reculée et se serait propagée dans la région de l'Atlas sous les Carthaginois et les Romains d'où le nom de la Brune de l'Atlas.

I.2. Effectifs

L'effectif national est d'environ 1 464 663 têtes bovins avec 896 287 têtes de bovins de race locale à l'état pure (**MADR, 2003**). Ce chiffre s'élève en 2009 à 1 682 433 têtes dont 229 929 vaches laitières de population moderne et 652 353 vaches laitières de population locale (à l'état pure ou croisée) (**MADR, 2009**).

Tableau 1 : Effectifs du cheptel bovins (**MADR, 2003**).

Cheptel	Effectif en têtes	Nombre d'exploitations	Moyenne en têtes
BLM	279 885	33 995	8
dont Vaches BLM	124 075	33 995	4
BLA	288 491	44 554	6
dont Vaches BLA	134 400	44 554	3
BLL	896 287	136 376	7
dont Vaches BLL	396 810	136 376	3
Total bovins	1 464 663	214 925	7
dont vaches	655 285	214 925	3

BL M =Bovin Laitier moderne ; BLA = Bovin Laitier amélioré ; BL L= Bovin Laitier Local

I.3. Populations de la race la Brune de l'Atlas

Les populations qui composent la Brune de l'Atlas se différencient nettement du point de vue phénotypique (**Annexe 8**).

La littérature ancienne rapporte uniquement deux populations de la Brune de l'Atlas : la *Guelmoise* et la *Cheurfa*. Il existe aussi d'autres populations récentes de la Brune de l'Atlas rencontrée en Algérie ; la *Sétefienne* et la *Chelfienne* (**BENCHAAR, 1987**). Selon **KERKATOU (1989)**, il existe d'autres populations mais avec des effectifs plus réduits telles que la *Djerba* qui peuple la région de Biskra, la *Kabyle* et la *Chaouia* qui

dérivent respectivement de la *Guelmoise* et de la *Cheurfa* suite, probablement, aux différentes mutations génétiques et adaptations aux différents milieux (*KALI et al., 2011*). Les principales caractéristiques phénotypiques des différentes variétés de la Brune de l'Atlas sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Principales caractéristiques de la Brune de l'Atlas et ses variétés en Algérie (*KHACHA, 1988 ; NEDJRAOUI, 2003 ; ABDELTIF et al., 2013*)

Populations	Caractéristiques
<p>Guelmoise</p>  <p>(PHOTO ABDELTIF, 2013)</p>  <p>(PHOTO ABDELTIF, 2013)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - La Robe est gris fer plus ou moins foncé, très souvent le chignon et le front sont gris clair. - La queue grosse à la base de couleur grise. - La tête relativement petite est très expressive. - L'œil vif, bien ouvert, entouré d'un cercle de poils noirs. - Le mufle est gris ardoisé foncé ou noir. - Les cornes insérées obliquement s'incurvent en avant et en haut.
<p>Cheurfa</p>  <p>(PHOTO ABDELTIF, 2013)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Elle présente une robe à pelage gris clair (presque blanchâtre). - Le mufle et les paupières sont toujours noirs.

Sétefienne



- Elle est caractérisée par une robe noirâtre uniforme.
- La queue longue de couleur noire et la ligne marron du dos en sont les caractéristiques de cette variété.
- Elle porte des cornes arquées horizontalement, blanches à leur base, noires à leur extrémité qui est très aigue.

Chelifienne



- Chelifienne présente une robe fauve, une petite tête courte, des cornes en crochets, des orbites saillantes. entourées de lunettes marron foncé,
- la queue est longue et se termine par un bouquet de poils noirs.

Djerba



- La robe est brune foncée,
- la tête petite étroite,
- le cou est court et de moyenne grosseur,
- la croupe arrondie,
- queue est longue se termine par une touffe de poils noirs,
- La taille très réduite.

Kabyle et la Chaouia



- La Chaouia et la Kabyle présentent des caractéristiques de mensurations et de taille réduites.

Tlemcenienne



- Elle est localisée dans les monts de Tlemcen et de Saïda. Les tendances aux croisements qu'elle a eu à subir ont fait appel au sang ibérique (**ITEBO, 1997**).

I.4. Répartition géographique des populations bovine

Le cheptel occupe les zones difficiles, particulièrement les régions montagneuses et les parcours. Près des 2/3 de l'effectif se trouvent à l'Est du pays (**Figure1**).

On observe actuellement un cantonnement de la population locale uniquement dans les milieux non accessibles aux races importées, comme les zones montagneuses et forestières du Tell et conduite dans le cadre de systèmes sylvo-pastoraux extensifs.

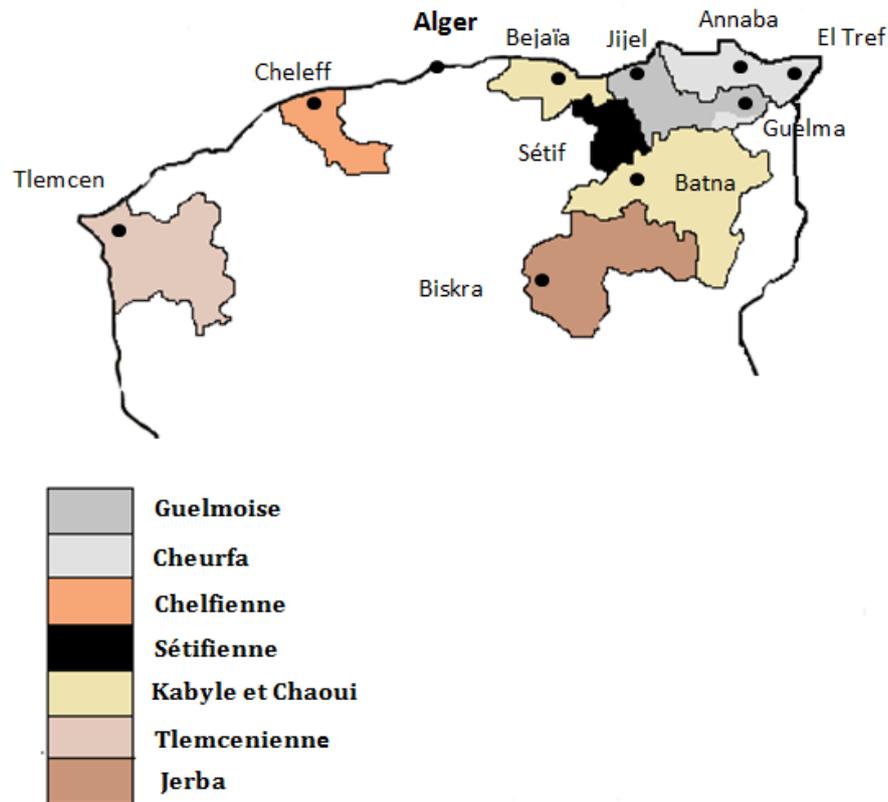


Figure 1 : Répartition géographique des populations bovine (*ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014*)

I.5. Caractères généraux de la Brune de l'Atlas

I.5.1. Morphologie

La Brune de l'Atlas est une race brachycéphale nette, à chignons et à sommet écarté, de profil droit ou subconcave et à face allongée ou triangulaire. La taille et le poids sont variables. La taille moyenne (hauteur au garrot) des animaux adultes étudiés est égale à 112 cm (*AISSAOUI et al., 2003*). La plus petite peut atteindre jusqu'à 1 mètre (*KHACHA, 1988*). Le poids vif moyen est estimé à environ 295 kg (*AISSAOUI et al., 2003*), pour les mâles il est de 300 à 400 kg et pour les femelles de 250 à 300kg (*BELCACEM et BENABBAS, 1998*).

Le bovins de race locale et ses variétés sont presque tous cornés, les cornes sont fines et relevées, souvent arquées, très pointues et de couleur grise ou noirâtre insérées un peu en avant de la ligne du chignon. Dans une étude effectuée sur 7000 têtes, **AISSAOUI** a trouvé cinq types de cornes mais le type en forme de croissant domine pour 64,50%, suivi par les cornes en roue chez 10% de l'effectif (**AISSAOUI et al., 2003**)

Les masses musculaires sont moyennement épaisses, la peau épaisse et rude, les poils courts, les onglons noirs à cornes extrêmement dures et solides. Le pelage présente toutes les nuances du fauve jusqu'au brun, le mufler et les paupières sont toujours noirs. La vache bien que qualifiée de faible laitière, possède une mamelle régulière hémisphérique pourvue de petits trayons cylindriques (**BELCACEM et BENABBAS, 1998**)

I.5.2. Caractéristiques de production

KERKATOU (1989), indique que la race n'est pas spécialisée en vue de telle ou telle production.

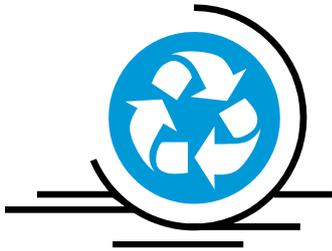
- **Travail** : Malgré les progrès énormes de la mécanisation (motoculture), le bœuf Brun de l'Atlas est à nos jours utilisés pour le labour dans les régions accidentées (**BELCACEM et BENABBAS, 1998**).
- **Viande** : Malgré que les aptitudes de la Brune de l'Atlas dans ce domaine soient moyennes, elle demeure toujours exploitée pour sa viande dans plusieurs régions du Maghreb (**BELCACEM et BENABBAS, 1998**).
- **Lait** : Tous les auteurs s'accordent pour dire que les aptitudes laitières de la Brune de l'Atlas sont faibles. Selon **KERKATOU (1989)**, la production laitière journalière de la race se situe entre 4 à 5 litres par vache, avec une durée de lactation de 175j, cependant, pour les vaches conduites rationnellement la production moyenne atteint 7 litres par vache avec un minimum de 6,10 litres et un maximum de 9,10 litres.

La productivité des populations locales ne semble pas avoir progressé, il faut néanmoins remarquer qu'elles sont particulièrement économes puisqu'elles vivent de jachères et de parcours et qu'elles recèlent d'importantes marges de progrès.

I.5.3. Caractéristiques de reproduction

Tableau 3 : Caractéristiques moyennes de reproduction de la Brune de l'Atlas

	Age au 1 ^{er} vêlage (mois)	I-V-V (jours)	IV-SF (jours)	Nombre de Saillie/SF	Durée de gestation (jours)	sources
Station de Fetzara et de BABA ALI (1980-1984)	38	390	120	2.4	285	(BENYOUCEF, 1986)
ITEBO (1987)	38	459	174	-	285	(AMRANE, 1987)



Physiologie de la reproduction de
l'espèce bovine

II.1. Vache non gravide

II.1.1. Caractéristiques du cycle œstral

La vache est une espèce polyœstrienne continue à ovulation spontanée. La durée du cycle œstral est de 21 jours en moyenne mais varie selon les individus, elle est comprise entre 17 et 25 jours (*STEVENSON, 2007*). Selon *BRUYAS (1991)*, 85% des femelles ont une durée de cycle comprise entre 18 et 24 jours. La durée du cycle œstral est en général plus courte d'un à deux jours chez les génisses par rapport aux vaches (*NEBEL, 2003 ; STEVENSON, 2007*). Les modifications hormonales durant le cycle permettent de distinguer 2 périodes pour chaque phase (phase folliculaire et lutéale) :

- Phase folliculaire, œstrogénique qui correspond à la maturation des follicules de De Graaf.
- Phase lutéinique, ou lutéale, progestéronique, qui s'étend au cours de l'activité des corps jaunes cycliques.

Ou 4 phases distinctes (*BALL et PETERS, 2004 ; STEVENSON, 2007*) :

- Œstrus (J₀) : cette phase est caractérisée par la réceptivité sexuelle de la vache qui accepte le chevauchement par un taureau ou une autre vache du troupeau, pendant l'œstrus, le follicule continue sa croissance et se prépare à ovuler
- Metœstrus (J₁ à J₃) : le follicule finit sa maturation puis l'ovulation a lieu. Il y a formation du jeune corps jaune qui commence à sécréter de la progestérone.
- Dioœstrus (J₄ à J₁₈) : le corps jaune sécrète alors des concentrations significatives de progestérone. Le dioœstrus se termine lorsque la lutéolyse débute.
- Proœstrus (J₁₉ à J₂₁) : cette phase de préparation à l'œstrus est caractérisée par la chute du taux de progestérone et par l'émergence d'un nouveau follicule dominant.

La durée de l'œstrus classiquement admise est de 12 à 18 heures, cependant, de grandes variations d'expression et de durée sont possibles en fonction des individus ce qui en rend la détection difficile (*STEVENSON, 2007*).

II.1.1.1. Folliculogénèse

La folliculogénèse se définit comme l'ensemble des processus de multiplication, de croissance et de maturation folliculaire entre le stade du follicule primordial et l'ovulation (*DRION et al., 1996*).

Pendant la vie foétale, les ovogonies entrent en mitose puis en méiose (*HANZEN et al., 2000*). Cette dernière s'interrompt au stade prophase 1 formant des ovocytes I. Seulement les ovocytes I qui s'entourent par une couche de cellules somatiques et une membrane basale, future membrane de Slavjanski, composant des follicules primordiaux (*DRION et al., 1996*).

II.1.1.1.1. Croissance folliculaire et sa régulation hormonale

Chez les bovins, peu après la naissance, 50 à 80 follicules primordiaux quittent le stock chaque jour pour former les follicules tertiaires. Ce nombre augmente jusqu'à 120 follicules puis décline par la suite pour se stabiliser à la puberté aux alentours de 80 follicules par jour (*HANZEN, 2000*).

Chez la vache, le cycle œstral comporte 2 à 3 vagues folliculaires dont chacune est caractérisée par une dynamique de croissance se déroulant en trois étapes :

a. Recrutement

C'est l'entrée en croissance terminale et rapide d'une cohorte de follicules gonadodépendants. Il est provoqué par une augmentation transitoire des taux de FSH qui agit sur ces follicules en augmentant leur aptitude à aromatiser les androgènes en œstrogènes qu'a produits de l'inhibine (*DRION et al., 1996*).

b. Sélection

Les sécrétions de l'œstradiol et de l'inhibine par les follicules recrutés exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en diminuant la sécrétion de la FSH. La plupart des follicules recrutés entrent en atresie, à l'exception du seul follicule sélectionné. Le nombre de follicule sélectionné est spécifique de l'espèce (*DRION et al., 1996*).

c. Dominance

Cette étape est caractérisée par le développement d'un ou de plusieurs follicules sélectionnés en un ou en de gros follicules dits follicules préovulatoires (diamètre 20 mm) apte à ovuler (**DRION et al., 1996**). Bien que les taux circulants de FSH diminuent, le follicule dominant survit par un mécanisme d'autostimulation interne consistant en une amplification de la synthèse d'IGF-1-, stimulant à son tour l'aromatisation des androgènes en œstrogènes (**SPICER, 2004**) et l'acquisition des récepteurs de LH (**ROCHE et al., 1998**). Le ou les follicules dominants provoquent la régression des follicules en croissance et bloquent le recrutement des autres (**DRION et al., 1996**).

II.1.1.1.2. Maturation folliculaire

L'intervalle entre le pic de LH et l'ovulation permet des changements morphologiques, biologiques et chimiques qui touchent, en premier lieu, la membrane, le cytoplasme et le noyau de l'ovocyte et, en deuxième lieu, le follicule dominant (**HANZEN et al., 2000**). Ces modifications permettent à l'ovocyte I de reprendre sa division méiotique qui s'arrête en métaphase II, donnant un ovocyte II (**DRION et al., 1996**). Juste avant l'ovulation, la maturation se termine par l'émission du premier globule polaire dans l'espace péri-vitellin (**THIBAUT, 2001**). L'ovulation fait suite à la croissance et la maturation du follicule dominant donnant un follicule mûr ou préovulatoire. Ce dernier ovule en réponse au pic de LH (**HANZEN et al., 2000**).

II.1.1.2. Formation du corps jaune

Sous l'effet de la LH, la transformation morphologique et fonctionnelle (lutéinisation) des cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule ovulant en cellules lutéales sécrétant de la progestérone (**RATHBONE et al., 2001**). Le reste du corps jaune est composé d'éléments vasculaires, de tissu conjonctif et de fibroblastes (**DRION et al., 1996**). La détection de la progestérone plasmatique débute, au 5^{ème} jour du cycle c'est-à-dire à la fin de la croissance du corps jaune où ce dernier devient sensible à l'effet lutéolytique de la PGF2 α .

La durée de l'activité du corps jaune chez la vache varie entre le 5^{ème} et le 16^{ème} jour du cycle (*RATHBONE et al., 2001*). Pendant la durée de l'activité du corps jaune l'injection de PGF2 α entraîne la lyse du corps jaune et l'apparition des chaleurs en 3 jours après l'injection (*HANSEL et al., 1996*). Au 16^{ème} jour du cycle le corps jaune régresse en raison de l'absence des signaux de gestation et un autre cycle reprend avec une nouvelle phase folliculaire qui commence (*DRION et al., 1996*).

II.1.2. Régulation du cycle sexuel

L'ovaire et le complexe hypothalamus hypophysaire concourent à la réalisation d'un équilibre hormonal dont l'évolution assure la régulation de cycle sexuel (**Figure 2**).

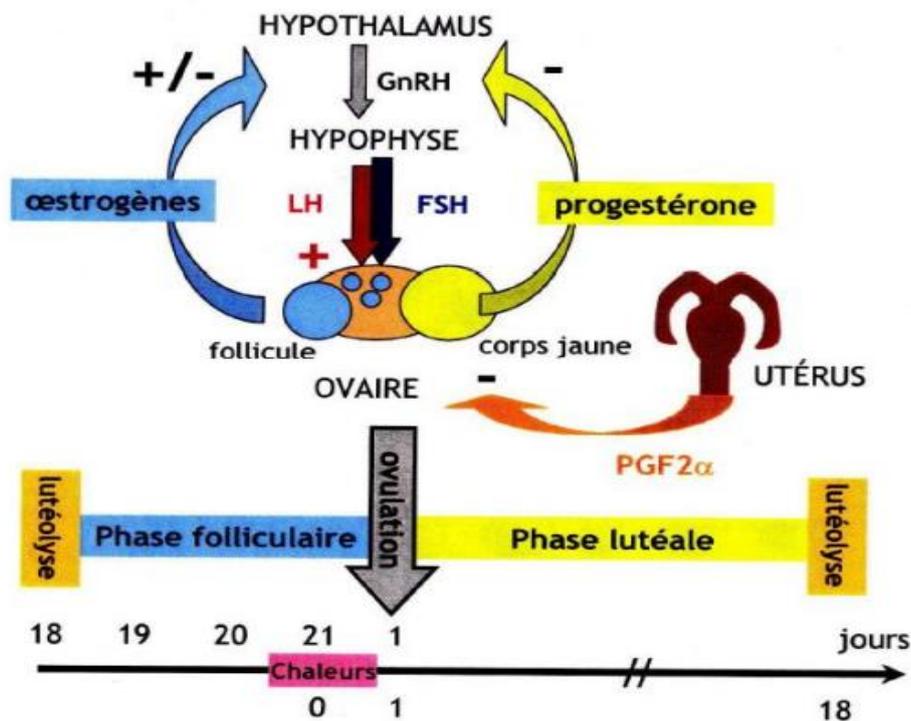


Figure 2 : Régulation neuro-endocrinienne lors du cycle sexuel de la vache (*BONNAND et al., 2007*)

II.1.3. Protocoles de maîtrise des cycles sexuels chez la vache

De nombreuses hormones utilisées seules ou associées, permettent de synchroniser et parfois d'induire l'ovulation afin d'obtenir une fécondation en inséminant sur chaleurs observées ou à l'aveugle à des moments bien précis après l'arrêt du traitement. Les méthodes utilisées sont basées sur deux principes :

- Raccourcissement de la phase lutéale par l'utilisation d'agents lutéolytiques

- Blocage du retour normal de l'œstrus et ovulation par l'utilisation de P₄.

II.1.3.1. Méthode par lutéolyse

II.1.3.1.1. Traitement à base de prostaglandine F₂α seule

Cette méthode utilise de la PGF₂α ou ses analogues. La PGF₂α est synthétisée chez les bovins par les cellules de granulosa, les cellules lutéales et principalement par l'endomètre (**BALL et PETERS, 2004**). Le protocole consiste en une double injection de PGF₂α de 11 à 14 jours d'intervalle (**Figure 3**). La PGF₂α provoque la lyse d'un éventuel corps jaune en 24 heures si celui-ci est sensible, c'est-à-dire s'il est âgé de plus de 5 jours. Cette lutéolyse permet au follicule dominant de terminer sa croissance jusqu'à l'ovulation. Ce protocole n'est donc applicable que chez les femelles cyclées (**BRUYERE, 2009**).

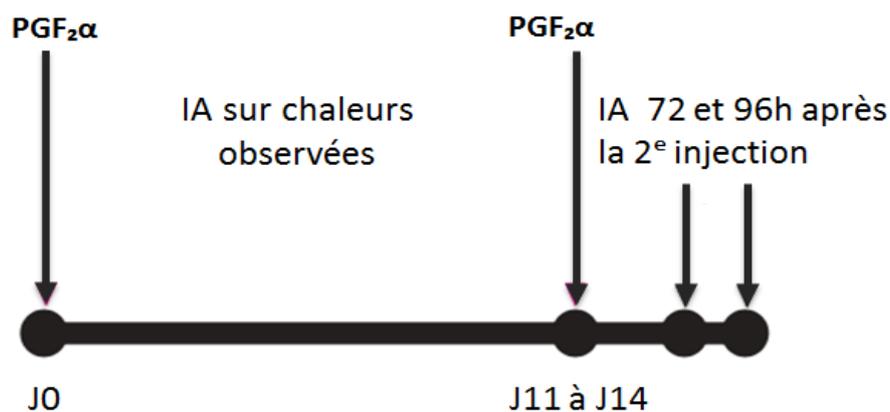


Figure 3 : Protocole de synchronisation des chaleurs à base de PGF₂α (**GRIMARD et al., 2003**)

II.1.3.1.2. Associations GnRH et PGF₂α (protocole GPG)

Le plus courant de ces protocoles est le protocole GPG (**Figure 4**). Il est communément appelé *Ovsynch*, il a été proposé pour la première fois par **PURSLEY et al., (1995)**.

Il s'agit en effet d'un protocole permettant de provoquer la venue d'une nouvelle vague folliculaire puis de l'ovulation à des moments choisis. Il ne nécessite donc pas de

surveillance des chaleurs avant l'insémination. La vache doit toutefois être cyclée (**BRUYERE, 2009**).

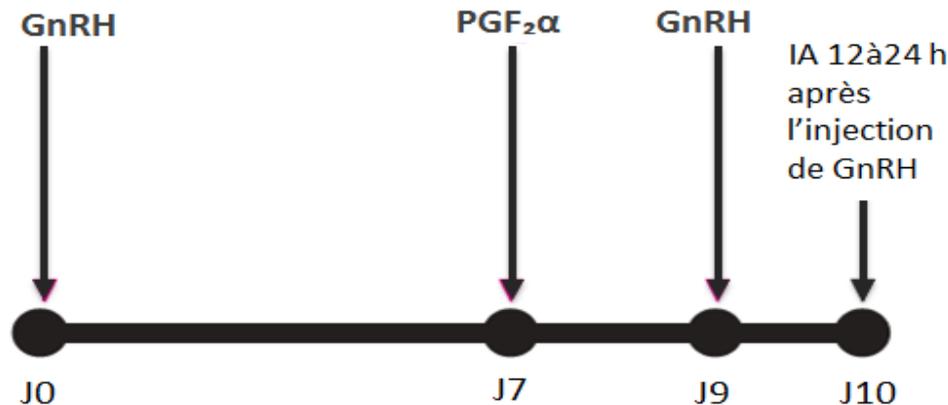


Figure 4 : Protocole de synchronisation associant GnRH et PGF₂α (**GRIMARD et al., 2003**)

II.1.3.2. Méthode de blocage du cycle

Les progestagènes sont des molécules de synthèse à activité progestéronique apparues dans les années cinquante (**BALLERY, 2005**). L'utilisation de traitements contenant un progestagène va mimer un corps jaune. Le retrait du dispositif 7 à 11 jours plus tard déclenche l'ovulation. Les traitements progestagènes peuvent être utilisés sur des génisses ou des vaches cyclées ou non cyclées c'est-à-dire sans activité ovarienne (**PERALTA, 2009**).

Ces substances bloquantes ont été administrées par toutes les voies : orale, sous cutanée ou par voie intra-vaginale (**HANZEN et al., 2000**). On en distingue trois types selon leur forme et leur voie d'administration : L'implant sous cutané, le dispositif vaginal et les spirales vaginales.

L'apport de progestérone par voie orale n'est plus disponible et seuls trois dispositifs diffusant des progestagènes ou progestérone sont disponibles. L'implant Crestar ® classique ou Crestar SO®, la spirale vaginale PRID® et la capsule intra vaginale CIDR®.

L'association œstrogène et progestagène agit à la fois sur la croissance folliculaire et sur la durée de vie du corps jaune (**CHASTANT-MAILLARD et al., 2002**). Administrés en début de cycle, les œstrogènes ont une activité antilutéotrope, ils provoquent la disparition d'un corps jaune en début de formation (**HANZEN et al., 2000**). Par ailleurs, l'utilisation zootechnique de cette hormone pour l'engraissement a entraîné son interdiction depuis octobre 2006, ce qui a constitué par la suite une réelle difficulté pour la maîtrise des cycles basée sur l'utilisation de traitement associé aux œstrogènes (**PICARD-HAGEN et al., 2005**).

II.1.3.2.1. Implants auriculaires

L'implant contient un analogue de la progestérone et se pose sous la peau de l'oreille à la face externe du pavillon de l'oreille à l'aide d'un trocart. L'implant reste en place 9 à 11 jours (**PERALTA, 2009**). L'absence d'œstrogènes ne permet plus la régression de la vague en cours lors de la pose de l'implant. Une injection de 0,001 mg de buséréline (analogue de la GnRH) par voie Intramusculaire(IM) au moment de la mise en place de l'implant sous-cutané afin de provoquer l'ovulation et la lutéinisation de tout follicule dont la taille est supérieure à 10 mm (**BEFFARA, 2007**).

L'injection de PGF2 α au moment du retrait ou, mieux, 48 h avant le retrait du dispositif peut améliorer la synchronisation des chaleurs et la fertilité des vaches cyclées avant traitement (**MIALOT et al., 1998**).

Une injection d'eCG est conseillée au moment du retrait du dispositif, surtout si les vaches sont en anœstrus avant traitement. L'effet FSH et LH de l'eCG va soutenir la croissance folliculaire terminale, la production endogène d'œstrogènes favorise l'ovulation (**PETIT et al., 1979**).

Une seule insémination artificielle est généralement recommandée, celle-ci est effectuée 48heure après le retrait de l'implant pour les génisses et 56heure pour les vaches. Cependant, dans certaines conditions d'élevage, il peut-être nécessaire de prévoir deux inséminations artificielles à 48 et 72 heures après le retrait (**DEZAUX, 2001**).

Ce dispositif est commercialisé sous le nom de CRESTAR® (Figure 5) ou CRESTAR SO® (Figure 6).

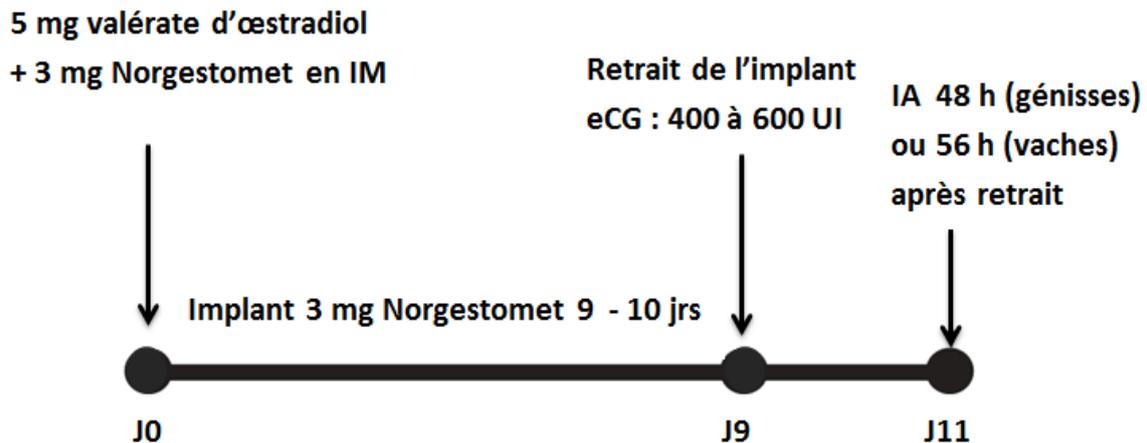


Figure 5 : Protocole classique de synchronisation à base de progestagènes (Crestar®) (GRIMARD *et al.*, 2003)

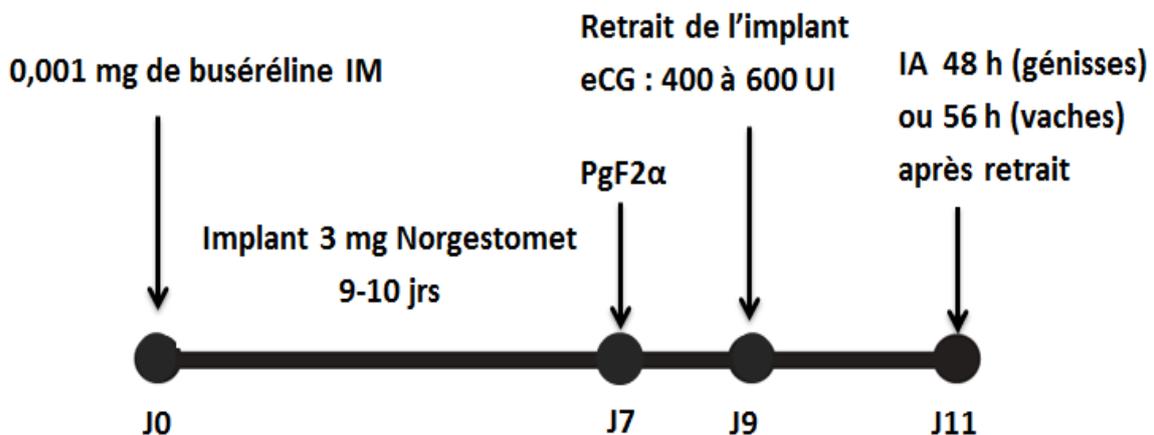


Figure 6 : Nouveau protocole CRESTAR SO® (PICARD-HAGEN *et al.*, 2005)

II.1.3.2.2. Spirales vaginales

La spirale renferme de la progestérone naturelle. Elle est déposée dans le vagin où elle reste en place 7 à 9 jours (PERALTA, 2009). Au moment du retrait, une injection de 400 à 600 UI de PMSG peut-être effectuée. De la même façon, une injection de prostaglandine F2α peut être effectuée 48 heures avant le retrait du dispositif.

L'insémination artificielle unique aura lieu 56 heures après le retrait du dispositif, on peut également avoir recours à 2 inséminations respectivement à 48 heures et 72 heures après le retrait (**Figure 7**).

Ce dispositif est commercialisé sous le nom de PRID® (Progestérone releasing Inter-vaginal Device).

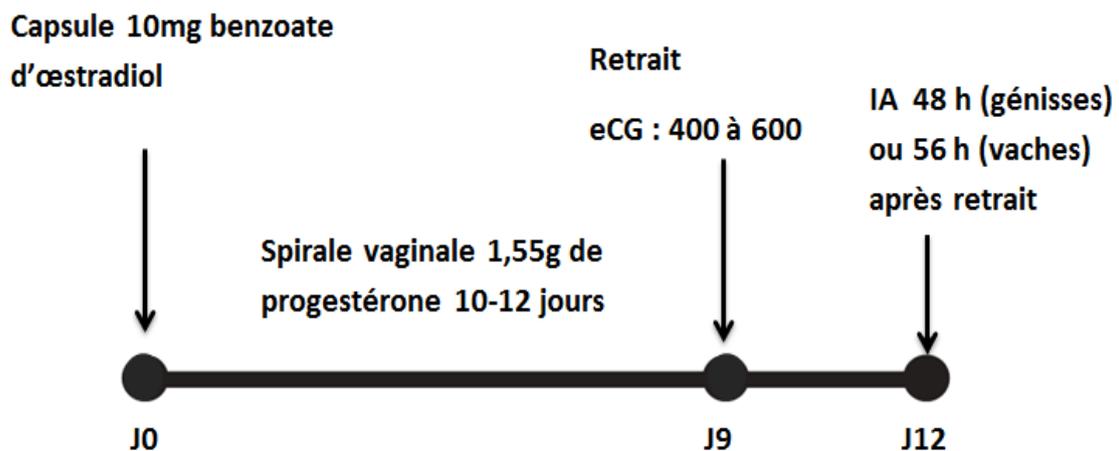


Figure 7 : Protocole classique de synchronisation à base de progestérone PRID® (*GRIMARD et al., 2003*)

II.1.3.2.3. Dispositif vaginal

Le dispositif contient de la progestérone naturelle, sa forme est en T. Ce dispositif est introduit dans le vagin à l'aide d'un applicateur qui permet de replier les ailes du T.

Le dispositif est laissé en place pendant 7 jours, une injection de prostaglandine est effectuée 24 heures avant son retrait (*MELLI, 2009*).

L'utilisation d'eCG au retrait du CIDR® permet de stimuler la maturation terminale du follicule et donc d'obtenir une meilleure synchronisation des chaleurs (*MELLI, 2009*).

Les inséminations artificielles au nombre de deux seront effectuées 48 heures et 72 heures après le retrait (**Figure 8**). Ce dispositif est commercialisé sous le nom de CIDR®.

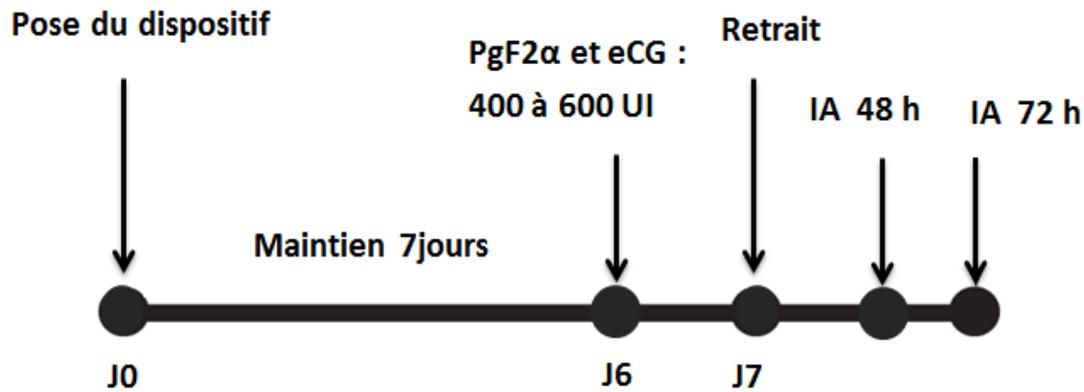


Figure 8 : Traitement à base d'un dispositif vaginal pour l'induction et la synchronisation de l'œstrus (*DEZAUX, 2001*)

II.2. Vache gravide

Le développement de l'œuf depuis le moment de la fécondation jusqu'au moment de la parturition représente l'état gestatif (*DERIVAUX et ECTORS, 1980*). Chez les bovins, la durée moyenne de la gestation est de 282 jours. Elle peut être divisée en deux phases :

- La progestation : c'est la période pendant laquelle l'embryon mène une vie libre (non fixée) dans l'utérus. Il subit une série de divisions cellulaires. La durée de cette période est de 15 à 30 jours (*SOLTNER, 2001*).
- La gestation: elle correspond à toute la période allant de la nidation au vêlage.

II.2.1. Vie libre de l'œuf

Elle débute par la fusion des deux membranes nucléaires de l'ovule et du spermatozoïde aboutissant à la formation d'un œuf qui entre en division (la segmentation) environ 14 à 16 heures après la pénétration spermatique (*DERIVAUX et ECTORS, 1980*). Entouré de sa zone pellucide, l'œuf se divise en 2, 4, 8, 16, 32, 64 cellules ou blastomères de plus en plus petites qui forment une masse sphérique appelée morula. C'est à ce stade, soit 3 à 4 jours après la fécondation, que l'œuf arrive dans l'utérus où il poursuit sa transformation (*BONNAND et al., 2007*).

Vers le 7^{ème} jour, la masse compacte de la morula se creuse d'une cavité, le blastocœle (*BARBRY, 2012*). Celui-ci se remplit de liquide et s'entoure d'une couche

cellulaire appelée trophoblaste, cette couche contribue à la formation des structures extra embryonnaires et plus spécialement de celles qui interviennent dans la formation du placenta, et par un petit groupe de cellules situé sous trophoblaste, le disque embryonnaire qui donnera le fœtus (*AYAD et al., 2006*).

Neuf à dix jours après la fécondation, la zone pellucide s'amincit jusqu'à provoquer sa rupture, c'est l'éclosion. Le blastocyste entre dans une période de croissance considérable. Cette élongation favorise l'établissement des premiers contacts cellulaires entre le trophoblaste et l'épithélium utérin, ce qui empêche la sécrétion du facteur lutéolytique (*BONNAND et al., 2007*).

De 150 µm avant éclosion, le conceptus bovin mesure 15 à 20 mm au terme de cette phase d'élongation (*CONSTANT et al., 2006*). La longueur de la vésicule embryonnaire présente toutefois des variations interindividuelles importantes, elle mesure entre 7 et 24 mm au 16^{ème} jour de gestation, alors que son diamètre est constant.

II.2.2. Phase de l'implantation

Après la phase de vie libre dans la corne utérine, le blastocyste se fixe sur l'endomètre et s'y implante plus ou moins profondément. L'implantation de l'œuf sur la paroi utérine est une stratégie reproductive qui assure efficacement la nutrition et la protection des embryons. Cette implantation est tardive et lente chez la vache vers le 19^{ème} jour (*GUILLOMOT, 2001*).

L'implantation se déroule selon une succession d'étapes caractérisées par des degrés divers de contact entre le tissu maternel et fœtal (**Figure 9**), soit : l'orientation du blastocyste et l'accolement, l'apposition du blastocyste à la muqueuse utérine, l'adhérence des cellules du trophoblaste aux cellules de la muqueuse utérine et l'invasion de l'endomètre (*GILBERT et al., 2005*).

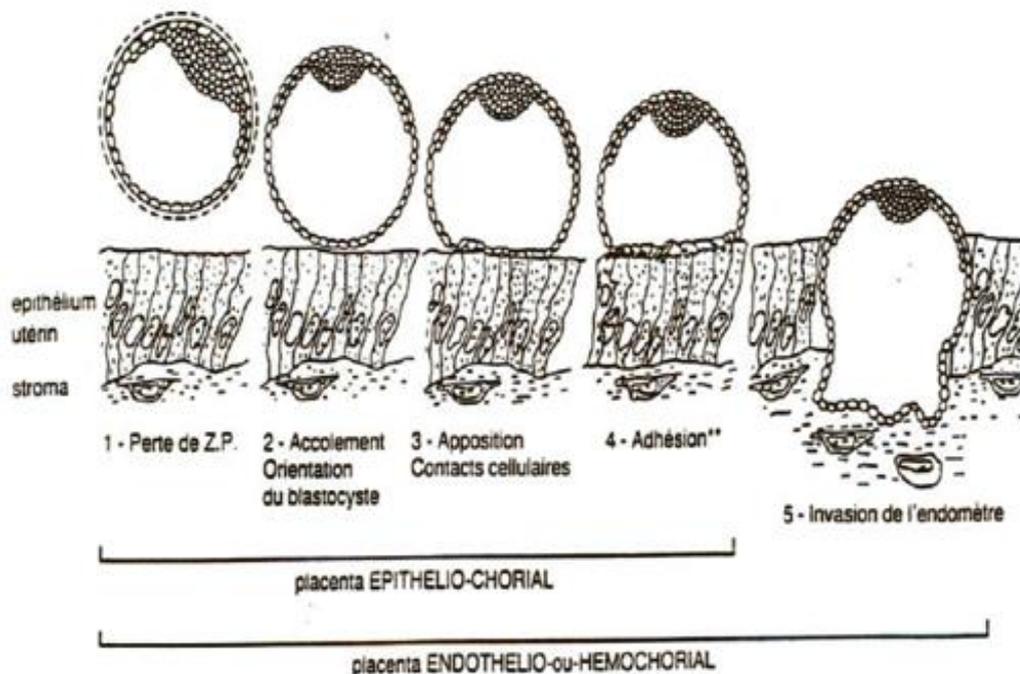


Figure 9 : Schéma des différentes phases de l'implantation (*GUILLOMOT, 2001*)

II.2.3. Formation du placenta et annexes fœtales

II.2.3.1. Formation du placenta

La placentation épithélio-choriale, de type cotylédonaire, avec 6 couches cellulaires (**Figure 10**) séparant le sang maternel du sang fœtal se met en place progressivement par apposition et/ou fusion de cellules épithéliales de l'endomètre et du trophoblaste (*SOUSA et al., 2002*).

Au cours de l'apposition, la membrane plasmique du trophoblaste est encore apposée de manière lâche sur les cellules utérines. Pendant cette phase, des proliférations villosités du chorion s'enfoncent dans les orifices des glandes utérines.

C'est la formation d'un premier placenta, diffus, absorbant le contenu des sécrétions glandulaires qui vise à disparaître à la fin du processus implantatoire à J₂₅ (*BARBRY, 2012*). L'apposition laisse place à l'adhésion qui est assurée par l'interdigitation des microvillosités des cellules épithéliales utérines et de la membrane plasmique des cellules trophoblastiques (*CONSTANT et al., 2006*).

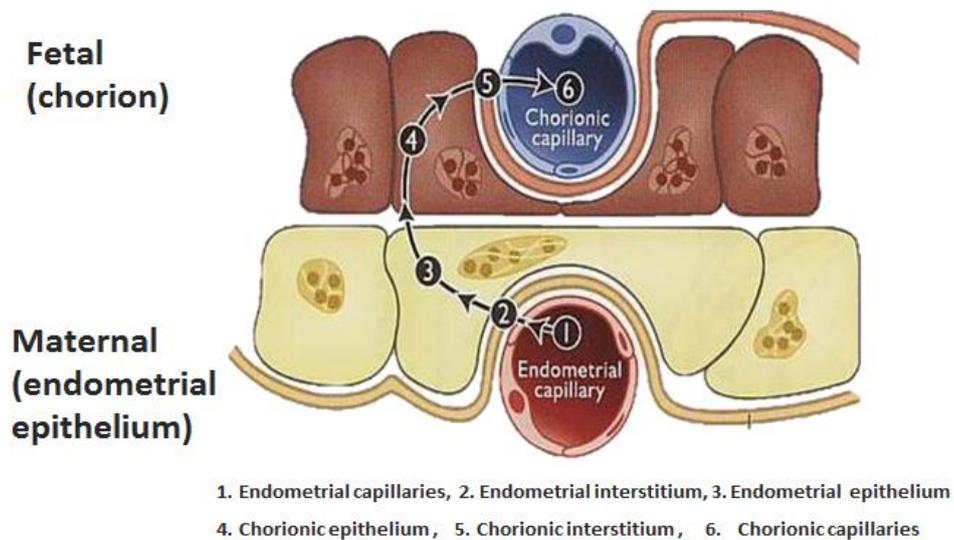


Figure 10 : Placentation synépithélio-choriale de la vache (*SENGER, 2005*)

Puis à partir de J₃₀, l'enveloppe la plus externe du conceptus, le chorion, présente sur sa surface externe des microvillosités cotylédonaires qui s'engrènent dans les formations spécialisées de la muqueuse utérine : les caroncules utérines. L'association d'un cotylédon et d'une caroncule forme un placentome, véritable surface d'attache utéro placentaire.

Chez la vache, ils sont en nombre important, de 60 à 120 lors de gestation simple. Les espaces inter cotylédonaires lisses forment le paraplacenta. Selon *BARBRY (2012)* l'ensemble des éléments, placentomes et paraplacenta, concourent à former le placenta dans son entièreté (**Figure 11**).

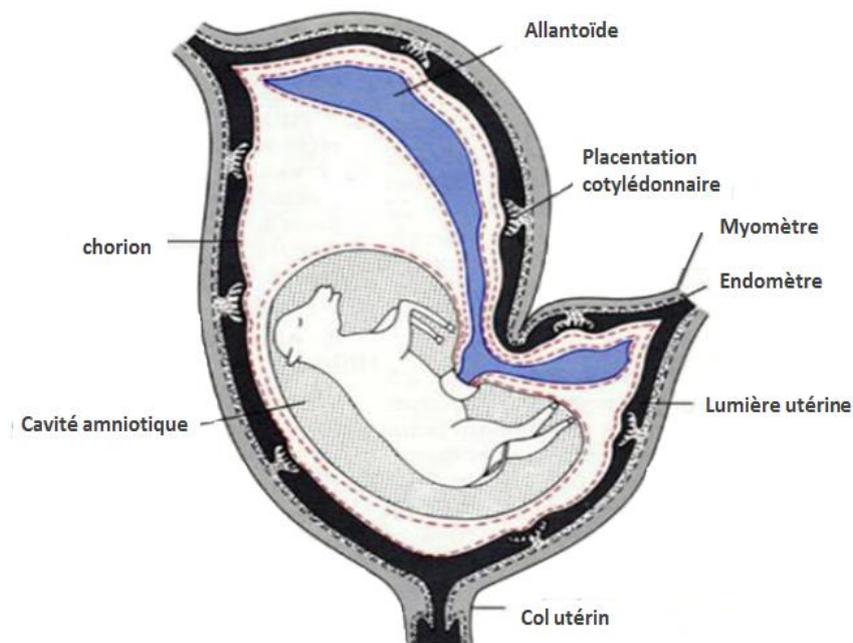


Figure 11: Placentation et annexes extra-embryonnaires chez les bovins (*GILBERT et al, 2005*)

II.2.3.2. Formation des annexes fœtales

Selon *WOODING ET BURTON (2008)*, il y a formation de trois annexes fœtales : le sac vitellin, l'allantoïde et l'amnios, toutes entretenant des rapports avec le chorion, et participant à la formation et au fonctionnement du placenta (**Figure 11**).

II.2.4. Physiologie du placenta

Le placenta est un organe d'échange entre la mère et le fœtus qui assure la respiration, la nutrition du fœtus et sa protection contre les bactéries et les substances toxiques. Il présente une activité endocrine indispensable à l'initiation et au maintien de la gestation et à la croissance fœtale (*SENGER, 2005*).

II.2.4.1. Fonction métabolique du placenta

Les échanges placentaires sont essentiels à la physiologie du fœtus. Le placenta est un filtre sélectif. Il permet le transport de nutriments : l'eau, l'oxygène, les minéraux et les matières organiques de la mère au fœtus et le transfert des déchets du fœtus à la mère (*DERIVAUX et ECTORS, 1980*).

II.2.4.2. Fonction endocrine du placenta

Le placenta peut être considéré comme une volumineuse glande endocrine produisant des hormones stéroïdes et des hormones protéiques. Cette fonction endocrine est en grande partie assurée par les cellules binucléées (**Figure 12**).

Ces cellules binucléées dérivent des cellules uninucléées trophoblastiques. Ces cellules possédant un appareil de Golgi très développé sont capables de migrer à travers l'épithélium utérin et de relarguer directement dans la circulation maternelle les produits de synthèse stockés dans des granules denses (*AYAD, et al., 2006*).

De cette façon les cellules binucléées sont directement impliquées dans la production de progestérone, des prostaglandines, de l'hormone lactogène placentaire et des glycoprotéines associées à la gestation ou spécifique de la gestation. Au cours de la gestation, les cellules binucléées représentent jusqu'à 20% des cellules du trophoctoderme (*AYAD, et al., 2006*).

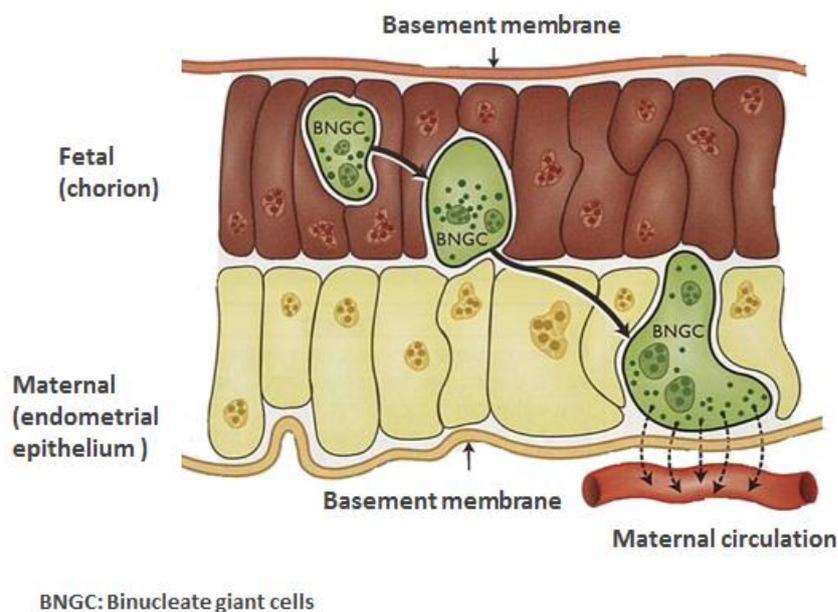


Figure 12 : Représentation schématique de la migration des cellules binucléées chez la vache (*SENGER, 2005*)

II.2.5. Diagnostic de gestation (gravidité)

Le diagnostic précoce de gravidité revêt une grande importance économique en reproduction animale. De nombreuses méthodes de diagnostic de gravidité ont été mises au point chez les bovins dont les principales sont les méthodes de laboratoire et les méthodes cliniques.

Les méthodes de laboratoire consistent dans l'utilisation des dosages radio-immunologiques (RIA) ou immunoenzymatiques (EIA) pour la détection de différentes hormones et protéines synthétisées par le placenta et sécrétées dans la circulation sanguine maternelle et/ou dans le lait. Chez la vache, les principales molécules susceptibles de conduire à un diagnostic de gravidité sont: le sulfate d'œstrone, détectable dans le sérum, le plasma (*DOBSON et al., 1993*) ou le lait (*HOLDSWORTH et al., 1982*), la progestérone (*PIETERSE et al., 1990*), détectable dans le plasma ou le lait, et les protéines spécifiques ou associées à la gravidité, PSPB (*HUMBLLOT et al., 1988*), PSP-60 (*MULLER et WITTKOWSKI, 1986*) ou PAG (*ZOLI et al., 1992*), détectables dans le sérum ou dans le plasma maternel à partir des 28e-30e jours de la gravidité.

En ce qui concerne les méthodes cliniques qui peuvent être citées ; la palpation manuelle de l'utérus, réalisée entre les 5^{ème} et 9^{ème} semaines de la gravidité (*VAILLANCOURT, 1979*) et l'échographie, aussi appelée ultrasonographie (*CHASTANT-MAILLARD, 2002*)

Le principe de la palpation manuelle est de rechercher manuellement des modifications de l'appareil génital, voire des structures embryonnaire (ou fœtales) à travers la paroi rectale. Les signes à rechercher lors d'un examen par voie transrectale sont :

- Corps jaune de gestation,
- palpation des artères utérines,
- Asymétrie des cornes,
- Fluctuation du liquide des annexes fœtales,
- Palpation de la vésicule amniotique,
- Glissements des membranes annexielles,

- Palpation des cotylédons,
- Palpation de fœtus.

La méthode échographique fait appel à un appareil à ultrasons. Selon le principe de cette méthode, l'image échographique résulte de la juxtaposition de points lumineux, leur brillance étant proportionnelle à la variation d'impédance acoustique entre les tissus. Si l'on compare ces deux méthodes, l'échographie permet de réaliser un diagnostic de gravidité environ un cycle en avance par rapport à la palpation transrectale de l'utérus (*EL AMIRI et al., 2003*).

L'application de l'échographie au diagnostic de gravidité a fait l'objet de nombreux travaux chez les bovins. Parmi d'autres avantages (précocité, résultat immédiat, examen indolore du tractus génital). Elle repose sur la détection en premier lieu de la vésicule embryonnaire, liquidienne et anéchogène, puis plus tardivement de l'embryon lui-même, tache échogène au sein des liquides fœtaux (*MERCIER PARISOT, 1991*).

De plus, cette technique offre la possibilité de caractériser la morphologie de l'embryon, de contrôler la vitalité du fœtus, la normalité de son développement morphologique (*KAHN, 1990; KASTELIC, 1988*), d'évaluer la taille de la portée et dans certains cas, de déterminer le sexe du fœtus (*QUINTON, 2002*). Cependant, l'application de cette méthode reste limitée à cause de son coût élevé et de la lenteur de son application en comparaison avec la technique de palpation transrectale.

II.2.6. Mortalités embryonnaires et avortements

II.2.6.1. Mortalité embryonnaire

La mortalité embryonnaire est définie comme la perte de l'embryon entre la fécondation et la fin de l'organogenèse vers le 42^{ème} jour de gestation, période au-delà de laquelle on parlera de mortalité ou de perte fœtale (*GAYRARD, 2003*).

La mortalité embryonnaire peut être divisée en deux périodes (**Figure 13**): mortalité embryonnaire précoce qui se déroule avant la reconnaissance maternelle de la gestation qui a lieu vers le 15-17^{ème} jour de gestation (retour en chaleur non décalé) et

mortalité embryonnaire tardive qui a lieu entre le début de la reconnaissance maternelle et le 42^{ème} jour de gestation (retour en chaleur décalé) (POLL, 2007).

La période entre le 25^{ème} et le 42^{ème} jr est critique car il s'agit de la fixation des membranes embryonnaires à l'épithélium utérin. Cependant la majorité des mortalités embryonnaires surviennent avant le 25^{ème} jour (DESCOTEAUX et al., 2009).

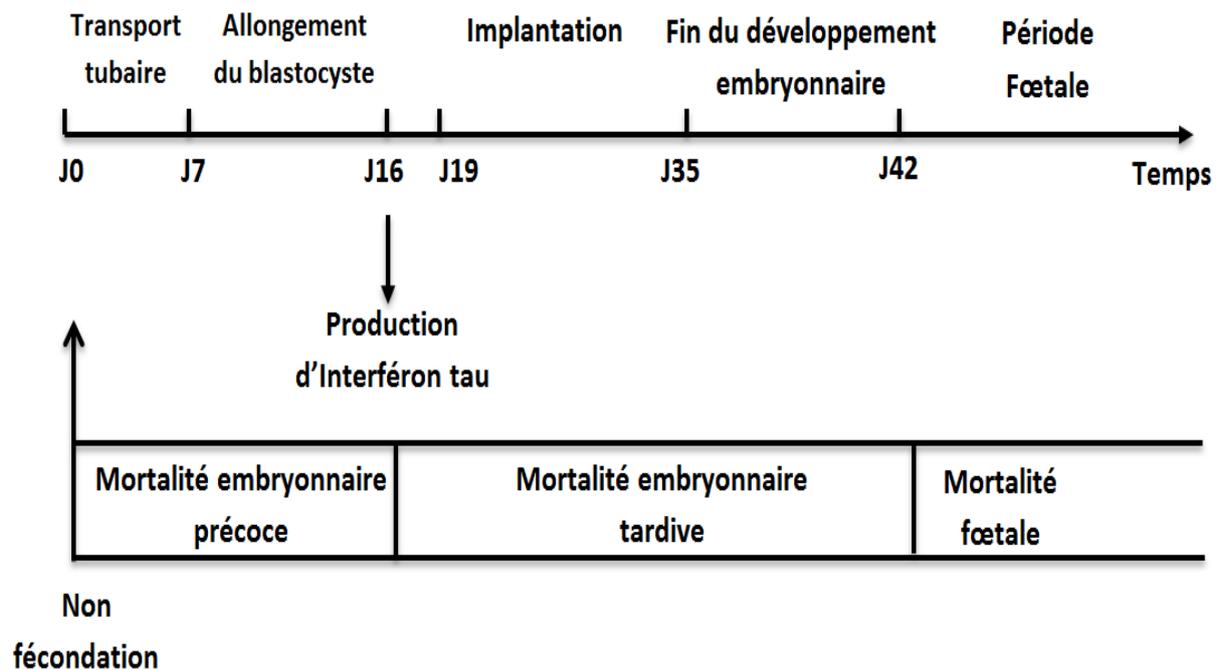


Figure 13 : Périodes des mortalités embryonnaires et foetales (PICARD-HAGEN, 2003)

II.2.6.2. Avortements

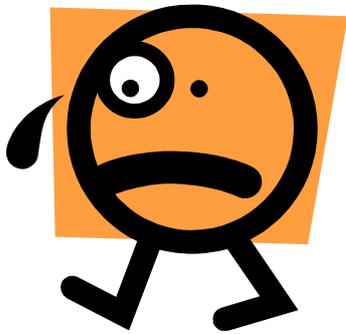
L'avortement correspond d'un point de vue médical à l'expulsion avant terme d'un fœtus non viable. L'expulsion d'un fœtus non viable au-delà de 260 jours environ est considérée comme un vêlage prématuré, d'autres auteurs ne parlent d'avortement qu'à partir du 3^{ème} mois, associant ainsi l'avortement à une probabilité plus forte de retrouver le fœtus expulsé (BALL et PETERS, 2004). L'étiologie des avortements est extrêmement variée : des causes infectieuses et non-infectieuses sont distinguées (Tableau 4).

Cependant, l'étiologie des avortements reste très souvent indéterminée : dans une étude menée sur six ans par KIRKBRIDE (1992), l'origine de 67% des avortements

n'a pas été précisée. **BARR et ANDERSON (1993)** précisent que 23 à 46% des avortons soumis à un diagnostic de laboratoire ont été associés à une cause précise d'avortement. La part des avortements infectieux est variable : 50% est un nombre traditionnellement avancé (**TAINTURIER et al., 1997**), environ 30% dans l'étude de **KIRBRIDE et al (1992)**.

Tableau 4 : Etiologie des avortements chez la vache (**TAINTURIER et al., 1997**)

Causes infectieuses	Causes non-infectieuses
<p>Bactéries :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Brucella abortus</i> - <i>Salmonella dublin, typhimurium</i> - <i>Chlamydia psittaci</i> - <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>Leptospira interrogans</i> - <i>Campylobacter fetus</i> - Autres : entérobactéries Gram-, <i>Arcanobacterium pyogenes...</i> <p>Virus :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Virus de la diarrhée bovine (BVD) - Virus de la rhinotrachéite bovine (IBR) <p>Parasites :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Toxoplasma gondii</i> - <i>N. caninum</i> <p>Champignons :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus spp</i> 	<p>Anomalies génétiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anomalies chromosomiques - Mutations autosomales <p>Facteurs de stress</p> <ul style="list-style-type: none"> - Interventions chirurgicales - Chaleurs ambiante - Traumatismes (palpation transrectale pour diagnostic de gestation) <p>Facteurs iatrogènes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thérapeutique hormonale (œstrogènes, prostaglandines, glucocorticoïdes) - Antiparasitaires <p>Toxiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Phyto œstrogènes - Nitrates - Aiguilles de pin



Néosporose bovine

En élevage bovin laitier, la maîtrise des performances de reproduction est un point essentiel. De nombreux facteurs (zootecniques et sanitaires) peuvent être impliqués dans la dégradation de ces performances. Dans ce cas, un allongement de l'intervalle entre vêlage est observé et la suspicion d'une origine infectieuse est légitime.

Dans ce chapitre notre étude bibliographique évoquera l'agent de la néosporose bovine connu pour être une cause infectieuse majeure d'avortement chez la vache dans de nombreux pays à travers le monde.

III. 1. Historique

La première description de *N. caninum* fut réalisée par le norvégien Bjerkas en 1984. **BJERKAS et collaborateurs (1984)** identifient dans le cerveau et les muscles de six chiots, issus d'une même mère et développant une atteinte neurologique, un protozoaire proche de *Toxoplasma gondii*, mais pour lequel aucun anticorps anti-Toxoplasma n'est retrouvé dans le sérum des chiens. Ce n'est qu'en **1988** que **DUBEY et collaborateurs** soulignent les différences structurales et antigéniques entre *Toxoplasma gondii* et le nouveau parasite, ils le nomment alors *N. caninum* (**DUBEY et al., 1988a**). Cependant, d'après une étude rétrospective, la néosporose n'est pas une maladie récente car le protozoaire a été retrouvé, sous forme de tachyzoïtes et de kystes tissulaires, chez des chiens morts entre 1957 et 1958, aux Etats-Unis (**DUBEY et al., 1990a**).

En **1989**, **THILSTED et DUBEY** observent chez plusieurs avortons provenant d'une même exploitation bovine des lésions d'encéphalite et de myocardite non nécrosantes associées à la présence de *N. caninum*. Le parasite est ensuite identifié au sein de nombreux avortons bovins (**ANDERSON et al., 1991 ; BARR et al., 1991**) mais aussi chez des veaux mort-nés (**DUBEY et al., 1990b**) et chez des veaux présentant divers troubles nerveux (**DUBEY et al., 1989**). Les dates clés de la néosporose depuis sa découverte sont reprises par l'**Annexe 1**.

III. 2. Biologie de *Neospora caninum*

III.2.1. Classification

N. caninum est un protozoaire appartenant au phylum des Apicomplexa d'après ses caractéristiques structurales et biologiques (**LOSSON et BOURDOISEAU, 2000**). *N. caninum* appartient à la classe des Sporozoaires et à l'ordre des Coccidies : ordre caractérisé par l'existence d'une reproduction asexuée par schizogonie, d'une reproduction sexuée par syngamie et par un cycle homoxène ou dixène. Le genre *Neospora* est classé dans la sous-famille des Toxoplasmatinés, comme le genre *Toxoplasma* **Tableau 5**. L'ensemble de cette classification est détaillée dans l'**Annexe 2**.

Tableau 5 : Taxonomie simplifiée de *N. caninum* (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**).

<i>Protozoaires</i>
Protistes (êtres unicellulaires eucaryotes à paroi non cellulosique, souvent mobiles, hétérotrophes).
<i>Apicomplexa (=Sporozoaires)</i>
Présence d'un appareil apical visible dans certains stades de développement (microscopie électronique).
<i>Coccidea</i>
« Coccidies » au sens large ; production de spores, complexe apical complet
<i>Eimeriida</i>
Le microgamonte donne de nombreux microgamètes
<i>Sarcocystidés</i>
Cycle avec HI
<i>Toxoplasmatinés,</i>
Chez l'HD, reproduction asexuée suivie d'une reproduction sexuée ; sporogonie dans le milieu extérieur ; une reproduction asexuée chez l'HI ; passage possible entre HI; HI facultatif (<i>Toxoplasma, Neospora</i>) ou obligatoire (<i>Hammondia, Besnoitia</i>).

N. caninum est identique à *Toxoplasma gondii* en microscopie photonique, mais ces deux protozoaires sont différents d'un point de vue biologique, moléculaire, antigénique et ultrastructural (**LOSSON et BOURDOISEAU, 2000 ; DUBEY et al., 2002**). Depuis 1998, une nouvelle espèce a été décrite chez le cheval : *Neospora hughesi*. Ce parasite est différent de *N. caninum* du fait des particularités structurales des tachyzoïtes, mais aussi du fait de caractéristiques antigéniques et moléculaires (**MARSH et al., 1998**)

III. 2.2. Cycle évolutif

N. caninum est un parasite hétéroxène (**Figure 14**). Son cycle évolutif est élucidé depuis peu de temps. Le chien a été identifié en premier lieu comme hôte définitif du parasite (**MAC ALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2002**). L'existence d'autres hôtes définitifs (essentiellement des carnivores) n'est pas à exclure. En effet, le coyote a également été décrit comme hôte définitif et certaines données indiquent que le renard pourrait aussi jouer ce rôle. Ceci suggère qu'à côté d'un cycle domestique, pourrait exister un cycle sylvatique de propagation du parasite. De plus, le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) est un hôte intermédiaire naturel du parasite (**GHALMI et al., 2007**).

L'hôte définitif se contamine par l'ingestion de placentas ou de fœtus d'hôte intermédiaire infecté, contenant des kystes à bradyzoïtes. Le carnivorisme permet ainsi la transmission horizontale du parasite, de l'hôte intermédiaire à l'hôte définitif et donc, la poursuite du cycle évolutif (**DUBEY et LINDSAY, 1993**).

La multiplication sexuée a lieu dans le tube digestif du chien qui excrète des oocystes non sporulés dans ces fèces. L'émission des oocystes débute huit à dix jours (**MAC ALLISTER et al., 1998**), voire cinq jours (**LINDSAY et al., 1999b**), après l'ingestion de kystes tissulaires et se poursuit pendant une dizaine de jours (7 à 19 jours) (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**). Selon une autre étude, il semblerait que l'élimination d'oocystes puisse perdurer pendant 4 mois (**MCGARRY et al., 2003**). Aucune donnée ne permet actuellement de savoir si le chien peut réexcréter des oocystes par la suite sans recontamination (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**).

La sporulation a lieu 48 à 72 heures après l'émission des oocystes qui deviennent alors infectants.

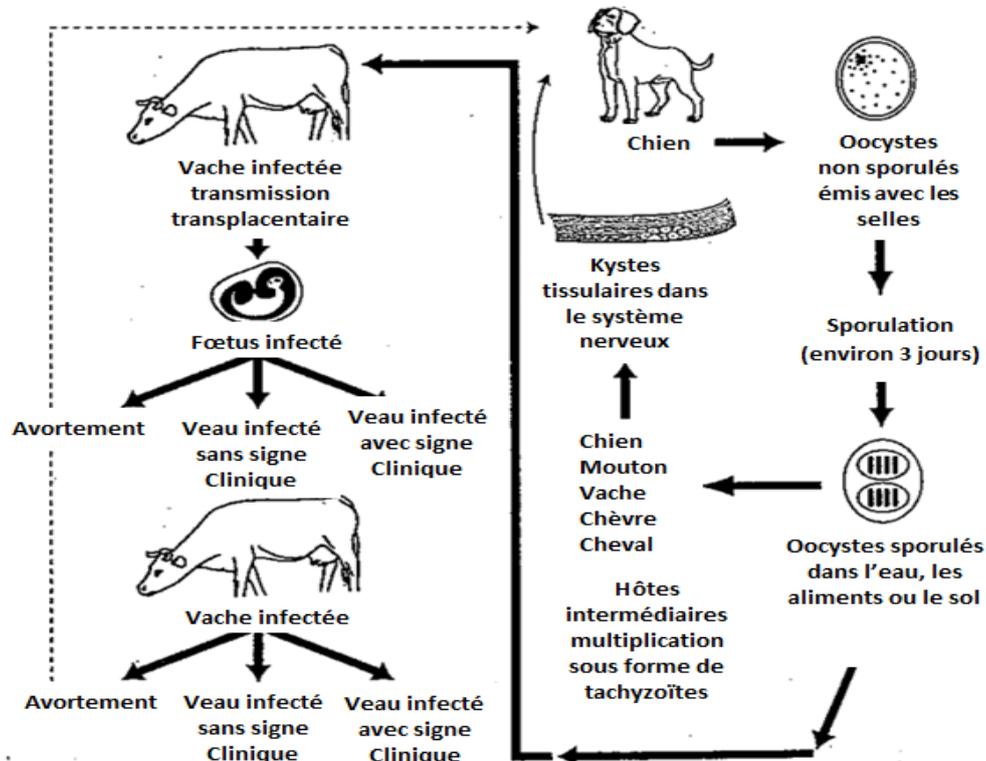


Figure 14 : Cycle de développement et de transmission de *N. caninum* (LOSSON et BOURDOISEAU, 2000).

Chez l'hôte intermédiaire, les oocystes sporulés libèrent des sporozoïtes qui pénètrent les cellules du tractus digestif et se transforment en tachyzoïtes. Ces derniers se multiplient rapidement par endodyogénie dans de nombreux types cellulaires, entraînant la lyse de la cellule et l'infection des cellules voisines ; ce qui permet la dissémination des tachyzoïtes dans tout l'organisme. Suite à l'intervention de la réponse immunitaire et d'autres facteurs physiologiques, les tachyzoïtes peuvent alors se différencier en une forme se répliquant plus lentement : le bradyzoïte qui s'enkyste dans les tissus (GHALMI *et al.*, 2007). Cette forme peut persister plusieurs années chez l'hôte infecté constituant la forme latente (LINDSAY *et al.*, 1992). Celle-ci est le réservoir pour l'infection du fœtus par voie transplacentaire, d'autres hôtes intermédiaires ou bien celle de l'hôte définitif (chien) via la consommation de tissus infectés (GHALMI *et al.*, 2007).

Même si ce mode de transmission horizontale semble vital pour la survie du parasite. La transmission verticale s'est avérée être la voie de contamination majeure du bovin provoquant ainsi une infection fœtale et contribuant à la persistance de l'infection au sein de l'exploitation (**SCHARES et al., 1998**).

Outre son rôle d'hôte définitif, le chien fait fréquemment office d'hôte intermédiaire pour *N. caninum* (**DUBEY et LINDSAY, 2006**).

III. 2.3.Morphologie-Structure

N. caninum est morphologiquement très proche des autres genres de la famille des Sarcocystidae. La description précise de ses différentes formes a donc un intérêt notamment diagnostique (**Tableau 6**).

Il existe trois formes parasitaires de *N. caninum* : deux formes asexuées chez l'hôte intermédiaire, les tachyzoïtes et les bradyzoïtes, et une forme sexuée, l'oocyste présent chez l'hôte définitif et dans le milieu extérieur.

Les tachyzoïtes représentent la forme infectante et pathogène du parasite. Les tachyzoïtes envahissent de nombreux types cellulaires tels que les cellules nerveuses, les macrophages, les fibroblastes, les cellules vasculaires endothéliales, les myocytes, les cellules épithéliales des tubules rénaux et les hépatocytes (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Les kystes à bradyzoïtes se trouvent dans les tissus nerveux : cerveau, moelle épinière, nerfs et rétine. Ils ont une position intracellulaire (**DUBEY et al., 2002**).

Les kystes à bradyzoïtes sont sphériques à ovoïdes et ne possèdent ni cloison ni paroi secondaire. Avant la sporulation, les oocystes contiennent seulement un sporonte central alors qu'après la sporulation, ils sont formés de deux sporocystes à quatre sporozoïtes (**MACALLISTER et al., 1998**). Les oocystes non sporulés n'ont aucun pouvoir infectant (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**). Les oocystes sporulés sont susceptibles d'être très résistants dans l'environnement, à l'instar des autres coccidies.

Tableau 6: Description des stades parasites de *N. caninum* (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**)

	Tachyzoïte	Kyste tissulaires à bradyzoïtes	Oocystes
Forme	Ovoïde	Ronds à ovales	Sphériques
Taille	3 à 7 µm sur 1 à 5 µm	Kystes : jusqu'à 107µm Bradyzoïtes : 6 à 8 µm sur 1 à 1.8 µm	10 à 11 µm
Localisation	Dans de nombreux types cellulaires, à l'intérieur d'une vacuole parasitophore	Kystes : tissu nerveux	Selles de l'hôte définitif (chien)
Structure	2 anneaux apicaux 1 conoïde 1 anneau polaire jusqu'à 150 micronèmes 8 à 18 mitochondries 1 appareil de Golgi REG et REL 1 noyau et 1 nucléole	Kyste à paroi lisse d'une épaisseur pouvant aller jusqu'à 4 µm (1 à 2 en général), contenant de 50 à 200 bradyzoïtes. Mêmes organites que pour les tachyzoïtes avec moins de rhoptries (6 à 12)	Avant sporulation, 1 sporonte central Après sporulation, 2 sporocytes contenant chacun 4 sporozoïtes

III. 3. Pathogénie

III.3.1. Immunologie de la gestation

La gestation est une situation très particulière pour le système immunitaire car la mère porte ce qui représente en grande partie un « corps étranger », sans qu'une réaction de rejet ne soit mise en place.

Les différentes recherches immunologiques ont montré le rôle crucial des cytokines présentes au niveau de l'interface materno-fœtale et à sa périphérie afin que la gestation puisse être menée à terme. Certaines cytokines sont bénéfiques à la gestation,

alors que d'autres sont au contraire défavorables. Les cytokines pro-inflammatoires produites par les lymphocytes T-helper de type 1, comme le Tumor Necrosis Factor (TNF)- α , l'interféron (INF)- γ et l'interleukine (IL)-2 peuvent, si elles sont en quantité suffisante, compromettre la survie du fœtus (**SARRAZIN, 2009**).

Des administrations directes d'INF- γ , IL-2 ou TNF- α peuvent en effet induire des avortements chez la souris gestante (**ENRICAN, 2001**). Au contraire, les cytokines régulatrices des lymphocytes T-helper de type 2, comme IL-10, le Transforming Growth Factor (TGF)- β , l'IL-4, et l'IL-5 sont produites localement au niveau de l'interface materno-fœtale et concurrence l'action des cytokines pro-inflammatoire. Il a notamment été démontré que l'IL-10 pouvait empêcher les avortements décrits précédemment chez la souris gestante (**INNES, 2002**).

Durant la gestation, la réponse immunitaire au niveau du placenta est donc modifiée en faveur d'un microenvironnement dominé par des cytokines « bénéfiques » à la gestation. Les hormones produites lors de la gestation sont également connues pour avoir des effets immunomodulateurs. La progestérone est capable d'induire la production d'IL-4 et la présence de Prostaglandine E2 peut orienter la maturation des lymphocytes T naïfs en lymphocyte T-helper de type 2 via la production d'IL-10 par les cellules dendritiques (**SARRAZIN, 2009**).

Du côté fœtal, l'immunocompétence commence à se mettre en place à partir de 100 jours de gestation, mais le fœtus n'est capable de répondre aux antigènes qu'après 150 jours. Parallèlement à la mise en place de la réponse immunitaire à médiation humorale, la réponse immunitaire à médiation cellulaire (via les lymphocytes CD4 et les cellules Natural Killer) tendrait à se mettre en place un peu plus tôt ; des fœtus autopsiés à 4 mois de gestation après inoculation de *N.caninum* ont montré des taux de cytokine pro-inflammatoires augmentées, alors que les anticorps anti-Neospora n'ont pu être détectés (**ALMERIA et al., 2003**). Ces observations tendent à supposer que le fœtus serait plus capable de lutter contre une infection si celle-ci intervient tardivement dans la gestation (**GIBNEY et al., 2008**).

III.3.2. Pénétration et évolution du parasite dans l'organisme

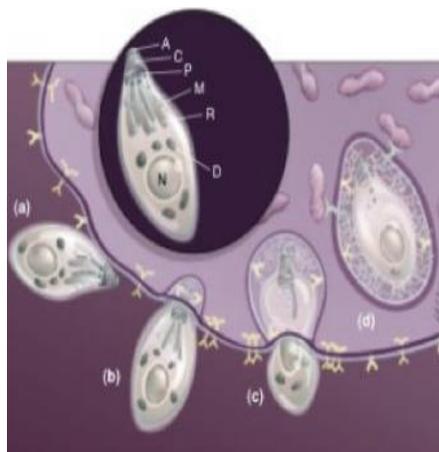
Les tachyzoïtes constituent la forme infectante de *N. caninum*. La méthode d'invasion cellulaire par les parasites du groupe des Apicomplexa est commune et fait intervenir leur appareil apical (**HEMPHILL, 1999**).

Selon le même auteur, trois étapes se succèdent dans le processus d'invasion cellulaire. Une première phase 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.

Au départ, le parasite se fixe grâce à ses antigènes de surface (*N.caninum* SAG-related sequence = 2 NcSRS2), de manière aléatoire (sans orientation particulière), sur la cellule hôte. Puis, le parasite se replace de façon à ce que son pôle antérieur soit contre la membrane cellulaire de la cellule hôte.

Le conoïde provoque l'invagination de la membrane plasmique et diverses protéines sont alors émises dans la vacuole parasitophore ainsi formée (**Figure 15**). Il existe une zone d'attachement entre la membrane externe du parasite et la membrane plasmique de l'hôte par l'intermédiaire d'adhésines synthétisées par les micronèmes. Le parasite rentre progressivement dans la cellule par glissement et se retrouve finalement entièrement dans la vacuole parasitophore (**BUXTON et al., 2002**).

Il faut noter que les protéines transmembranaires de la cellule hôte sont exclues de la vacuole parasitophore, ce qui interdit alors la fusion des lysosomes avec celle-ci (**BUXTON et al., 2002**).

**Légende :**

A : anneau apical
 C : conoïde
 D : granules denses
 M : micronème
 N : nucleus
 P : anneau polaire
 R : rhoptries

Légende :

a) Fixation du tachyzoïte à la cellule sans orientation particulière
 b) Invasion par le conoïde et libération du contenu des organelles
 c) Pénétration du tachyzoïte à l'intérieur de la cellule
 d) Création d'une vacuole parasitophore

Figure 15 : Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de *N. caninum* (BUXTON *et al.*, 2002)

III.3.2.1. Réponse immunitaire de l'hôte

La présence d'une réponse immunitaire à médiation humorale et cellulaire a été démontrée chez des bovins à la fois infectés naturellement et expérimentalement avec des tachyzoïtes ou des oocystes.

La réponse immunitaire à médiation cellulaire semble avoir un rôle prédominant compte tenu de la localisation intracellulaire du parasite (GHALMI, 2011a). Les premières études réalisées sur des souris ont montré la prédominance d'une réaction de type Th1, faisant intervenir l'interleukine 12, l'interféron gamma produit par les lymphocytes T (CD4+) et le facteur TNF α (Tumor Necrosis Factor) (DUBEY, 1999b). Ces derniers inhibent la multiplication intracellulaire du parasite sous sa forme tachyzoïte (INNES *et al.*, 2000). Des essais sur des vaches non-gravidés inoculées avec des tachyzoïtes, ont permis d'établir la présence d'une prolifération lymphocytaire et une production d'interféron gamma (ANDERSON *et al.*, 2000).

III.3.2.1.1. Réponses immunitaires des bovins non gestants

La plupart des bovins adultes sont capables de lutter contre l'infection et demeurent cliniquement normaux bien que toujours infectés. L'adulte infecté par *N. caninum* va répondre en produisant des anticorps spécifiques, souvent utilisé comme aide au diagnostic. L'efficacité des anticorps pour le développement d'une immunité

reste à déterminer, mais ils jouent un rôle dans le contrôle de la parasitémie en répondant au stade extracellulaire du parasite (**HEMPHILL et al., 2000**). La production d'anticorps spécifiques est détectable une semaine après l'infection et les titres d'anticorps circulants restent élevés durant une longue période. L'avidité des anticorps spécifiques s'accroît dès la 2^{ème} semaine après l'infection et ceci jusqu'à la 12^{ème} semaine moment où les valeurs atteignent un plateau (**MALEY et al., 2001**).

Néanmoins, *N. caninum* est parasite intracellulaire obligatoire et ne peut se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule hôte (**HEMPHILL et al., 2000**). La localisation intracellulaire implique que la réponse immunitaire à médiation cellulaire est probablement un mécanisme de protection important. La preuve de l'importance de l'immunité à médiation cellulaire a été apporté par des études *in vitro* montrant que le traitement de cellule par de l'IFN gamma recombinant inhibe la multiplication intracellulaire de *N.caninum* (**INNES et al., 1995**).

Chez des bovins infectés expérimentalement par des tachyzoïtes de *N. caninum*, les cellules mononuclées du sang périphériques produisent également de l'INF gamma. Le surnagent collecté à partir de cellule T CD4+ répondant aux antigènes de *Neospora caninum* a été utilisé pour traiter des cellules avant une infection *in vitro* par des tachyzoïtes de *N. caninum*. Le surnagent qui présente la plus forte concentration en IFN gamma est le plus efficace dans l'inhibition de la multiplication du parasite. Néanmoins, dans cette même étude, la neutralisation de l'IFN gamma produit par le surnageant n'annule pas complètement l'activité anti-parasitaire. Ceci suggère que d'autres cytokines du surnagent sont également en mesure d'inhiber la multiplication intracellulaire du parasite (**HEMPHILL et al., 2000**).

En résumé, l'étude de la réponse immunitaire après infection expérimentale par *N. caninum* de bovins montre que les réponses humorale et cellulaire sont toutes deux sollicitées par l'infection. Les expériences *in vitro* qui permettent la mesure de la multiplication du parasite ont montré l'importance de l'immunité à médiation cellulaire et en particulier de l'IFN gamma dans le contrôle de la croissance de *N. caninum* chez l'hôte. La même cytokine est également très importante dans la résistance à *Toxoplasma gondii* (**HEMPHILL et al., 2000**)

III.3.2.1.2. Réponses immunitaires des bovins gestants

- **Rappels: réponse immunitaire maternelle et fœtale au cours de la gestation**
- **Réponse immunologique face à l'infection à *N. caninum* en fonction du stade de gestation.**

Il est important de savoir comment l'immuno-régulation qui intervient lors de la gestation peut affecter l'équilibre hôte-parasite.

Les cytokines pro-inflammatoires comme INF- γ , IL-2 ou TNF- α qui ont pour rôle de limiter la multiplication du parasite sont potentiellement néfastes pour la gestation. En parallèle, les trophoblastes produisent de l'IL-10, qui crée un environnement local de type Th-2. Or, l'IL-10 exerce également un rétrocontrôle négatif sur la production d'INF- γ , ce qui peut faciliter la multiplication du parasite dans l'organisme. C'est pourquoi, la réponse immunitaire est néfaste à la survie du fœtus, alors que l'immunomodulation nécessaire à la gestation peut affecter la capacité de l'organisme à lutter contre l'infection (*INNES et al., 2002*)

Chez les bovins non gestants (**Figure 16i**), l'infection à *N. caninum* est suivie d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire (prolifération cellulaire et production de cytokines) suffisante pour que l'animal ne développe pas de symptômes cliniques. La production d'interféron gamma (INF- γ) par les lymphocytes T CD4+ est capable de limiter la multiplication intracellulaire du parasite et joue ainsi un rôle important dans la protection immunitaire. Le parasite persiste cependant sous forme bradyzoïte, dans le système nerveux principalement.

Les quelques données existantes semblent montrer que lorsque un animal non gestant est infecté, il développerait une immunité suffisante pour empêcher la transmission verticale du parasite lors des mises à la reproduction suivante (*INNES, 2001 ; INNES et al., 2002; MCCANN, 2007*).

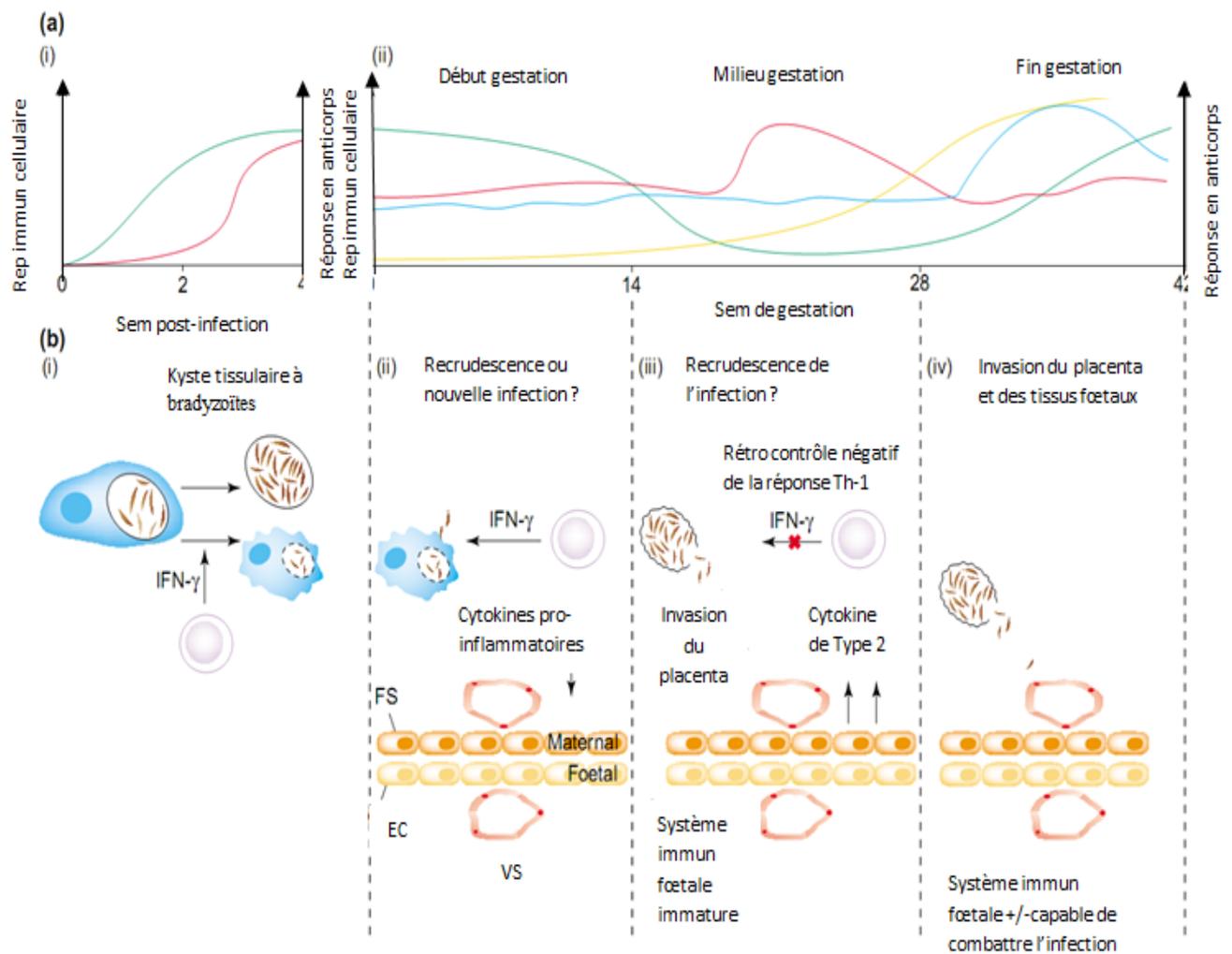
Au début de la gestation (**Figure 16ii**), les conséquences d'une infection à *N. caninum* peuvent être sévères, allant jusqu'à la mort du fœtus. Le fœtus, de part son immaturité, est à ce moment là incapable de produire une réponse immunitaire efficace.

En parallèle, la mère peut en début de gestation produire une très forte réaction inflammatoire avec libération massive d'IFN- γ en réponse aux antigènes du parasite. C'est pourquoi, il serait possible que l'avortement soit lié, au moins en partie, au relargage de cytokine pro-inflammatoire par les lymphocytes T-helper de type 1 au niveau de l'interface mère-fœtus, lors de la réaction immunitaire.

Au milieu de la gestation, on observe une modulation majeure du système immunitaire et surtout de la réponse IFN- γ (**Figure 16iii**). Le rétrocontrôle négatif exercé sur le système immunitaire par la gestation permettrait la réactivation du parasite quiescent dans le système nerveux. Lors de cette réactivation, le parasite serait à même de sortir de la forme kystique et d'envahir la circulation sanguine.

L'environnement materno-fœtal, avec libération de cytokines régulatrices par les lymphocytes Th-2 serait de plus favorable à la prolifération du parasite, ainsi qu'à l'infection du placenta et du fœtus.

Pour **ALMERIA et collaborateurs (2003)**, la réponse de type Th-1 pro-inflammatoire primitive, serait suivie d'une réponse modératrice de type Th-2. Cette réponse de type Th-2 avec relargage de cytokine anti-inflammatoire préviendrait la perte fœtale induite par la réponse inflammatoire excessive, mais permettrait également la multiplication du parasite au sein de l'hôte et son passage à travers le placenta. Ainsi, c'est toute la balance immunitaire qu'il faut considérer pour approcher la physiopathogénie de la transmission verticale de *N. caninum*. L'âge du fœtus au moment de l'infection est primordial. Au milieu de la gestation, les conséquences d'une infection peuvent être la mort du fœtus et donc l'avortement, ou la naissance d'un veau cliniquement atteint de néosporose.



Légende figure(a) :

- (i) Infection d'un animal non gestant**
- Réponse immunitaire à médiation cellulaire
 - Réponse en anticorps

- (ii, iii et iv) Infection d'un animal pendant la gestation**
- Réponse immunitaire à médiation cellulaire
 - Réponse en anticorps
 - Réponse en anticorps
 - Réponse immunitaire fœtale (maturité)

Légende figure(b) :

- EC : Epithélium chorionique
- FS : Syncytium fœtal
- VS : Vaisseau sanguin

Figure 16 : Evolution de la relation Hôte-Parasite lors d'une infection par *N. caninum* chez l'animal non gestant (i) et en cours de gestation (ii, iii et iv) (INNES et al., 2002)

En fin de gestation, l'infection est moins à même de déclencher un avortement, certainement grâce à l'acquisition progressive de la maturité du système immunitaire fœtal (**Figure 16iv**). La conséquence la plus probable d'une infection en fin de gestation serait donc la naissance d'un veau sain, atteint congénitalement. Comme la majorité des transmissions verticales donnent naissance à un veau sain infecté permanent, il est probable que la majorité des transmissions ait lieu en fin de gestation (**DUBEY et al., 1988a**).

L'évolution de la réponse à médiation humorale serait également le témoin de la recrudescence du parasite lors de la gestation, chez les animaux infectés permanents. Au milieu de la gestation, le taux d'IgG diminue sensiblement, signe de la baisse d'immunité exercée par l'état gestant. Puis le titre augmente rapidement en fin de gestation, les titres les plus élevés sont observés en fin de gestation et dans les mois suivants la gestation, ce qui concorde avec une recrudescence de la multiplication parasitaire. Le taux d'IgM suit la même tendance, les taux les plus bas étant observés en milieu de gestation et les plus élevés en fin de gestation (**FIORETTI et al., 2003**).

III.4. Manifestations cliniques et tableau lésionnel

N. caninum est un parasite intracellulaire qui tue les cellules hôtes du fait de la multiplication active des tachyzoïtes par endodyogénie. Ceci provoque des lésions facilement visibles en quelques jours. Ce sont des lésions inflammatoires non suppuratives menant à l'apparition de foyers de nécrose. (**DUBEY et LINDSAY 1993 ; BRUGERE-PICOUX et al., 1998**).

Les kystes à bradyzoïtes peuvent également entraîner des lésions, mais il semblerait que ce soit plus rare. L'inflammation n'est ainsi pas systématique autour des kystes. Il faut d'ailleurs noter que les kystes intacts semblent ne pas entraîner de réaction de la part de l'hôte contrairement aux kystes rompus, autour desquels on observe un granulome (**BRUGERE-PICOUX et al., 1998**).

Lors d'avortement, les lésions inflammatoires touchent d'abord les cotylédons, lieu de tous les échanges, puis gagnent l'ensemble de l'allantochorion. Ceci a été mis en évidence expérimentalement, puis naturellement par OTTER *et al.* (**1995**). Pendant le même temps, le parasite envahit le fœtus par voie sanguine et gagne préférentiellement

le système nerveux central, mais parfois aussi le cœur, les muscles squelettiques, les poumons et le foie (**BUXTON et al., 2002**).

Les fœtus expulsés précocement sont dans la plupart des cas momifiés ou autolysés. Les lésions macroscopiques sont peu nombreuses (plages blanches dans les muscles et le cœur, foyers décolorés ou surcolorés dans l'encéphale, dilatation des cavités cardiaques) (**ANDERSON et al., 1994**).

Les lésions placentaires et fœtales démontrent que *N. caninum* est un pathogène capable d'induire par sa seule multiplication des avortements, par l'inflammation du placenta maternel, la nécrose et l'inflammation du placenta fœtal et maternel, ou les dommages fœtaux, voire la combinaison des trois. Cependant, en général, le nombre de parasites retrouvés dans les tissus fœtaux est faible, même chez les sujets bien préservés. Ceci pourrait être dû à la pathogénie même des avortements : la réponse immunitaire maternelle ou la lutéolyse induite par les prostaglandines causerait l'expulsion du fœtus avant que le parasite ait le temps de se multiplier en grand nombre (**SARRAZIN, 2009**).

Sur le plan microscopique, les lésions cérébrales sont caractérisées par une infiltration leucocytaire multifocale ou diffuse (encéphalomyélite non-suppurée), parfois associée à des foyers de nécrose ou encore à des foyers de gliose. Ces derniers sont souvent adjacents des capillaires dont l'endothélium est hypertrophié et entouré d'un manchon de cellules mononuclées. L'image la plus caractéristique correspond à des foyers nécrotiques, le plus souvent situés dans la substance blanche, dans le tronc cérébral, entourés de cellules mononuclées. Une infiltration leucocytaire mononuclée des méninges, et des kystes parasitaires sont visibles dans certains cas. Enfin une calcification précoce des foyers nécrotiques a été décrite (**DUBEY et LINDSAY, 1996**).

Il faut noter qu'en absence de réaction immunitaire et de certains facteurs physiologiques (chez l'adulte et le fœtus âgé), les tachyzoïtes continueraient à se multiplier, provoquant la mort de nombreuses cellules et même la mort de l'hôte. Un équilibre s'établit donc entre la multiplication rapide et pathogène des tachyzoïtes et la capacité de l'hôte à se défendre contre l'infection. Cet équilibre permet ainsi, la survie de l'hôte, mais aussi celle du protozoaire parasite (**BUXTON et al., 2002**).

La connaissance des différents symptômes et lésions provoqués par la néosporose à un intérêt particulièrement important pour le diagnostic de la maladie bien que les symptômes ne soient pas univoques, particulièrement chez les bovins, et que d'autres protozoaires induisent des lésions comparables.

Cette partie reprend les symptômes caractéristiques induits par *N. caninum* chez les bovins. Nous ne verrons en détail que cette espèce puisque notre étude porte essentiellement sur les bovins. Pour le chien, la clinique sera rapidement évoquée car malgré tout, il joue un rôle important dans la transmission de la maladie aux bovins.

III.4.1. Chez les bovins adultes

L'infection par *N. caninum* est asymptomatique chez les bovins adultes. En périodes de gestation, la néosporose se manifeste parfois par des avortements apyrétiques, sans rétention placentaire ni complication infectieuse avec un retour en chaleur rapide (**BJÖRKMAN et al., 1996**).

La vache revient généralement rapidement en chaleurs et sa fertilité pour le cycle suivant n'est pas compromise : le taux de réussite à l'insémination suivante est en principe bon (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

L'avortement survient à partir du troisième mois de gestation et jusqu'au terme (**DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998b**) avec un maximum d'avortements entre cinq et six mois de gestation. Le fœtus peut mourir *in utero* : il est alors parfois résorbé, momifié ou autolysé. Le veau peut aussi être mort né ou naître vivant. La mort fœtale peut sans doute survenir pendant toute la durée de la gestation, mais elle peut ne pas être diagnostiquée en cas de mortalité embryonnaire précoce ou de résorption fœtale, avec retour en chaleurs de l'animal (**DUBEY, 1999a**).

Plusieurs études indiquent qu'une vache infectée peut avorter plusieurs fois. Cependant beaucoup d'entre elles sont réformées après le premier avortement et il est donc difficile d'évaluer la fréquence de la récurrence. Toutefois, il semble que moins de 5% (4/112) des vaches séropositives vis-à-vis de *N. caninum* et ayant avorté, avorteraient plus d'une fois (**ANDERSON et al., 1995**).

III.4.2. Chez le veau nouveau-né

Entre 80 et 100% des veaux nés de mères infectées sont eux-mêmes infectés et présentent une sérologie positive avant la prise colostrale (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

Les veaux nés infectés sont, soit normaux cliniquement, mais infectés chroniquement, soit atteints de troubles nerveux, ce qui est plus rare. Les signes cliniques apparaissent, en général, entre 3 et 5 jours après la naissance, mais peuvent apparaître jusqu'à l'âge de deux mois (**DUBEY et LINDSAY, 1993**). Les symptômes, puis la mort surviennent plus particulièrement au cours du premier mois (**DUBEY, 1999a**).

Les troubles nerveux se caractérisent par une incapacité à se lever, un retard de croissance fréquent. L'animal peut également présenter de l'ataxie, une raideur des membres, une paralysie, un fléchissement ou une hyper extension des pattes arrière et/ou avant, une perte de proprioception, une diminution du réflexe rotulien, de l'exophtalmie, une déviation du globe oculaire (aspect asymétrique des yeux) et des déformations diverses des membres antérieurs et/ ou postérieurs (**PARISH et al., 1987; DUBEY, 2000**).

La néosporose peut parfois être à l'origine de problèmes d'hydrocéphalie ou de malformations de la colonne vertébrale (**DUBEY, 2003**). Lorsque les symptômes nerveux sont sévères, l'animal peut présenter de l'hyperthermie. Certains veaux présentent également un déficit pondéral à la naissance, associé à un faible développement musculaire (**BRUGERE-PICOUX et al., 1998 ; DUBEY, 1999a**). Le nombre de veaux mort-nés à terme est plus élevé dans les élevages infectés (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

III.4.3. Chez le chien adulte

L'infection chez l'adulte prend deux formes : une forme intestinale qui correspond à la phase sexuée du cycle de *N. caninum* (**LINDSAY et al., 1999a; MACALLISTER et al., 1998**) et une forme disséminée (le chien aussi est hôte intermédiaire et le parasite effectue une multiplication asexuée). L'atteinte digestive ou «coccidiose» ne provoque aucun signe clinique alors que la forme disséminée s'accompagne de signes cliniques principalement nerveux (**GUILLOT et al., 2000**).

La néosporose touche préférentiellement les chiots ou les jeunes chiens (entre 2 et 20 semaines), mais elle peut exister quelque soit l'âge de l'animal puisque la maladie a été décrite chez des animaux de deux jours et des chiens de 15 ans. Plusieurs animaux d'une même portée ou ayant la même mère sont souvent touchés (**BARBER, 1998**).

La maladie se caractérise par des troubles nerveux associés à d'autres signes cliniques. Elle est exacerbée par toute immunodépression qu'elle soit d'origine spontanée ou iatrogène (vaccination par exemple). Les symptômes neurologiques les plus fréquents sont une parésie uni- ou bilatérale des membres postérieurs, qui évolue progressivement en paralysie flasque ou spastique, associée à une faiblesse des membres antérieurs et à un déficit des nerfs crâniens (**BARBER, 1998**).

Les signes d'appel neurologiques les plus fréquents sont donc une modification des réflexes proprioceptifs et spinaux, une atrophie musculaire, une myalgie, en particulier au niveau des quadriceps et des muscles lombaires, plus rarement au niveau cervical, une cyphoscoliose lombaire et une hyper extension spastique uni- ou bilatérale des membres postérieurs (au niveau du genou ou du tarse) qui touche environ la moitié des animaux atteints de néosporose clinique : on parle de « position du phoque » (**DUBEY, 1990; BARBER, 1998**).

D'autres signes non neurologiques peuvent aussi nous interpeller : une insuffisance cardiaque, des troubles pulmonaires, une atteinte ulcéro-nécrotique de la peau, une pancréatite ou une hépatite associée à des vomissements et de la polydipsie. Ces signes apparaissent plus particulièrement chez l'adulte (**DUBEY, 1990 ; BARBER, 1998**).

La mort de l'animal survient suite à la paralysie évolutive ou suite à une méningo-encéphalomyélite, à une défaillance cardiaque, à une pneumonie ou par euthanasie (**BARBER, 1998 ; DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998a**).

Il existe une forme suraiguë : la mort survient en une semaine après l'apparition des premiers signes et une forme chronique : la maladie évolue progressivement et graduellement sur plusieurs semaines. Lors de formes chroniques, et peu évolutives, une guérison spontanée existe (**BARBER, 1998**).

III.4.4. Chez le chiot

Les chiots âgés de 2 semaines à 4 mois sont les plus fréquemment et gravement atteints, suite à une contamination pendant la gestation. La plupart des chiots naissant normaux mais infectés et pour certains mort-nés (*DUBEY et LINDSAY, 1996*). Les signes cliniques sont essentiellement nerveux et dépendent du site atteint par le parasite et sont comparable à celle du chien adulte (*BARBER, 1998*).

D'autres symptômes sont possibles : paralysie de la mâchoire (myosite touchant les masticateurs) entraînant des troubles de l'alimentation, dysphagie associée ou non à un mégaoesophage, ataxie, amaurose, crises convulsives, nystagmus. Des troubles du comportement sont parfois présents (*GUILLOT et al., 2000*).

Certaines races semblent plus touchées que d'autres : le labrador retriever, le boxer, le grey hounds, la golden retriever ou le basset hounds (*DUBEY et LINDSAY, 1996*).

III.5. Impact économique de la néosporose bovine

Il est difficile d'estimer exactement les pertes économiques liées à la néosporose dans les cheptels bovins, il semblerait que ces pertes se chiffrent en millions de dollars (*DUBEY, 2003*).

Les pertes économiques reposent à la fois sur le coût direct de l'avortement, lié à la valeur du fœtus, sur le coût indirect de l'avortement, mais également sur les répercussions de la maladie sans rapport avec l'avortement (*DUBEY, 1999a ; MARQUER et CHERMETTE, 2000*).

Les pertes économiques directes sont donc liées à la valeur du fœtus perdu. La vache infectée aurait 3 fois plus de risque d'avorter que la vache non infectée (*TREES et al., 1999*) et une génisse née infectée aurait jusqu'à sept fois plus de risques d'avorter lors de sa première gestation qu'une génisse saine (*THURMOND et HIETALA, 1997a*). Ceci est d'autant plus grave que les avortements sont nombreux : en Californie, 42,5% des avortements seraient dus à *N. caninum* (*ANDERSON et al., 1995*). Ceci représente donc une perte considérable pour l'éleveur.

La néosporose interviendrait également dans la mortalité embryonnaire précoce avec des animaux présentant des retours en chaleurs tardifs ou répétitifs ainsi qu'une infertilité (**BJÖRKMAN et al., 2003**).

Les pertes économiques indirectes de l'avortement sont liées au coût du traitement, à la nécessité de réinséminer la vache avortée, à l'augmentation de la durée de lactation, à la baisse ou la perte totale de production laitière ainsi qu'au coût de remplacement et à la diminution de la valeur d'abattage de l'animal, en cas de réforme précoce (**DUBEY, 1999a ; CHI et al., 2002**). Le coût du traitement tient compte à la fois de la nécessité de poser un diagnostic, à l'utilisation de médicaments et au surplus de travail pour l'éleveur qui doit consacrer du temps à l'animal ayant avorté (**CHI et al., 2002**).

Enfin, les pertes indirectes non liées à l'avortement sont les plus difficilement chiffrables et les premières études menées en ce qui concerne ces pertes sont parfois contradictoires :

- L'impact de la néosporose sur la production de lait est complexe. Une étude réalisée en Californie a montré que le rendement était diminué de plus de 4% ce qui correspond à 2,5 litres de lait en moins par jour et par vache infectée, au moins au cours de la première lactation (**THURMOND et HIETALA, 1997b**).
- L'augmentation du nombre de réformes précoces (la diminution de la production de lait et les avortements) : une vache séropositive a deux fois plus de risque d'être réformée qu'une vache séronégative (**THURMOND et HIETALA, 1996**).
- Enfin, la valeur marchande des veaux séropositifs est réduite en raison d'une diminution du gain corporel et du poids de carcasse en post sevrage, et des coûts de traitements (**BARLING et al., 2000**). Par ailleurs, les vaches séropositives ne vont plus être acceptées dans certains pays (Hollande) pour l'élevage ce qui réduit leur valeur financière.

III.6. Epidémiologie

III.6.1. Sources de parasites

III.6.1.1. Chien

L'introduction d'un nouveau chien dans l'élevage est généralement à l'origine d'une épidémie d'avortements. Il s'agit soit d'un jeune chien ou d'un adulte importé dans la ferme, soit de la naissance d'une portée de chiots dans l'exploitation (**BOUVERET, 2004**).

Il a été montré que l'augmentation du nombre d'avortements intervient dans les 18 mois qui suivent l'arrivée du nouveau chien. Ceci s'expliquerait par la contamination du chien à son arrivée par consommation de placentas, de fœtus avortés ou de liquide utérin, puis par la transmission aux bovins encore sains (**DIJKSTRA et al., 2002a**).

III.6.1.2. Bovins

Les bovins constituent une source de parasites à l'origine de la contamination d'autres bovins, lors de transmission verticale, mais aussi des hôtes définitifs, lors de transmission horizontale. Ainsi, l'achat d'un bovin peut être à l'origine de l'infection du troupeau. Si la transmission au sein du troupeau n'est que verticale, seule la lignée de ce bovin est atteinte et cela représente peu d'animaux, bien que ce nombre augmente lentement. Par contre, s'il y a transmission de l'infection à un hôte définitif à la faveur d'un avortement, le nombre de bovins infectés dans le troupeau peut augmenter très rapidement, et être suivi d'une véritable flambée des avortements (**DIJKSTRA et al., 2002b**).

III.6.1.3. Autres espèces

D'autres animaux sont également soupçonnés d'être des sources de parasites. Il s'agit d'une part, des autres animaux domestiques ou sauvages reconnus comme hôtes intermédiaires tels que les ovins, caprins, équins et cervidés. Ils joueraient alors le même rôle que les bovins. D'autre part, des canidés sauvages pourraient intervenir au

même titre que le chien : il s'agit des renards, des coyotes, des dingos ou des loups (*BUXTON et al., 1997*).

Le rôle des oiseaux est aussi mis en question puisque des études ont montré une corrélation entre le nombre de volailles présentes dans une exploitation et la séroprévalence à *N. caninum* (*BARTELS et al., 1999*).

III.6.1.4. Milieu extérieur

Le milieu extérieur est la source d'exposition puisque les oocystes se retrouvent dans le milieu extérieur après leur émission. C'est d'ailleurs dans le milieu extérieur qu'a lieu la sporulation nécessaire à l'infection des hôtes intermédiaires. La contamination des aliments (*DIJKSTRA et al., 2002a*) ou de l'eau (*BUXTON et al., 1997*) par des oocystes est alors source d'infection.

III.6.2. Espèces sensibles

De nombreuses espèces animales sont connues en tant qu'hôte intermédiaire. Ainsi, les bovins, le mouton, la chèvre, le cheval, le chien et certains animaux sauvages tels que les renards (*BUXTON et al., 1997*), les coyotes (*LINDSAY et al., 1996a*), les cerfs, les buffles et les chameaux sont naturellement réceptifs à l'agent pathogène (*DUBEY, 2000*).

Expérimentalement, la souris, le rat, le chien, le renard bleu, la chèvre, le chat, le mouton, le coyote, la gerbille, le lapin, les bovins et les singes (les macaques plus précisément) ont pu être infectés en tant qu'hôtes intermédiaires (*LOSSON et BOURDOISEAU, 2000*).

Il faut noter que la plupart des souches murines sont relativement résistantes à la néosporose et qu'elles ne sont infectées qu'à la faveur d'une baisse de l'immunité provoquée par une injection de corticoïdes. Il en est de même pour tous les rongeurs possédant une compétence immunitaire normale (rats et souris) (*DUBEY, 2000*).

III.6.3. Modes de transmission

Il existe deux modes de transmission de la néosporose chez les bovins : la transmission verticale est la première voie à avoir été mise en évidence et c'est le mode

de transmission principal ; et la transmission horizontale naturelle qui n'est connue que depuis peu de temps (**BERGERON et al., 2000**).

III.6.3.1. Transmission verticale ou transplacentaire

La néosporose est une maladie pouvant être transmise de la vache à son veau au cours de la gestation. On parle alors d'infection congénitale, de transmission verticale ou de transmission transplacentaire.

Ce mode de transmission semble important car plusieurs études ont révélé que plus de 80% des mères séropositives transmettent leur infection à leur progéniture (**PARÉ et al., 1996**).

Ce mode de transmission a ensuite été confirmé dans les conditions naturelles par différentes études. Ainsi, la persistance de l'infection chez des génisses cliniquement normales (a priori, contaminées suite à une infection congénitale) et la transmission à leur progéniture ont été étudiées entre 1992 et 1995 (**ANDERSON et al., 1997**). Les résultats de cette étude ont montré que :

- au vêlage, les génisses étaient toujours infectées bien que le titre en anticorps soit inférieur à celui de leur naissance.
- l'infection par *N. caninum* a été transmise à leur veau. La transmission de la néosporose peut donc se faire entre les générations successives.

D'autre part, une seconde étude, réalisée entre 1992 et 1994, a démontré qu'un fort taux d'anticorps chez la mère est associé avec une sérologie précolostrale positive chez le veau. En effet, le risque d'infection congénitale est plus élevé chez un veau dont la mère présente un fort taux d'anticorps, ou une élévation du taux d'anticorps entre le troisième et le huitième mois de gestation, que chez un veau dont la mère présente un taux d'anticorps faible ou en diminution (**PARÉ et al., 1996**).

Le diagnostic d'infection congénitale peut être établi grâce à une prise de sang et au dosage d'anticorps anti-*Neospora*, chez le veau, avant la prise colostrale. un faible taux d'anticorps chez la mère ne permet pas d'exclure une infection congénitale (**ANDERSON et al., 1997**).

L'infection par *N. caninum* peut ainsi se maintenir sur plusieurs générations, dans un troupeau, avec une prévalence constante et relativement faible, sans nécessité de dispersion de la maladie par un hôte définitif (**SCHARES et al., 1998**).

Un risque de transmission galactogène, entre la vache et son veau, a également été mis en évidence, dans des conditions particulières, par **UGGLA et al. (1998)**, mais ce risque n'est pas important dans la transmission de la néosporose (**DAVISON et al., 2001**)

III.6.3.2. Transmission horizontale ou post-natale

Cet autre mode de transmission a longtemps été suspecté chez les bovins. La séroprévalence élevée dans certains troupeaux infectés ne peut pas s'expliquer par une simple transmission verticale. La similitude entre *N. caninum* et *Toxoplasma gondii* a permis de faire une extrapolation entre les deux parasites : l'existence d'un hôte définitif carnivore dans le cycle a longtemps été suggérée puis prouvée en deux modalités de transmission : de l'hôte définitif à l'hôte intermédiaire et de l'hôte intermédiaire à l'hôte définitif (**BOUVERET, 2004**).

III.6.3.2.1. Contamination de l'hôte définitif

Les enveloppes fœtales, le liquide utérin et le fœtus sont considérés comme matériels à risque dans la contamination du chien (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Les matières virulentes par lesquelles le chien se contaminerait, contiennent des formes tachyzoïtes. Aussi, la mise en évidence d'excrétion d'oocystes après inoculation expérimentale de chiens s'est faite avec des cerveaux de souris contenant des kystes à bradyzoïtes (**LINDSAY et al., 1999a**).

III.6.3.2.2. Contamination des hôtes intermédiaires

La contamination des hôtes intermédiaires se fait par l'ingestion d'oocystes sporulés, à partir du milieu extérieur, comme démontré expérimentalement chez le veau (**DE MAREZ et al., 1999**). La principale source de parasites identifiée aujourd'hui est le chien, qui excrète des oocystes dans ses fèces (**LINDSAY et al., 1999a**). La sporulation, indispensable à l'acquisition des propriétés infectantes, nécessite 24 heures dans de bonnes conditions. Ils seraient émis pendant cinq à huit jours après l'infection de chiens

par ingestion de kystes tissulaires, la durée d'excrétion pouvant atteindre une dizaine de jours (*LINDSAY et al., 1999b ; MAC ALLISTER et al., 1998*).

III.6.4. Prévalence

Depuis sa découverte dans un troupeau laitier du Nouveau-Mexique, la néosporose a été diagnostiquée dans de nombreux pays et régions d'élevages (**Tableau 7**).

La néosporose est une cause majeure d'avortements dans de nombreux pays de la planète et plus particulièrement dans les régions d'élevage intensif et industriel notamment en Amérique du Nord (*ANDERSON et al., 2000*), l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Afrique du Sud, le Japon et différents pays d'Europe de l'Ouest.

Des résultats positifs ont été mis en évidence chez des bovins sans aucun problème d'avortement. Des études ont montré que la prévalence était plus élevée dans les élevages laitiers que dans les élevages allaitants (*DUBEY et LINDSAY, 1996*).

Tableau 7: Séroprévalence des anticorps anti-*N. caninum* chez la vache dans différents pays du monde.

Pays	Nombre d'animaux	Technique	Prévalence %	Référence
Algérie	799	IFAT	19.6	<i>(GHALMI et al., 2012)</i>
Argentine	173	IFAT	80.9	<i>(MORE et al., 2009)</i>
Brésil (Minas Gerais)	559	IFAT	91.2	<i>(GUEDES et al., 2008)</i>
Egypte	93	ELISA	20.4	<i>(IBRAHIM et al., 2009)</i>
United Kingdom	15736	ELISA	12.9	<i>(WOODBINE et al., 2008)</i>
Soudan	262	ELISA	10.7	<i>(IBRAHIM et al., 2012)</i>
Iran	285	ELISA	12.6	<i>(FARD et al., 2008)</i>
USA	900	ELISA	16.7	<i>(HOAR et al., 2007)</i>

III.7. Diagnostic

III.7.1. Epidémiologique et Clinique

Les observations épidémiologiques et cliniques permettent de suspecter la maladie, dont la confirmation nécessite des analyses de laboratoire. Cependant, le diagnostic clinique est très difficile puisque les symptômes sont peu évocateurs.

Les avortements sont le signe d'appel le plus fréquent. Ils ont lieu entre trois et neuf mois de gestation avec un pic entre cinq et six mois. Ils sont apyrétiques, sans prodrome, sans rétention placentaire, ni complication utérine de type métrite. Lors de l'expulsion du fœtus, des glaires translucides peuvent être observées. La vache revient ensuite normalement en chaleurs et sa remise à la reproduction se passe bien (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

La majorité des veaux nés infectés et séropositifs avant la prise colostrale sont en bonne santé. Cependant, certains présentent des signes nerveux (ataxie, raideur, paralysie...) ou des déficits pondéraux et musculaires dès leur naissance, ou dans les jours qui suivent celle-ci. D'autre part, dans un élevage infecté, le nombre de veaux mort-nés est plus élevé (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

L'épidémiologie et les commémoratifs sont importants à prendre en compte. Ainsi, si le nombre d'avortements est élevé dans une lignée donnée, la suspicion est renforcée. Pourtant, l'avortement n'est pas systématique chez une vache infectée. On peut observer à l'échelle d'une vache : vache positive n'ayant jamais avorté, vache présentant des avortements répétés ou non, ... De même, on peut observer à l'échelle d'un troupeau : cas sporadiques, épizootiques ou enzootiques (**JOURNEL et PITEL, 2001**).

Les troubles nerveux chez le veau, la mortinatalité et les avortements ne sont pas pathognomoniques de la néosporose ; d'où l'intérêt d'un diagnostic différentiel bien réfléchi.

III.7.2. Expérimental

Face à la difficulté de poser un diagnostic de certitude et au nombre important de causes possibles, que ce soit en ce qui concerne les avortements ou les troubles nerveux du veau, le recours à l'analyse de laboratoire s'avère indispensable à la confirmation ou l'infirmité de la néosporose. Deux types de diagnostic peuvent être effectués : le diagnostic direct qui vise à mettre en évidence les différentes formes parasitaires de *N. caninum* et le diagnostic indirect qui lui, met en évidence les témoins de l'infection (anticorps).

III.7.2.1. Méthodes directes

Les méthodes de diagnostic direct permettent de mettre en évidence des lésions spécifiques ou le parasite lui-même. L'anatomopathologie, l'isolement sur culture cellulaire, l'inoculation et l'amplification génique sont les méthodes utilisées. Les avantages et les inconvénients de ces méthodes sont cités dans l'**annexe 3**.

III.7.2.1.1. Anatomopathologie

Il n'existe aucune lésion macroscopique spécifique de néosporose. Le fœtus peut parfois présenter des lésions de type inflammatoires ou dégénératives dans le cerveau, le cœur ou les muscles squelettiques. Ces lésions se présentent sous forme de foyers blancs pâles sur les muscles ou de minuscules foyers de nécrose dans l'encéphale (**DUBEY, 1999b**).

D'autres protozoaires tels que *Sarcocystis spp.* Provoquent le même type de lésions. Le diagnostic de certitude de l'infection repose sur la mise en évidence du parasite lui-même, d'anticorps spécifiques ou d'ADN spécifique de *N. caninum* (**JENKINS et al., 2002**).

III.7.2.1.2. Histologie

Les tissus sont fixés dans du formol puis inclus dans de la paraffine et des sections de 4 à 5 µm sont réalisées. Une coloration classique à l'hématoxyline et à l'éosine permet de visualiser les lésions éventuellement présentes, à un grossissement

de x 200 (**BARR et al., 1990**). Le cerveau et le muscle cardiaque sont les prélèvements de choix pour rechercher le parasite chez le fœtus et le veau.

N. caninum peut être à l'origine, chez le fœtus, d'une encéphalomyélite non suppurative, multifocale, avec infiltrat cellulaire, prolifération gliale et occasionnellement, des calcifications. L'observation d'un foyer central de nécrose entouré par des cellules inflammatoires gliales ou mononuclées serait très évocatrice d'encéphalite à *N. caninum* (**DUBEY, 1999b**). Cette méthode possède l'avantage d'être facile à mettre en œuvre dans les laboratoires, d'être peu coûteuse et de permettre la visualisation directe des parasites.

Les tachyzoïtes généralement difficiles à voir sur des coupes ordinaires car ils sont souvent morts, en faible nombre et difficilement identifiables. Les kystes tissulaires ne sont que très rarement observés par cette technique (**DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998b**).

Par conséquent, l'histologie n'autorise pas un diagnostic de certitude en ce qui concerne la néosporose, mais elle permet d'établir une suspicion qui pourra être confirmée ou infirmée par l'immunohistochimie. Cependant, certains travaux considèrent l'histologie comme une méthode de référence (**LINDSAY et DUBEY, 1989a**).

III.7.2.1.3. Immunohistochimie

L'immunohistochimie est un examen complémentaire de l'histologie, qui permet généralement un diagnostic de certitude de l'infection par *N. caninum*. Cette méthode de diagnostic reposant sur la détection d'antigènes dans les tissus au moyen d'anticorps couplés à un fluorochrome (immunofluorescence directe) ou à une enzyme (méthodes immunoenzymatiques) (**KAMGA WALADJO, 2008**). Cette technique est utilisée sur des coupes de cerveau, de cœur et de foie (**WOUDA et al., 1997a**).

La plupart des anticorps disponibles sont polyclonaux et obtenus par immunisation d'animaux par des tachyzoïtes (**GONZALEZ, 1999 ; BARR, 1991**). Ainsi, de faibles réactions croisées ont été observées avec *Toxoplasma gondii* (**BARR, 1991**). En revanche, aucune réaction croisée n'a été observée avec *Sarcocystis cruzi* (**GONZALEZ, 1999**).

Pour pallier cet inconvénient, des anticorps monoclonaux ont été mis au point. Ces anticorps monoclonaux ont été utilisés pour l'identification de *N. caninum* dans des coupes de cerveau de souris (COLE, 1993) et le tissu cutané de chien (PEREIRA-BUENO, 2003). Bien que l'immunohistochimie ait toujours été considérée comme la méthode de référence dans le diagnostic de la néosporose, l'immunomarquage manque de sensibilité (RAMZI, 2007). Ainsi, la génétique moléculaire a rapidement été développée pour l'identification de *N. caninum*.

III.7.2.1.4. Outil de génétique moléculaire

Les techniques de génétique moléculaire développées à des fins diagnostiques en routine consistent essentiellement en une amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR) de l'ADN parasitaire, à partir d'amorces nucléotidiques, et grâce à l'action d'une enzyme : la Taq polymérase.

Les brins d'ADN sont préalablement extraits mécaniquement et chimiquement des tissus fœtaux et dénaturés par traitement thermique. Plusieurs cycles de type dénaturation – amplification sont effectués et les produits sont détectés par électrophorèse.

La sensibilité et la spécificité de la technique sont alors un atout en raison de la mise en évidence d'une réaction positive avec peu de tachyzoïtes dans du sang total / liquide amniotique (HO, 1996), sérum (MCINNES, 2006) ou dans le cerveau (ZHANG, 2007).

Par ailleurs, les techniques quantitatives (technique d'amplification en temps réel) ont l'intérêt de mettre en évidence, la quantité d'ADN amplifiée et d'estimer la quantité de parasite présent dans l'échantillon (MÜLLER, 2002).

III.7.2.1.5. Isolement sur culture cellulaire et inoculation

La technique de culture cellulaire est en général utilisée lors d'expérimentations, dans le cadre de la recherche sur *N. caninum*, et non dans la pratique diagnostique courante (MARQUER et CHERMETTE, 2000).

N. caninum a été initialement cultivée *in vitro* sur des cellules endothéliales et monocytes de bovins (**DUBEY et al., 1988b**). Puis, de nombreux autres types cellulaires ont été utilisés (cellules Vero, fibroblastes humains,...). Seuls les tachyzoïtes ont été cultivés et peuvent conserver leurs pouvoir infectieux chez la souris après huit ans de culture cellulaire (**DUBEY et LINDSAY, 1996**).

L'inoculation se fait à des souris immunodéprimées et les symptômes apparaissent alors chez ces rongeurs. L'inoculation se fait soit par voie sous-cutanée, soit par voie orale, soit par voie intra-péritonéale (**LINDSAY et DUBEY, 1990b**). Toutefois, un minimum de deux mois est nécessaire pour confirmer un résultat (**KAMGA WALADJO, 2008**).

III.7.2.2.Méthodes indirectes

Les méthodes indirectes sont basées sur le résultat de sérologie mettant en évidence des anticorps témoins d'une infection à *N. caninum* dans le sérum, le plasma, le lait maternel et les eaux fœtales. Plusieurs types de tests sérologiques ont été développés notamment l'immunofluorescence indirecte (IFI), les méthodes immunoenzymatiques (ELISA), la réaction d'agglutination directe et le western blot. Les Avantages et les inconvénients de ces différentes techniques sont présentés dans l'**annexe 4**.

III.7.2.2.1. Indirect fluorescent antibody test (IFAT)

Immunofluorescence indirecte (IFI) ou indirect fluorescent antibody test (IFAT) sur lame a été la première technique utilisée pour mettre en évidence les anticorps anti-*N.caninum* chez le chien (**LINDSAY et al., 1999a**), puis le test a été développé chez de nombreuses autres espèces : le renard, le chat, les bovins, les ovins, les caprins, les chevaux, les rongeurs et les singes (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**). L'IFI reste le test de référence de part sa sensibilité et sa spécificité. Par ailleurs, elle facilite l'étude de l'efficacité des autres tests disponibles (**KAMGA WALADJO, 2008**).

La méthode consiste à mettre en contact, des tachyzoïtes de culture fixés sur des lames avec le sérum à tester à différentes dilutions ; puis, après rinçage, à révéler les éventuels anticorps spécifiques fixés sur les antigènes du parasite, avec des anticorps de

l'espèce d'origine marqués à la fluorescéine. Les lames sont ensuite lues au microscope à fluorescence (**Figure17**).

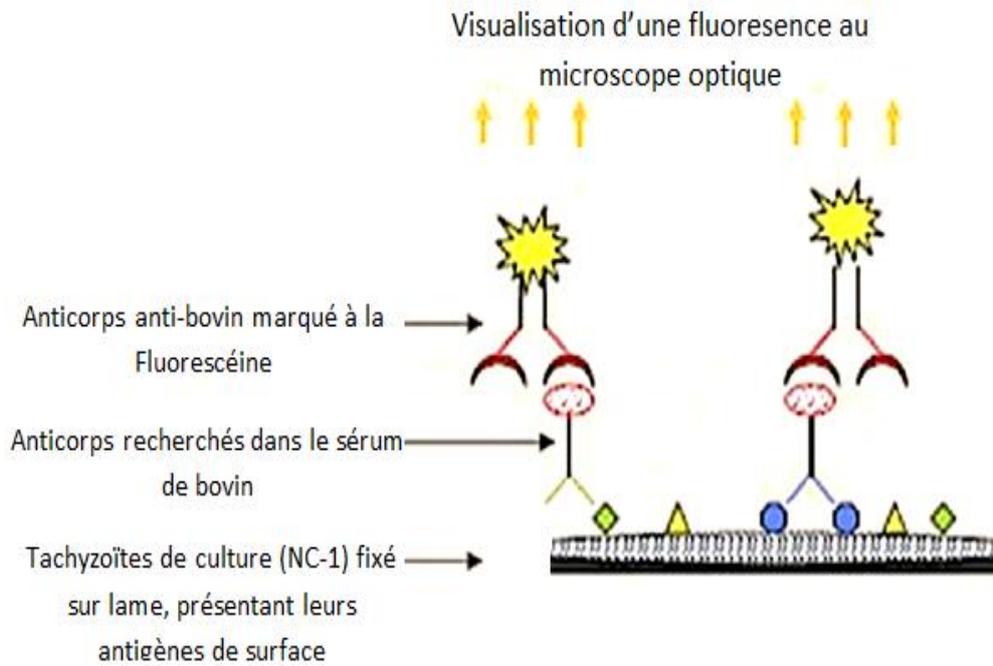


Figure 17 : Principe de la technique de détection des anticorps anti-*N. caninum* par immunofluorescence indirecte (**PACKHAM, 1998**)

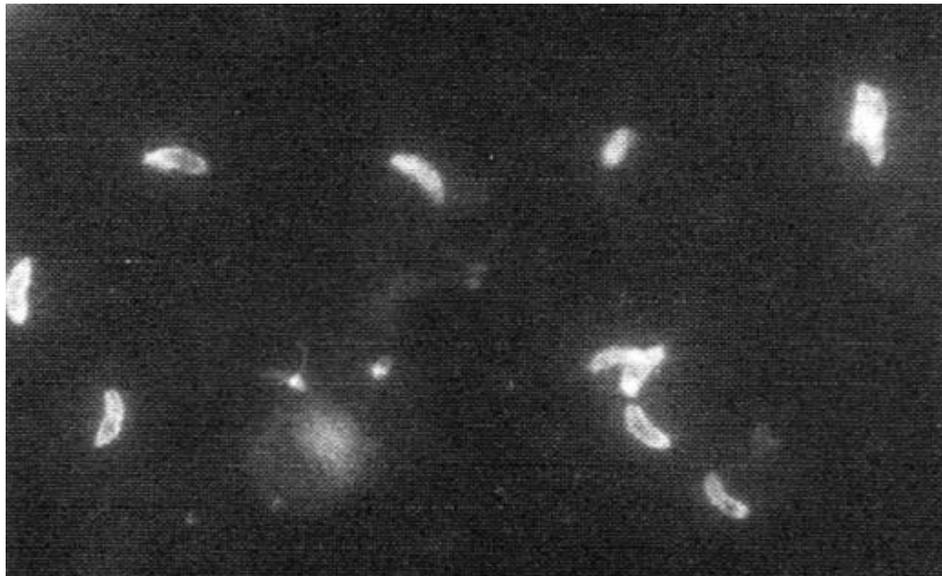


Figure 18 : Immunofluorescence indirecte des tachyzoïtes de *N. caninum* d'un sérum de bovin positif (**REICHEL et DRAKE, 1996**)

Une lame est considérée comme positive lorsque les tachyzoïtes présentent une fluorescence périphérique (**Figure 18**). Ce test a été développé pour différentes espèces, en particulier chez l'espèce bovine à partir de la souche de culture BPA-1 (**DUBEY et LINDSAY, 1996**).

Les tachyzoïtes étant entiers, le test ne détecte que des anticorps dirigés contre des antigènes de surfaces, plus spécifiques que les composants intracellulaires chez les espèces du groupe des Apicomplexa (**PACKHAM, 1998**).

Cependant l'infection expérimentale de différents hôtes a montré qu'il existait parfois une faible réaction croisée avec d'autres coccidies, en particulier avec *Toxoplasma gondii* (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Dans ce cas, seule une fluorescence apicale non spécifique est observée (**PARÉ et al., 1995**). Ainsi, l'interprétation appropriée du test repose sur la différenciation de la fluorescence apicale et de la fluorescence du parasite entier.

III.7.2.2.2. Séro-Agglutination directe ou direct agglutination test DAT

Le test utilisé pour la détection d'antigènes de *N. caninum* découle de la technique d'agglutination directe validée pour *Toxoplasma gondii* (**DESMONTS et REMINGTON, 1980**). Le principe de ce test repose sur le fait qu'une agglutination est observée lorsque des antigènes spécifiques des tachyzoïtes traités au formol sont mis en contact avec des anticorps spécifiques.

La méthode d'agglutination directe a été adaptée pour *N. caninum* avec l'isolat canin Nc-1 (souche de *N. caninum* isolée chez les carnivores et conservée en culture) (**ROMAND et al., 1998**) et avec l'isolat bovin BPA-1 (souche de *N. caninum* isolée chez les bovins et conservée en culture) (**PACKHAM et al., 1998**). Il n'a pas été rapporté de différence antigénique entre les souches d'origine bovine et canine (**HEMPHILL, 1999**).

Les sérums testés sont traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) pour détruire les IgM. A la différence du test d'agglutination utilisé pour le diagnostic de la toxoplasmose dans lequel un taux d'IgM est calculé en comparant le sérum non traité au sérum traité au 2-ME, le test de séro-agglutination mis au point pour le diagnostic de la néosporose

détecte les immunoglobulines (IgG), signes d'une conversion sérologique ancienne (**KAMGA WALADJO, 2008**).

La comparaison de la méthode d'agglutination directe à celle de l'immunofluorescence indirecte a montré que la sensibilité et la spécificité des tests sont comparables (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**). Toutefois, une moindre sensibilité a été décrite dans une étude de séroprévalence canine utilisant les deux techniques (**ORTUNO et al., 2002**).

Le DAT est considéré comme spécifique de *N. caninum* car aucune réaction croisée n'a été trouvée avec les parasites proches, tels que *Toxoplasma gondii*, *Hammondia spp.* et *Sarcocystis spp.* (**PACKHAM et al, 1998 ; ROMAND et al., 1998**).

III.7.2.2.3. Méthodes immunoenzymatiques ou ELISA

Le principe de la technique ELISA est de mettre en incubation des antigènes de *N. caninum* avec les anticorps sériques de l'animal à tester. Ensuite, un conjugué, spécifique de l'anticorps couplé à une enzyme, ainsi que son substrat, sont ajoutés successivement (des lavages successifs sont réalisés après l'ajout de chaque composé) (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

La lecture se fait par l'observation d'un changement de coloration suite à une réaction enzymatique. La réaction enzymatique est parfois stoppée et la lecture du résultat se fait par mesure de la densité optique au spectrophotomètre. Le résultat est directement donné par un analyseur (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

Deux types d'ELISA ont été développés pour la détection des anticorps anti-*N. caninum*. Il s'agit d'un ELISA «indirect» et d'un ELISA «compétitif» :

- **l'ELISA «indirect»** en microplaque, des antigènes sont fixés au fond des puits. Le sérum de l'animal à tester est déposé dans un puit puis, la réaction antigène-anticorps est révélée à l'aide d'un conjugué (anti-immunoglobuline de l'espèce à tester liée à une enzyme révélée à l'aide d'un substrat chromogène).

Les antigènes bruts du parasite ainsi que des mélanges d'antigènes intracellulaires et de surface peuvent être utilisés. Cependant, il semble que la

présence d'antigènes internes augmente le risque de réaction croisée avec d'autres Apicomplexas, et que l'utilisation d'antigènes de surface seuls améliorerait la spécificité (*HULDT, 1981*).

Afin de limiter l'exposition des antigènes internes, plusieurs stratégies ont été développées. Il s'agit de la fixation de tachyzoïtes entiers (*WILLIAMS et al., 1997*), de l'incorporation des antigènes membranaires de *N. caninum* dans des iscoms (immunostimulatory complex) (*BJÖRKMAN et LUNDEN, 1998*), de l'utilisation d'antigènes recombinants (*LALLY et al., 1996*) et de la purification suivie de l'enrichissement de la préparation antigénique par capture de l'antigène par un anticorps monoclonal (*DUBEY et al., 1997*). Par ailleurs, la spécificité du test peut être accrue par substitution du conjugué polyclonal par des anticorps monoclonaux (*WILLIAMS et al., 1997*).

- **l'ELISA compétitif**, son principe repose sur la compétition entre la fixation des anticorps éventuellement présents dans le sérum et un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de l'antigène fixé dans le puits. Cet anticorps monoclonal peut être couplé à une enzyme, ou alternativement, il peut être reconnu par un conjugué anti-immunoglobuline de l'espèce productrice (le plus souvent la souris). Ces techniques s'avèrent plus spécifiques que les ELISA indirects (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999*).

III.7.2.2.4. Western blot

Cette technique consiste à faire migrer des antigènes par électrophorèse sur gel de polyacrylamide puis de les transférer (électro transfert) sur une membrane de nitrocellulose. Après avoir inhibé les sites de liaison non spécifiques, les membranes sont incubées dans le milieu pour lequel d'éventuels anticorps sont recherchés. La liaison antigène-anticorps est ensuite révélée par un conjugué (anticorps couplé à une enzyme) et un substrat de révélation.

Cette technique est très fiable, permet de détecter des anticorps mais aussi de caractériser des antigènes inconnus avec des anticorps connus (*KAMGA WALADJO, 2008*). Cependant la lourdeur de sa mise en place rend son utilisation difficile en

routine. Ainsi, de part sa spécificité et sa sensibilité, le western blot pourrait être utilisé comme outil de diagnostic complémentaire pour le sérodiagnostic des infections à *N. caninum* (STAUBLI, 2006).

Le western blot est plus sensible que les méthodes immunofluorescences et immunoenzymatiques lors de la recherche des anticorps anti-*N. caninum* dans les eaux foetaux (SÖNDGEN, 2001) et dans du lait (SOTIRAKI, 2008).

III.7.2.3. Interprétation des résultats de sérologie

Chez les animaux vivants, seuls les diagnostics sérologiques peuvent être effectués. Le problème est donc de savoir comment les utiliser pour avoir un maximum de certitude quant au diagnostic.

Un résultat sérologique est pratique et fort intéressant sur un animal ayant avorté mais plusieurs auteurs s'accordent pour dire qu'une unique sérologie positive ne signifie que peu de chose : l'animal est porteur du parasite mais ce n'est pas forcément lui ou lui seul, qui est à l'origine de l'avortement (ANDERSON *et al.*, 1994 ; DUBEY *et al.*, 1997 ; ANDERSON *et al.*, 2000 ; MCALLISTER *et al.*, 2000).

D'autre part, on peut observer parfois des phases de masquage des anticorps notamment en péripartum. Ainsi, lorsqu'on fait une enquête épidémiologique dans un cadre d'avortement, il faut effectuer deux prélèvements à 21 jours d'intervalle minimum pour mettre en évidence une séroconversion éventuelle (DUBEY *et LINDSAY*, 1996 ; STENLUND *et al.*, 1999 ; MC ALLISTER *et al.*, 2000).

Dans les élevages atteints de néosporose, on ne connaît pas de façon certaine s'il y a une relation entre forte prévalence de l'infection et fort taux d'avortement. Toutefois, les animaux séropositifs ont en moyenne 3 à 5 fois plus de risque d'avorter que des animaux indemnes (PARÉ *et al.*, 1997 ; WOUDA *et al.*, 1999).

Chez le fœtus, les méthodes de diagnostic directes sont à privilégier, les résultats donnés par la sérologie ayant un niveau de certitude trop faible (WOUDA *et al.*, 1997b).

En pratique, un diagnostic de certitude ne devrait être posé que lorsque des lésions correspondant à une atteinte par un parasite de type protozoaire sont visibles à l'examen histologique et que, *N. caninum* est reconnue par immunohistochimie ou par PCR. Dans ce cas, une sérologie dans une même ferme peut être considérée comme diagnostic, qu'elle soit faite sur un fœtus ou sur une vache (**OTTER et al., 1997**).

La sérologie prend tout son intérêt lorsqu'on se place dans un contexte épidémiologique. Elle est très utile pour mener à bien des études de séroprévalence. Dans ce cas les résultats auront une bonne précision si on interprète à l'échelle du troupeau (**PARE et al., 1998**).

Une seule sérologie ne signifie rien sur un animal ayant avorté (cf. supra). Lorsqu'on dispose des pièces de l'avortement, on doit effectuer en même temps un diagnostic direct soit sur l'avorton, soit sur le placenta. Le placenta contient beaucoup moins de tachyzoïtes que l'avorton : la valeur de ce premier échantillon est donc moins bonne (**BERGERON et al., 2001**).

D'autre part, le contexte épidémiologique que constituent les circonstances de l'avortement, et le nombre de ceux-ci sont autant d'indices qui font plus ou moins suspecter la néosporose. Ainsi le nombre d'avortements dans l'élevage, son statut sanitaire vis-à-vis des maladies infectieuses, les signes cliniques associés à l'avortement, l'âge des avortons doivent être recueillis pour mieux préciser le contexte de l'avortement (**PAYOT, 2002**).

De nombreux laboratoires de diagnostic qui ont fait entrer la néosporose dans le diagnostic différentiel des avortements tiennent compte de ces difficultés d'interprétation. Ainsi, en France, dans de nombreux laboratoires départementaux et GDS (Groupement de Défense Sanitaire), on suspecte fortement la responsabilité de *N. caninum* (sérologie positive) lorsque les recherches des autres agents d'avortement sont négatives (**BERGER 1999 ; MOREAU, 2000**). Cependant, *N. caninum* semble pouvoir induire l'avortement en coopération avec d'autres pathogènes tels que le virus BVD (**BJÖRKMAN et al., 2000**).

III.8. Pronostic

Le pronostic est toujours grave dans la mesure où la lutte est difficile et les résultats aléatoires. Par ailleurs, du fait de l'absence de traitement spécifique multi-espèce, la néosporose est responsable :

- d'avortements ;
- de mortalités néonatales ;
- de la baisse des performances de reproduction des animaux (allongement de l'intervalle entre naissances, augmentation du nombre d'insémination pour une gestation, retard de la mise à la reproduction des animaux)
- de la baisse de la production laitière ;
- du retard de croissance et la baisse de la valeur marchande des animaux.
- de la réforme anticipée des animaux.

III.9. Lutte contre la néosporose

En cas de diagnostic de néosporose, le traitement peut être envisagé et au sein du troupeau, des mesures pourraient être envisagées pour éliminer la circulation du parasite.

III.9.1. Traitement de la néosporose

À ce jour, il n'existe aucun traitement systématiquement efficace contre la néosporose (**PITEL et al., 2010**). L'approche thérapeutique a été calquée sur celle de la toxoplasmose. L'efficacité des molécules a été prouvée sur des tachyzoïtes *in vitro* (**LINDSAY et al., 1996b**) , puis des études *in vivo* ont porté sur des modèles de souris, de chiens et de bovins.

III.9.1.1. *In vitro*

La plupart des molécules n'ont actuellement été testées qu'*in vitro* (**LINDSAY et al., 1994; KIM et al., 2002 ; GUPTA et al., 2002**) dont la triméthoprime, la pyriméthamine, le décoquinate, le lasalocid/monensin, le nitazoxanide, le toltraruril, le ponazuril et certains thiazolidés (**DARIUS et al., 2004 ; ESPOSITO et al., 2005**)

Une molécule active contre la coccidiose aviaire, le décoquinate, n'agirait que sur les parasites intracellulaires et non sur les formes extracellulaires (**LINDSAY et al. 1997**). Un anticoccidien, dérivé de la pharmacopée végétale traditionnelle chinoise, l'artémisine, entraîne une complète élimination du parasite *in vitro* à la concentration de 10 à 20 µg/ml (**KIM et al., 2002**). Des extraits alcooliques d'herbes médicinales asiatiques, autrefois utilisées comme anti parasitaires en médecine humaine, ont aussi montré une activité *in vitro* contre *N. caninum* (**YOUN et al. 2003 ; 2004**). La dépuéricine (0,5 mg/ml) posséderait aussi des propriétés anti-Neospora *in vitro* (**KWON et al., 2003**).

III.9.1.2. *In vivo*

III.9.1.2.1. Souris

Ces dernières années, des résultats encourageants ont été obtenus chez la souris avec le toltrazuril (**GOTTSTEIN et al., 2005; STROHBUSCH et al., 2009**). Le toltrazuril, le ponazuril, la sulfadiazine et l'amprolium ont inhibé la formation des lésions cérébrales chez des souris infectées par *N. caninum* (**AMMANN et al., 2004 ; GOTTSTEIN et al., 2005**)

III.9.1.2.2. Chien

Les sulfamides, la pyriméthamine, le toltrazuril et la clindamycine ont été prescrits à des chiens infectés par *N. caninum* présentant ou non des signes cliniques (**DUBEY et al., 2007**).

Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable. Il dépend de la rapidité d'apparition des signes cliniques et du délai séparant l'apparition des signes cliniques et le début du traitement spécifique.

III.9.1.2.3. Bovins

Le décoquinate, le toltrazuril, la Sulfadiazine-Triméthoprimine ont été testés chez des bovins. Le décoquinate est un anticoccidien non antibiotique actif dès le premier

stade de l'infestation par les coccidies. Il est prescrit pour la prévention des coccidioses chez le veau (0,5mg/kg) et chez l'agneau (1mg/kg) (**KAMGA WALADJO, 2008**).

Chez la vache, le décoquinate utilisé à la dose de 1 à 2 mg/kg pendant 2 mois à partir du 4^{ème} mois de gestation, il réduit la transmission placentaire ainsi que le taux d'avortement à *N. caninum* (**JOURNEL et al., 2000 ; JOURNEL et PITEL, 2001 ; BARICCO et al., 2002**). Il est prescrit pour la prévention des avortements chez la génisse et chez la vache allaitante. Le temps d'attente est nul pour la viande et les abats. Néanmoins, du fait de l'absence d'un dossier sur les résidus dans le lait, il n'est pas recommandé chez la vache laitière.

Le toltrazuril - sulfone, actif contre *Toxoplasma*, *Sarcocystis* et *Theileria*, a traité (20mg/kg pendant 6 jours à partir du lendemain de l'infection) des veaux expérimentalement infectés par *N. caninum* (**KRITZNER, 2002**).

Un protocole associant la Sulfadiazine-Triméthoprime (20mg/kg) au Toltrazuril (20mg/kg) a considérablement réduit le taux d'animaux séropositifs (de 68% avant traitement à 0% après traitement) et le taux d'avortement (de 188 avortements avant le traitement à 9 avortements un an après le traitement) dans des élevages fortement infectés (**CUTERI, 2005**).

La thérapie proposée blanchit les animaux, réduit la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements dans le cheptel. En effet, ces molécules sont actives sur les tachyzoïtes circulants et n'ont aucun effet sur les bradyzoïtes enkystés dans les tissus des hôtes de *N. caninum* (**DUBEY et al., 2007**).

Le traitement de la néosporose est un coût supplémentaire en conduite d'élevage. C'est pourquoi, il convient de prévenir la survenue de la néosporose en détruisant le parasite partout où il se trouve.

III.9.2. Prophylaxie

III.9.2.1. Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Le coût du traitement ainsi que la faculté des protozoaires à développer des résistances aux

molécules thérapeutiques ont incité les chercheurs à proposer des protocoles vaccinaux (**DUBEY et al., 2007 ; INNES et al., 2006**).

Un vaccin à base de tachyzoïtes tués (testés avec plusieurs adjuvants) a provoqué une réponse humorale chez les bovins. Ce vaccin possède une parfaite innocuité (**ANDRIANARIVO et al. 1999**), mais ne confère aucune protection contre la transmission verticale aux animaux vaccinés (**ANDRIANARIVO et al. 2000**).

Un vaccin commercial à base de tachyzoïtes tués (Neoguard®, Intervet) a été évalué sur des vaches laitières au Costa Rica (**ROMERO et al., 2005**). Les résultats indiquaient une diminution de moitié d'avortement dans le groupe vacciné (11%) par rapport au groupe contrôle (21%).

Un vaccin recombinant peut être utilisé à base de peptides purifiés. Des peptides issus de l'antigène de surface NcSRS2 semblent induire une réponse de type T cytotoxique et Th1 chez la vache Holstein (**STASKA et al., 2005**).

Quoi qu'il en soit, le vaccin doit contenir des antigènes importants pour la survie du parasite. Ceux-ci incluent des antigènes de surface (NcSAg1, NcSRS2) et des antigènes des trois types d'organelles sécrétoires : les micronèmes, les rhoptries et les granules denses (**GHALMI, 2011a**). Si on considère la complexité de la biologie de *N. caninum*, il est peu probable d'induire une réponse immunitaire protectrice avec un seul antigène (**INNES et al., 2002**).

La vaccination n'est donc encore qu'à l'état d'expérimentation et la fabrication d'un vaccin efficace et d'utilisation sécurisée nécessite, à l'heure actuelle, des recherches plus approfondies, notamment dans la connaissance antigénique concernant *N. caninum*.

III.9.2.2. Prophylaxie Sanitaire

Le manque de connaissances actuelles et l'absence de vaccin ou de molécules préventives contre *N. caninum*, rend le seul moyen d'éviter ou d'éliminer la maladie est la mise en place de mesures sanitaires. Ces mesures se décomposent en mesures défensives et offensives. Elles sont en général fondées sur la connaissance des cycles parasitaires et des données épidémiologiques.

III.9.2.2.1. Mesures défensives

Les mesures défensives visent à éviter l'infection d'un cheptel. Elle consiste en la prévention de la transmission horizontale dans un troupeau. Des mesures simples et peu onéreuses ont été proposées. Il s'agit :

- de limiter l'accès des chiens et de tout autre animal aux aires de stockages et de distribution des aliments (*ANDERSON et al., 2000 ; DUBEY et al., 2007*)
- de lutter contre les rongeurs et d'éviter la présence d'oiseaux sauvages dans les locaux d'élevage et de stockage des aliments (*DIJKSTRA, 2002a; DIJKSTRA, 2002b; DUBEY et al., 2007*)
- de distribuer de l'aliment sans moisissure au troupeau ;
- d'éviter l'abreuvement des animaux dans les cours d'eaux (*OULD-AMROUCHE, 1999*)
- d'introduire des animaux en bonne santé après une quarantaine dans un cheptel (*PITEL, 2010*).

Ces mesures s'avèrent efficaces. Néanmoins, la présence des oocystes sporulés de *N. caninum* dans le sol, l'aliment et l'eau de boisson rendent cette approche difficile.

III.9.2.2.2. Mesures offensives

Les mesures offensives consistent à éliminer l'agent infectieux d'un troupeau ou les animaux qui en sont porteurs. Sa mise en œuvre doit tenir compte du mode de contamination du cheptel.

a. Prévention de la transmission horizontale

Elle consiste à lutter contre l'infection d'un animal sain dans un troupeau infecté ou d'éviter la réinfection d'un troupeau et l'éleveur devrait :

- limiter l'accès de tout autre animal sur la litière, les aires de stockages et de distribution des aliments (*ANDERSON, 2000*);
- détruire les avortons, le placenta ainsi que la litière contaminée (*WOUDA, 2000*);
- éviter l'ingestion d'avortons et du placenta par l'hôte définitif .

Des données épidémiologiques indiquent un risque accru d'infection par *Neospora caninum* après introduction d'un nouveau chien où après la naissance d'une portée (**DIJKSTRA, 2000 ; DIJKSTRA, 2001**). Ainsi, la présence de chiens dans une exploitation, demeure un facteur de risque d'infection des bovins par *N. caninum*

b.Prévention de la transmission verticale

La transmission verticale est la principale cause de la persistance de l'infection dans des troupeaux (**DAVISON, 1999a ; HEMPHILL, 2000**). La mesure de lutte consisterait à la réforme de tous les animaux infectés. C'est la mesure la plus directe puisque la transmission congénitale est très fréquente et se poursuit, a priori, durant toute la carrière de la vache. Pour des raisons financières et génétiques, elle semble peu adaptée aux élevages où une forte séroprévalence est observée (**WOUDA, 2000**). Ainsi, il est judicieux de ne pas garder les veaux congénitalement infectés pour le renouvellement du troupeau dans ces élevages (**WOUDA, 2000**).

Une possibilité intermédiaire est l'utilisation d'animaux laitiers séropositifs comme femelles reproductrices en filière de production de veau par croisement avec des taureaux de races allaitantes. La pérennisation de l'infection dans le cheptel est ainsi limitée. Cette stratégie a contribué à la valorisation des femelles séropositives de haut potentiel génétique.

Il existe aussi une voie intéressante, qui permet au vétérinaire praticien de valoriser son conseil et son acte : la transplantation embryonnaire. L'objectif est de transplanter des embryons de donneuses séropositives chez des receveuses séronégatives (**BAILLARGEON et al., 2001 ; BIELANSKI et al., 2002 ; LANDMANN et al., 2002**). On obtient ainsi des produits séronégatifs. Dans ces conditions de bonnes pratiques, le lavage des embryons et l'intégrité de la zone pellucide sont primordiales (**BIELANSKI et al., 2002**).

La transplantation embryonnaire représente un surcoût pour l'éleveur, mais elle lui permet de préserver la qualité génétique de son cheptel en produisant des animaux de renouvellement séronégatifs. La seule limite, est le risque d'une nouvelle contamination du cheptel (les receveuses devant demeurer séronégatives) et le risque

de contamination des produits obtenus entre leur naissance et leur mise à la reproduction ou leur commercialisation (**PITEL, 2010**).

Un résumé des mesures envisageables est proposé (**Annexe 5**) :

- Réalisation de sérologies sur tous les animaux d'un troupeau atteint.
- Réalisation de généalogies de chaque lignée (= identification des couples mères - filles) à l'aide des documents de l'élevage. Ceci prend du temps et nécessite de se rendre chez l'éleveur.
- Corrélation des deux sources d'informations. Ceci permet d'identifier si les animaux séropositifs appartiennent à une ou quelques lignées seulement (=transmission verticale principalement) ou s'ils apparaissent « au hasard » dans plusieurs lignées et si, une classe d'âge en particulier semble plus touchée (=transmission horizontale principalement)
- Proposition un plan de lutte adapté au mode de transmission supposé



Partie

Expérimentale



Matériels et

Méthodes

I. Objectifs et stratégies

La néosporose connue pour être la cause majeure d'avortement chez les bovins dans de nombreux pays à travers le monde y compris en Algérie. Ces avortements constituent un réel problème économique pour les éleveurs.

Dans des travaux antérieurs, **GHALMI et al (2011b)** ont montré que la présence de bovins séropositifs dans la ferme était un facteur de risque d'avortement chez la vache en Algérie. Cependant, chez la vache de race locale, les avortements et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* ne se sont pas montrés associés statistiquement, bien que ce soit la population bovine qui s'est révélée la plus prévalence pour ce parasite. Ils ont émis l'hypothèse d'une résistance naturelle de la race bovine locale non pas à l'infection par *N. caninum* mais à son effet abortif.

Cette étude est une continuité du projet de recherche du **DR GHALMI et collaborateurs** qui a pour objectif principal d'étudier l'hypothèse d'une éventuelle résistance de la vache locale infectée par *N. caninum* aux avortements à travers :

- En premier lieu, une étude de la séroprévalence en vue de mettre en évidence une exposition antérieure de la vache gestante locale à *N. caninum*, dans la région d'étude.
- Ensuite sur la base des résultats obtenus, deux groupes d'animaux ont été définis : un groupe séropositif et un groupe séronégatif à *N. caninum*. Le but était de réaliser une étude longitudinale permettant le suivi du statut sérologique vis-à-vis de *N. caninum* et de contrôler les avortements s'ils surviennent. Les vaches des deux groupes ont reçu un traitement de synchronisation et d'induction des chaleurs et ont été suivies durant toute la gestation.

II. Matériel et méthodes

II.1. Étude séroépidémiologique de l'infection à *Neospora caninum* chez la vache gestante de race locale

II.1.1. Description de la région d'étude et stratégie d'échantillonnage

Notre étude a été menée sur des vaches des fermes privées appartenant aux Daïra d'El Milia, d'El Ancer et de Settara faisant partie de la wilaya de Jijel, située à 390 km à l'Est d'Alger (**Figure 40**). Dans cette région l'élevage bovin est dominé par la race locale qui représente un effectif de 34288 vaches (*DSV, 2012*). Il s'agit de la wilaya du pays qui héberge l'effectif le plus important en bovin local. L'élevage bovin dans ces fermes est de type extensif, sur des pâturages naturels. En hiver, et en raison des conditions climatiques rigoureuses, dans certaines fermes une supplémentation de son gros et de paille est effectuée ; l'eau est disposée à volonté.

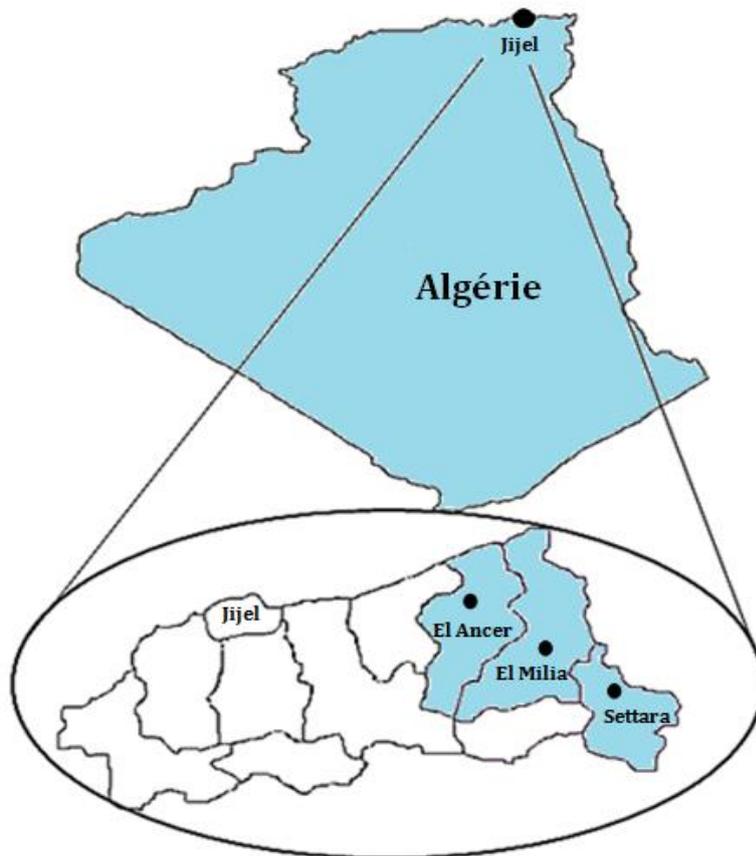


Figure 19 : Localisation des régions sélectionnées pour les prélèvements (*ILLUSTARTION PERSONNELLE, 2014*)

Un questionnaire épidémiologique a été adressé à l'éleveur afin de relever si des épisodes d'avortement ont été observés ou jamais. Ce questionnaire nous a permis aussi de relever d'autres renseignements en rapport avec chaque individu prélevé (**Annexe 6**).

Soixante fermes ont fait l'objet de prélèvements sanguins. Le nombre de vaches prélevées était de 179. Parmi ceux-ci, 33 étaient des génisses et 146 vaches. L'échantillonnage réalisé a été d'environ 0,5 % pour les vaches (n=34288) et d'environ 1% pour les fermes (**DSA, 2012**). Il est à souligner que pour nos prélèvements, nous nous sommes intéressés qu'aux vaches gestantes (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Nombre de vaches et fermes prélevées

Région	Nombre de vaches prélevées (%)	Nombre de fermes prélevées (%)
El Milia	68 (37,98)	20 (33,33)
El Ancer	56 (31,28)	13(21,67)
Settara	55 (30,72)	27(45,00)
Total	179	60

II.1.2. Collecte des prélèvements et conservation

Des prélèvements ont été réalisés de février à avril 2013. De l'ensemble des individus présents dans les fermes visitées, toutes les vaches gestantes et de population locale étaient prélevées. Après la contention des animaux, nous avons ponctionné à chaque fois à partir de la veine jugulaire ; 5ml de sang complet ont été récupérés dans des tubes secs (système vacutainer sous vide ref : 42912). Après chaque prise de sang, les vaches étaient identifiées par une boucle d'oreille numérotée. Le sérum a été isolé par centrifugation à 4000 g pendant 10 mn. Le sérum obtenu a été conservé à -20°C jusqu'à analyse.



Figure 20 : Identification d'un prélèvement sanguin (*PHOTO PERSONNELLE, 2013*)

II.1.3. Analyse sérologique

Les analyses sérologiques des 179 sérums collectés ont eu lieu à l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'El Harrach (INMV).

Il s'agit d'un ELISA de compétition basé sur l'utilisation de la protéine SRS2 spécifique de *N. caninum*. Ce test est commercialisé par la firme BioX (Jemelle, Belgique) pour la détection des anticorps anti-*Neospora caninum* dans le sérum (**Figure 21**).

II.1.3.1. Principe

Le principe de ce test consiste à mettre du sérum de l'animal testé avec l'antigène adsorbé au fond du puits, des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre un épitope de l'antigène de *N. caninum* et liés à la peroxydase sont ensuite ajoutés. Si le sérum testé ne contient pas d'anticorps reconnaissant le même épitope que l'anticorps monoclonal, ce dernier se fixe sur l'antigène.

La réaction enzyme-substrat donne des dérivés colorés solubles en fonction de la concentration en anticorps des sérums à tester. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle au titre sérique de l'échantillon.

La détermination de la densité optique (DO) des sérums permet de déduire la spécificité de la réaction. A cet effet, nous avons utilisé le kit Bio-X ELISA *N. caninum*. Ce kit permet de détecter les anticorps de *N. caninum* chez de nombreuses espèces. Par ailleurs, cette technique évite les réactions croisées avec *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis spp*, car elle est très spécifique du fait de l'utilisation d'un anticorps monoclonal spécifique de la protéine SRS2 de *N. caninum*.

II.1.3.2. Matériel

- Plaques ELISA 96 puits à fond plat sensibilisée avec la protéine SRS2,
- Lecteur de plaques ELISA,
- Solution de lavage concentrée 20 fois,
- Tampon de dilution coloré, concentré 5 fois. Cette solution est utilisée pour la dilution des sérums sanguins et du conjugué,
- Conjugué anti-SRS2 (anticorps monoclonal anti-protéine SRS2 de *Neospora caninum* couplé à la peroxydase de raifort) concentré 50 fois,
- Sérum positif et négatif,
- Solution TMB monocomposant,
- Solution d'arrêt contenant de l'acide phosphorique,
- Autre matériels (Micropipettes, Embouts de pipettes, Eau distillé, Microplaques, Bêchers, Flacons de dilution, pissette...),
- Incubateur de 37°C.



Figure 21 : Composition de la trousse ELISA *N. caninum* BIO X (**PHOTO PERSONNELLE, 2013**)

II.1.3.3. Méthode

- Tous les constituants ont été portés à température ambiante (21°C +/- 3°C) avant la réalisation du test.
- Après la disparitions tous les cristaux, La solution de lavage concentrée 20 fois a été diluée dans l'eau distillée (100 ml de solution de lavage est mélangé avec 1900 ml de l'eau distillée).
- La solution de dilution concentrée 5 fois a été diluée dans l'eau distillée (10ml de solution de dilution avec 40 ml de l'eau distillé).
- les sérums ont été dilués au 1/2 dans le tampon de dilution, la même manière pour les sérums de référence.
- La microplaque a été retirée de son emballage. Les échantillons dilués et les sérums de référence (positif et négatif) ont été distribués à raison:
 - 100µl de témoin positif dans la cupule (A1),
 - Ensuite, dans l'autre cupule (B1), 100µl de Témoin Négatif,
 - Enfin, 100µl de sérum à analyser dans les autres cupules à raison d'une cupule par sérum (**Figure 22**).

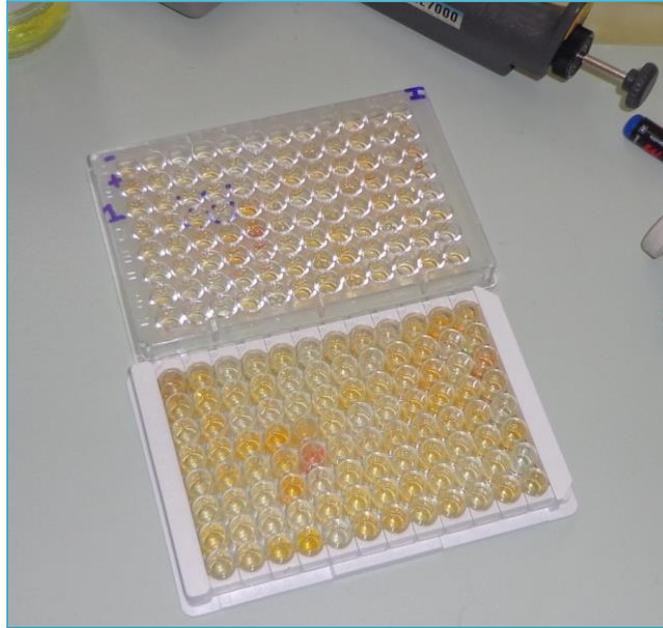


Figure 22 : Sérums sanguins et sérums de référence après dilution et distribution dans la plaque ELISA (**PHOTO PERSONNELLE, 2013**)

- Une fois les échantillons et les contrôles déposés, la plaque a été couverte et incubé pendant deux heures à la température 37°C.
- A la fin de l'incubation, la plaque a été vidée en le retournant brutalement au-dessus d'un évier et lavée trois fois avec la solution de lavage. La plaque a été séchée en la tapant sur du papier absorbant propre de manière à bien éliminer tout le liquide.
- L'analyse continue par la distribution dans chaque cupule 100µl de d'anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase. Ce Conjugué a été au préalable dilué au 1/50 (0,4 ml de conjugué dans 19,6 ml de solution dilution). Ensuite la plaque a été incubée 30 minutes à 37°C avec couvercle.
- Après l'incubation, la plaque a été vidée et lavée 3 fois avec la solution de lavage. Le séchage de la plaque a été fait en tapant sur du papier absorbant.
- Nous avons distribués par la suite dans chaque cupule 100µl de TMB.
- Une fois de plus la plaque a été incubé pendant 30 minutes à la température ambiante (21°C +/-3°C° et l'abri de la lumière, sans couvrir.

Partie Expérimentale

- A la fin de l'incubation, nous avons distribué dans chaque cupule 50µl de Solution d'arrêt. La couleur passe de bleu au jaune (**Figure 23**).
- la plaque a été lue, en utilisant un filtre de 450nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Après la mesure des densités optiques des sérums positifs et négatifs (DO pos et DO nég) ainsi que celles de tous les échantillons (DO échantillons), la validité du test a été vérifiée selon les conditions du fabricant:
 - $DO\text{ nég} - DO\text{ pos} > 0,7$.
 - $\% inh\ positif > 50\%$.
 - $\% inh\ positif = [(DO\text{ nég} - DO\text{ pos}) / DO\text{ nég}] * 100$.
- Le pourcentage d'inhibition (%inh) pour chaque échantillon a été calculé. La formule suivante a été appliquée toujours comme indiqué par le fabricant. Le seuil de positivité a été fixé à 33%.
 - $\% inh\ échantillon = [(DO\text{ nég} - DO\text{ échantillon}) / DO\text{ nég}] * 100$.

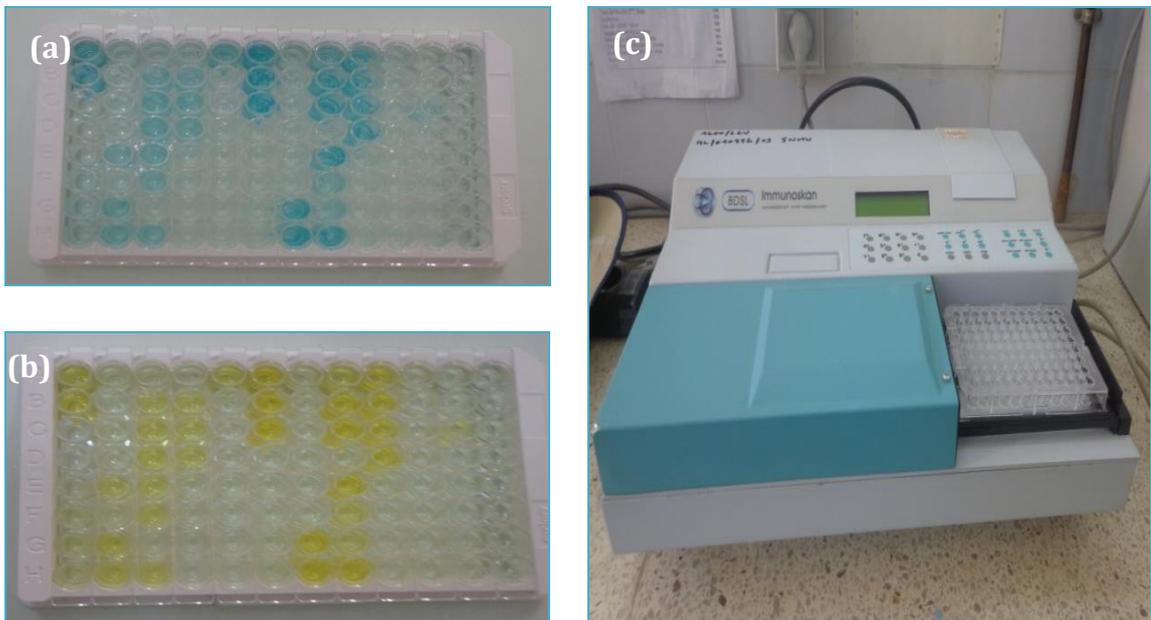


Figure 23 : Plaque ELISA après la distribution de TMB(a) et la solution d'arrêt(b) avec lecteur de plaques à droite (c) (**PHOTOS PERSONNELLES, 2013**)

II.2. Étude longitudinale sur le suivi sérologique vis-à-vis de *Neospora caninum* chez des vaches gestantes

II.2.1. Sélection des groupes d'animaux

Pour cette partie, un effectif global de 33 vaches a été mis à notre disposition dont 15 vaches séropositives et 18 vaches séronégatives. Les caractéristiques de ces vaches sont reprises dans le **Tableau 9**. Elles proviennent toutes de 12 fermes privées situées dans la Daïra d'El Milia, wilaya de Jijel (**Figure 24**).

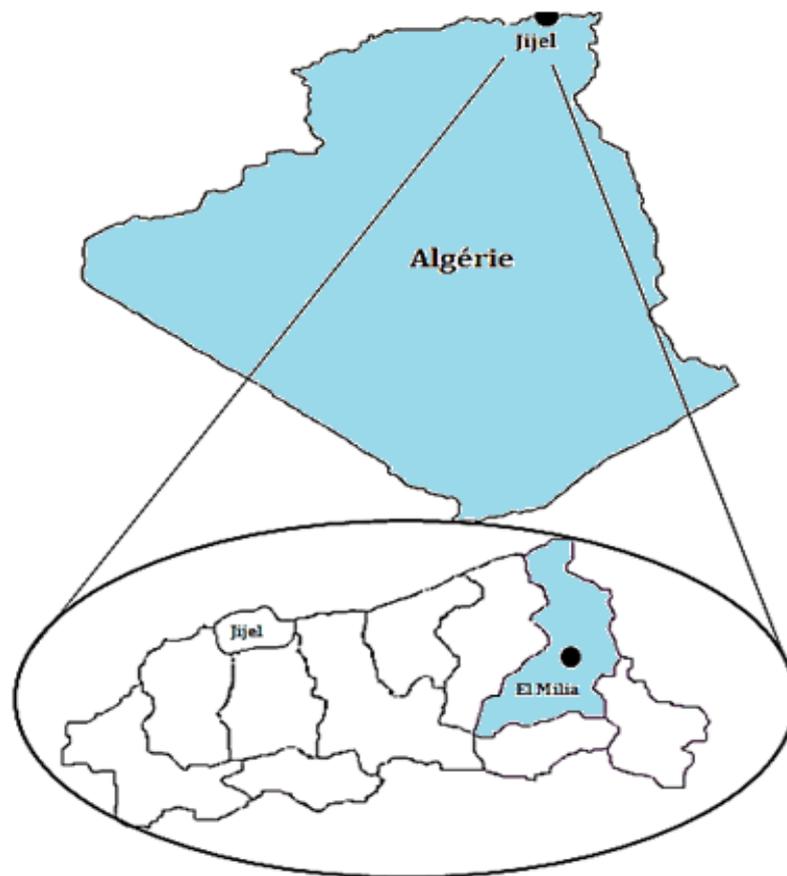


Figure 24 : Situation des fermes sélectionnées pour les prélèvements *(ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014)*

Les 33 vaches sélectionnées (4 nullipares, 5 primipares et 24 multipares) présentaient une moyenne d'âge de $6,61 \pm 2,52$ ans (minimum = 2 et maximum = 12), et une note d'état corporel variant entre 2 et 3. Toutes les vaches de l'étude appartenaient à la population locale (Brune de l'Atlas et ses variétés).

Tableau 9 : Identification et caractéristiques des femelles de l'étude

N°	Âge	Parité	BCS	N°	Âge	Parité	BCS
2635	6	M	2,50	9983	6	M	2,50
1381	5	M	2,00	2638	9	P	2,50
2630	2	N	2,50	1367	4	P	2,50
2637	2	N	2,50	9974	9	M	3,00
2631	10	M	2,50	0940	10	M	3,00
9960	4	P	3,00	2477	9	M	3,00
1382	4	P	2,00	9947	12	M	2,00
1384	6	M	2,00	2933	7	M	3,00
1383	6	M	3,00	1380	5	P	2,50
1371	6	M	2,00	2479	7	M	3,00
9930	8	M	3,00	2639	6	M	3,00
9927	7	M	2,50	9916	8	M	3,00
9992	9	M	2,50	2476	10	M	2,50
9965	7	M	2,50	1369	8	M	2,00
1387	8	M	2,00	2632	2	N	2,00
0935	2	N	2,00	2636	8	M	2,50
0941	6	M	3,00				

N° : Numéro de la vache, *Âge* : ans, *N* : Nullipare, *P* : Primipare, *M* : Multipare

II.2.2. Synchronisation et insémination des vaches

Avant d'entamer les prélèvements sanguins pour le suivi de la réponse sérologique vis-à-vis de *N. caninum* des vaches gestantes, nous avons d'abord procédé à la mise en gestation des vaches sélectionnées pour cette étude à travers l'ensemble des manipulations décrites ci-après.

Afin de choisir le traitement de synchronisation adéquat, et pour identifier la cyclicité des femelles, un examen par palpation rectale des 33 vaches a été réalisé, il a montré que certaines vaches étaient en anœstrus. Par la suite, un traitement de

synchronisation à base d'implant a été appliqué, afin d'induire et de synchroniser les chaleurs chez toutes les vaches. Le traitement de synchronisation a duré 9 jours entre la mise en place de l'implant et son retrait. Parallèlement au retrait de l'implant, l'injection de la PGF2 α et de la PMSG a été administré (**Figure 25**). Toutes les vaches étaient identifiées par des boucles d'oreille numérotées. Les vaches ont été inséminées artificiellement (IA) et systématiquement 56 h après le retrait de l'implant (**Tableau 13**).

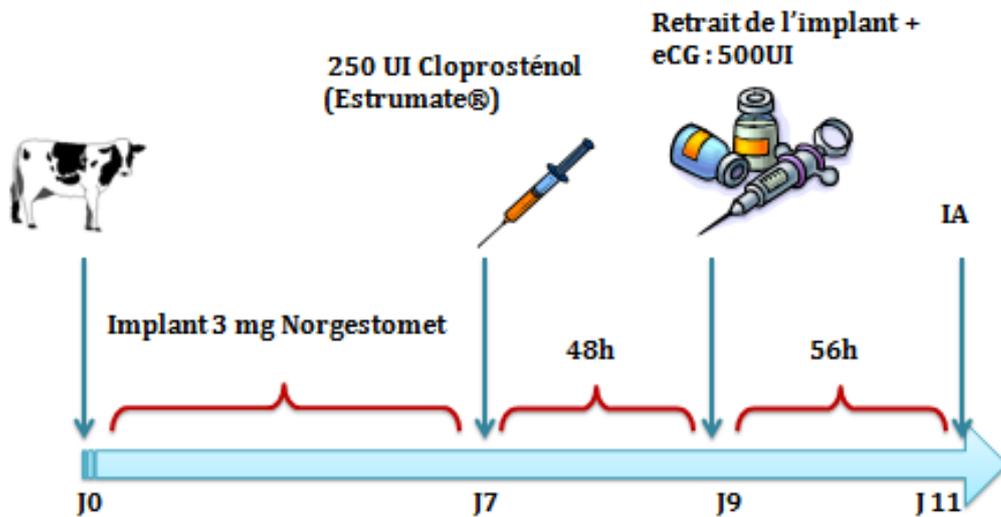


Figure 25 : Protocole de traitement de synchronisation des chaleurs par l'implant (*ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014*)

II.2.3. Prélèvements sanguins

Les prises de sang ont été réalisées chaque 15 jour pendant toute la gestation pour toute les vaches (**Figure 26**).

Après la contention, les prises de sang ont été effectuées à partir de la veine jugulaire avec des tubes secs (système vacutainer sous vide ref : 42912). Les sérums ont été récupérés après une centrifugation de 4000 g pendant 10 min dans des tubes *Eppendorf* marqués et conservés à -20 °C jusqu'à analyse. D'autres prélèvements de sang ont été réalisés sur les veaux à la naissance et avant la prise du colostrum.

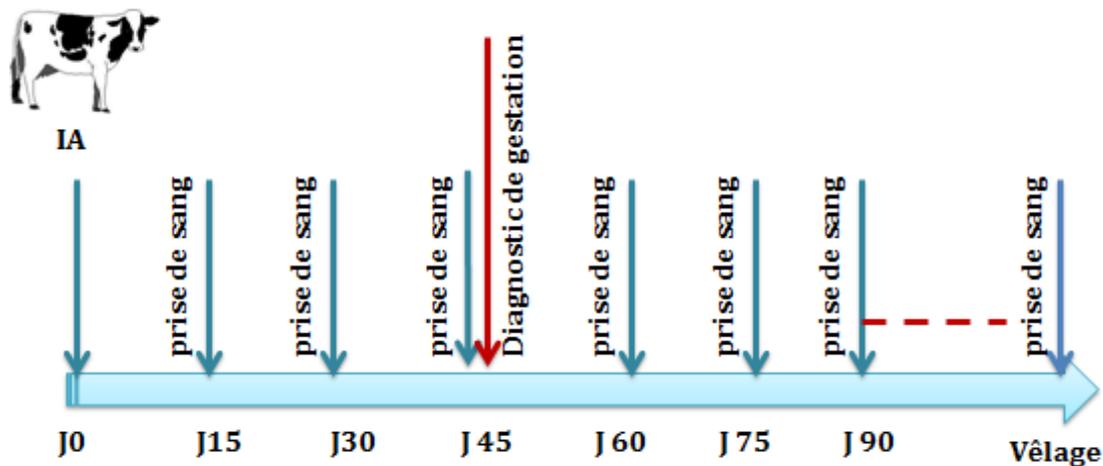


Figure 26 : Protocole des prises de sang (*ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2014*)

II.2.3. Diagnostic de gestation

Le diagnostic précoce de non gestation est réalisé par observation des chaleurs entre le 18^{ème} et le 25^{ème} jour post-insémination. Par la suite nous avons réalisé un diagnostic de gestation par échographie entre J35 et J60 sur les 33 vaches inséminées, l'aide d'un échographe portable vétérinaire (EXAGO-ECM) équipé d'une sonde linéaire de 6 à 8 MHz ; réglée à 7,5MHz (**Figure 27f**).

La démarche que nous avons suivie pour le diagnostic par échographie est la suivante :

- Nous avons bien attaché les femelles, afin d'éviter d'éventuels déplacements au cours de l'examen (**Figure 27a**).
- Nous avons réalisé l'examen échographique dans un local sombre comme proposé par **KAHN (1994)**, et ceci pour éviter les rayons de soleil, car la lecture de l'écran cathodique devient alors difficile.
- Nous avons utilisé un gant protecteur lubrifié pour vider totalement le rectum de ses fèces (**Figure 27b**); car ces dernières avec les bulles de gaz qu'elles contiennent empêchent la propagation des ultrasons, ceci se traduit à l'écran, par l'apparition de bandes sombres (**TAINTURIER et al., 1998**).

- Nous avons palpé ensuite les différentes parties de l'appareil génital (**Figure 27c**). Cette étape est primordiale : elle permet d'apprécier la position anatomique des différents éléments de celui-ci.
- Dans un deuxième temps, et comme décrit par **BOISSON (1992)**, la sonde est introduite dans le rectum, nous avons utilisé une sonde linéaire, que nous avons tenu avec le pouce dans le creux de la main, les autres doigts regroupant l'appareil génital sous la sonde (**Figure 27d, 27e**). La sonde doit être fermement plaquée contre le plancher du rectum. Dès lors, nous avons visualisé les différentes structures en la faisant progresser dans le rectum.
- Suite à cela, la vessie a été aperçue, cette dernière est anéchogène d'une forme en «*poire*». En faisant progresser la sonde le col de l'utérus est aperçu, il se distingue par des plis circulaires et le canal cervical apparaît comme un fort écho linéaire central. La section de la paroi utérine apparaît en ton gris, avec une structure granuleuse variable.
- La dernière étape consiste à rechercher la vésicule embryonnaire liquidienne (donc anéchogène) de forme oblongue à circulaire, aux contours nets. Si la gestation est encore plus avancée, il est possible de mettre en évidence l'embryon sous la forme d'une tache échogène baignant dans la vésicule embryonnaire où le fœtus si la gestation est très avancé (**Figure 27f**).



Figure 27: Étapes de diagnostic de gestation par échographie (*PHOTOS PERSONNELLES, 2013*)

II.2.4. Analyse sérologique

Les analyses sérologiques des 398 sérums collectés suite à ce suivi ont eu lieu à l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'El Harrach (INMV).

Une technique ELISA de type indirect commercialisé par la firme IDvet (Grabels, France) a été utilisée afin de détecter les anticorps anti-*N. caninum* dans le sérum (**Figure 28**) et dont le principe est le suivant :

Le principe de ce test consiste à mettre du sérum de l'animal à tester avec l'antigène adsorbé au fond du puits. Un conjugué anti-espèce marqué à la peroxydase (HRP) se fixe aux anticorps *Neospora*, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP, 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.

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps spécifiques de *N. caninum* dans les sérums et plasmas de bovins, ovins, caprins, et canins, et laits de ruminants. Il utilise un extrait antigénique purifié de *N. caninum*.



Figure 28 : Composition de la trousse ELISA *N. caninum* IDvet (**PHOTO PERSONNELLE, 2014**)

II.2.4.1. Matériel

- Microplaques ELISA 96 puits à fond plat sensibilisées avec l'antigène purifié de
- *N. caninum*,
- Lecteur de plaques ELISA,
- Solution de lavage concentrée 20 fois,
- Tampon de dilution 2 coloré est utilisé pour la dilution des sérums sanguins et des sérums de référence (positif et négatif),
- Tampon de dilution 3 coloré est utilisé pour la dilution du conjugué,
- Conjugué coloré concentré 10 fois,
- Contrôle positif et négatif,
- Solution de révélation,
- Solution d'arrêt,
- Autre matériels (Micropipettes, Embouts de pipettes, Eau distillée, Microplaques, Bêchers, Flacons de dilution, pissette...).

II.2.4.2. Méthode

- Tous les constituants ont été ramenés à température ambiante (21°C +/- 3°C) avant l'emploi et homogénéisés par retournement ou au Vortex.
- Après la disparition de tous les cristaux, la solution de lavage concentrée 20 fois a été diluée dans de l'eau distillée à raison de 60 ml de solution de lavage dans 1140 ml d'eau distillée.
- Pour réduire la différence de temps d'incubation entre les échantillons, nous avons préparé une microplaque de 96 puits contenant 90µl de tampon de dilution 2 dans chaque puits ensuite nous avons distribué (**Figure 29a**):
 - 10µl du contrôle positif dans les cupules A1 et B1,
 - 10µl du contrôle négatif dans les cupules C1 et D1,
 - 10µl de chaque échantillon dans les cupules restantes.
- Puis nous avons transféré dans la plaque ELISA (**Figure 29b**).
- La plaque a été incubée pendant 45 minutes à température ambiante 21°C.

Partie Expérimentale

- La plaque a été vidée en la retournant brutalement au-dessus d'un évier et lavée trois fois. Dans chaque cupule, nous versons environ 300 μ l de solution de lavage toute en évitant le dessèchement des cupules entre les lavages.
- Ensuite nous avons distribué dans chaque cupule 100 μ l de conjugué concentré une fois (**Figure 30**) . Ce Conjugué a été au préalable dilué au 1/10 dans le tampon de dilution 3 (2 ml de conjugué dans 18 ml de la solution de dilution 3).
- Ensuite la plaque a été incubée 30 minutes à 21°C.

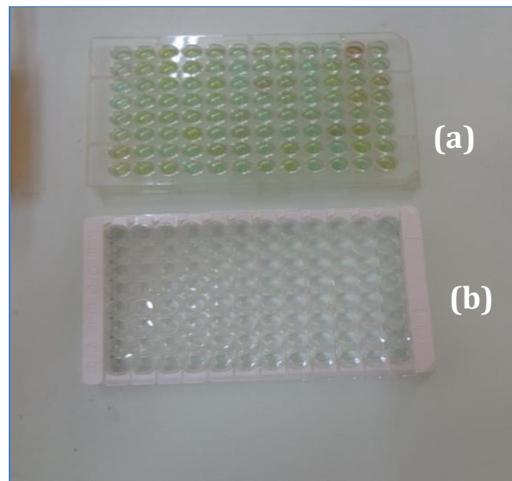


Figure 29 : Dilution des sérums dans une plaque et leurs transferts dans la plaque ELISA (*PHOTO PERSONNELLE, 2014*)



Figure 30 : Dilution et distribution du conjugué (*PHOTOS PERSONNELLES, 2014*)

Partie Expérimentale

- Après la fin de l'incubation, la plaque a été vidée et lavée trois fois, chaque cupule avec environ 300µl de solution.
- Nous avons distribués par la suite dans chaque cupule 100µl de solution de révélation(**Figure 31**).
- De nouveau, la plaque a été incubée pendant 15 mn à une température ambiante (21°C) et à l'abri de la lumière.
- A la fin de l'incubation, nous avons distribué dans chaque cupule 100µl de solution d'arrêt pour stopper la réaction(Figure32).
- Les densités optiques ont été mesurées et enregistrées à 450nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Après la mesure des densités optiques des sérums positif et négatif (DO pos et DO nég) ainsi que celles de tous les échantillons (DO échantillons), la validité du test a été vérifiée selon les conditions du fabricant :
 - La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DOcp) est supérieure à 0.350.
$$(DO_{cp}) > 0.350$$
 - Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DOcp) et la moyenne des contrôles négatifs (DOcn) est supérieur à 3
$$(DO_{cp}) / (DO_{cn}) > 3$$
- Ensuite, nous avons calculé le pourcentage pour chaque échantillon le pourcentage S/P (S/P%) on appliquant la formule suivante :
$$S/P\% = [(DO \text{ échantillon} - DO_{cn}) / (DO_{cp} - DO_{cn})] * 100.$$
- Les échantillons présentant un S/P% :
 - ✓ S/P% ≤ 40% : Négatif
 - ✓ 40% < S/P% < 50% : Douteux
 - ✓ S/P% ≥ 50% : Positif



Figure 31 : Plaque ELISA après la distribution de la solution de révélation (**PHOTO PERSONNELLE, 2014**)



Figure 32 : Plaque ELISA pendant la distribution de la solution d'arrêt (**PHOTO PERSONNELLE, 2014**)

II.3. Méthodes statistiques

Toutes les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance (IC à 95%). Les différences dans les proportions ont été statistiquement analysées et comparées en utilisant le test d'indépendance des proportions basé sur la distribution de probabilités de X^2 (Yates corrected) ou test Fisher exact quand c'est nécessaire (**ZAR, 1996**) afin de déterminer des différences dans les prévalences entre les groupes. Les calculs de Chi carré sur les tables de contingence ont été réalisés grâce au site http://www.alyabbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre.html.

Partie Expérimentale

Les différences dans les prévalences ont été considérées comme statistiquement significatives lorsque $p < 0,05$. La puissance d'association entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements a été mesurée par l'odds ratio (OR) ou le Risque relatif (RR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). Les analyses statistiques ont été menées grâce au <http://easycalculation.com/statistics/odds-ratio.php>.

Exemple :

	Malade	Sain	total	RR
Exposé	A	B	E=A+B	$\frac{(A/E)}{(C/NE)}$
Non exposé	C	D	NE=C+D	
Total	A+C	B+D	A+B+C+D	
Taux d'exposition	A/ (A+C)	B/ (B+D)		
Odd d'exposition	A/C	B/D		
Odds ratio	$\frac{(A \times D)}{(B \times C)}$			

Pour calculer l'intervalle de confiance de cette estimation, on se place sur l'échelle logarithmique. La variance du logarithme du risque relatif (RR) ou de l'odds ratio (OR) est approximativement:

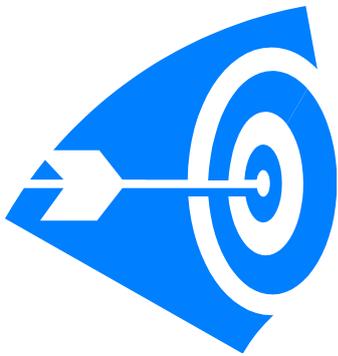
$$\text{Var}(\ln RR) = \frac{1}{A} - \frac{1}{E} + \frac{1}{C} - \frac{1}{NE}, \quad \text{Var}(\ln OR) = \frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D} \quad \text{On calcule}$$

alors l'intervalle de confiance à 95 % du RR ou de l'OR en passant à l'exponentielle, selon

$$IC_{95\%}(RR) = [\exp(\ln \hat{RR} - 1.96 \times \sqrt{\text{Var}(\ln \hat{RR})}); \exp(\ln \hat{RR} + 1.96 \times \sqrt{\text{Var}(\ln \hat{RR})})]$$

Même chose pour l'Odds Ratio

Test de la valeur du risque relatif ou de l'odds ratio : Usuellement, on comparera la valeur du Risque Relatif ou de l'Odds Ratio estimé à 1, afin de pouvoir conclure à l'existence d'un risque augmenté (RR ou OR >1) ou diminué (RR ou OR <1). L'hypothèse nulle testée est : $H_0 : RR \text{ ou } OR = 1$, Contre l'alternative $H_1 : RR \text{ ou } OR \neq 1$



Résultats

III. Résultats

III.1. Étude séro épidémiologique de l'infection à *Neospora caninum* chez la vache gestante de race locale

III.1.1. Séroprévalence par la technique ELISA

Les résultats de cette première étude ont montré que 152 vaches gestantes sur les 179 testées se sont révélées positives à *N. caninum* par la technique ELISA de compétition, ce qui correspond à une séroprévalence de 85% (**Figure 33**).

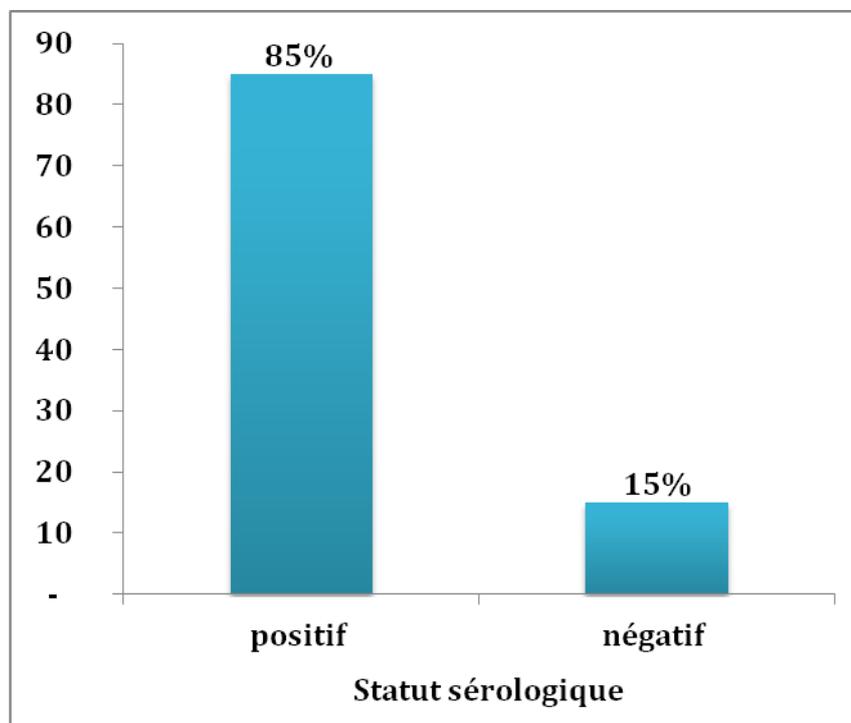


Figure 33 : Pourcentages des vaches séropositives et séronégatives

Le cutt off du fabricant étant fixé à 33% ce qui signifie que tous les sérums avec un pourcentage d'inhibition supérieur à 33 étaient considérés comme positifs. Cependant, le degré de positivité des sérums variait comme illustré dans la **Figure 34**.

Nous constatons que le seuil de positivité de la majorité des animaux testés se situe dans l'intervalle 40% à 50%.

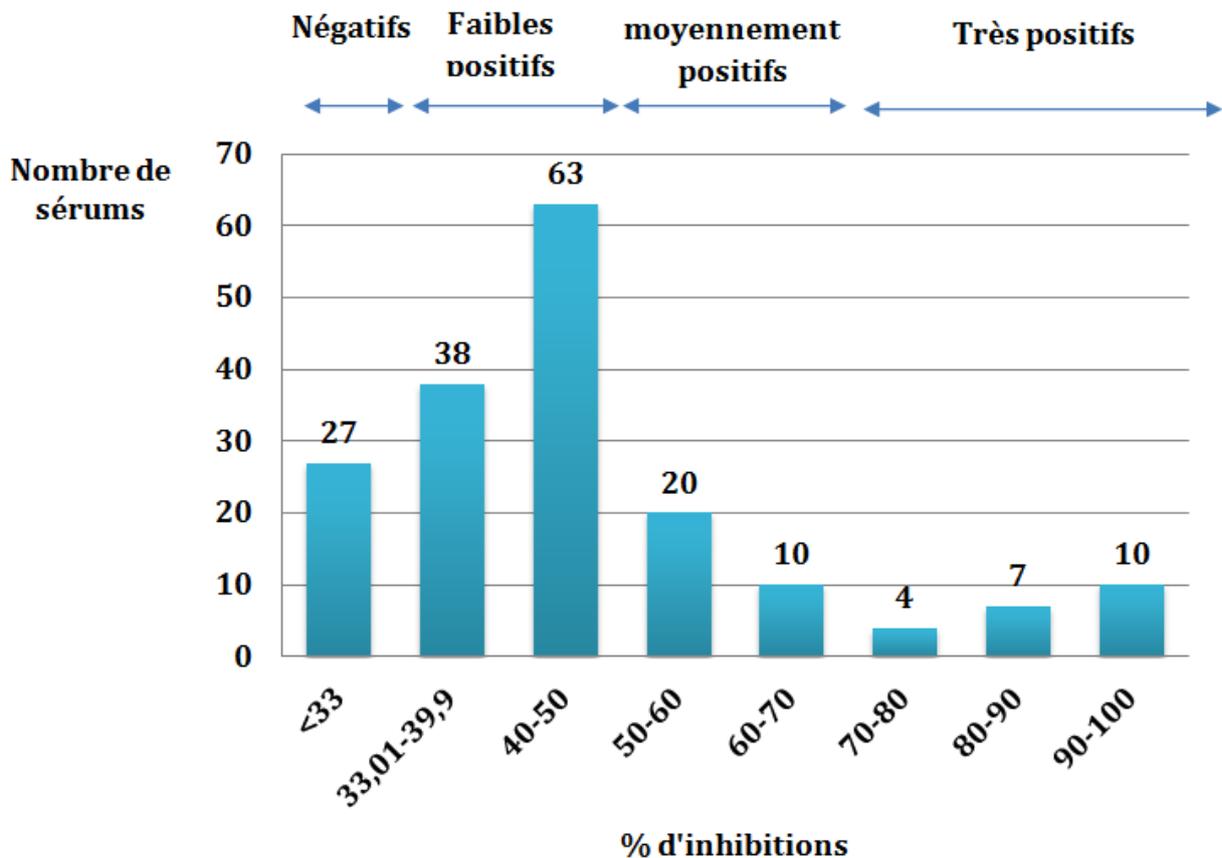


Figure 34 : Nombre de sérums positifs en fonction du pourcentage d'inhibition

III.1.2. Etude cas-témoins

Un total de 60 fermes a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique les fermes étaient séparées en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient survenus dans les 5 dernières années alors que les fermes témoins étaient indemnes d'avortement. Utilisant ce critère 34 fermes cas et 26 fermes témoins ont été définies (**Tableau 10**).

Les sérums d'un total de 179 bovins (131 dans les fermes cas et 41 dans les fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques de *N. caninum* (**Tableau 10**). Une ferme était considérée comme positive si au moins un animal était séropositif.

Tableau 10 : Caractéristiques des fermes

Statut de la ferme	Nombre de ferme prélevée	Nombre Vaches prélevées
Cas	34	131
Témoin	26	48
Total	60	179

Parmi les 152 animaux positifs à *N. caninum* décrits plus haut, 111 appartenaient à des fermes cas et 41 provenaient des fermes témoins (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Séroprévalence en fonction du statut des fermes

		Ferme +	Ferme -	Séroprévalence des fermes % (IC 95%)	Vache +	Vache -	Séroprévalence des vaches % (IC 95%)
Statut de la ferme	Cas	30	4	88,24 (77,4-99,07)	111	20	84,73 (78,6-90,89)
	Témoin	25	1	96,15 (88,8-100)	41	7	85,42 (75,4-95,4)
	Total	55	5	91,67 (84,7-98,66)	152	27	84,92 (79,9-90,16)

Aucune différence significative n'a été mise en évidence ($p > 0,05$) entre la séroprévalence obtenue chez les animaux des fermes cas et celle des animaux issus des fermes témoins.

Tableau 12 : Cas-témoin au niveau des fermes

	Fermes	Cas	Témoin	Total
ELISA	Séropositives	30	25	55
	Séronégatives	4	1	5
	Total	34	26	60
	Taux d'exposition(%)	88	96	
	Risque ratio	0,7 (0,41 - 1,12) p=0,13		
	Odd	7,5	25	
	Odds Ratio (IC 95%)	0,3 (0,03 - 2,86) p=0,3		

Les résultats de l'étude cas témoin au niveau des fermes (**Tableau 11**) montrent que le risque relatif et l'odds ratio ne sont pas significativement différents de 1 ($p>0,05$). Par conséquent, le fait que la ferme héberge des animaux séropositifs n'est pas lié au fait que ces fermes connaissent ou non des épisodes d'avortement.

Tableau 13: Cas-témoin au niveau individuel

	Vaches prélevés	Dans les fermes Cas	Dans les fermes Témoins	Total
ELISA	Séropositives	111	41	152
	Séronégatives	20	7	27
	Total	131	48	179
	Taux d'exposition (%)	84,7	85,4	
	Risque ratio	0,98 (0,77-1,26) p=0,9		
	Odd	5,55	5,86	
	Odds Ratio	0,95 (0,37- 2,41) p=0,9		

Les résultats de l'étude cas-témoin au niveau des animaux (**Tableau 13**) indiquent que le risque relatif et l'odds ratio ne sont pas significativement différents de 1. Il en résulte qu'il n'y a pas d'association entre la séropositivité pour *N. caninum* et le fait d'appartenir à une ferme ayant connu des cas d'avortement. En conséquence, nous n'avons pas pu mettre en évidence de lien entre la séroprévalence et les avortements pour les vaches de race locale.

III.1.3. Étude des facteurs de risque

A travers l'analyse d'une série de facteurs pouvant être associés statistiquement à la séropositivité des vaches vis-à-vis de *N.caninum*, nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux vaches ayant déjà subi un avortement. L'idée est de vérifier si la séropositivité à *N. caninum* serait un facteur de risque d'avortement chez la race locale (**Tableau 14**).

III.1.3.1. Avortement

Parmi les 179 vaches prélevées, 46 ont subi au moins un avortement au courant de leur vie de reproduction. L'analyse par un test d'indépendance (Chi carré) montre qu'il n'y pas d'association significative entre le fait que la vache ait avorté ou non et la séropositivité ($p>0,05$) (**Tableau 14**).

Tableau 14. Analyse des facteurs de risque

Facteur	Catégories	Effectifs (%)	Négatifs	Positifs	Séroprévalence (%)	Valeur P (χ^2)
Avortement	V _{avr}	46 (25,70)	4	42	91,30	NS (0,16)
	V _{navr}	133 (74,30)	23	110	82,71	
	Total	179	27	152	84,92	
âge (ans)	<3	21 (11,73)	3	18	85,71	NS (0,78)
	3-6	109 (60,89)	18	91	83,49	
	≥7	49 (27,37)	6	43	87,76	
	Total	179	27	152	84,92	
Stade de gestation (mois)	1-3	91 (50,84)	16	75	82,42	NS (0,33)
	4-6	33 (18,44)	6	27	81,82	
	7-9	55 (30,73)	5	50	90,91	
	Total	179	27	152	84,92	
Parité	N	32 (17,88)	7	25	78,13	NS (0,49)
	P	38 (21,23)	5	33	86,84	
	M	109 (60,89)	15	94	86,24	
	Total	179	27	152	84,92	

P : probabilité résultant du test de chi carré, NS : Non significatif, V_{avr} : vache ayant avortées, V_{navr} : vache n'ayant jamais avortées, N : Nullipare, P : Primipare, M : Multipare

III.1.3.2. Âge

Nous avons étudié l'effet de l'âge des vaches, en utilisant une classification en fonction de la classe d'âge (<3ans ; 3-6 ans ; 7 et plus) (**ROMERO et al., 2002**). Les résultats (**Tableau 14**) indiquent qu'il n'y a aucune association significative entre l'âge de l'animal et la séroprévalence ($p>0,05$).

III.1.3.3. Stade de gestation

Pour les 179 vaches nous avons voulu vérifier si le stade de gestation influençait sur la séropositivité pour *N. caninum*. Les résultats statistiques indiquent (**Tableau 14**) qu'il n'y a pas d'association entre le stade de gestation et la séropositivité ($p>0,05$).

III.1.3.3.4. Parité

Nous avons voulu vérifier si la parité influençait sur la séropositivité pour *N. caninum*. Les résultats du test d'indépendance indiquent (**Tableau 14**) qu'il n'existe pas d'association significative entre la parité et la séropositivité ($p>0,05$).

III.2. Étude longitudinale de la réponse sérologique vis à vis de *Neospora caninum* chez des vaches gestantes de race locale

Nous avons préparé un total de 33 vaches pour le suivi sérologique vis-à-vis de *N.caninum* (voir matériel et méthodes). Cependant, après insémination artificielle et diagnostic de gestation, le nombre de fécondations réussies s'élève à 23 vaches inséminées soit 69,7%.

Les vaches (n=10) dont l'insémination artificielle n'a pas été fructueuse, ont été retirées de l'étude (3 vaches séronégatives et 7 vaches séropositives).

III.2.1. Diagnostic de gestation par échographie transrectale

Dans cette étude, 23 vaches (69,7%) ont été diagnostiquées gestantes sur 33 préparées par contrôle échographique transrectal réalisé entre J 35 et J 60 (**Figure 35**).

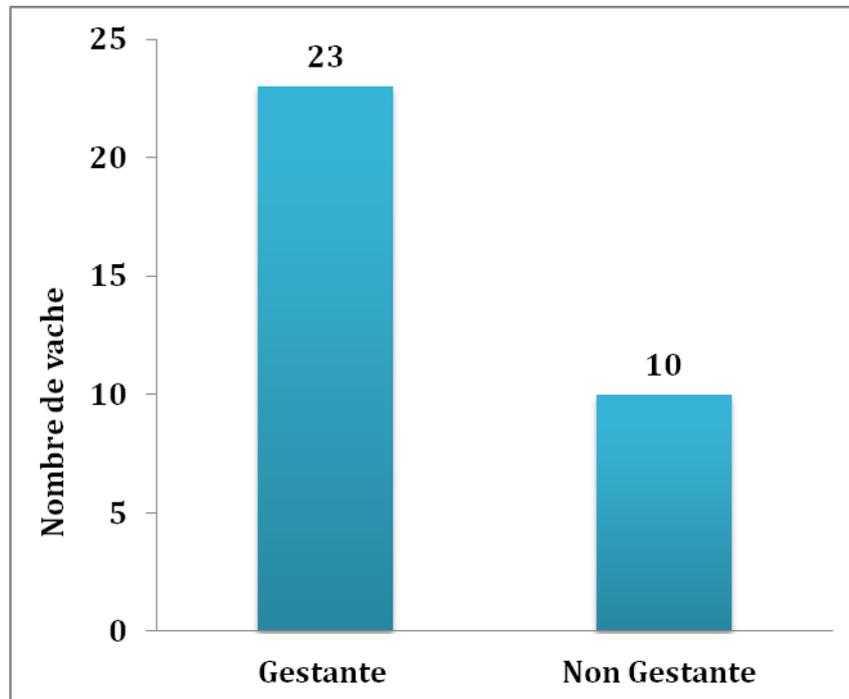


Figure 35: Nombre de fécondations réussies pour 33 inséminations artificielles

La **Figure 36** ci-dessous, illustre des images échographiques confirmant la gestation chez les 23 vaches inséminées et retenues pour notre étude. Les images montrent des fœtus âgés de 35 et 60 j.

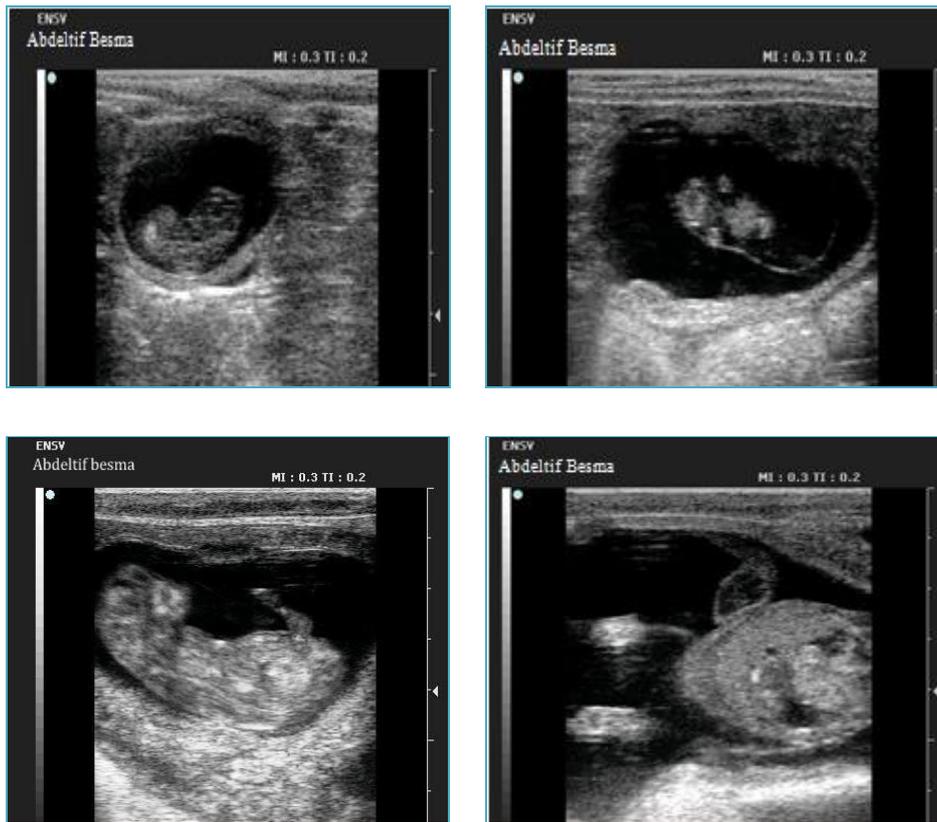


Figure 36 : Confirmation du diagnostic de gestation par contrôle échographique (Photos échographiques des fœtus âgés entre j 40 et j 60) (*PHOTOS PERSONNELLE, 2013*).

Pour les taux de gestation (gestation réussite) et de mise bas ont été respectivement de 53,33 % et 100% chez les vaches séropositives contre 88,32% et 100% chez leurs congénères séronégatives (**Figure 36**).

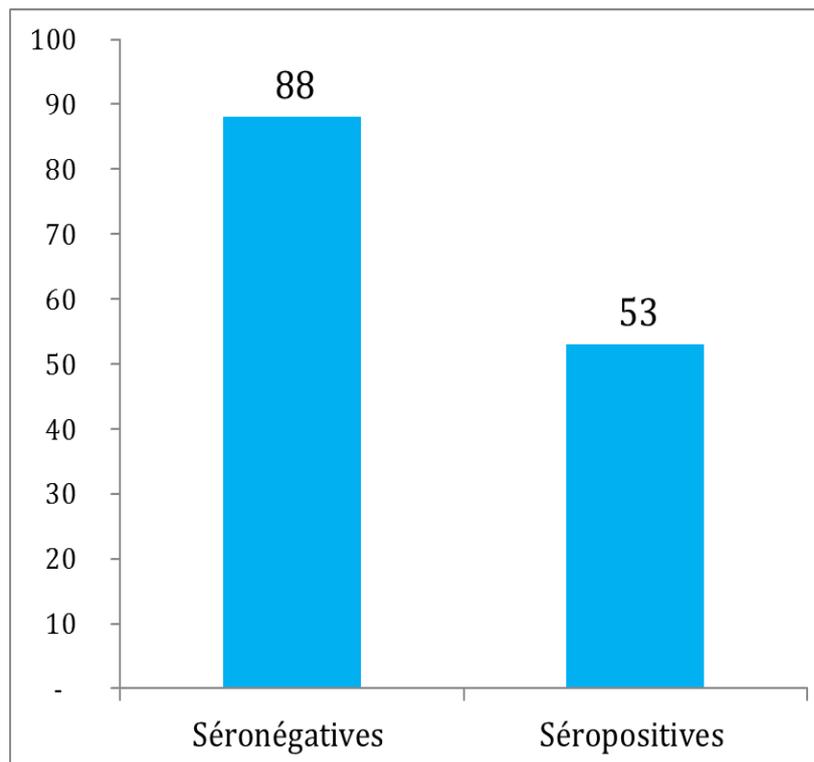


Figure 37 : Taux de gestation des vaches séropositives et séronégatives

Les résultats indiquent qu'il y a association significative entre le taux de gestation et la séropositivité à *N. caninum* ($p < 0,05$).

III.2.2. Suivi de la réponse sérologique vis-à-vis de *N. caninum* chez les vaches gestantes

Sur les 23 vaches gestantes, les résultats sérologiques préliminaires obtenus à J₁₅ de gestation ont montré que 34,78% (8/23) de vaches étaient séropositives vis-à-vis de *N. caninum* contre 65,21% (15/23) de séronégatives (**Figure 38**).

Répartition des vaches séropositives et séronégatives

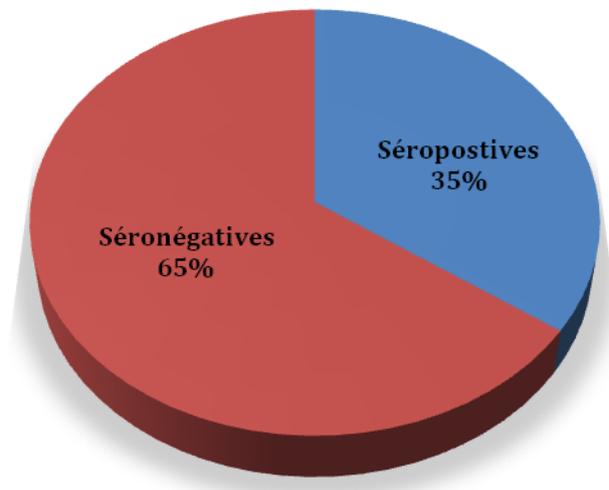


Figure 38 : Répartition des vaches séropositives et séronégatives

Toutes les vaches étaient individuellement suivies sérologiquement durant toute la gestation jusqu'au vêlage. Un seul avortement a été enregistré au 5^{ème} mois et demi de gestation chez une vache ayant rejeté 4 fœtus.

Pour les 8 vaches séropositives à *N. caninum*, Le degré de positivité a varié comme suit durant toute la gestation : 3 vaches étaient moyennement séropositives avec un degré d'inhibition se situant entre 40% et 80%, Cependant, les 5 autres étaient fortement séropositives durant toute la gestation avec un degré d'inhibition dépassant les 80% (**Figure 39**).

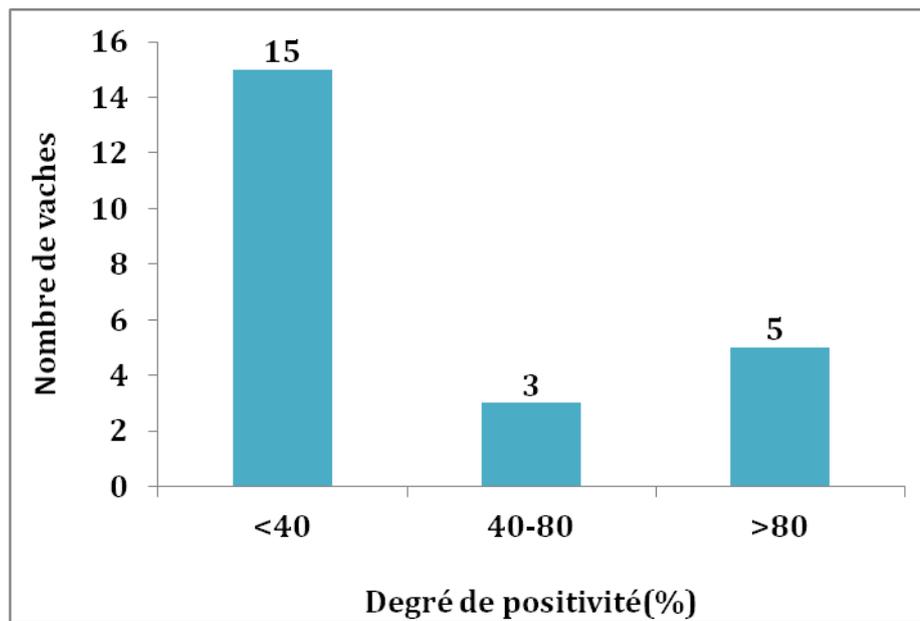


Figure 39 : Variation du degré de positivité des vaches durant la période gestation

Maintenant, si on regarde le profil sérologique des 8 vaches séropositives individuellement et à chaque période de prélèvement, les résultats sont repris dans les **Figure 40, 41, 42.**

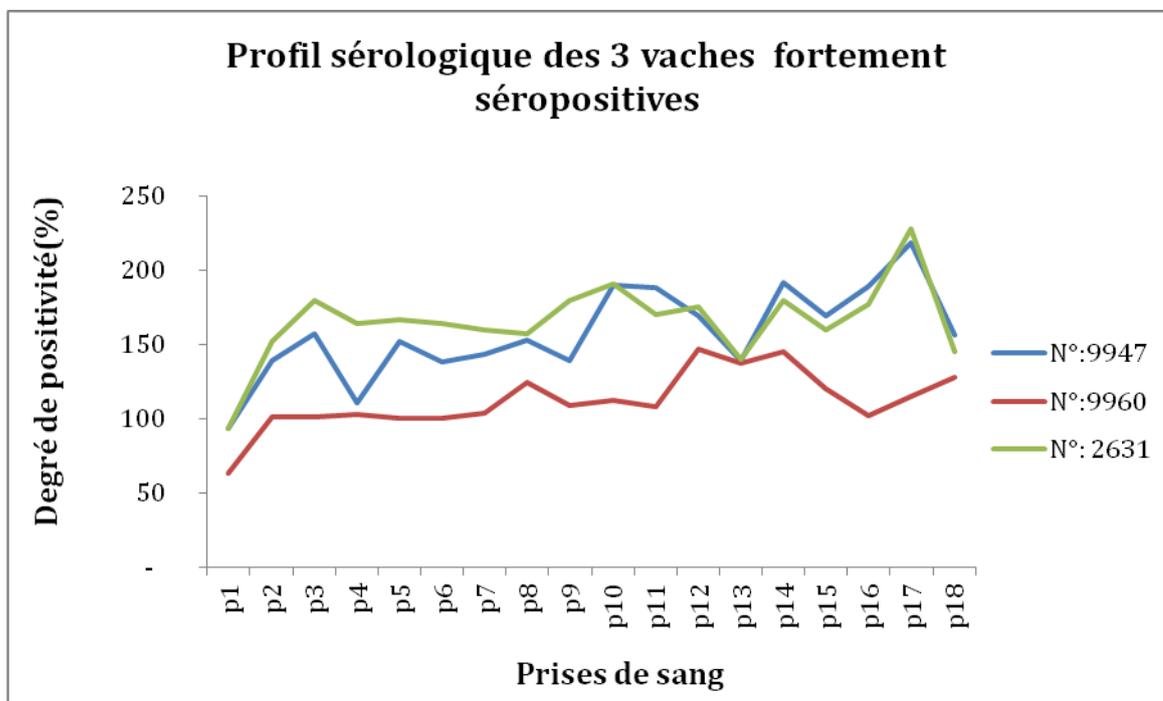


Figure 40 : Profil sérologique durant la période de gestation des 3 vaches fortement séropositives.

Pour ces 3 vaches, le seuil de positivité dépasse largement les 100% atteignant jusqu'à 230% durant toute la période de gestation. Aucune de ces 3 vaches n'a avorté (**Figure 40**).

Pour les deux autres vaches séropositives, le profil sérologique est un peu différent de celui des vaches décrites plus haut. En effet, on constate qu'au début de la gestation, le degré de positivité était situé entre 40% et 60% pour les vaches N° 2479 et N° 2630 respectivement. Après le 4^{ème} mois de gestation le seuil augmente progressivement pour atteindre vers la fin de gestation un degré de 120% pour la vache N° 2630 et 96% pour la vache N°2479 (**Figure 41**). Aucun avortement n'a été signalé.

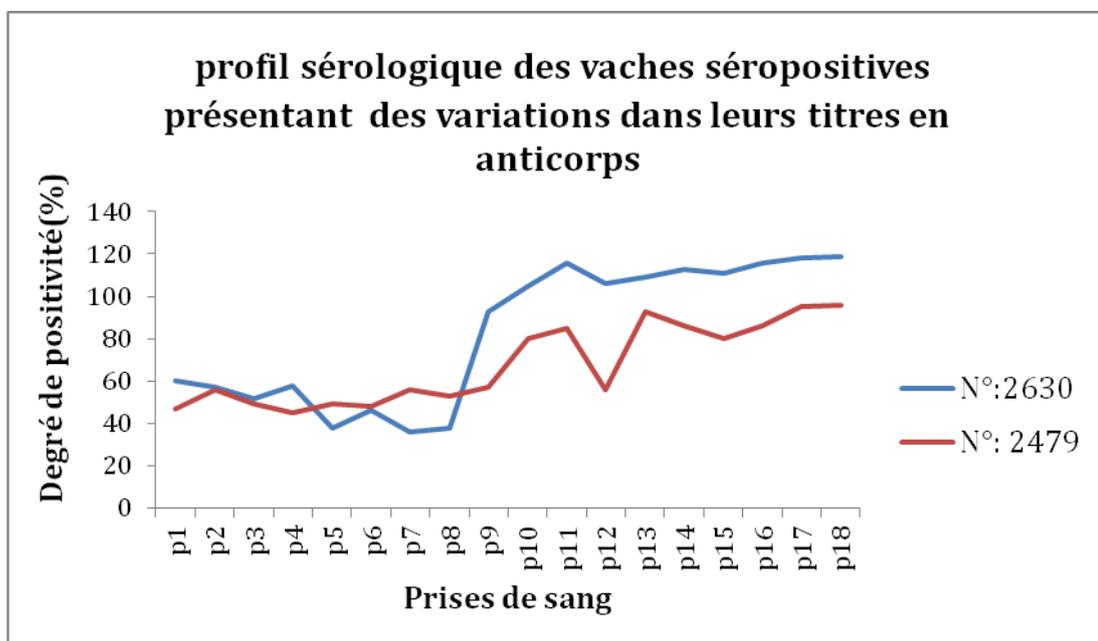


Figure 41 : Profil sérologique des vaches séropositives (présentant des variations dans les titres en anticorps) durant la période gestation.

Quant aux 3 vaches séropositives restantes, deux d'entre elles avaient un degré de positivité faible à moyen durant les 7 premiers mois de gestation. Cependant, il a commencé à augmenter progressivement durant les 2 derniers mois. La 3^{ème} vache (N° 2635), a montré un profil différent puisque contrairement aux autres, nous avons remarqué que les titres en anticorps devenaient faibles et se situaient au dessous du seuil de détectabilité entre le 4^{ème} et 7^{ème} mois de gestation. Par la suite, une nette

augmentation a été constatée avec un degré de positivité de 170% qui reste au dessus de 100% jusqu'au vêlage (**figure 42**). Aucune des 3 vaches n'a avorté.

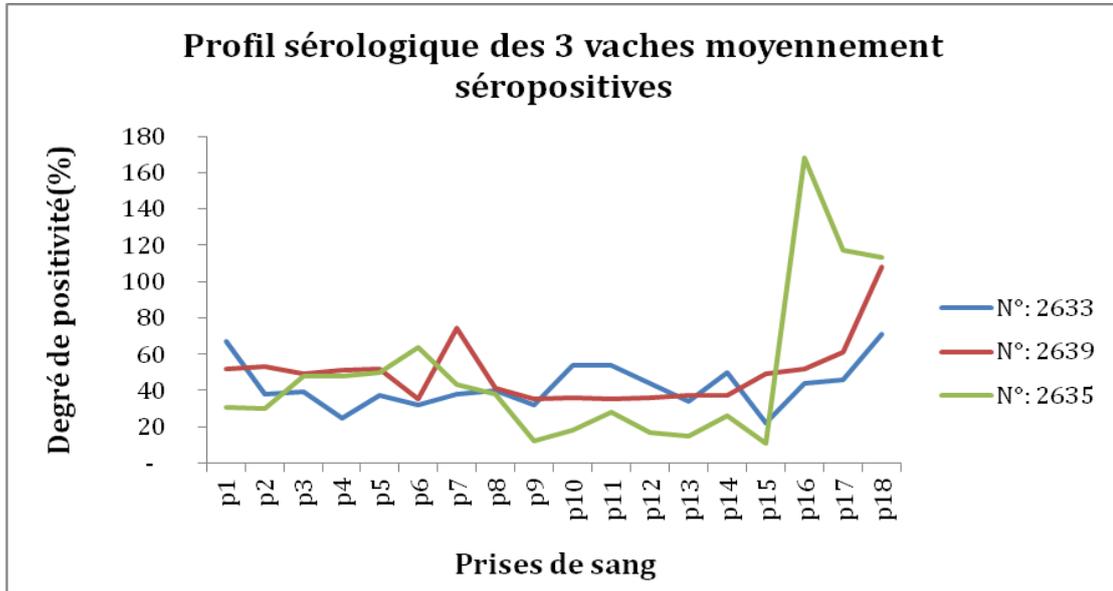


Figure 42 : Profil sérologique durant la période de gestation des 3 vaches moyennement séropositives.

Toutes les vaches séropositives ont mis bas de veaux séropositifs (**Figure 43**) cliniquement sains (**Figure 44**).

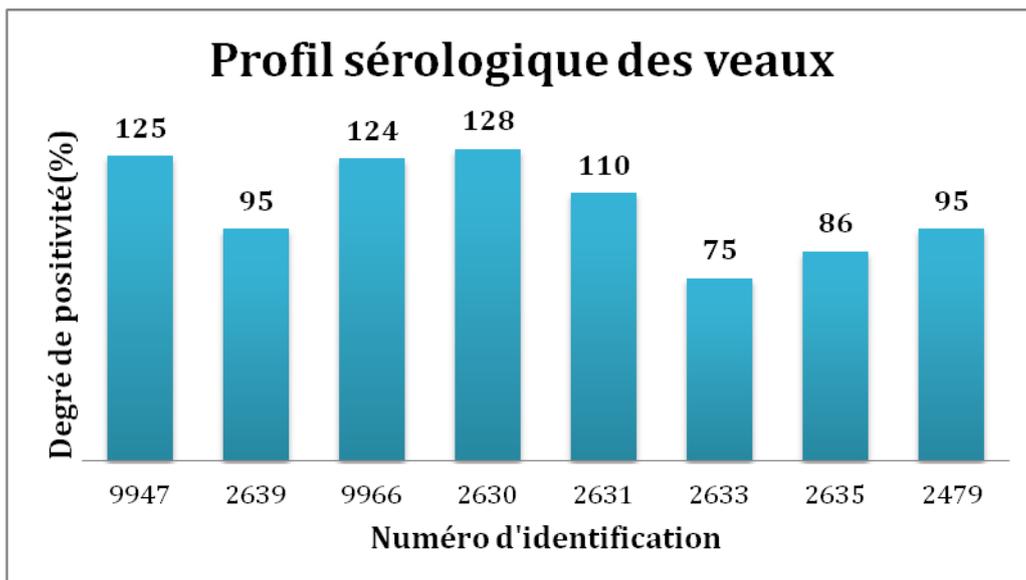


Figure 43 : Profil sérologique des veaux issus de vaches séropositives avant la prise du colostrum

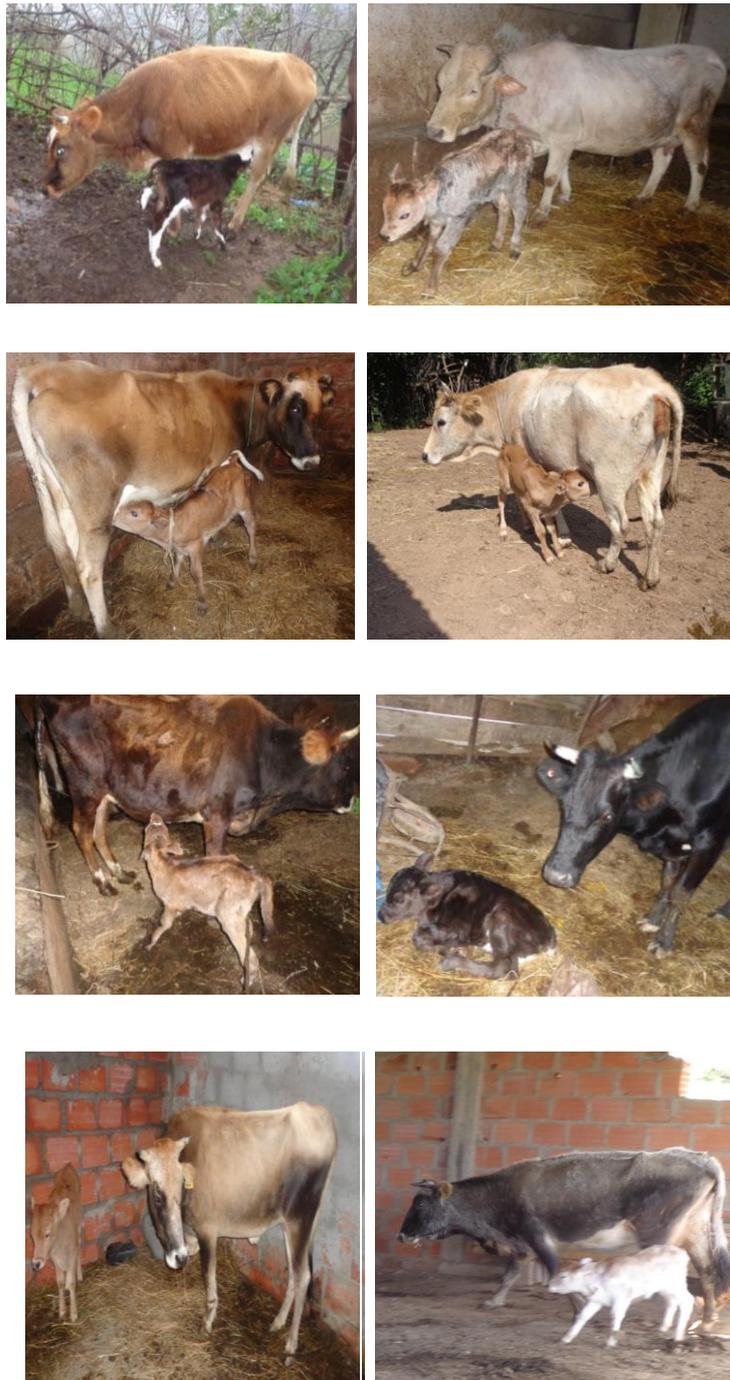


Figure 44: Photos des 8 vaches séropositives avec leurs veaux après vêlage (*PHOTOS PERSONNELLES, 2014*).

Lors de ce suivi sérologique, une seule vache a avorté de 4 fœtus au 5^{ème} mois et demi de gestation. Cette vache s'est révélée séronégative pendant toute la période du suivi. Son profil sérologique est illustré dans la **Figure 45**.

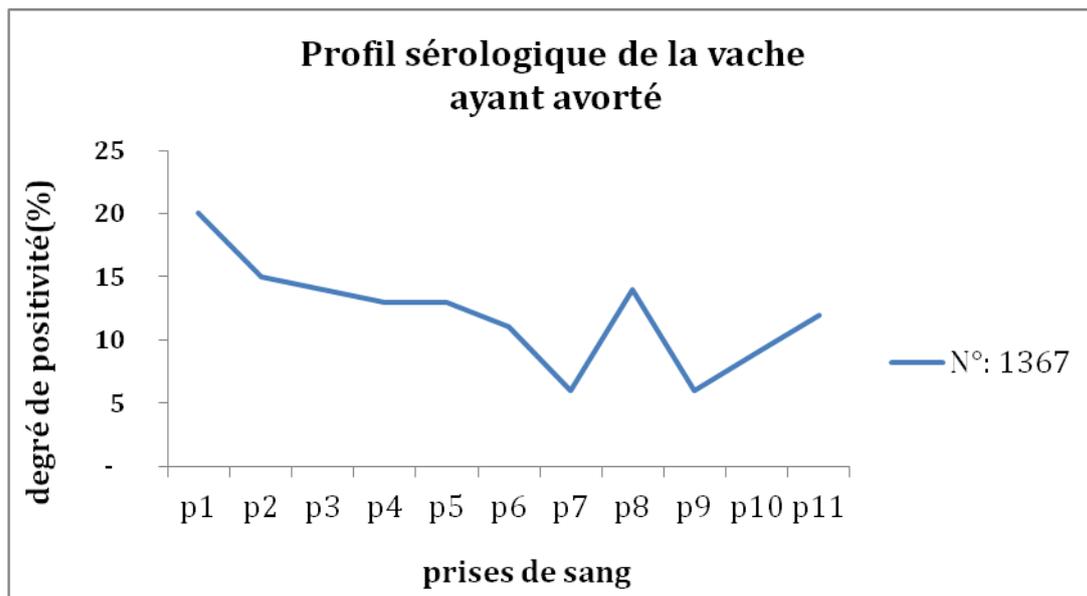


Figure 45 : Profil sérologique de la vache ayant avorté

La Figure 46 ci-dessous, montre la seule vache ayant avorté durant cette étude ainsi que ces avortons.



Figure 46 : Vache ayant avorté et ses quatre avortons (PHOTOS PERSONNELLES, 2013)

D'autre part, toutes les vaches séronégatives sont restées séronégatives durant toute l'étude (Figure 47). Elles ont vêlé de veaux séronégatifs ne présentant aucun signe clinique. Dans le groupe de ces vaches, deux naissances gémellaires ont été enregistrées (taux de gémellité était de 14,28%).

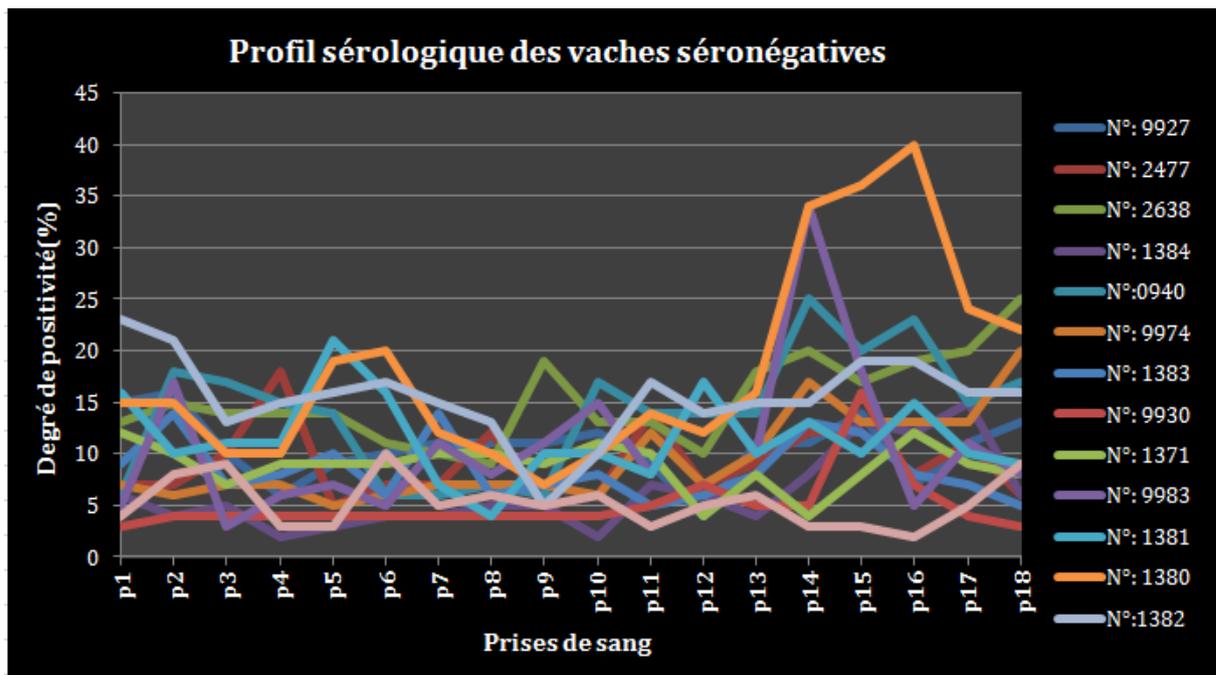


Figure 47: Profil sérologique des 14 vaches séronégatives



Discussion Générale

IV. Discussion

N. caninum est un parasite Apicomplexa responsable de paralysie chez les chiens et d'avortements chez la vache. Des travaux antérieurs (***GHALMI et al., 2011b***) avaient montré que *N. caninum* était une cause d'avortement chez la vache en Algérie mais que cet effet n'était pas de la même intensité en fonction du type de Bétail. En effet, chez les bovins laitiers modernes et améliorés, ils ont pu montrer une association entre la présence de *N. caninum* et les avortements alors que chez les bovins laitiers locaux bien que la prévalence de *N. caninum* soit importante il n'y avait pas d'association avec les avortements. Il semblait donc que la race bovine locale était résistante à l'avortement causé pas *N. caninum* mais pas à la colonisation par le parasite. Ces observations constituaient le point de départ de notre travail.

Le faible nombre de travaux de recherche s'intéressant à la race locale « Brune de l'Atlas » et la disponibilité des effectifs au niveau de notre région d'étude nous ont dictés le choix de cette race. Cette race locale « Brune de l'Atlas » renferme un potentiel génétique de rusticité avérée (adaptation aux faibles ressources alimentaires, résistance aux maladies et aux variations climatiques) et un potentiel de production non négligeable (***AISSAOUI et al., 2003***).

L'échantillonnage s'est fait dans la région de Jijel qui est riche en bovins locaux.

Nous avons pris le maximum de précaution lors de la réalisation et le transport de nos prélèvements de sang. Ce qui s'est traduit par peu de cas d'hémolyse et l'obtention de sérum de bonne qualité. En effet, un mauvais prélèvement et/ou une mauvaise conservation des échantillons entre le terrain et le laboratoire se traduit par une hémolyse et les sérums sont de mauvaise qualité et inutilisable pour l'analyse ELISA (***DOMBOU, 2008***).

IV.1. Effectifs

Dans un premier temps, une étude séroépidémiologique a été réalisée au niveau de 60 fermes différentes de race locale en prélevant du sang chez 179 vaches gestantes. Si on considère le nombre de bovins étudiés, notre effectif est du même ordre de grandeur que celui prélevé dans une étude antérieure (n=105) par ***GHALMI et al (2012)***, portant également sur la race locale algérienne. En Turquie, des travaux sur leur

race bovine locale ont eu lieu sur 228 bovins (***AKCA et al., 2005***), quelques années plus tard une seconde étude a été réalisée chez la même race locale sur un échantillonnage de 132 bovins (***KACAR et al., 2012***).

Quant à l'étude longitudinale, nous avons réalisé un suivi de 23 vaches de race locale. Cet effectif même s'il semble légèrement faible (en raison de la durée de l'étude et de la difficulté d'atteindre les bovins locaux), il reste tout de même supérieur à celui retenu par ***STENLUND et collaborateurs (1999)*** (n=18) pour une étude similaire à la nôtre sur le suivi du profil des anticorps sériques chez des vaches naturellement contaminées par *N. caninum*.

IV.2. Tests utilisés

Le test Elisa est une méthode de dépistage sérologique simple, rapide et fiable présentant une sensibilité élevée et une grande spécificité. Il permet d'analyser un nombre important de sérums en peu de temps.

LASRI et collaborateurs (2004) propose l'ELISA de compétition pour remplacer d'autres méthodes d'analyses comme l'immunofluorescence indirect par exemple. Cet avantage est lié à l'utilisation des anticorps monoclonaux. ***WAPENAAR et collaborateurs (2007)*** abondent dans le même sens en montrant la spécificité du test Elisa dans le diagnostic de la néosporose et surtout en montrant la reproductibilité de l'ELISA de compétition.

Cependant, la méthode Elisa présente l'inconvénient d'être coûteuse et exige un personnel qualifié pour sa réalisation. La sensibilité élevée de ce test pourrait révéler des faux positifs.

Dans notre étude, deux types d'ELISA ont été utilisés pour la détection des anticorps anti-*N. caninum*. Il s'agit d'un Elisa « compétitif » et un Elisa « indirect ».

L'ELISA de compétition de la firme Bio-X n'a pas encore été validée indépendamment de la validation de la firme. Une validation par rapport à la méthode de référence (IFAT) serait nécessaire pour comparer les résultats des deux méthodes (***GHALMI et al., 2009***).

Par contre l'ELISA de la firme IDVET a fait l'objet de plusieurs études indépendantes dans la littérature (**ALVAREZ-GARCÍA et al., 2013**).

IV.3. Étude séroépidémiologique

La néosporose bovine est considérée comme l'une des principales causes d'avortement chez les bovins laitiers à travers le monde (**DUBEY et al., 2006, 2007; ORTEGA-MORA et al., 2006**). Les bovins sont les plus importants hôtes intermédiaires de *N. caninum* (**DUBEY et LINDSAY, 1996**).

La séroprévalence chez le bovin varie en fonction du pays, de la région, de la taille des échantillons, des populations animales, du type de test sérologique et de la valeur utilisée comme seuil. Dans certains troupeaux laitiers, jusqu'à 88,8% de vaches se sont montrées séropositives (**GHALMI et al., 2007; DUBEY et al., 2007**).

Dans ce travail, sur les 179 vaches gestantes de race locale étudiées, 152 (84,92%) se sont révélées positives. Ce taux est nettement plus élevé comparé à celui de **GHALMI et collaborateurs (2012)** qui ont obtenu une séroprévalence de 19,64% sur un effectif de 799 bovines toutes populations confondues, prélevés dans d'autres régions de l'Algérie. Cependant, il est à préciser que ces derniers ont utilisé un autre type de test sérologique qui est l'IFAT, ils ont touché d'autres régions du pays et sur des populations bovines différentes. Cela étant dit, quand ils ont calculé les séroprévalences indépendamment par population, ils ont constaté que le bovin de race locale était significativement plus exposé à *N. caninum* (34,28%) par comparaison aux autres populations BLM (16,04%) - BLA (18,64%).

Notre séroprévalence s'est montrée également supérieure à celle obtenue au Sénégal par **KAMGA-WALADJO et collaborateurs (2010)** qui ont montré une exposition significativement plus élevée chez les vaches locales semi- transhumantes (71,4%), comparée à leurs congénères de races exotiques (17,4%) et métisses (27,3%) en stabulation. Par ailleurs, toujours dans la même région et même étude dans des troupeaux intensifs en stabulation permanente, la séroprévalence a été significativement plus élevée chez des vaches locales (53,3%) et métisses (25%) que chez les races exotiques (13,4%) (**KAMGA-WALADJO et al. 2010**)

Dans d'autres études, des séroprévalences plus faibles ont été rapportées. À titre d'exemple, dans la région de Kars, principale région d'élevage en Turquie, aucune réponse anticorps spécifiques à *N. caninum* n'a été détectée chez 228 vaches de races locales ayant des antécédents d'avortement récents (**AKCA et al., 2005**). En revanche, chez les vaches de race Simmental, ils obtiennent une séroprévalence de 8.2%, ce qui démontre d'une présence et circulation du parasite dans la région. Ils ont en conclu que *N. caninum* a été introduite dans la région par l'importation du bétail de race Simmental et que la transmission verticale du parasite est importante dans la région (**AKCA et al., 2005**). Dans la même région, **KACAR et collaborateurs (2012)** ont rapporté une séroprévalence de 7,6% sur 132 vaches de race locale étudiées. Ce taux obtenu, pourrait s'expliquer par la transmission horizontale de *N. caninum* des races importées vers les races locales par l'intermédiaire des chiens (hôtes définitifs) (**KACAR et al, 2012**).

En revanche, des séroprévalences élevées et assez similaires à celle obtenue dans notre étude ont déjà été publiées. Citons l'exemple de travaux réalisés aux USA par **JENKINS et collaborateurs (2000)** qui ont montré par la technique Elisa, une séroprévalence de 80% sur des vaches laitières ayant avorté.

De même, au Pérou, **MOORE et collaborateurs (2005)** ont obtenu une séroprévalence de 62,10% chez des vaches laitières analysées par le test IFAT.

Au Mexique, des travaux sur des vaches laitières utilisant la technique Elisa, ont montré une séroprévalence de 59% (**GARCIA-VAZQUES et al., 2002**).

La séroprévalence très élevée obtenue chez le bovin de race locale dans la région de Jijel pourrait s'expliquer d'une part, par le système de gestion de l'élevage pratiqué par les éleveurs du bovin local. En effet, les vaches locales sont habituellement élevées en mode de pâturage extensif, ce qui laisse suggérer une transmission postnatale plus fréquente. La présence permanente de chiens errants, hôtes définitifs excréteurs d'oocystes de *N. caninum* concoure à la contamination des pâturages et des cours d'eau, source d'alimentation et d'abreuvement des animaux. De plus, les conditions climatiques de la région, sont en faveur d'une sporulation et survie des oocystes de *N. caninum*. Par ailleurs, le faible taux de renouvellement du cheptel, l'auto production des génisses de remplacement et l'utilisation des femelles locales fortement infectées pour la production

de métisses peuvent justifier cette forte séroprévalence vis-à-vis de *N. caninum* (84,92%). L'influence du mode d'élevage sur la séroprévalence de cette protozoose dans les troupeaux bovins a déjà été soulignée antérieurement (**BARTELS et al., 2006**).

IV.4. Étude cas-témoin : avortements et séropositivité à *N.caninum*

Nous avons réalisé une étude cas-témoin sur 60 fermes (34 fermes cas et 26 fermes témoins). Cette étude visait à mettre en évidence un lien entre la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* chez les vaches locales et les avortements. Dans cette étude, l'OR était de 0,3 (IC 95%: 0,03 -2,86) et donc pas significativement différent de 1. Par conséquent, le fait que la ferme héberge des animaux séropositifs n'est pas lié au fait que ces fermes connaissent ou non des épisodes d'avortement (pas de différence entre la séroprévalence dans les fermes cas et dans les fermes témoins).

Cette absence d'association entre la séropositivité à *N. caninum* et la présence d'avortement était en contradiction avec de nombreux travaux précédents réalisés dans le monde y compris en Algérie, qui montrent que des vaches séropositives sont probablement plus à risque d'avorter que les vaches séronégatives (**VACLAVEK et al., 2003; LOPEZ-GATIUS et al., 2004; GARCIA-VAZQUEZ et al., 2005; DUBEY et al., 2007; GONZÁLEZ-WARLETA et al., 2008; SIMSEK et al., 2008; MOORE et al., 2009; RETEROVA et al., 2009 ; GHALMI et al., 2011b**). Cependant, les résultats de notre étude cas-témoin vont dans le même sens que ceux obtenus par **YILDIZ et al(2009)**. En effet, ces derniers ont constaté que la séropositivité à *N.caninum* était presque deux fois plus élevée chez les vaches n'ayant pas avorté que ceux ayant avorté (6.83% vs 13.62%) ($p < 0.05$). Aussi, nos résultats sont en accord avec ceux de **GHALMI et collaborateurs (2012)** qui n'ont pas montré d'association statistiquement significative entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements chez la race bovine locale.

Au niveau individuel, nous avons constaté que l'OR est de 0,95 (IC 95% :0.37-2.41) ce qui est encore une fois en faveur d'une non intervention de *N. caninum* dans les avortements avec un taux d'exposition de 84,7% pour les fermes cas et de 85,4% dans les fermes témoins.

Il ressort donc de ce travail que les vaches gestantes de race locale sont fortement infectées par *N. caninum* (plus de 80% de séropositivité) mais en aucun cas on

ne peut lier la présence d'avortement et cette forte séroprévalence. Ceci est à mettre en relation avec les résultats déjà obtenus en Algérie sur la race locale (***GHALMI et al., 2011b ; 2012***).

IV.5. Étude des facteurs de risque

La connaissance des facteurs de risque d'infection à *N. caninum* ainsi que l'association entre la présence du parasite et l'observation des avortements ont été importantes pour le développement et la mise en œuvre des mesures de contrôle de la néosporose bovine (***DUBEY et al., 2007***).

Plusieurs études ont évalué les risques d'infection d'une vache ou d'un troupeau bovin par *N. caninum*. Ces facteurs de risques peuvent être influencés par la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques utilisés. Les variations seraient consécutives aux fluctuations du taux d'anticorps des bovins pendant la gestation, le stade de gestation ou le nombre de gestation (***DANNATT, 1997; PARE et al., 1997; STENLUND et al., 1999; JENSEN et al., 1999; QUINTANILLA-GOZALO et al., 2000; GUY et al., 2001 ; FIORETTI et al., 2003***).

L'utilisation de la séropositivité pour l'identification des bovins infectés est simple, mais elle ne fournit aucune information sur le mode de transmission (horizontale ou verticale) ou sur le moment de l'infection.

IV.5.1. Avortement

Si on considère la séroprévalence chez les vaches ayant avorté (91,30%), on remarque qu'elle est assez similaire à celle obtenue chez les vaches n'ayant pas avorté (82,71%). L'analyse par le test d'indépendance (chi carré) montre clairement qu'il n'y a pas d'association significative entre le fait d'avorter ou non et la séropositivité ($P=0.16$) chez la race locale. Par conséquent, *N. caninum* n'est sans doute pas la cause de cet avortement.

Ces résultats corroborent avec ceux précédemment publiés sur la race locale en Algérie qui n'ont pas montré de différence significatives entre les séroprévalences des deux groupes de vaches (***GHALMI et al., 2012***). En revanche, ils sont en contradiction avec de nombreux autres travaux qui vont dans le sens d'une relation étroite entre la

séropositivité d'une vache et l'augmentation de la probabilité d'avorter (*THURMOND et HIEATALA, 1997a; GOTTSTEIN et al., 1998; WOUDA, 2000; CORBELLINI et al., 2002; OSAWA et al., 2002; VACLAVEK et al., 2003; KASHIWAZAKI et al., 2004; DUBEY et al., 2006; HALL et al., 2005; REITT et al., 2007; MOORE, 2009; BECK et al., 2010; ASMARE et al., 2013a, b*).

IV.5.2. Âge

Nous n'avons pas pu mettre en évidence un effet de l'âge sur la séroprévalence. Les vaches infectées chroniquement peuvent transmettre l'infection aux générations successives, ce qui explique une distribution assez égale parmi les groupes d'âge dans les populations étudiées (*DAVISON et al., 1999b*). Ceci est en accord avec certaines données de la littérature (*WALDNER et al., 1998; DAVISON et al., 1999b; SEVGİLİ et ALTAŞ, 2005; KOIWAI et al., 2006; PABON et al., 2007; IBRAHIM et al., 2012*). Alors que d'autres études ont montré une augmentation de la séroprévalence en fonction de l'âge de l'animal (les plus vieux étant les plus exposés) (*BARTELS et al., 2006, 2007; ARMENGOL et al., 2007; ROMERO-SALAS et al., 2010*). Nos résultats obtenus pour l'âge sont à mettre en relation avec une transmission congénitale (verticale) du parasite. En effet, dans le cas d'une transmission horizontale, la séroprévalence augmenterait avec l'âge des bovins.

IV.5.3. Stade de gestation

Les résultats obtenus pour le stade de la gestation n'ont pas mis en évidence une différence significative. En effet, les vaches en début de gestation (1-3 mois) ont une séropositivité (82,42%) similaire à celles des vaches gestantes à des stades de gestation plus tardifs (4-6mois= 81,82%; 7-9 mois = 90,91%). Ceci tend à démontrer une stimulation continue du système immunitaire tout au long de la gestation. Des fluctuations dans les titres en anticorps durant la gestation avec une augmentation à partir de la mi-gestation ont déjà été décrites (*DANNATT et al., 1995; QUINTANILLA-GOZALO et al., 2000; OTRANTO et al., 2003; ANDRIANARIVO et al., 2005; GHALMI et al., 2012*). Dans notre étude longitudinale, différentes situations ont été rapportées (voir plus loin).

IV.5.4.Parité

Cette étude nous a permis d'observer qu'il n'existe pas d'association significative entre la parité et la séropositivité ($p>0,05$). En effet, toutes les vaches ont des séroprévalences statistiquement similaires (nullipare=78,13% ; primipare=86,84% ; multipare=86,24%) ce qui indique une transmission verticale probable dans la population étudiée. D'autres travaux ont obtenu les mêmes résultats à savoir, pas de variations en fonction de la parité (**ALMERIA et al, 2009 ; LOPEZ-GATIUS et al 2004 ; ASMARE et al 2013b**). En revanche, des travaux au Brésil (**ROMERO-SALAS et al, 2010**) ont montré une corrélation positive entre la parité et la séroprévalence des vaches. Cette dernière était plus importante chez les multipares que chez les nullipares car le temps d'exposition à la source de contamination, comme les déjections de chiens, est plus grande (transmission horizontale).

IV.6.Étude longitudinale

IV.6.1.Diagnostic de gestation

33 vaches ont été inséminées artificiellement. Le taux de gravidité était de 69,7% (23/33) à la première insémination. Ce résultat est excellent si on le compare aux taux enregistrés chez d'autres races. A titre d'exemple, au Niger, un taux de gravidité de 33,72 % a été enregistré chez la race Azaouak de zébus en milieu sahélien difficile (Issa et al., 2010); un taux similaire (31,50 %) a été enregistré chez plusieurs races au Mali dans les mêmes conditions climatiques, après deux inséminations (**BALKISSA, 2007**). En Europe, un taux de 45,9 % a été rapporté en première insémination chez la race Holstein (**FRERET et al., 2006**).

Nous avons observé un taux de gestation de 53,33 % chez les vaches séropositives contre 88,32% chez leurs congénères séronégatives. Une étude menée au Sénégal a montré que les vaches séropositives nécessitent plus d'inséminations par gestation (le taux de gestation obtenu chez les vaches séropositives à *N. caninum* était de 33,1% contre 51,7% chez les vaches séronégatives) (**KAMGA-WALADJO et al., 2012**). **MUNOZ- ZANZI et collaborateurs (2004)** montrent des résultats similaires ce qui pourrait être expliqué par un taux de mortalité embryonnaire assez élevé d'où le taux de conception moins élevé dans ces troupeaux (**HOBSON et al., 2005 ; YUSUF et al., 2010**).

Plusieurs paramètres peuvent avoir une influence sur la réponse à l'induction des chaleurs et sur la réussite de l'insémination artificielle (race, âge, numéro de lactation, nombre de jours post-partum, l'alimentation, l'habileté de l'inséminateur, l'allaitement, la détection des chaleurs, stress thermique...) et donc directement sur le taux de gravidité.

VI.6.2. Suivi de la réponse sérologique vis-à-vis de *Neospora caninum* chez les vaches gestantes

Dans cette étude, deux groupes de vaches ont subi un suivi sérologique afin d'étudier leur statut immunitaire vis-à-vis de *N. caninum* : un groupe composé de 15 vaches séronégatives et un groupe formé de 8 vaches séropositives, suite à une infection naturelle par *N. caninum*. Les deux groupes ont été suivis durant toute la gestation. Sur les 23 vaches, 22 (95,65%) ont mis bas de veaux cliniquement sains. Un seul avortement a été enregistré au 5^{ème} mois et demi de gestation chez une vache ayant expulsé 4 fœtus. Cet avortement ne semble pas devoir être imputé à *N. caninum*.

Si on prend le profil sérologique des 8 vaches séropositives individuellement, on constate ce que suit :

-Trois vaches ont montré des titres en anticorps très élevés durant toute la période de gestation. Le seuil de positivité de ces 3 vaches a dépassé largement les 100% atteignant jusqu'à 230%. Les fortes concentrations en anticorps sériques enregistrés s'expliqueraient par le fait que ces vaches ont été exposées en permanence à une forte dose du parasite indiquant que le parasite se multiplie efficacement chez l'hôte infesté. Cependant aucune des 3 vaches n'a avorté. Les données de la littérature indiquent que le risque d'avortement est plus important lorsque le taux en anticorps sérique spécifiques à *N. caninum* est très élevé (*MCALLISTER et al., 1996* ; *PARE et al., 1997* ; *SCHARES et al., 1999, 2000* ; *QUINTANILLA-GOZALO et al., 2000* ; *STENLUND et al., 2003* ; *KASHIWAZAKI et al., 2004* ; *LOPEZ-GATIUS et al., 2005*). Une étude menée en Suède a montré que lors d'un suivi sérologique durant deux gestations consécutives sur 18 vaches infectées naturellement par *N. caninum*, 5 avortements et 2 morts nés ont été enregistrés. Par ailleurs, ils ont observé que des avortements ont eu lieu à chaque

fois que les titres en anticorps étaient très élevés (**STENLUND et al., 1999**). En Belgique, une étude a montré **une** forte association entre le taux d'anticorps sérique maternel et l'apparition de lésions histopathologiques caractéristiques de *N. caninum* chez l'avorton (**DE MEERSCHMAN et al., 2002**).

Nos résultats n'ont montré aucune association entre le taux des anticorps sériques spécifiques à *N. caninum* et la survenue d'avortements chez les vaches de race locale. Ceci ne fait que renforcer l'hypothèse émise par **GHALMI et collaborateurs (2012)** qui ont montré que notre race locale pourrait résister à l'effet abortif de *N. caninum*. Il est possible que chez cette dernière, la réponse immunitaire cellulaire reste suffisamment importante pour protéger le fœtus. Une autre hypothèse pourrait se jouer au niveau de la barrière placentaire dont la traversée pourrait nécessiter des récepteurs spécifiques absents chez la race locale.

- Pour 4 autres vaches séropositives, nous avons constaté qu'au début de la gestation, le degré de positivité était faible à moyen. Par la suite, vers le mi gestation, le seuil a augmenté progressivement pour atteindre vers la fin de la gestation des taux en anticorps sériques très élevés. Aucun avortement n'a été signalé chez ces vaches. Ce résultat va encore une fois dans le sens d'une résistance à l'effet abortif de *N. caninum*. L'élévation des titres en anticorps peut s'expliquer soit par une réinfection où une réactivation des parasites enkystés sous forme de bradyzoïte dans les tissus après une infection initiale. Des observations similaires ont été faites dans d'autres travaux qui ont rapporté que généralement, les titres moyens d'anticorps anti-*N. caninum* commencent à augmenter vers le 4^{ème} et 5^{ème} mois avant la parturition témoignant d'une réactivation du parasite (**CONRAD et al., 1993; PARE et al., 1997; PIERGILI et al., 2003**).
- Une seule vache a montré un profil différent puisque contrairement aux autres. Nous avons remarqué que ces titres en anticorps diminuaient au cours de la gestation pour se situer en dessous du seuil de détectabilité entre le 4^{ème} et 7^{ème} mois de la gestation. Par la suite, une nette augmentation a été constatée jusqu'au

vêlage. Les faibles concentrations en anticorps enregistrés durant la 2^{ème} moitié de gestation s'explique probablement par le fait que la charge parasitaire n'est pas assez importante que pour stimuler assez la réponse immunitaire à médiation humorale. Il serait intéressant de voir ce qu'il en est de la réponse immunitaire cellulaire. Dans le même sens, des auteurs ont trouvé des fluctuations des niveaux d'anticorps Anti-*N.caninum* pendant la gestation chez des vaches infectées naturellement, parfois même avec des valeurs inférieures au seuil de détectabilité pour les tests utilisés (**CONRAD et al., 1993; DANNATT, 1997**).

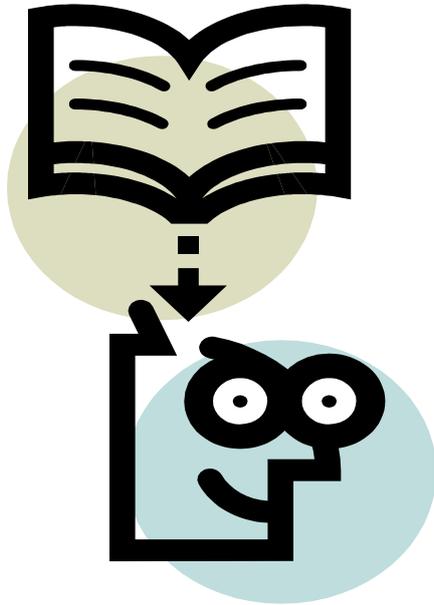
De nombreuses études ont montré que la plupart des bovins qui ont transmis *N. caninum* à leur descendance avait une augmentation marquée des anticorps anti-*N. caninum* pendant la gestation (**CONRAD et al., 1993; PARE et al., 1997; STENLUND et al., 1999; GUY et al., 2001**). A contrario, **GUY et collaborateurs (2001)** ont constaté que les vaches qui n'ont pas transmis l'infection verticalement au veau n'ont pas eu une augmentation marquée des anticorps anti *N. caninum* durant la gestation. Dans notre étude, nous avons constaté que toutes les vaches séropositives ont mis bas de veaux séropositifs avec un taux en anticorps élevé ce qui prouve la transmission verticale de l'infection dans les exploitations étudiées.

- Les niveaux d'anticorps sont demeurés bas chez toutes les vaches séronégatives et ce, durant toute la durée de la gestation. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'aucune transmission horizontale ni séroconversion n'ont été détectées dans ce groupe. Ces vaches ont vêlé de veaux séronégatifs ne présentant aucun signe clinique. Les mêmes résultats ont été obtenus lors d'une étude longitudinale de suivi sérologique de 113 vaches (30 initialement séropositives et 83 vaches initialement séronégatives) au cours de leur gestation (**HASLER et al., 2006**). Cependant, parmi les 83 vaches séronégatives, une vache fut testée positive à trois reprises au cours du sixième, huitième et dernier mois de gestation. Cette dernière a donné naissance à un veau cliniquement sain. Ils ont expliqué ces résultats positifs par la transmission horizontale au cours de la gestation. D'autre

part toutes les autres vaches séronégatives dans la même ferme sont restées séronégatives ce qui témoignent d'un événement isolé.

Certains soulignent que l'acquisition d'une infection à *N. caninum* au cours de la gestation n'est pas nécessaire pour que l'avortement se produise (***PARE et al, 1997***).

Une seule vache du groupe des séronégatifs a avorté de 4 fœtus au 5^{ème} mois et demi de gestation. Nous n'avons pas pu récupérer les avortons pour les analyser. Cependant, l'origine possible de cet avortement est probablement liée à la gestation multiple. Dans le groupe des vaches séronégatives nous avons enregistré deux naissances gémellaires (taux de gémellité de 14,28%). Ce taux de gémellité et les 4 fœtus rejetés, pourraient être expliqués par l'utilisation de la PMSG. En effet, la dose de 500 UI de PMSG utilisée pour accentuer la réponse des femelles a été probablement élevée. Il serait intéressant et afin d'éviter ce problème de diminuer la dose de la PMSG ou de ne pas l'utiliser carrément pour les vaches de race locale.



Conclusion Générale et

recommandations

V. Conclusion

A l'heure actuelle, *N. caninum*, est reconnue comme étant une cause majeure d'avortements chez les bovins partout dans le monde.

L'étude de la séroprévalence chez la vache de race locale a révélé une valeur très importante de l'ordre de 85%. Cependant, l'étude cas-témoin n'a pas mis en évidence une association entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements et par conséquent, ces derniers enregistrés dans les fermes étudiées ne peuvent être attribuables à *N. caninum*. La séropositivité chez les vaches de race locale ne semble pas être un facteur de risque pour les avortements bien qu'elles soient le plus exposées aux sources d'infection, par rapport aux autres populations bovines. Aucun des facteurs de risque étudiés ne s'est montré significativement associé à la séroprévalence pour la race locale.

L'étude longitudinale visant à suivre la réponse sérologique vis à vis de *N. caninum* durant toute la gestation montre que toutes les vaches séropositives et fortement séropositives ont mis bas des veaux cliniquement sains.

Les résultats obtenus semblent confirmer la résistance de notre race bovine locale aux avortements dus à *N. caninum*, malgré une forte exposition au parasite.

VI. Recommandations

1. le test ELISA Bio-X doit être validé par rapport à la méthode IFAT prise comme méthode de référence.
2. Nous recommandons de travailler sur un échantillon plus élevé de fermes et de bovins afin de confirmer les conclusions obtenues dans cette étude. L'augmentation de l'effectif devra s'accompagner d'une augmentation de l'étendue de la zone géographique d'étude.
3. La recherche du mécanisme par lequel la race bovine locale résiste aux avortements dus à *N. caninum* devra faire l'objet d'une étude génétique poussée. On peut dans un premier temps comparer les génomes de la race locale avec ceux des races sensibles à *N. caninum* afin de mettre en évidence les différences. A terme, le but est d'identifier le ou les gènes impliqués ainsi que les mécanismes sous-jacents.



Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **ABDELTIF B., GHALMI F., TENNAH S.** Aperçu sur les ressources génétiques bovines en Algérie. 11èmes Journées Internationales des Sciences Vétérinaires , ENSV, El harrach-Alger, 2013.
2. **AISSAOUI C., BENAKHLA A., AOUADI H.** Caractérisation du bovin race locale dans l'Est algérien :Etude biométrique et structurale du troupeau. Renc. Rech. Ruminants, 2003, **10**, 111.
3. **AKCA A., GOKCE H.I., GUY C.S., MCGARRY J.W., WILLIAMS D.J.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. Res. Vet. Sci., 2005,**78**, 123-126.
4. **ALMERIA S., LOPEZ-GATIUS F., GARCIA-ISPIERTO I., NOGAREDA C., BECH-SABAT G., SERRANO B., SANTOLARIA P., YANIZ J.L.** Effects of crossbreed pregnancies on the abortion risk of *Neospora caninum*-infected dairy cows. Vet. Parasitol., 2009, **163**, 323–329.
5. **ALMERIA S., DE MAREZ T., DAWSON H., ARAUJO R, DUBEY J.P., GASBARRE L.C.** Cytokine gene expression in dams and foetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. Paras Immunol.,2003, **25**, 383-392.
6. **ALVAREZ-GARCÍA G., GARCÍA-CULEBRAS A., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO D., NAVARRO-LOZANO V., PASTOR-FERNÁNDEZ I., ORTEGA-MORA L.M.** Serological diagnosis of bovine neosporosis: A comparative study of commercially available ELISA tests. Vet. Parasitol., 2013, **198**, 85– 95.
7. **AMMANN P., WALDVOGEL A., BREYER I., ESPOSITO M., MÜLLER N., GOTTSTEIN B.** The role of B- and T-cell immunity in toltrazuril-treated C57BL/6 WT, μ MT and nude mice experimentally infected with *Neospora caninum*. Parasitol. Res.,2004, **93**, 178–187.
8. **AMRANE A.K.** Elément pour une caractérisation de la race bovine locale. Mémoire pour l'accès aus corps des ingénieurs d'état. ITEBO. Fetzara, Annaba.1987, 30p.
9. **ANDERSON M.L., ANDRIANARIVO A.G., CONRAD P.A.** Neosporosis in cattle. Anim. Reprod. Sci., 2000, **60-61**, 417-431.

- 10. ANDERSON M.L., BARR B.C., CONRAD P.** Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clin. North Am. : Food Anim. Pract.*, 1994, **10**(3), 439-461.
- 11. ANDERSON M.L., BLANCHARD P.C., BARR B.C., DUBEY J.P., HOFFMAN R.L., CONRAD P.A.** Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1991, **198**(2) 241-244.
- 12. ANDERSON M.L., PALMER CH.W., THURMOND M.C., PICANSO JP, BLANCHARD PC, BREITMEYER RE, LAYTON A.W, MCALLISTER M, DAFT B, KINDE H, READ D.H., DUBEY J.P., CONRAD P.A., BARR B.C.** Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1995, **207**(9), 1206-1210.
- 13. ANDERSON M.L., REYNOLDS J.P. ROWE J.D., SVERLOW K.W, PACKHAM A.E., BARR B.C., CONRAD P.A.** Evidence of vertical transmission of *Neospora sp.* infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997, **210**, 1169-1172.
- 14. ANDRIANARIVO A. G., ANDERSON M. L., ROWE J. D., GARDNER I. A., REYNOLDS J. P., CHOROMANSKI L., CONRAD P. A.** Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.*, 2005, **96**, 24-31.
- 15. ANDRIANARIVO A. G., ANDERSON M. L., ROWE J. D., GARDNER I. A., REYNOLDS J. P., CHOROMANSKI L., CONRAD P. A.** Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.*, 2005, **96**, 24-31.
- 16. ANDRIANARIVO A.G., CHOROMANSKI L., MCDONOUGH S.P.** Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J. Parasitol.*, 1999, **29**, 1613-1625.
- 17. ANDRIANARIVO A.G., ROWE J.D., BARR B.C. , ANDERSON M.L., PACKHAM A.E., SVERLOW K.W., CHOROMANSKI L., LOUI C., GRACE A., CONRAD P.A.** A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.*, 2000, **30**, 985-990.

- 18. ARMENGOL R., PABON M., ADELANTADO C., LOPEZ-GATIUS F., ALMERIA S.** First report of *Neospora caninum* abortion in a beef cow-calf herd from Andorra, Europe. *J. Parasitol.*, 2006, **92**, 1361-2.
- 19. ASMARE K., REGASSA F., ROBERTSON L.J., MARTIN A.D., SKJERVE E.,** Reproductive disorders in relation to *Neospora caninum*, *Brucella spp.* and bovine viral diarrhoea virus serostatus in breeding and dairy farms of central and southern Ethiopia. *Epidemiol. Infect.*, 2013a, **141**, 1772-1780 .
- 20. ASMAREA K. REGASSAB f., ROBERTSON L.J., SKJERVEC E.,** Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. *Vet. Parasitol.* 2013b, **193**, 85-94.
- 21. ATKINSON R.A., HARPER P.A.W., REICHEL M.P., ELLIS J. T.** Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle . *Parasitol. Today*, 2000, **16**, 110-114.
- 22. AYAD A., SOUSA N.M., HORNICK J.L, TOUATI K., IGUER-OUADA M., BECKERS J.F.** Endocrinologie de la gestation chez la vache : signaux embryonnaires, hormones et protéines placentaires. *Ann. Méd. Vét.*, 2006, **150**, 212-226.
- 23. BAILLARGEON P., FECTEAU G., PARE J., LAMOTHE P., SAUVE R.** Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc.*, 2001, **218**(11), 1803–1806.
- 24. BALKISSA G. G.** Maitrise du cycle chez les bovins dans les élevages périurbains de Bamako et zone rurale : détermination du degré d'efficacité des traitements à base de progestagènes. Mém. fin de cycle, IPR/IFRA, Katibougou, Mali, 2007, 41p.
- 25. BALL P.J.H. et PETERS A.R.** *Reproduction in Cattle* .Third Edition. Blackwell Publishing, Oxford, 2004. 242 p.
- 26. BALLERY R.** Mise au point sur les protocoles de maitrise des cycles les bovins. Thèse Med Vet. ENV de lyon, 2005, **59**, 135p.
- 27. BARBER J.S.** Néosporose canine. *Waltham focus*, 1998,**8**(1), 25-29.
- 28. BARBRY JB.** Diagnostic de gestation chez la vache : dosage des protéines associées à la gestation dans le sang et le lait par méthode ELISA Idexx. Thèse Med. Vet. ENV Lyon , 2012, 133p.

- 29. BARICCO G., COLOMBO N., RICHARD A., TAINTURIER D.** Utilisation du décoquinat à la posologie de 1 mg/kg pendant 2 mois dans un élevage allaitant atteint de néosporose pour réduire l'incidence des avortements. Observation clinique. Renc. Rech. Ruminants., 2002, **9**,47.
- 30. BARLING K.S., MCNEILL J.W., THOMPSON J.A., PASCHAL JC, MCCOLLUM III F.T., CRAIG T.M., ADAMS L.G.** Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. J. Am. Vet. Med. Ass., 2000, **217**(9), 1356-1360.
- 31. BARR B.C., ANDERSON M.L., BLANCHARD P.C. DAFT B. M., KINDE H., CONRA P. A.** Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. Veterinary Pathology, 1990, **27**, 354-361.
- 32. BARR B.C., ANDERSON M.L., DUBEY J.P., CONRAD P.A.** Neospora-like protozoa infections associated with bovine abortions. Veterinary Pathology, 1991, **28**, 110-116.
- 33. BARTELS C. J. M., HOGVEEN H., VAN SCHAIK G., WOUDA W., DJISTRA T.** estimated economic losses due to *Neospora caninum* in dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics; SVEPM Ann Meet University, Devon, United kingdom p191-201.
- 34. BARTELS C.J.M., ARNAIZ-SECO J.I., RUIZ-SANTA-QUITERA A., BJÖRKMAN C., FRÖSSLING J. VON BLUMRÖDER D., CONRATHS F.J., SCHARES G., VAN MAANEN C., WOUDA W., ORTEGA-MORA L.M.** Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. Vet. Parasitol., 2006, **137**, 17-27.
- 35. BARTELS C.J.M., WOUDA W., SCHUKKEN Y.H.** Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortions storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). Theriogenology, 1999, **52**, 247-257.
- 36. 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.
- 37. BECK R., MARINCULIĆ A., MIHALJEVIĆ Ž., BENIĆ M., MARTNKOVIĆ F.** seroprevalence and potential risk factors of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in Croatia. Vet. Arhiv., 2010 **80**(2) 163-171.

- 38. BEFFARA C.** Comparaison de l'efficacité du traitement de synchronisation des chaleurs Crestar® classique avec celle d'un nouveau traitement combinant buséréline. Thèse Med Vet. ENV d'Alfort, 2007, 92p.
- 39. BELCACEM S. et BENABBAS K.** Principaux essais entrpris au maghreb pour la connaissance de la race bovine locale la brune de l'atlas. Thèse d'ingénieur, INA, El harrach-Alger, 1998, 80p.
- 40. BENCHAAAR C.** Contribution à l'étude de l'élevage bovin local dans la région de Annaba INA, El harrach-Alger, 1987, 76p.
- 41. BENYOUCEF M. T.** Développement de la production laitière en Algérie, Revue Algérie verte .Premier trimestre, 1986.
- 42. BERGER E.** Contribution à l'étude des avortements d'origine infectieuses non brucelliques chez les bovins: enquête rétrospective dans les GDS de Côte d'Armor, Côte d'Or, Loire Atlantique et Manche. Thèse Med Vet. Maisons-Alfort, ENV d'Alfort, 1999.
- 43. BERGERON N., FECTEAU G., PARE J., MARTINEAU R., VILLENEUVE A .** Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. Can. Vet. J., 2000, **41**, 464-467.
- 44. BIELANSKI A., ROBINSON J., PHIPPS-TODD B.** Effect of *Neospora caninum* on in vitro development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. Vet Rec. 2002. **150**(10), 316-318.
- 45. BJERKAS I., MOHN S. F., PRESTHUS J.** Unidentified cyst-forming-sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Zeitschrift für Parasitenkunde., 1984, **70**, 271-274.
- 46. BJERKAS I., DUBEY J.P.** Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. Act. Vet. Scandin., 1991, **32**, 407-410.
- 47. BJÖRKMAN C., UGGLA A.** Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. Int. J. Parasitol., 1999, **29**(10), 1497-1507.
- 48. BJÖRKMAN C., ALENIUS S., MANUELSSON U., Uggla A .** "Neospora caninum and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion." Vet. J. 2000, **159**(2), 201-206.

Références Bibliographiques

49. **BJÖRKMAN C., JOHANSSON O., STENLUND S., HOLMDAHL O.J., UGGLA A.** Neospora species infection in a herd of dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Ass., 1996, **208**(9), 1441-1444.
50. **BJÖRKMAN C., LUNDEN A.** Application of iscom antigen preparations in ELISAs for diagnosis of *Neospora* and *Toxoplasma* infections. Int.J.parasitol., 1998, **28**(1), 187-193.
51. **BJÖRKMAN C., MCALLISTER M.M., FRÖSSLING. J., NÄSLUND K., LEUNG F., UGGLA A.** Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. J. vet. Diag. Inves., 2003, **15**, 3-7.
52. **BOISSON B.** Diagnostic de gestation chez la vache par dosage d'une protéine bovine trophoblastique ; la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : bovine Pregnancy associated Glycoprotein). Thèse Med.Vet. Nantes 1992.
53. **BONNAND P. CHARBONNIER G. CHEVALLIER A. et al.** Repro guide. Groupe Fertilité Femelle, UNCEIA, 2007, 48p.
54. **BONNEFOY M.** Espèce Bovin . Algérie exposition universelle de 1900. Université de Princeton ,101 pages. Cité par **KERKATOU B.** Contribution a l'étude du cheptel bovin en algérie, les populations bovines locales.Thèse d'ingénieur,INA, El Harrach-Alger, 1989,104p.
55. **BOUVERET M.** Approche sero-epidemiologique des avortements a *Neospora caninum* chez les bovins dans le departement du jura. Thèse Med.Vet. ENV lyon , 2004, 217p.
56. **BRUGERE-PICOUX J., ADLER CL., CHASTANT S. MILLEMANN Y, REMY D.** La néosporose bovine: une cause majeure d'avortement ? Bull. Soc. Vét. Prati. France, 1998, **82**(4),177-201.
57. **BRUYAS J.F.** Cycle oestral et détection des chaleurs. Dépêche Vét., suppl.1991, 19., 9-14.
58. **BRUYERE P.** Mise en evidence des signes secondaires de chaleurs chez la vache laitiere par videosurveillance ; étude au centre lucien biset de poisy (74330). Thèse Med Vet. ENV Lyon, 2009,127 p.
59. **BUSSIERAS J. CHERMETTE R .**Protozoologie vétérinaire, 2nd ed. Maisons Alfort : Service de Parasitologie de l'ENVA.1992, 186p. Cité par **LELEU A.** Infection à

Références Bibliographiques

Neospora caninum dans la faune sauvage française. Thèse Med.Vet. Alfort, 2003, 107p.

- 60. BUXTON D., MALEY S.W., PASTORET P.P., BROCHIER B., INNES E.A.** Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Record*, 1997, **141**, 308-309.
- 61. BUXTON D., MC ALLISTER M.M., DUBEY J.P.** The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.*, 2002, **18**(12), 546-552.
- 62. CHASTANT-MAILLARD S., BALANDRAUD J., JEGOU L., KESSLER T., QUINTON H., CONSTANT F. MIALOT J.P.** Actualités dans le traitement de l'infécondité chez la vache : autour du GnRH. In : *Conduite à tenir de l'animal au troupeau, du troupeau à l'animal*. JNGTV Ed, Paris , 2002, 217-224.
- 63. CHERMETTE R., MARQUER A.** *Neospora caninum*: un nouveau parasite ? *Point vét.*, 2000, **31**(208), 9-14.
- 64. CHI J., VANLEEUWEN J.A., WEERSINK A., KEEFE G.P.** Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum*. *Pre. vet Med.*, 2002, **55**, 137-153.
- 65. COLE A., LINDSAY D.S., DUBEY J.P., BLAGBURN B.L.** Detection of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. *J. Vet Diagn. Invest.*, 1993, **5**(4), 579-584.
- 66. CONRAD P.A., SVERLOW K., ANDERSON M., ROWE J., BONDURANT R., TUTER G., BREITMEYER R., PLAMER C., THURMOND M., ARDANS A., DUBEY J.P., DUHAMEL G., BARR B.** Detection of serum antibody response in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1993, **5**, 572-578.
- 67. CONSTANT F et GUILLOMOT M.** Formation et fonctionnement du placenta des bovidés. *Point vet.* 2006, 6-11.
- 68. CORBELLINI L.G., DRIEMEIER D., CRUZ C.F.E., GONDIM L.F.P., WALD V.** Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 2002, **103**, 195-202.

- 69.CUTERI V., PREEIUSO S., ATTILI A., TRALDI G., GURRA M., NISOLI L., LULLA D.** Application of a new therapeutic protocol against *Neospora caninum*-induced abortion in cattle: a field study. J. An. Vet. Ad.,2005, **4**, 510-514.
- 70.DANNATT L., GUY F., TREES A. J.** Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. Vet. Rec., 1995, **137**, 566-567.
- 71.DAVISON H. C., FRENCH N. P., TREES A. J.** Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. Vet. Rec.,1999b, **144**, 547-550.
- 72.DAVISON H.C., GUY C.S., MAC GARRY J.W., GUY S., WILLIAMS D.J.L., KELLY D.F., TREES A.J.** Experimental studies of the transmission of *Neospora caninum* between cattle. Research in veterinary Science, 2001, **70**, 163-168.
- 73.DAVISON H.C., OTTER A., TREES A.J.** Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. Int. J. Parasitol.,1999a, **29**, 1683-1689.
- 74.DE MAREZ T., LIDDELL S., DUBEY J.P., JENKINS M.C., GASBARRE L.** Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs : humoral and cellular immune responses. Int. J. Parasitol., 1999, **29**, 1647-1657.
- 75.DE MEERSCHMAN F., LOSSON B.** *Neospora caninum*: un nouvel agent abortif chez le bovin et autres espèces domestiques. An. Méd. Vét.,1998b, **142**, 299-305.
- 76.DERIVAUX J et ECOTORS F.** Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. Edit point vet., 1980, 273p.
- 77.DESCOTEAUX L, GNEMMI G, COLLOTON J.** Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants. s.l. : Med'com, 2009,239p.
- 78.DEZAUX P.**Synchronisation des chaleurs chez les vaches allaitantes par l'association GnRh-PgF2 α -GnRh. Thèse Med Vet. ENV Alfort , 2001,91 p.
- 79.DIJKSTRA T., BARKEMA H. W., HESSELINK J. W., WOUDA W.** Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. Vet. Parasitol., 2000, **105**, 89-98.
- 80.DIJKSTRA T.;EYSKER M., SCHARES G., CONRATHS F.J., WOUDA W., BARKEMA H.W.** Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected

bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. Int. J. Parasitol., 2001, **31**, 747-752.

81. DIJKSTRA TH., BARKEMA H.W., HESSELINK J.W., HESSELINK J.W., WOUDA W. . Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. Vet. Parasitol., 2002b, **105**, 99-104.

82. DIJKSTRA TH., BARKEMA H.W., HESSELINK J.W., WOUDA W. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. Veterinary Parasitology, 2002a, **105**, 89-98.

83. DOBSON H., ROWAN T.G., KIPPAX I.S., HUMBLLOT P. Assessment of fetal number, and placental viability throughout pregnancy in cattle. Theriogenology, 1993, **40**, 411-425.

84. DOMBOU E. Séroprévalence de la néosporose (*Neospora caninum*) chez quelques espèces animales du Parc Forestier et Zoologique de Hann (Sénégal). Thèse Med vet. E.I.S.M.V., 2008, 80.

85. DRION P.V., BECKERS J.F. Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : Folliculogénèse et atrophie. Point. Vét., 1996, **28**, 37-47.

86. DSA (Direction des services agricoles de la wilaya de Jijel). Recensement général. 2012.

87. DUBEY J. P., BUXTON D., WOUDA W. Pathogenesis of bovine neosporosis. J. Comp. Pathol., 2006, **134**, 267-289.

88. DUBEY J. P., HARTLEY W. J., LINDSAY D. S., TOPPER M. J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. J. Parasitol., 1990b, **76**, 127-130.

89. DUBEY J. P., LINDSAY D. S. Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract., 2006, **22**, 645-71.

90. DUBEY J. P., LINDSAY D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. Am. J. Vet. Res., 1989, **50**, 1578-1579.

91. DUBEY J.P. La néosporose bovine. Société Française de Buiatrie – Paris, 2000, 104-109.

92. DUBEY J.P. La néosporose bovine. Société Française de Buiatrie – Paris, 2002, 104-109.

- 93. DUBEY J.P.** *Neospora caninum*: a look at a new *Toxoplasma*-like parasite of dogs and other animals. Special focus: parasitology, 1990, **12**(5), 653-663.
- 94. DUBEY J.P.** Neosporosis in cattle: biology and economic impact. Journal of the American veterinary medical Association, 1999a, **214**(8), 1160-1163.
- 95. DUBEY J.P.** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Vet. Parasitol., 1999b, **84**, 349-367.
- 96. DUBEY J.P.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J. Parasitol. 2003, **41**(1), 1-16.
- 97. 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, **32**(8) 929-946.
- 98. 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., 1988a, **192**, 1269-1285.
- 99. DUBEY J.P., HATTEL A.L., LINDSAY D.S., TOPPER M.J.** Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1988b, **193**(10), 1259-1263.
- 100. DUBEY J.P., JENKINS M.C., ADAMS D. S., MC ALLISTER M.M., ANDERSON SPRECHER R.** Antidody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. J. Parasitol., 1997, **83**, 1063-1069.
- 101. DUBEY J.P., KOESTNER A., PIPER R.C.** Repeated transplental transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1990a, **197**, 857-860.
- 102. DUBEY J.P., LINDSAY D.S.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol., 1996, **67**, 1-59.
- 103. DUBEY J.P., LINDSAY D.S.** Neosporosis. Parasitology Today, 1993, **9**(12), 452-458.

- 104. DUBEY J.P., LINDSAY D.S., ANDERSON M.L. DAVIS S.W., SHEN S.K.** Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1992, **201**(5), 709-713.
- 105. DUBEY J.P., SCHARES G., ORTEGA-MORA L.M.** Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. Clin Microbiol. Rev.,2007, **20**, 323-367.
- 106. ENRICAN G.** Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. J. Comp. Pathol.,2001, **126**, 79-94.
- 107. ESPOSITO M., STELLER R., MOORES S. L., PIDATHALA C., MÜLLER N., STACHULSKI A., BERRY N.G., ROSSIGNOL J.F., HEMPHILL A .** *In Vitro* Efficacies of Nitazoxanide and Other Thiazolides against *Neospora caninum* Tachyzoites Reveal Antiparasitic Activity Independent of the Nitro Group. Antimicrob. Agents Chemother.,2005, **49**,3715–3723.
- 108. FARD S.R.N., KHALILI M., AMINZADEH A.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in cattle in Kerman province, south east Iran.Veterinarski Arhiv, 2008, **78**, 253–259.
- 109. FIORETTI D.P., 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. Med., 2003, **50**, 399-404.
- 110. FRERET S., PONSART C., RAID., JEAN GUYOT N., PACCARD P., HUMBLLOT P.** Facteurs de variation en première insémination artificielle et taux de mortalités embryonnaires en élevage laitier Prim' Holstein. 2006, In : 13es Rencontres Recherches Ruminants, Paris, France.
- 111. GARCIA-VAZQUEZ Z., CRUZ-VAZQUEZ C., MEDINA-ESPINOZA L., GARCIA-TAPIA D.,CHAVARRIA-MARTINEZ B.** Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. Vet. Parasitol ., 2002, **106**, 115-120.
- 112. GARCIA-VAZQUEZ Z., ROSARIO-CRUZ, R., RAMOS-ARAGON, A .,CRUZ-VAZQUEZ C., MAPES-SANCHEZ G.** *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. Vet. Parasitol, 2005, **134**, 61-65.

113. **GAYRARD V., PICARD-HAGEN N., BERTHELOT P.** La gestation chez les ruminants: comment l'embryon se développe et se maintient dans l'utérus. Bulletin des GTV, 2003, **21**, 23-30.
114. **GEOFFROY S. H.** l'élevage dans l'Afrique du nord : Maroc, Algérie, Tunisie. Challamel, 1919, 530p.
115. **GHALMI F.** La réponse immunitaire induite par *Neospora caninum*. Ann. Méd. Vét., 2011 a, **155**, 38-52.
116. **GHALMI F., CHINA B., GHALMI A., HAMMITOUCHE D. , LOSSON B.** Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. Res. Vet. Science., 2012, **93**, 655-661.
117. **GHALMI F., CHINA B., KAIDI R., LOSSON B.** Evaluation of a SRS2 sandwich commercial enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in bovine and canine sera. J. Vet. Diagn. Invest. 2009, **21**, 108-111, 2009.
118. **GHALMI F., CHINA B., KAIDI R., LOSSON B.** *Neospora caninum* is associated with abortion in Algerian cattle. J.Parasitol., 2011b, 97(6).1121-1124.
119. **GHALMI F., CHINA B., LOSSON B.** Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum*. Ann. Méd. Vét., 2007, **151**, 123-149.
120. **GIBNEY H., KIPAR A., ROSBOTTOM A., , GUY C.S., SMITH R.F., HETZEL U., TREES AJ, WILLIAMS DJ .** 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.
121. **GILBERT B., JEANINE D., CAROLE D., CAROLE D., RYMOND G., ROLAND J. ANDREL. LOUIS M. GISELE R.** Reproduction des animaux d'élevage. Edit. Educargi France, 2005, 406p.
122. **GONDIM L.F., GAO L., MCALLISTER M.M.** Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. J. Parasitol., 2002, **88**, 1159-1163.
123. **GONZALEZ L., BUXTON D., ATXAERANDIO R., ADURIZ G., MALEY S., MARCO J.C., CUERVO L.A.** Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. Vet. Rec., 1999, **144**(6), 145-150.

- 124. GONZALEZ-WARLETA M., CASTRO-HERMIDA M.J.A., CARRO-CORRAL C., CORTIZO-MELLA J., MEZO M.** Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain). *Parasitol. Res.*, 2008, **102**, 243-249.
- 125. GOTTSTEIN B. RAZMI G. R. AMMANN P., SAGER H., MÜLLER N.** Toltrazuril treatment to control transplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice. *Parasitol.*, 2005, **130**, 41-48.
- 126. GOTTSTEIN B., HENTRICH B., WYSS R., THUR B., BUSATO A., STARK K. D., MÜLLER N.** Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int. J. Parasitol.*, 1998, **28**, 679-691.
- 127. GRIMARD B, HUMBLLOT P, MIALOT JP, PONTER AA, CHASTANT S.** Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *INRA Prod. Anim.*, 2003, **16**, 211-227.
- 128. GUEDES M.H.P., GUIMARÃES A.M., ROCHA C.M.B.M., HIRSCH C.** Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2008, **17**, 189-194.
- 129. GUILLOMOT M.** L'implantation du blastocyste. In: **THIBAUT C. et LEVASSEUR M.C.** La reproduction chez les Mammifères et l'homme. Edit. Ellipses edition Marketing S.A. 2001. 832 pages.
- 130. GUILLOT J., ESCRIOU C., FRITZ D.** La néosporose canine. *Point vét*, 2000, **31**, (208), 29-35.
- 131. GUPTA, G.D., LAKRITZ, J., KIM, J.H., Kim D.Y. Kim J.K., MARSH A.E.** Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Vet. Parasitol.* 2002. **106**(3), 193-201.
- 132. GUY C.S., WILLIAMS D.J.L., KELLY D.F., MCGARRY J.W., GUY F., BJORKMANN C., SMITH R.F., TREES A.J.** *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet. Rec.* 2001, **149**, 443-449.
- 133. HANSEL W., BLAIR R.M.** Bovine corpus luteum : A historic overview and implications for future research. *Theriogenology* ,1996, **45**, 1267-1294.

134. HANZEN C., LOURTIE O., DRION P.V. Le développement folliculaire chez la vache : Aspects morphologiques et cinétiques. *Ann. Med. Vet.*, 2000, **144**, 223-235.
135. HASLER B., HERNANDEZ J. A., REIST M., SAGER H., STEINER-MORET C., STAUBLI D., STARK K. D. C., GOTTSTEIN B. *Neospora caninum*: Serological follow-up in dairy cows during pregnancy. *Vet. Parasitol.* 2006, **137**, 222-230.
136. HEMPHILL A .The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv. Parasitol* ,1999, **43**, 47-104.
137. HEMPHILL A., GOTTSTEIN B., CONRAIHS F.J., DE MEERSCHMAN F., ELLIS J.T., INNES E.A., MCALLISTER M.M., ORTEGA-MORA L.M., TENTER A.M., TREES A.J., UGGLA A., WILLIAMS D.J.L., WOUDA W. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 2000, **30**, 877-924.
138. HO M.S.Y., BARR B. C., MARSH A. E., ROWE J.D., TARANTAL A.F., HENDRICKX A.G., SVERLOW K, DUBEY J.P., CONRAD P.A. Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small subunit rRNA sequence probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.*,1996, **34**, 1203-1208.
139. HOAR B.R., MCQUARRY A.C., HIETALA S.K.,. Prevalence of *Neospora caninum* and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy-breed steers in a feedlot. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2007, **230**, 1038–1043.
140. HOBSON J.C., DUFFIELD T.F., KELTON D., LISSEMORE K., HIETALA S.K., LESLIE K.E., MCEWEN B., PEREGRINE A.S. Risk factors associated with abortion in Ontario Holstein dairy herds .*Vet. parasitol.* 2005, **127**, 177-188.
141. HOLDSWORTH R.J., HEAP R.B., BOOTH J.M., HAMON M. A rapid direct radioimmunoassay for the measurement of oestrone sulphate in the milk of dairy cows and its use in pregnancy diagnosis. *J.Endocrinol.* 1982, **95**, 7-12.
142. <http://easycalculation.com/statistics/odds-ratio.php> (Consulté le 15/05/2014).
143. http://www.aly.abbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre.html (Consulté le 15/05/2014).
144. HULDT G. Serodiagnosis of parasitic infection. *Parasitol.*,1981, **82**, 49-55.
145. HUMBLLOT P., CAMOUS S., MARTAL J., CHARLERY J. JEANGUYOT N., THIBIER M. SASSER R.G. Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and

Références Bibliographiques

- embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. J. Reprod. Fert., 1988, **83**, 215-223.
- 146. IBRAHIM. A.M.E., ELFAHAL A.M., ELHUSSEIN A.R.M.** First report of *Neospora caninum* infection in cattle in Sudan. Trop. Anim. Health. Prod. 2012, **44**, 769-772.
- 147. INNES E. A., VERMEULEN A.N.** Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*; *Toxoplasma* and *Neospora*. Parasitol., 2006, **133** suppl:1, 45-68.
- 148. INNES E.A., ANDRIANARIVO A.G., BJORMAN C., WILLIAMS D.J.L., CONRAD P.A.** Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. Trends in Parasitol., 2002, **18** (11), 497-404.
- 149. INNES E.A., BUXTON D., MALEY S., WRIGHT S., MARKS J., ESTEBAN I., RAE A., SCHOCK A., WASTLING J.** Neosporosis : Aspects of epidemiology and host immune response Ann. N. Y. Acad. Sci., 2000, **916**, 93-101.
- 150. INNES E.A., PANTON WRM., MARKS J., TREES A.J., HOLMDAHL J., BUXTON D.** Interferon gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora caninum* as shown by incorporation of H3 Uracil. J. Comp. Pathol., 1995, **113**, 95-100.
- 151. ISSA M., MARICHATOU H., SEMITA C., BOUREIMA M., KEITA M., NERVO T., YENIKOYE A., CRISTOFORI F. TRUCCHI G., QUARANTA G.** Essais préliminaires d'inséminations artificielles en station chez les femelles zébus Azaouak au Niger. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop., 2010, **63** (1-2), 41-46.
- 152. ITEBO (Institut Technique de l'Élevage Bovin et Ovin en Algérie).** Connaissance de la race bovine algérienne, Blida, 1997, 4 pages.
- 153. JENKINS M. C., CAVER J. A., BJORKMAN C., ANDERSON T. C., ROMAND S., VINYARD B., UGGLA A., THULLIEZ P., DUBEY J. P.** Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. Vet. Parasitol., 2000, **94**, 17-26.
- 154. JENKINS M., BASZLER T., BJÖRKMAN C., SCHARES G., WILLIAM D.** Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. Int. J. Parasitol., 2002, **32**(5), 631-636.

- 155. JOSHI N. R., MCLAUGHLIN E. A., PHILLIPS R. W.** Les bovins d'Afrique: types et races. Agricultural Studies No. 37. Rome, FAO,1957, 317p. Cité par **BELCACEM S et BENABBAS K.** Principaux essais entrepris au maghreb pour la connaissance de la race bovine locale la brune de l'atlas. Thèse d'ingénieur,INA, El harrach-Alger, 1998, 80p.
- 156. JOURNEL C., CHTAGNON G., MARTIN D., RICHARD A., TAINTURIER D.** Prévention des avortements et des infections foetales dus à *Neospora caninum* chez les génisses : essais de traitement pendant la gestation avec du décoquinat à la posologie de 2mg/kg/jour . Renc. Rech. Ruminants., 2001, **8**, 205.
- 157. JOURNEL C., PITEL P. H.** La lutte contre la neosporose en élevage. bovin. Point. Vét., 2001, **32**, 38-39.
- 158. KACAR C., GOKCE H. I., AKCA A., GUNGOR O., KAYA S.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in cows with abortion history and in dogs sharing the same area in the Kars Region, Turkey. Revue Méd. Vét., 2012, **163**(7), 343-347.
- 159. KAHN W.** Sonographic imaging of the bovine fetus. Theriogenology, 1990, **33**, 385-396.
- 160. KALI S., MOHAMED B., AIT KACI K., BELKHEIR B., BENYOUCEF MT.** Situation de la filière lait en algérie :approche analytique d'amont en aval. Livestock research for rural developement, 2011, **23**, 8.
- 161. KAMGA WALADJO A.R., CHATAGNON G. , AMIRAT BRIAND L. BENCHARIF D., DIOP P.E.H., TAINTURIER D .**Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de la néosporose.Revue Africaine de Santé et de Productions Animales ,2008, **6**(3-4), 175-179.
- 162. KAMGA-WALADJO A. R., GBATI O. B., KONE P., LAPO R. A. CHATAGNON G., BAKOU S.N., PANGUI L. J., DIOP P. E., AKAKPO J.A. TAINTURIER D.** Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its Consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar–Senegal, West Africa. Trop. Anim. Health. Prod. 2010, **42**, 953–959.
- 163. KAMGA-WALADJO KONE P., GBATI O.B., MOUGANG F.J., DIALLO P.M., BAKOU S.N. , DIOP P.E.H., TAINTURIER D.** Séroprévalence de la néosporose et

- conséquences sur la fertilité des vaches laitières à Dakar – Sénégal. Renc. Rech. Ruminants, 2012, **19**, 351.
- 164. KASHIWAZAKI Y., GIANNEECHINI R. E., LUST M., GIL J.** Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. Vet. Parasitol., 2004, **120**, 139-144.
- 165. KASTELIC J.P., CURRAN S., PIERSON R.A., GINTHER. O.J.** Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. Theriogenology, 1988, **29**, 39-54.
- 166. KERKATOU B.** Contribution a l'étude du cheptel bovin en algérie, les populations bovines locales. Thèse d'ingénieur, INA, El harrach-Alger, 1989, 104p.
- 167. KHECHA A.** élevage bovin de race local en zone de montagne cas de la wilaya de jijel. Thèse d'ingénieur, INA, El harrach-Alger, 1988, 73p.
- 168. KIM J. T., PARK J. Y., SEO H. S., OH H.G., ,NOH J.W., KIM J.H., KIM D.Y., YOUN H.J.** *In vitro* antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. 2002. **103**(1-2), 53–63.
- 169. KIRKBRIDE CA .** Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. J. Vet. Diagn. Invest., 1992, **4**, 374-379.
- 170. KOIWAI M., HAMAOKA T., HARITANI M., SHIMIZU S., ZENIYA Y., ETO M., YOKOYAMA R., TSUTSUI T., KIMURA K., YAMANE I.** Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. Vet. Parasitol., 2006, **135**, 175-179.
- 171. KRITZNER S., SAGER H., BLUM J., KREBBER R., GREIF G., GITTSTEIN B.** An explorative study to assess the efficacy of toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 2002, **1**, 4.
- 172. KWON H. J., KIM J. H., KIM M., LEE J.K. HWANG W.S., KIM D. Y.** Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. Vet. Parasitol., 2003, **112**(4), 269–276.
- 173. LALLY N.C., JENKINS M.C., DUBEY J.P.** Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzymelinked immunossrbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis .Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1996, **3**, 275-279.
- 174. LANDMANN J. K., JILLELLA D., O'DONOGHUE P.J.** Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. Aust Vet J. 2002. **80**(8), 502–503.

Références Bibliographiques

- 175. LARIS S., DE MEERSCHMAN F.; RETTIGNER C.; FOCANT C. ET LOSSON B.** Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora Caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. *Vet. Parasitol.*, 2004, **123**, 25–32.
- 176. LE VAILLANT E.** Généralités sur l'élevage algérien. état actuel amélioration. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Lyon, 1931, 113p. Cité par **KHECHA A.** élevage bovin de race local en zone de montagne cas de la wilaya de jijel. Thèse d'ingénieur, INA, El harrach-Alger, 1988, 73p.
- 177. LINDSAY D. S., BUTLER J. M., BLAGBURN B. L.** Efficacy of decoquinate against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet. Parasitol.* 1997. **68**(1-2), 35-40.
- 178. LINDSAY D. S., RIPPEY N. S., COLE R. A., PARSONS L.C., DUBEY J.P., TIDWELL R.R., BLAGBURN B.L.** Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am. J. Vet. Res.* 1994, **55**(7), 976–981.
- 179. LINDSAY D.D., BUTLER J.M., RIPPEY N. S., BLAGBURN N.L.** Demonstration of synergistic effects of sulphonamide and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.*, 1996b, **57**, 68-72.
- 180. LINDSAY D.S., BLAGBURN B., DUBEY J.P.** Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *J. Parasitol.*, 1992, **78**(1), 70-72.
- 181. LINDSAY D.S., DUBEY J.P.** Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, 1990a, **76**(2)177-179.
- 182. LINDSAY D.S., DUBEY J.P.** Evaluation of anti-coccidial drugs' inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. *J. Parasitol.*, 1989a **75**(6), 990-992.
- 183. LINDSAY D.S., DUBEY J.P.** Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am. J. vet. Res.* 1989b, **50**(11), 1981-1983.

Références Bibliographiques

184. LINDSAY D.S., DUBEY J.P. Infections in mice with tachyzoïtes and bradyzoïtes of *Neospora caninum* (Protozoa : Apicomplexa). J. Parasitol, 1990b, **75**(3), 410-413.
185. LINDSAY D.S., DUBEY J.P., DUNCAN R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Vet. Parasitol.,1999a, **82**(4), 327-333.
186. LINDSAY D.S., KELLY E.J., MACKOWN R.D., STEIN F.J., PLOZER J., HERMAN J., BLAGBURN B.L., DUBEY J.P. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. J. Parasito, 1996a, **82**(4), 657-659.
187. LINDSAY D.S., UPTON S.J., DUBEY J.P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. Int. J. Parasitol, 1999b, **29**(10), 1521-1523.
188. LOPEZ-GATIUS F., PABON M., ALMERIA S. *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. Theriogenology., 2004, **62**, 606-13.
189. LOPEZ-GATIUS F., SANTOLARIA P.,YANIZ J.L.,GARBAYO J.M., ALMERIA S. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora caninum* seropositive dairy cows. J.Vet. Med. 2005, **52**, 88-92.
190. LOSSON B., BOURDOISEAU G. *Neospora caninum*, un nouvel agent abortif chez les bovins . Bulletin des GTV, 2000 ,**7**,107-114.
191. MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural). 2008, Alger, Algérie.
192. MADR (ministère de l'agriculture et du developpement rural en Algérie). Statistiques agricoles, série B, 2009.
193. MADR (ministère de l'agriculture et du developpement rural en Algérie). Recensement général de l'agriculture-2001. Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information, juin 2003.
194. MALEY S. W., BUXTON D., THOMSON K. M., SCHRIEFER C. E., INNES E. A. Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum* : a 1-year study. Vet. Parasitol., 2001, **96**, 1-9.
195. MARQUER A., CHERMETTE R. La néosporose chez les bovins. Point vét., 2000, **31**(208), 193-298.

196. **MARSH A.E., BARR B.C., PACKHAM A.E., CONRAD P. A.** Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.*, 1998, **84**, 5, 983-991.
197. **MARSH A.E., BARR B.C., SVERLOW K. , HO M., DUBEY J.P., CONRAD P.A.** Sequence analysis and comparison of ribosomal DNA from bovine *Neospora* to similar coccidial parasites. *J.Parasitol.*, 1995, **81**(4), 530-535.
198. **MCALLISTER M. M., MCGUIRE A. M., JOLLEY W. R., LINDSAY D. S., TREES A. J., STOBART R. H.** Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Vet. Pathol.*, 1996, **33**, 647-655.
199. **MCALLISTER M.M., DUBEY J.P., LINDSAY D.S., JOLLEY W R., WILLS R.A., MCGUIRE A.M.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 1998, 28, 1473–1478.
200. **MCALLISTER MM, BJORKMAN C, ANDERSON-SPRECHER., ROGERS D. G.,** Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000, **217**(6), 881-7.
201. **MCCANN C.M., MCALLISTER M.M., GONDIM L.F.P., SMITH R.F., CRIPPS P.J., KIPAT A. WILLIAMS DJ, TREES AJ.** *Neospora caninum* in cattle: Experimental infection with oocysts can result in exogenous transplacental infection, but not endogenous transplacental infection in the subsequent pregnancy. *Int. J. Parasitol.*, 2007, **37**, 1631-1639.
202. **MCINNES L.M., RYAN U.M., O'HANDLEY R., SAGER H., FORSHAW D., PALMER D. G.** Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum. *Vet. Parasitol.*, 2006, **142**, 207-213.
203. **MIALOT JP, NOEL F, PUYALTO C, LAUMONIER G, SAUVEROCHE B.** Traitement de l'anoestrus post-partum chez la vache laitière par le CIDR-E ou la prostaglandine F2 α . *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1998, **2**, 29-38.
204. **MILI C.** Traitement de maîtrise des cycles a base de progesterone (cidr®) chez la vache : ia systematique ou sur chaleurs observees. Thèse. Med. Vet. ENV. Toulouse , 2009, 91p.
205. **MOORE D. P.** Neosporosis in South America. *Vet. parasitol.*, 2005, **127**, 87-97.
206. **MOORE D. P , PEREZ A., AGLIANO S., BRACE M., CANTON G., CANO D., LEUNDA M. R., ODEON A.C., ODRIOZOLA E., CAMPERO C. M.** Risk factors

Références Bibliographiques

- associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. Vet. Parasitol., 2009, **161**, 122-125.
- 207. MORE G., BACIGALUPE D., BASSO W. RAMBEAUD M, BELTRAME F, RAMIREZ B, VENTURINI MC, VENTURINI L.** Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. Vet. Parasitol., 2009, **160**, 51-54.
- 208. MOREAU A.F.** Les avortements dans l'espèce bovine: revue bibliographique et enquête épidémiologique descriptive dans le nord de la Bourgogne. Thèse Med Vet. Maisons-Alfort, ENV d'Alfort, 2000.90p.
- 209. MULLER E., WITTKOWSKI G.,** Visualization of male and female characteristics of bovine fetus by real-time ultrasonics. Theriogenology, 1986, **25**, 571-574.
- 210. MÜLLER N., VONLAUFEN N., GIANINAZZI C., LEIB S. L., HEMPHILL A.** Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice culture of rat central nervous system tissue. J. Clin. Microbiol., 2002, **40**, 525-255.
- 211. MUNOZ-ZANZI C.A., THURMONC M.C. HIETALA S.K.** Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. Theriogenology, 2004, **61**, 1085-1099.
- 212. NEBEL R.L.** Components of a successful heat detection program. Advances in dairy Technology, 2003, **15**, 191-203.
- 213. NEDJRAOUI D.** Ministère de l'agriculture et du développement rural de l'Algérie [en ligne] 2003 . Disponible sur <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Algeria/Algerie.htm> (consulté le 01/10/2012).
- 214. ORTEGA-MORA L. M., FERNANDEZ-GARCIA A., GOMEZ-BAUTISTA M.** Diagnosis of bovine neosporosis : recent advances and perspectives. Acta. Parasitol. 2006, **51**, 1-14.
- 215. OSAWA T., WASTLING J., ACOSTA L., ORTELLADO C., IBARRA J., INNES E. A.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. Vet. Parasitol., 2002, **110**, 17-23.
- 216. OTRANTO D., LLAZARI A., TESTINI G., TRAVERSA D., FRANGIPANE DI REGALBONO A., BADAN M., CAPELLI G.** Seroprevalence and associated risk

- factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Vet. Parasitol.*, 2003, **118**, 7-18.
- 217. OTTER A., JEFFREY M., GRIFFITHS I.B., DUBEY J.P.** A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales. *Veterinary Record*, 1995, **136**, 602-606.
- 218. OTTER A., JEFFREY M., SCHOLES S.F.E., HELMICK B., WILESMITH J. W., TREES A. J.** Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine neosporosis. *Vet. Record*, 1997, **141**, 487-489.
- 219. OULD-AMROUCHE A., KLEIN F., OSDOIT C. , MOHAMMED H. O., TOURATIER A., SANAA M., MIALOT J. P.** Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 531-538.
- 220. PABON M., LOPEZ-GATIUS F., GARCIA-ISPIERTO I., BECH-SABAT G., NOGAREDA C., ALMERIA S.** Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in dairy cows : a 3-year study. *Vet. Parasitol.*, 2007, **147**, 40-6.
- 221. PARÉ J., HIETALA S.K., THURMOND M.C.** An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation*, 1995, **7**, 352-359.
- 222. PARÉ J., THURMOND M.C., HIETALA S.K.** Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. *Canadian Journal of veterinary Research*, 1996, **60**, 133-139.
- 223. PARÉ J., THURMOND M.C., HIETALA S.K.** "*Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion." *J. Parasitol.* 1997, **83**(1), 82-87.
- 224. PARISH S.M., MAAG-MILLER L., BESSER T.E., WEIDNER J.P., MCELWAIN T. KNOWLESS D.P., LEATHERS CW.** Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987, **191**(12), 1599-1600.
- 225. PAYOT F.P.E.** Epidemiologie de la neosporose bovine en France et au Quebec ; evaluation des moyens de lutte actuels. Thèse de Doctorat Vétérinaire . Maisons-Alfort, ENV d'Alfort, 2002, p 90.
- 226. PERALTA G.** Synchronisation des chaleurs. *Génétique & reproduction*, COPELSON INFO, 2009, **57**, 49p

227. PEREIRA-BUENO J., QUINTANILLA-GOZALO A., PEREZ-PEREZ V., ESPI FELGUEROSO A., ALVAREZ-GARCIA G., COLLANTES-FERNANDEZ E., ORTEGA-MORA L. M. Evaluation by différent diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Vet. Parasitol*, 2003, **111**, 143-152.
228. PETIT M., M'BAYE M ET PALIN C. Maîtrise des cycles sexuels. *Elevage et Insémination*, 1979, **170**, 7-27.
229. PICARD-HAGEN N., BERGONIER D., BERTHELOT X. Maitrise du cycle oestral chez la vache. *Point vét.*, 1996, 28 (n°spécial), , 933-941.
230. PICARD-HAGEN N., HUMBLLOT P., BERTHELOT X. Le point sur les protocoles actuels de synchronisation. *Le point vétérinaire, N° Spécial Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie*, 2005, 36, 32-36.
231. PIERGILI FIORETTI O., PASQUALI P., DIAFERIA M., ROSIGNOLI L. *Neospora caninum* infection and congenital transmission : serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health*. 2003, **50**(8), 399-404.
232. PIETERSE M.C., SZENCI O., WILLEMSE A.H., BAJCSY C.S.A., DIELEMAN S.J., TAVERNE' M.A.M. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 1990, **33**, 697-708.
233. PITEL P.H., LEGRAND L., PRONOST S., MAILLARD K., MARCILLAUD-PITEL C., RICHARD E., FORTIER G. Néosporose bovine: de l'étude du cycle parasitaire à la définition des méthodes de lutte. *Bull. Acad. Vét. France*, 2010, **163**(2), 131-142.
234. POLL C. La mortalité embryonnaire chez la vache. Thèse Med. Vet. ENV Lyon, n°77, 2007, 82p.
235. PURSLEY JR., MEE MO., WILTBANK MC. Synchronisation of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, 1995, **44**, 915-923.
236. QUINTANILLA-GOZALO A. J., PEREIRA-BUENO J., SEIJAS-CARBALLEDO A., COSTAS E., ORTEGA-MORA L. M. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *Int. J. Parasitol.* , 2000, **30**, 900-906.

- 237. QUINTANILLA-GOZALO A. J., PEREIRA-BUENO J., SEIJAS-CARBALLEDO A., COSTAS E., ORTEGA-MORA L. M.** Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *Int. J. Parasitol.* , 2000, **30**, 900-906.
- 238. QUINTON H.** Le sexage du fœtus par échographie : efficacité et intérêts. Gestation. In : Actes journées européennes de la Société française de buiatrie, Paris, France, 29-31 octobre 2002, 153-158.
- 239. RATHBONE M.J., KINDER J.E., FIKE K., et al.** Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv. Drug, Deliv. Rev.* , 2001, **50**, 277-320.
- 240. RAZMI G.R., MALEKI M., FARZANEH N., TALEBKHAN GAROUSSI M., FALLAH A. H.** First report of *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Mashhad area. *Iran. Parasitol. Res.*, 2007, **100**, 755-757.
- 241. REITEROVA K., SPILOVSKA S., ANTOLOVA D., DUBINSKY P.** *Neospora caninum*, potential cause of abortions in dairy cows : the current serological follow-up in Slovakia. *Vet. Parasitol.*, 2009, **159**, 1-6.
- 242. REITT K., HILBE M., VOEGTLIN A., CORBOZ L., HAESSIG M., POSPISCHIL A.** Aetiology of bovine abortion in Switzerland from 1986 to 1995—a retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. *J. Vet. Med. A* .2007, **54**, 15-22.
- 243. ROCHE J.F., MIHN M., DISKIN M.G., IRELAND J.J.** A Review of Regulation of Follicle Growth in Cattle. *J Anim Sci* 1998, **76**, 16-29.
- 244. ROMAND S., THULLIEZ P., DUBEY JP.** Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.*, 1998, **84**(1), 50-53.
- 245. ROMERO J. J., BREDA S., VARGAS B., DOLZ G., FRANKENA K.** Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology.*, 2005, **64**, 1928-1939.
- 246. ROMERO J. J., PEREZ E., DOLZ G., FRANKENA K.** Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, 2002, **53**, 263-273.

247. **ROMERO-SALAS D., GARCIA-VÁZQUEZ Z., MONTIEL-PALACIOS F., MONTIEL PEÑA T., AGUILAR-DOMINGUEZ M., MEDINA-ESPARZA L. ANDCRUZ-VÁZQUEZ C.** Seroprevalence of *Neospora caninum* Anti-bodies in cattle in Veracruz, Mexico, Journal of Animal and Veterinary Advance, 2010, **9**,1445–1451.
248. **SARRAZIN C.** Transmission verticale de *Neospora sp.* chez les mammifères : quelles conséquences pour l'élevage canin ? . Thèse de doctorat vétérinaire, ENV d'Alfort, 2009, p 199.
249. **SCHARES G., PETERS M., WURM R., BARWALD A., CONRATHS F. J.** The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. Vet. Parasitol., 1998, **80**(2), 87-98.
250. **SCHARES G., RAUSER M., SONDGEN P., REHBERG P., BARWALD A., DUBEY J. P., EDELHOFER R., CONRATHS F. J.** Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. Int. J. Parasitol., 2000, **30**, 1123-1130.
251. **SCHARES G., RAUSER M., ZIMMER K., PETERS M., WURM R., DUBEY J. P., DE GRAAF D. C., EDELHOFER R., MERTENS C., HESS G., CONRATHS F. J.** Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. J. Parasitol., 1999, **85**, 688-94
252. **SENGER P.L.** Pathways to pregnancy and parturition. Current Conceptions, Inc. Washington, 2005, 373p.
253. **SEVGİLİ M., ALTAŞ M. G.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in Cattle in the Province of Şanlıurfa. Turk. J. Vet. Anim. Sci, 2005, **29**, 127-130.
254. **SIMSEK S., UTUK A.E., KORUGLU E., DUMANLI N., RISVANLI A.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. Archiv. Fur. Tierzucht 2008, **51**, 143–148.
255. **SOLTNER D.** Reproduction des animaux d'élevage. 3^e édition, Coll.Sciences et techniques agricoles, 2001, 224p.
256. **SÖNDGEN P., PETERS M., BÄRWALD A. WURM R., HOLLING F., CONRATHS F. J., SCHARES G.** Bovine neosporosis : immunoblot improves foetal serology. Vet. Parasitol., 2001, **102**, 279-290.

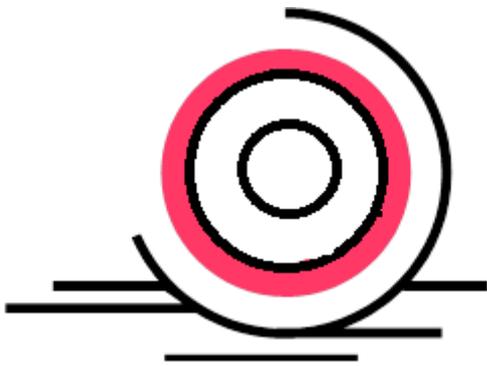
- 257. SOTIRAKI S., BROZOS C., SAMARTZI F., SCHARES G., KIOSSIS E., CONRATATHS F.J.** *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds detected by two antibody assays in individual milk samples. *Vet. Parasitol.*, 2008, **152**(1-2), 79 -84.
- 258. SOUSA N.M., EL AMIRI B. REMY B. DRION P.V., BECKERS J.F.** Signaux embryonnaires de la gestation. Société Française de Buiatrie (SFB) ,Paris, 29, 30, 31 Oct, 2002, 95-114.
- 259. SPICER L.J., VOGEL L.J., ALLEN D.T.** Insulin-like growth factor-II stimulates steroidogenesis in cultured bovine thecal cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2004, **227**,1-7.
- 260. STASKA L. M., DAVIES C. J., BROWN W. C.** Identification of vaccine candidate peptides in the NcSRS2 surface protein of *Neospora caninum* by using CD4+ cytotoxic T lymphocytes and gamma interferon-secreting T lymphocytes of infected holstein cattle. *Infect. Immun.*, 2005, **73**(3), 1321-1329.
- 261. STAUBLI D. SANDRA NUNEZ S. SAGER H.** *Neospora caninum* immunoblotting improves serodiagnosis of bovins neosporosis .*Parasitol. Res.* 2006, **99**, 648-658.
- 262. STENLUND S., KINDAHL H., MAGNUSSON U., UGGLA A., BJORKMAN C.** Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*,1999, **85**(4), 227-234.
- 263. STENLUND S., KINDAHL H., UGGLA A., BJÖRKMAN C. A.** long-term study of *Neospora caninum* infection in a Swedish dairy herd. *Acta. Vet. Scand.*, 2003, **44**, 63-71.
- 264. STEVENSON J.S.** Clinical Reproductive Physiology of the Cow In: **YOUNGQUIST R.S et THRELFALL W.R** (eds). *Cur. Ther. Lar. Ani. Theriogenology*, Elsevier Saunders. St Louis, 2007, 258-270.
- 265. STROHBUSCH M., MULLER N., HEMPHILL A., KREBER R. GREIF G. GOTTSTEIN B.** Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. *Parasitol Res.* 2009, **104**(6), 1335-1343.
- 266. TAINTURIER D., FIENI F., BRUYAS J.F. BATTUT.** Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin. *Le point Vét.*, 1997, 28(183) ,1239-1243..

- 267. TAINTURIER D., FIENI F., BRUYAS J-F., BATTUT I.** Diagnostic de gestation chez la vache, application au diagnostic du sexe. Journées nationales des GTV, Tours 27, 28 et 29 mai 1998, 397-404.
- 268. THIBAUT C., LEVASSEUR M.C.** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Edit. Ellipses edition Marketing S.A. 2001, 832 p.
- 269. THILSTED J.P., DUBEY J.P.** Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. Journal of veterinary Diagnostic Investigation, 1989, **1**, 205-209.
- 270. THURMOND M.C., HIETALA S.K.** Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. Am. J. Vet. Res., 1996, **57**, 1559-1562.
- 271. THURMOND M.C., HIETALA S.K.** Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. Am. J. Vet. Res., 1997a, **58**(12), 1381-1385.
- 272. THURMOND M.C., HIETALA S.K.** Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. J. Am. Vet. Med. Ass., 1997b, **210**(5), 672-674.
- 273. TREES A.J., D AVISON H.C., INNES E.A. WASTLING J. M.** Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. Int. J. Parasitol., 1999, **29**(8), 1195-1200.
- 274. UGGLA A., STENLUND S., HOLMDAHL O.J.M., JAKUBEK E. B., THEBO P., KINDAHL H., BJÖRKMAN C.** Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. Int. J. Parasitol., 1998, **28**, 1467-1472.
- 275. VACLAVEK P., KOUDELA B., MODRY D., SEDLAK K.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in aborting dairy cattle in the Czech Republic. Vet. Parasitol., 2003, **115**, 239-245.
- 276. VAILLANCOURT D., BIRSCHWAL C.J., OGWU D., ELMORE RG, MARTIN CE, SHARP AJ, YOUNGQUIST RS .** Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. J. Am. vet. Med. Assoc., 1979, **175**, 466-468.
- 277. WALDNER C. L.** Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. Anim. Rep rod. Sci., 2005, **90**, 219-42.

- 278. WALDNER C.L., JANZEN E D., RIBBLE C. S.** Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. J. Am. Vet. Assoc.,1998, **213**,685-690.
- 279. WAPENAAR W.; BARKEMA H.W.; VANLEEUEWEN J.A.; MCCLURE J.T.; O'HANDLEY R.M.; KWOK O.C.H.; THULLIEZ P.; DUBEY J.P. JENKINS M.C.** Comparison of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. Vet. Parasitol.,2007, **143**, 166 – 173.
- 280. WILLIAMS D.J.L.McGARRY J. GUY F., BARBER J., TREES A. J.** Novel ELISA for detection of Neospora-specific antibodies in cattle. Vet. Rec.1997,**140**, 328-331.
- 281. WOODING P., BURTON G.**Comparative placentation.Structures, Functions and Evolution.Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008, 301.
- 282. WOUDA W .** Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. Vet. Q., 2000, **22**(2),71-74.
- 283. WOUDA W, DUBEY JP, JENKINS MC.** Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. J. Parasitol.1997b, **83**(3), 545-547.
- 284. WOUDA W., BARTELS C.J., MOEN A.R.** Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). Theriogenology,1999, **52**(2),233-245.
- 285. WOUDA W., MOEN A.R., VISSER J.R., VAN KNAPEN F.** Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. J. Vet. Diangnos. Inves. ,1997a, **9**, 180-185.
- 286. YILDIZ K., KUL O., BABUR C. KILIC S., GAZYAGCI A N. CELEBI B. GURCAN B.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. Vet. Parasitol. 2009, **164**, 306-310.
- 287. YOUN H. J., LAKRITZ J., KIM D. V., ROTTINGHAUS G. E, MARSH A. E.** Anti- protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. Vet. Parasitol., 2003, **116**(1), 7-14.
- 288. YOUN H. J., LAKRITZ J., ROTTINGHAUS G. E., SEO H.S., KIM D. Y., CHO M.H., MARSH A.E.** Anti- protozoal efficacy of high performance liquid chromatography

Références Bibliographiques

- fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.*, 2004, **125**(3-4), 409-414.
- 289. YUSUF M., NAKAO T., RANASINGHE RMS. B. K., GAUTAM G. THANH LONG S, YOSHIDA C., KOIKE K., HAYASHI A.** Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology*, 2010, **73**, 1220-1229.
- 290. ZAR J.H.**, 1996. *Biostatistical Analysis*, third ed. Prentice Hall, New Jersey, USA, 1996, p. 662.
- 291. ZHANG W., DENG C., LIU Q., LIU J., WANG M., TIAN K. G., YU X. L., HU D.M.** First identification of *Neospora caninum* infection in aborted bovine foetuses in china . *Vet. Parasitol.*, 2007, **149**, 72-76.
- 292. ZOLI A.P., GUILBAULT L.A., DELAHAUT P., ORTIZ W. B., BECKERS J.F.** Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: Its application for pregnancy diagnosis. *Biology of reproduction*. 1992, **46**(7), 83-92.

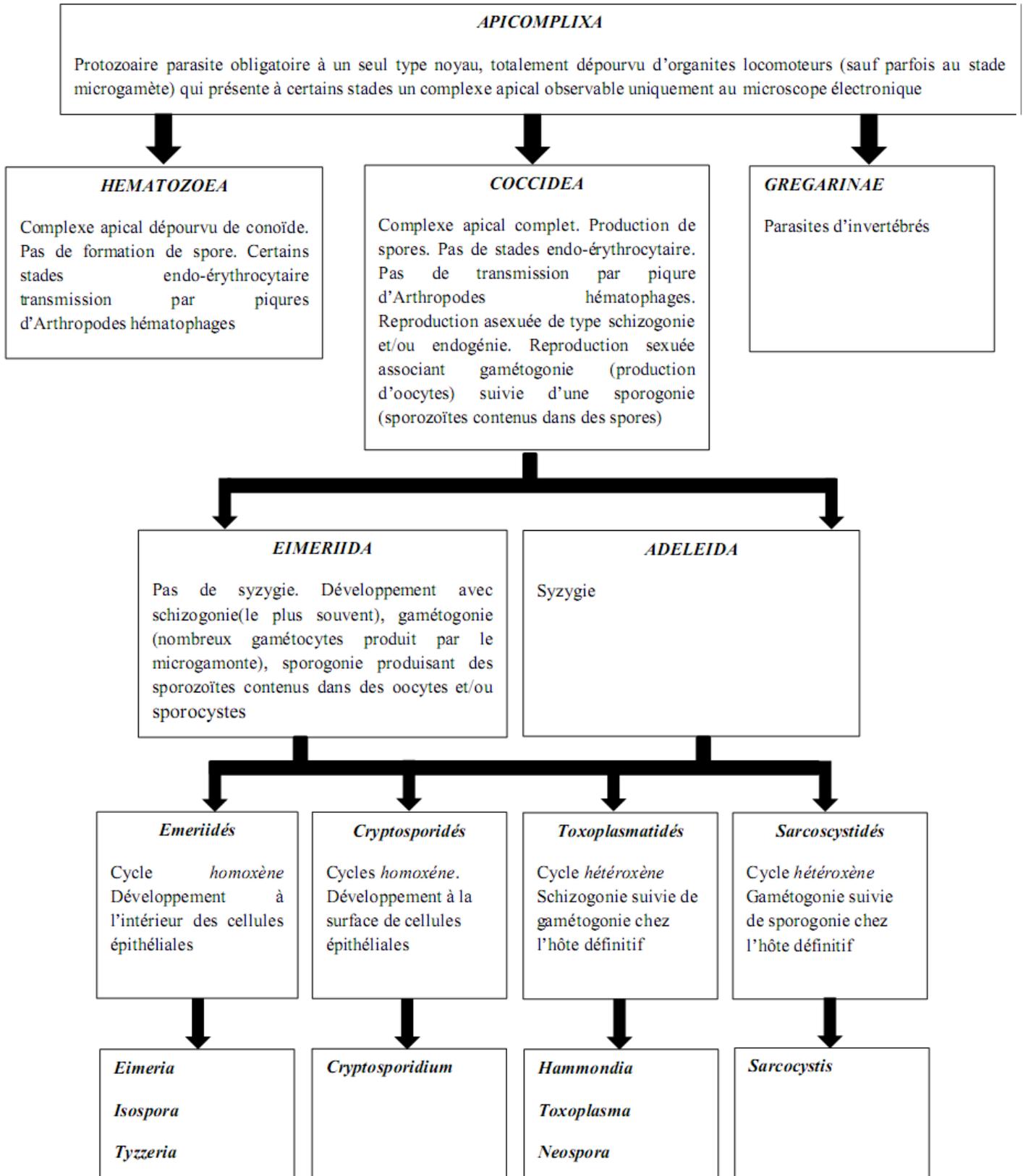


Annexes

Annexe 1 : Dates clés de la néosporose depuis sa découverte

Année	Événement marquant	Publications
1957	La maladie existe déjà mais est confondue avec la toxoplasmose.	DUBEY et al., 1990a
1984	La maladie est reconnue pour la première fois chez le chien en Norvège	BJERKAS et al., 1984
1988	Description de la nouvelle espèce : <i>Neospora caninum</i> .	DUBEY et al., 1988a
	Induction expérimentale de la maladie chez des chiens et des souris.	DUBEY et al., 1988b
1989	Découverte du parasite chez des bovins qui ont avorté.	THILSTED et DUBEY, 1989
	Premiers essais de traitement sur culture cellulaire.	LINDSAY et DUBEY, 1989a
	Développement de l'immunofluorescence indirecte (IFI), de l'immunohistochimie.	LINDSAY et DUBEY, 1989b
1990	Premiers essais de traitement anti-Neospora sur les souris.	LINDDAY et DUBEY, 1990a
1991	Neospora caninum est une cause majeure d'avortements dans certains cheptels.	ANDERSON et al., 1991 ; BARR et al., 1991
	Démonstration que les chiots norvégiens (1984) étaient bien infectés par <i>Neospora caninum</i> .	BJERKAS et DUBEY, 1991
1992	Démonstration de la transmission verticale chez les bovins.	DUBEY et al., 1992
1993	Développement d'une technique ELISA pour le diagnostic de la néosporose (chiens et bovins).	PARE et al., 1995
1995	Séquence nucléotidique identique entre <i>Neospora caninum</i> du chien et celui du bovin.	MARSH et al., 1995
1996	Développement d'une technique diagnostique par PCR.	ELLIS, 1998
1998	Démonstration expérimentale : le chien est un hôte définitif	MAC ALLISTER et al., 1998
	Description d'une nouvelle espèce : <i>Neospora hughesi</i> chez le cheval.	MARSH et al., 1998
	Développement d'un test d'agglutination directe pour le diagnostic	ROMAND et al., 1998
2001	Le chien est naturellement hôte définitif.	BASSO et al., 2001
2003	Développement de tests ELISA permettant de savoir si l'infection est chronique ou récente.	BJÖRKMAN et al., 2003

Annexe 2 : Classification simplifiée de l'embranchement des sporozoaires d'intérêt vétérinaire (*BUSSIERAS et CHERMETTE, 1992*)



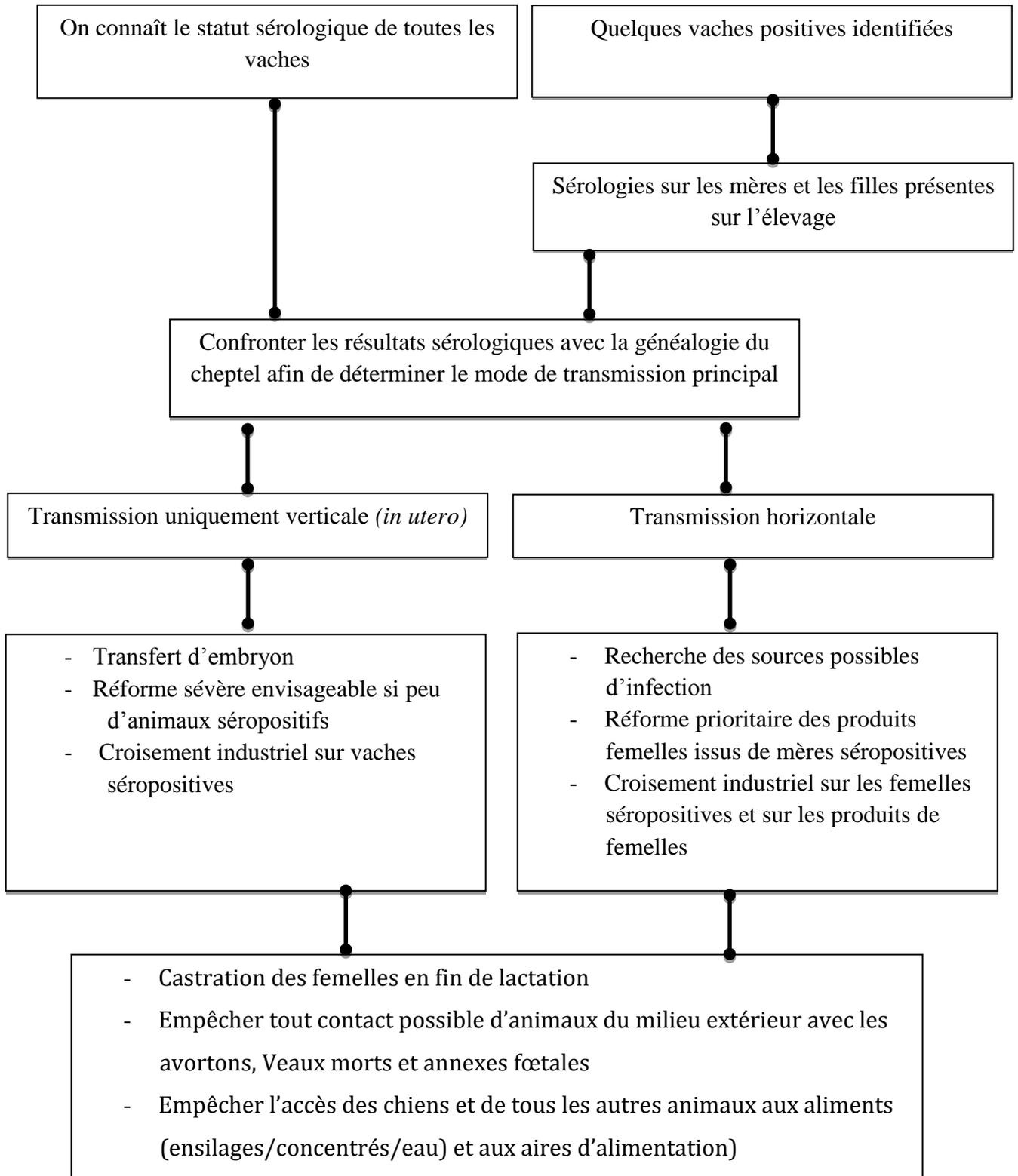
Annexe 3 : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence directe de *Neospora caninum* (**MARQUER et CHERMETTE, 2000**)

Méthodes	Avantages - Intérêts	Inconvénients - Limites
Histologie	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode de référence - Visualisation de foyer de nécrose entourée de cellules inflammatoires mononuclées. - Visualisation de kystes tissulaires dans les tissus nerveux ; de Tachyzoïtes dans le cerveau, le placenta, le coeur et les muscles squelettiques. - Coût modéré 	<ul style="list-style-type: none"> - Manque de spécificité. - Très difficile en cas d'autolyse. - Demande une habitude de lecture. - Grand nombre de coupes nécessaires. - Absence de distinction entre <i>N. caninum</i> et les autres Apicomplexa.
Immuno-histochimie	<ul style="list-style-type: none"> - Visualisation de kystes tissulaires et de tachyzoïtes surtout dans le cerveau, le foie et le coeur. - Utilisable chez des foetus momifiés. - Bonne sensibilité - Très bonne spécificité 	<ul style="list-style-type: none"> - Nécessite une bonne habitude de lecture. - Difficile en cas d'autolyse. - Demande une habitude de lecture. - Grand nombre de coupes nécessaires. - Qualité de l'anticorps - Existence de réactions croisées avec <i>T. gondii</i>
PCR	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisable en cas d'autolyse. - Possibilité de détection d'ADN de <i>Neospora</i> à partir de pratiquement tous les tissus foetaux et du placenta. - Mise en évidence d'ADN alors que tous les anticorps anti- <i>N. caninum</i> peuvent ne pas être détectables. - Méthode la plus sensible et la plus spécifique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Nécessite un matériel spécialisé - Cout élevé. - Utilisée seule ne permet pas de faire la différence entre néosporose infection et maladie

Annexe 4 : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence indirecte de *Neospora caninum* (**MARQUER et CHERMETTE, 2000 ; ATKINSON et al ,2000**)

Méthodes	Avantages – Intérêts	Inconvénients – Limites
Immuno-fluorescence Indirecte (IFI)	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode sérologique de référence. - Relativement rapide et peu coûteuse. 	<ul style="list-style-type: none"> - Existence de réactions croisées avec d'autre Apicomplexa dans certains tests. - Lecteur non standardisé de la fluorescence. - Choix du seuil non standardisé. - Variation du seuil en fonction du stade physiologique de l'animal et du prélèvement.
ELISA	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisable sur le lait. - Automatisation, réalisable sur un grand nombre d'échantillon - rapide et précis, peu coûteux, constant, objectivité du lecteur 	<ul style="list-style-type: none"> - Choix des seuils non standardisés entre les différents kits. - Multiples antigènes (interprétation des résultats difficiles).
Agglutination directe	<ul style="list-style-type: none"> - Test spécifique et très sensible - Utilisable chez différentes espèces animales 	<ul style="list-style-type: none"> - Demande une habitude de lecture. - Seuils à établir pour chaque espèce - Echantillon réduit

Annexe 5 : Schéma des mesures de prophylaxie sanitaires envisageables dans le cas de néosporose en élevage bovin (JOURNEL et PITEL, 2001)



Annexe 6 : Copie du questionnaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

Étude de l'impact de *Neospora caninum* comme agent abortif chez la vache gestante de race locale dans la région de Jijel

Date :

Nom de l'éleveur :

Adresse:

N° Tél :

Nom du vétérinaire traitant :

N° tél du vétérinaire :

Renseignements concernant l'exploitation

1. Elevage agréé : oui non
2. Effectif total :
3. Nombre de vaches :
4. Nombre de vaches gestantes :
5. Nombre de vaches de race locale :
6. Nombre de vaches de race locale gestante :
7. Elevage intensif ou extensif ?
8. Etat d'hygiene de la ferme : Bon Moyen Mauvais
9. Présence d'autre animaux dans la ferme : oui non
10. Si oui lesquels :
11. Contact des chiens avec les bovins : oui non
12. Y' a-t-il des problèmes d'avortement dans l'exploitation
13. Si oui donnez le nombre d'avortement enregistré depuis le démarrage de l'exploitation :
14. Les avortements ont lieu généralement en quelle saison :

Annexes

15. Stade de gestation au moment de l'avortement : 1^{er} trimestre 2^{ème} trimestre

3^{ème} trimestre

16. Combien de fois elle avorté :

17. Au moment de l'avortement placenta : délivré non délivré

18. Etat de placenta : normal suppure necrosé hémorragique autre

19. Etat de l'avorton : normal mommifiée malformé macéré autre

20. Devenir de l'avorton et les membranes fœtaux :

21. Les chiens, les vaches et leur nourriture sont –ils en contact avec l'avorton :

22. Examen de l'appareil génital avant l'induction des chaleurs

a. Activité ovarienne:

– Ovaire gauche : Ovaire lisse Corps jaune Follicule

– Ovaire droite : Ovaire lisse Corps jaune Follicule

b. Corne utérine: Symétrique Asymétrique

c. Col utérin: Long Court Normal

d. Date de la pose de l'implant :

e. Date et la dose d'injection de la PgF2 α :

f. Date du retrait de l'implant :

g. Date et la dose de l'injection de l'eCG :

h. Date de l'insémination :

Annexe 7 : Communications

Communications orales :

- **Étude longitudinale de la réponse sérologique vis-à-vis *Neospora caninum* chez la vache de race locale en période de gestation.** In: «1^{ère} Journée de parasitologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Constantine 1, 9 Avril 2014 ».
ABDELTIF B., TENNAH S., DERDOUR S.Y., AZZAG N., HAFSI F., GHALMI F.

- **Étude de la résistance de la vache de race locale aux avortements dus à *Neospora caninum* dans la région de Jijel.** In: « 11^{ème} Journées Internationales des sciences vétérinaire , Ressources génétiques animales en Algérie,30 novembre -1 décembre 2013 »
ABDELTIF B., TENNAH S., DERDOUR S.Y., AZZAG N., HAFSI F., GHALMI F.

Communications affichée :

- **Aperçu sur la situation des ressources génétique bovines locales en Algérie.** In: « 11^{ème} Journées Internationales des sciences vétérinaire , Ressources génétiques animales en Algérie,30 novembre -1 décembre 2013 »
ABDELTIF B., GHALMI F. TENNAH S.

Annexe 8 : Photos de la Brune de l'Atlas et ses variétés (*PHOTOS PERSONNELLE, 2013*)



Cheurfa

Annexes



Guelmoise

Annexes



Sétefienne

Annexes



Chelfienne

Annexes



Djerba



Kabyle et la Chaouia

