

République Algérienne Démocratique et  
Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : Immunologie Animale

### Thème :

**Approche séro-épidémiologique des avortements  
à *T. gondii* et *N. caninum* chez la brebis dans la  
région Est d'Alger**

Présenté par : Dr. ABED Hanane

Les membres du jury :

	Nom & Prénom	Grade	Institution
Président	Dr. TENNAH S	MCA	E.N.S.V-Alger
Promoteur	Dr. GHALMI F	MCA	E.N.S.V-Alger
Co-Promoteur	Dr. AZZAG N	MCA	E.N.S.V-Alger
Examineur 1	Pr. TRIKI-YAMANI RR	Professeur	I.S.V-Blida1
Examineur 2	Dr. BOUZID R	MCA	E.N.S.V-Alger

Année Universitaire : 2015/2016

## *Remerciements*

La rigueur scientifique et les exigences d'un travail de recherche sont au-delà des seules capacités de l'étudiant. Il serait audacieux pour nous d'entrer dans le vif du sujet sans nous acquitter d'une dette de reconnaissance auprès des personnes qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail. Je saisis l'occasion qui m'est offerte, pour exprimer ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à mener et à finaliser ce travail.

J'exprime ainsi ma reconnaissance à :

Ma promotrice **Dr. GHALMI F.**, pour son aide combien inestimable, ses conseils judicieux, ses orientations théoriques et pratiques, sa rigueur scientifique et ses qualités humaines. J'ai beaucoup apprécié la disponibilité et la patience dont elle a fait preuve. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Dr. **AZZAG N.**, pour son aide et son implication dans ce travail. Hommage respectueux.

Dr. **TENNAH S.**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommage respectueux.

Pr. **TRIKI-YAMANI R.R.**, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Remerciements respectueux.

Dr **BOUZID R.**, d'avoir accepté de juger ce travail. Hommage respectueux.

L'ensemble des éleveurs et vétérinaires privés qui m'ont aidé et facilité la réalisation de ma partie pratique. Je tiens à remercier également l'ensemble du personnel de laboratoire de Microbiologie et de Parasitologie pour m'avoir accueilli et aidé, sans oublier bien sur Oncle **Ahmed** pour sa disponibilité, sa sympathie et son aide. Tous les enseignants de l'ENSV pour la qualité des enseignements dispensés et les connaissances acquises au cours de ma formation de graduation et de post-graduation. Enfin, tout ce que je ne saurai citer et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

- ❖ *À mes chers parents, pour leur amour inconditionnel, leur aide, soutien et encouragements, merci d'être toujours présents à mes côtés.*
- ❖ *À ma sœur adorée, pour son soutien psychologique, tu as toujours su être présente dans mes moments difficiles.*
- ❖ *À mon petit neveu Mohamed, que Dieu te garde pour nous inchallah.*
- ❖ *À l'ensemble de mes collègues et amis du magister.*

## *Résumé*

Les élevages ovins payent un lourd tribut aux infections abortives à travers le monde. Les causes infectieuses d'avortement sont multiples avec des incidences diverses. Dans cette étude, nous avons fait le point sur *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*, deux parasites reconnus pour leur effet abortif chez les ruminants.

Dans cette étude qui a eu lieu dans quelques exploitations ovines de la région Est d'Alger, nous avons estimé dans un premier temps, le taux d'avortement chez les brebis qui était de 25% (IC 95% 19,3% -29,1%) ainsi que quelques facteurs de risque influençant négativement le maintien de la gestation chez la brebis. Les facteurs tels la race, l'âge, la parité, la présence de chats et la vaccination se sont révélés significativement associés à la survenue des avortements chez les brebis ( $p < 0,05$ ).

Dans un deuxième temps, nous avons étudié la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum*, les facteurs de risque liés à l'exposition à ces parasites, ainsi que l'association de ces derniers aux avortements observés chez les brebis. Pour ce faire, un total de 184 sérums de brebis a été analysé en utilisant un kit ELISA indirect. Les résultats ont montré que 49% (IC95% 41,62%-56,37%), 22,82 % (IC95% 15,89%-28,10%) et 15 % (IC95% 10%-20,4%) des sérums étaient positifs à *T. gondii*, *N. caninum* et à une coïnfection par les deux parasites respectivement. L'analyse des facteurs de risque susceptibles d'influencer le risque d'exposition à *T. gondii* et/ou *N. caninum* a permis de mettre en évidence une association entre l'âge et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et vis-à-vis d'une coïnfection par les deux parasites, une association entre la parité et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et enfin une relation positive entre la séropositivité à *T. gondii* et la présence de chats dans les fermes. Les autres facteurs étudiés n'ont pas été influents.

L'étude épidémiologique de type cas témoin a montré une association positive entre l'apparition d'avortement chez la brebis et la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* ou de *N. caninum*. Ce lien est d'autant plus étroit lorsque les deux pathogènes sont en coïnfection chez la brebis.

Au vu de tous ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que *T. gondii* et *N. caninum* devraient figurer systématiquement dans le diagnostic différentiel des avortements chez la brebis en Algérie.

**Mots clés :** brebis, *T. gondii*, *N. caninum*, avortement, séroprévalence, facteurs de risque, Alger.

## *Summary*

The sheep farms pay a heavy price to abortive infections worldwide. Abortion infectious causes are multiple with different implications. In this study, we reported on *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*, two parasites known for their abortive effect in ruminants.

In this study, which took place in a few sheep farms in the Eastern region of Algiers, we thought at first, the rate of abortion in ewes which was 25% (IC 95% 19,3% -29,1%) and some risk factors negatively influencing the maintenance of pregnancy in ewes. Factors such as breed, age, gender, presence of cats and vaccination proved significantly associated with the occurrence of abortions in ewes ( $p < 0.05$ ).

Secondly, we studied the prevalence vis-a-vis of *T. gondii* and *N. caninum*, the risk factors associated with exposure to these parasites, as well as the combination of these to abortions observed in ewes. To do this, a total of 184 ewe's sera were analyzed using indirect ELISA. The results showed that 49% (IC95% 41,62%-56,37%) 22.82% (IC95% 15,89%-28,10%) and 15% (IC95% 10%-20,4%) sera were positive for *T. gondii*, *N. caninum* and a co-infection by the two parasites respectively. Analysis of risk factors that may influence the risk of exposure to *T. gondii* and / or *N. caninum* has highlighted an association between age and seropositivity vis-a-vis of *N. caninum* and vis-a-vis a co-infection by both parasites, an association between parity and seropositivity vis-a-vis of *N. caninum* and finally a positive relationship between seropositivity to *T. gondii* and the presence of cats on farms. Other factors studied were not influential.

The epidemiological study case-control type showed a positive association between the occurrence of abortion in ewe and seropositivity vis-a-vis of *T. gondii* or *N. caninum*. This link is particularly strong when both pathogens are in coinfection in ewe.

In view of all these results, we can conclude that *T. gondii* and *N. caninum* should be included systematically in the differential diagnosis of abortions in ewe in Algeria.

**Keywords :** ewes, *T. gondii*, *N. caninum*, abortion, seroprevalence, risk factors, Algiers.

## ملخص

تدفع مزارع الأغنام ثمنا باهضا جراء الأمراض المجهضة عبر العالم. أسباب الإجهاض المرضي متعددة مع مخلفات متنوعة. في هذه الدراسة سلطنا الضوء على *T. gondii* و *N. caninum* ، طفيليين معروفان بتأثيرهما المجهض عند المجترات.

في هذه الدراسة التي تمت في بعض مزارع الأغنام بشرق الجزائر العاصمة، قمنا في بادئ الأمر بتقدير نسبة الإجهاض عند إناث الأغنام التي قدرت ب 25% (-29,1% - 19,3% IC 95%) مع بعض عوامل الخطر التي تؤثر سلبا على إستمرارية الحمل لدى الإناث. العوامل مثل العرق، السن، رتبة الولادة، تواجد القطط، التلقيح كانوا جد مقرونين بحدوث الإجهاض لدى الإناث ( $p < 0,05$ ).

ثانيا، قمنا بدراسة الإنتشار المصلي ل *T. gondii* و *N. caninum* ، وعوامل الخطر المرتبطة بالتعرض لهذه الطفيليات وكذلك الجمع بين هذه العوامل مع حالات الإجهاض التي لوحظت لدى الإناث. للقيام بذلك، تم تحليل 184 مصلا غنما باستخدام تقنية ELISA غير المباشر وأظهرت النتائج أن 15% (IC95% 10%-20,4) و 22,82% (IC95% 15,89%-28,10%)، 49% (IC95% 41,62%-56,37%) من الأمصال إيجابية ل *N. caninum* و *T. gondii* و العدوى المشتركة للطفيليين. أبرز تحليل عوامل الخطر التي قد تؤثر على مخاطر التعرض ل *N. caninum* و / أو *T. gondii* وجود علاقة بين العمر و إيجابية المصل ل *N. caninum* و العدوى المشتركة للطفيليين ، وجود علاقة بين رتبة الولادة و إيجابية المصل ل *N. caninum* وأخيرا وجود علاقة إيجابية بين إيجابية المصل ل *T. gondii* ووجود القطط في المزارع. العوامل الأخرى لم تكن مؤثرة.

أظهرت الدراسة الوبائية للحالات و الشواهد وجود علاقة إيجابية بين الإجهاض و إيجابية المصل ل *T. gondii* أو *N. caninum*. هذا الرابط قوي بشكل خاص في حال العدوى المشتركة بالطفيليين و عليه فإنه بناء على هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أنه ينبغي حتما إدراج كل من *T. gondii* و *N. caninum* في التشخيص التفريقي لحالات الإجهاض لدى الأغنام في الجزائر.

**الكلمات الرئيسية:** أغنام، *T. gondii*، *N. caninum* ، إجهاض، الإنتشار المصلي، عوامل الخطر، الجزائر العاصمة

### *Liste des abréviations*

ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARNm :	ARN messenger
ARNp :	ARN polymérase
BSR :	Bradyzoite-specific recombinant
CMH :	Complexe Majeure d'Histocompatibilité
DL :	Dose létale
DO :	Densité optique
DSA :	Direction des Services Agricoles
DSV :	Direction des Services Vétérinaires
ELISA :	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FeLV :	Virus de la leucose féline
FIV :	Virus de l'immunodéficience féline
gp :	glycoprotéine
GRA :	Granules denses
GTPases :	Classe importante d'enzymes qui lient et hydrolysent la guanosine triphosphate
HD :	Hôte définitif
IDO :	Indoleamine 2,3-dioxygénase
IFAT :	Indirect Fluorescent Antibody Technique
IFI :	Immunofluorescence indirecte
INF $\gamma$ :	Interféron gamma
Ig :	Immunoglobuline
IGTP :	Interféron gamma induced GTPase
IHC :	Immunohistochimie
IHT :	Hémagglutination indirecte
IL-2 :	Interleukine 2

## *Liste des abréviations*

IL-4 :	Interleukine 4
IL-6 :	Interleukine 6
IL-10 :	Interleukine 10
IL-12 :	Interleukine 12
iNOS :	Inductible nitric oxide synthase
ITS1 :	Internal transcribed spacer 1
kDa :	Kilo Dalton
LTCD4+ :	Lymphocytes T interagissant avec les molécules de CMH de classe II
LTCD8+ :	Lymphocytes T interagissant avec les molécules de CMH de classe I
mAb :	Monoclonal AntiBody
MADR :	Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural
MAT :	Microscopic Agglutination Test
<i>N. caninum</i> :	<i>Neospora caninum</i>
PAS :	Periodic Acid Schiff
PBMC :	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCR :	Polymerase Chain Reaction
Réponse Th1 :	Réponse de lymphocytes TCD4+ qui sécrètent principalement de l'IL-2 et l'IFN gamma
Réponse Th2 :	Réponse de lymphocytes TCD8+ qui sécrètent principalement de l'IL-4, IL-5, IL-6, IL-10
ROP :	Rhoptrie
SAG :	Antigènes de surface
SIDA :	Syndrome d'immunodéficience acquise
SRS :	SAG-related sequences
STAT :	Signal Transducer and activator of transcription
<i>T. gondii</i> :	<i>Toxoplasma gondii</i>
TGF- $\beta$ :	Transforming growth Factor beta
TLR :	Toll-like receptors
TNF $\alpha$ :	Facteur de nécrose tumorale alpha
Tregs :	Lymphocytes T régulateurs

## *Liste des illustrations*

<b>Figure 1</b> : Les trois formes infectieuses de <i>Toxoplasma gondii</i> ( <b>DUBEY et al., 1998 ; MEISSNER et al., 2002</b> )	<b>08</b>
<b>Figure 2</b> : Ultrastructure du tachyzoïte de <i>Toxoplasma gondii</i> ( <b>BAUM et al., 2006</b> )	<b>09</b>
<b>Figure 3</b> : Cycle biologique de <i>Toxoplasma gondii</i> ( <b>REDONDO et INNES, 1997 ; BUXTON, 1998</b> )	<b>12</b>
<b>Figure 4</b> : Cinétique de la réponse de l'hôte lors d'une primo-infection à <i>Toxoplasma gondii</i> , dans la lymphe efférente ( <b>INNES et WASTLING, 1995a</b> )	<b>18</b>
<b>Figure 5</b> : Tableau clinique de la toxoplasmose chez la brebis en fonction du stade de gestation ( <b>BUXTON, 1998 ; RODGER et BUXTON, 2006</b> )	<b>26</b>
<b>Figure 6</b> : Tachyzoïtes regroupés dans l'encéphale d'un chien ( <b>DUBEY et al., 2002</b> )	<b>45</b>
<b>Figure 7</b> : Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien ( <b>DUBEY et al., 2002</b> )	<b>47</b>
<b>Figure 8</b> : Oocyste sporulé contenant deux sporozoïtes ( <b>LINDSAY et al., 1999b</b> )	<b>47</b>
<b>Figure 9</b> : Cycle évolutif de <i>N. caninum</i> ( <b>MACALLISTER et al., 1998</b> )	<b>50</b>
<b>Figure 10</b> : Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de <i>Neospora caninum</i> ( <b>BUXTON et al., 2002</b> )	<b>52</b>
<b>Figure 11</b> : Principe de la technique de détection des anticorps anti- <i>Neospora caninum</i> par immunofluorescence indirecte ( <b>PACHMAN, 1998</b> )	<b>81</b>
<b>Figure 12</b> : Localisation de la zone d'étude ( <b>ILLUSTRATION PERSONNELLE, 2016</b> )	<b>95</b>
<b>Figure 13</b> : Taux de prévalence des avortements chez les brebis dans les différentes exploitations étudiées	<b>108</b>
<b>Figure 14</b> : Causes d'avortement selon les éleveurs	<b>110</b>
<b>Figure 15</b> : Effet de la race sur les avortements	<b>111</b>
<b>Figure 16</b> : Effet de l'âge sur les avortements	<b>112</b>

### *Liste des illustrations*

<b>Figure 17</b> : Effet de la parité sur les avortements	<b>113</b>
<b>Figure 18</b> : Effet du contact du chien avec les brebis sur les avortements	<b>114</b>
<b>Figure 19</b> : Effet du contact du chat avec les brebis sur les avortements	<b>114</b>
<b>Figure 20</b> : Effet de la vermifugation sur les avortements	<b>115</b>
<b>Figure 21</b> : Effet de la Vaccination sur les avortements	<b>116</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 :</b>	Principaux critères de diagnose différentielle entre <i>Toxoplasma gondii</i> et <i>Neospora caninum</i> ( <b>CHERMETTE et MARQUER, 2000</b> )	<b>48</b>
<b>Tableau 2 :</b>	Répartition des brebis et fermes prélevées par commune ( <b>DSV, 2015</b> )	<b>97</b>
<b>Tableau 3 :</b>	Répartition des 184 échantillons analysés par exploitation et par commune	<b>98</b>
<b>Tableau 4 :</b>	Taux de prévalence des avortements chez les brebis appartenant aux différentes exploitations étudiées	<b>109</b>
<b>Tableau 5 :</b>	Causes des avortements selon les éleveurs	<b>109</b>
<b>Tableau 6 :</b>	Facteurs de risque liés aux avortements chez la brebis	<b>117</b>
<b>Tableau 7 :</b>	Statut sérologique vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i> et/ou <i>Neospora caninum</i>	<b>118</b>
<b>Tableau 8 :</b>	Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à <i>Toxoplasma gondii</i> et/ou <i>Neospora caninum</i>	<b>120</b>
<b>Tableau 9 :</b>	Caractéristiques des fermes	<b>121</b>
<b>Tableau 10 :</b>	Séroprévalence de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction du statut des fermes	<b>122</b>
<b>Tableau 11 :</b>	Séroprévalence vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i> par ferme et par individu	<b>122</b>
<b>Tableau 12 :</b>	Étude cas-témoin au niveau des fermes avec comme facteur d'exposition la séropositivité à <i>Toxoplasma gondii</i>	<b>123</b>
<b>Tableau 13 :</b>	Cas-témoin au niveau individuel	<b>124</b>
<b>Tableau 14 :</b>	Association entre séropositivité et avortement chez la brebis	<b>124</b>
<b>Tableau 15 :</b>	Séroprévalence de <i>Neospora caninum</i> en fonction du statut des fermes	<b>125</b>
<b>Tableau 16 :</b>	Séroprévalence vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i> par ferme	<b>126</b>

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau 17 :</b>	Étude cas-témoin au niveau des fermes avec comme facteur d'exposition la séropositivité à <i>Neospora caninum</i>	<b>126</b>
<b>Tableau 18 :</b>	Cas-témoin au niveau individuel pour le cas de <i>Neospora caninum</i>	<b>127</b>
<b>Tableau 19 :</b>	Association entre séropositivité et avortement chez la brebis	<b>128</b>
<b>Tableau 20 :</b>	Cas-témoin au niveau individuel pour la coinfection <i>T. gondii</i> et <i>N. caninum</i>	<b>129</b>
<b>Tableau 21 :</b>	association entre séropositivité vis-à-vis des deux parasites et l'avortement chez la brebis	<b>130</b>
<b>Tableau 22 :</b>	Risque d'avortement lié aux différents agents abortifs étudiés	<b>131</b>
<b>Tableau 23 :</b>	risque d'avortement avec les infections concurrentes	<b>132</b>

## *Sommaire*

<b>Introduction générale</b>	
<b>Revue de la littérature</b>	
<b>Chapitre I : <i>Toxoplasma gondii</i></b>	<b>04</b>
I.1. Historique	05
I.2. Classification, morphologie et biologie du parasite	06
I.2.1. Classification	06
I.2.2. Morphologie	07
I.2.3. Biologie	11
I.2.3.1. Habitat	11
I.2.3.2. Cycle évolutif	12
I.2.3.3. Les différentes souches de <i>T. gondii</i>	15
I.2.3.4. Diversité antigénique	16
I.3. Pathogénie et immunité	17
I.3.1. Prolifération	17
I.3.2. Réponse immunitaire des ovins contre <i>Toxoplasma gondii</i>	17
I.3.2.1. Réponse immunitaire des ovins non gestants	17
I.3.2.2. Réponse immunitaire des ovins gestants	21
I.4. Symptômes chez l'animal	22
I.4.1. Toxoplasmose du chat	22
I.4.1.1. Toxoplasmose intestinale	23
I.4.1.2. Toxoplasmose extra intestinale	23

## *Sommaire*

I.4.2. Toxoplasmose du chien	23
I.4.3. Toxoplasmose de la faune sauvage	24
I.4.3.1. Rongeurs	24
I.4.3.2. Les autres mammifères	24
I.4.4. Toxoplasmose des animaux domestiques	24
I.4.4.1. Toxoplasmose du mouton et de la chèvre	24
I.4.4.2. Toxoplasmose du poulet	25
I.5. Lésions chez l'animal	25
I.6. Importance de la toxoplasmose ovine	26
I.7. Épidémiologie de la toxoplasmose	27
I.7.1. Rôle des chats	27
I.7.2. Résistance des oocystes dans l'environnement	28
I.7.3. Mode de transmission	28
I.7.3.1. Transmission horizontale	28
I.7.3.2. Transmission verticale	29
I.7.4. Facteurs de risque	29
I.7.4.1. L'âge	29
I.7.4.2. Le genre	30
I.7.4.3. La présence des animaux	30
I.7.4.4. Le climat	30
I.7.4.5. Système de gestion	30
I.8. Diagnostic	31

## *Sommaire*

I.8.1. Clinique	31
I.8.2. Expérimental	31
I.8.2.1. Méthodes directes	32
I.8.2.1.1. Examen coprologique	32
I.8.2.1.2. Histopathologie	32
I.8.2.1.3. Immunohistochimie	33
I.8.2.1.4. Frottis directs	33
I.8.2.1.5. Inoculation aux souris	33
I.8.2.1.6. Cultures cellulaires (cellules VERO, fibroblastes humains)	33
I.8.2.1.7. Techniques moléculaires (PCR)	33
I.8.2.2. Méthodes indirectes (sérologie)	34
I.8.2.2.1. Le Dye test ou test de Sabin et Feldman	34
I.8.2.2.2. L'hémagglutination indirecte (IHT)	35
I.8.2.2.3. L'immunofluorescence indirecte (IFAT)	35
I.8.2.2.4. L'ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)	36
I.9. Traitement	37
I.10. Prophylaxie	37
I.10.1. Prophylaxie sanitaire	38
I.10.2. Prophylaxie médicale (Vaccination)	39

## *Sommaire*

<b>Chapitre II : <i>Neospora caninum</i></b>	<b>43</b>
II.1. Rappels historiques	44
II.2. Taxonomie-Classification	44
II.3. Morphologie-Structure	45
II.4. Cycle évolutif	48
II.5. Pathogénie et immunité	51
II.5.1. Pénétration et évolution du parasite au sein de l'organisme	51
II.5.2. Réponse immunitaire des ovins au cours de l'infection à <i>Neospora caninum</i>	53
II.5.2.1. La réponse immunitaire des ovins non gestants	53
II.5.2.2. La réponse immunitaire des ovins gestants	55
II.6. Manifestations cliniques et lésions	62
A. Chez les ovins	62
B. Chez les bovins	63
1. Symptômes	63
a) Avortement	63
b) Infection des veaux	64
2. Lésions	65
a) Observations macroscopiques	65
b) Observations microscopiques	65
- Les lésions	65
- Le parasite	66
C. Chez le chien	67

## *Sommaire*

1. Symptômes	67
2. Lésions	69
a) Lésions macroscopiques	69
b) Lésions microscopiques	69
C. Chez les chats	69
II.7. Épidémiologie et prévalence	70
II.7.1. Sources de parasites	70
II.7.1.1. Chien	70
II.7.1.2. Bovins	70
II.7.1.3. Autres espèces	71
II.7.1.4. Milieu extérieur	71
II.7.2. Espèces sensibles	71
II.7.3. Mode de transmission	72
II.7.3.1. Transmission verticale	72
II.7.3.2. Transmission horizontale	73
II.7.3.2.1. Contamination de l'hôte définitif	73
II.7.3.2.2. Contamination des hôtes intermédiaires	74
II.7.4. Impact économique	74
II.8. Diagnostic	76
II.8.1. Clinique et Épidémiologique	76
II.8.2. Expérimental	76
II.8.2.1. Méthodes directes	77

## *Sommaire*

II.8.2.1.1. Histologie	77
II.8.2.1.2. L'immunohistochimie	78
II.8.2.1.3. Isolement sur culture cellulaire et inoculation	79
II.8.2.1.4. Amplification génique	79
II.8.2.2. Méthodes indirectes	80
II.8.2.2.1. Immunofluorescence indirecte (IFI)	80
II.8.2.2.2. L'agglutination directe	81
II.8.2.2.3. Méthode enzymatique : L'ELISA	82
II.8.2.2.4. Le Western-blot	83
II.8.2.2.5. Notion de seuil et de comparabilité	84
II.9. Traitement et prophylaxie	85
II.9.1. Traitement	85
II.9.2. Prophylaxie	87
II.9.2.1. Prophylaxie médicale	87
II.9.2.2. Prophylaxie sanitaire	89
II.9.2.2.1. Mesures défensives	89
II.9.2.2.2. Mesures offensives	90
<b>Partie expérimentale</b>	<b>92</b>
I. Objectifs et stratégies	93
II. Matériel et méthodes	94

## *Sommaire*

II.1. Description de la région d'étude	<b>94</b>
II.1.1. Situation géographique	<b>94</b>
II.1.2. Climat	<b>95</b>
II.1.3. La production animale dans la région d'étude	<b>96</b>
II.1.4. Description du mode d'élevage ovin	<b>96</b>
II.2. Population animale prélevée	<b>96</b>
II.3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique	<b>96</b>
II.3.1. Mode d'échantillonnage	<b>96</b>
II.3.1.1. Étude épidémiologique descriptive sur les avortements	<b>96</b>
II.3.1.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis de <i>T. gondii</i> et <i>N. caninum</i>	<b>98</b>
II.3.1.3. Étude épidémiologique de type cas-témoin	<b>99</b>
II.4. Nature et préparation des prélèvements	<b>99</b>
II.5. Analyses sérologiques	<b>99</b>
II.5.1. Description et principe du test pour <i>T. gondii</i>	<b>100</b>
II.5.1.1. Matériel	<b>100</b>
II.5.1.2. Méthode	<b>101</b>
II.5.2. Description et principe du test pour <i>N. caninum</i>	<b>102</b>
II.5.2.1. Matériel	<b>103</b>
II.5.2.2. Méthode	<b>103</b>
II.6. Analyses statistiques	<b>105</b>

## *Sommaire*

III. Résultats	<b>107</b>
III.1. Enquête épidémiologique sur les avortements	<b>108</b>
1. Prévalence des avortements	<b>108</b>
2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements	<b>109</b>
2.1. Causes des avortements	<b>109</b>
2.2. La race	<b>110</b>
2.3. L'âge	<b>111</b>
2.4. Parité	<b>112</b>
2.5. Présence d'animaux	<b>113</b>
2.6. Vermifugation	<b>115</b>
2.7. Vaccination	<b>115</b>
III.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis des infections par <i>Toxoplasma gondii</i> et /ou <i>Neospora caninum</i>	<b>118</b>
III.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections par <i>Toxoplasma gondii</i> et/ou <i>Neospora caninum</i>	<b>118</b>
III.4. Étude épidémiologique de type cas-témoin	<b>121</b>
III.4.1. Étude épidémiologique avec comme facteur d'exposition la séroprévalence vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i>	<b>121</b>
III.4.1.1. Séroprévalence vis-à-vis de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction du statut des fermes	<b>121</b>
III.4.1.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation	<b>122</b>
III.4.1.3. Étude cas-témoin au niveau individuel	<b>123</b>
III.4.1.4. Étude de l'association entre la séropositivité et l'avortement des brebis	<b>124</b>
III.4.2. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i>	<b>125</b>
III.4.2.1. Séroprévalence vis-à-vis de <i>Neospora caninum</i> en fonction du statut des fermes	<b>125</b>
III.4.2.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation	<b>126</b>

## *Sommaire*

III.4.2.3. Étude cas-témoin au niveau individuel	127
III.4.2.4. Étude de l'association entre la séropositivité et l'avortement des brebis	127
III.4.3. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la coïnfection par les deux parasites	128
III.4.3.1. Étude cas-témoin au niveau individuel	128
III.4.3.2. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis de 2 parasites et l'avortement des brebis	129
III.5. Risque d'avortement attribué	130
III.5.1. Risque d'avortement attribué à <i>Toxoplasma gondii</i>	130
III.5.2. Risque d'avortement attribué à <i>Neospora caninum</i>	130
III.5.3. Risque d'avortement avec les infections concurrentes	131
IV. Discussion	134
IV.1. Enquête épidémiologique sur les avortements	134
- Facteurs de risque liés aux avortements	135
IV.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis de <i>T. gondii</i> et/ou <i>N. caninum</i>	137
IV.3. Étude des facteurs de risque liés à <i>T. gondii</i> et/ou <i>N. caninum</i>	138
IV.4. Étude épidémiologique de type cas-témoin	141
IV.5. Risque d'avortement attribué	144
V. Conclusion et recommandations	146

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**



## **Introduction Générale**

## *Introduction générale*

Les moutons et les chèvres sont parmi les premières espèces animales domestiquées par l'homme pour la production de viande, de lait, de laine et de peaux (**LE LOUEDEC et PLOMMET, 1997**).

En Algérie, le cheptel ovin algérien est estimé à 20 millions de têtes (**MADR, 2008**). Il occupe une grande place dans l'économie nationale et représente une réalité zootechnique et commerciale de première importance.

Un problème de reproduction quel qu'il soit influe sur la rentabilité de l'élevage, notamment les avortements dont la déclaration est obligatoire (**CLÉMENT, 1981**). L'amélioration de la fertilité demeure un des objectifs prioritaires pour optimiser le potentiel de reproduction et donc de la production de l'élevage ovin.

L'avortement chez la brebis peut avoir des origines infectieuses tels que les bactéries, les virus, les parasites et les champignons ou non infectieuses tels que les facteurs nutritionnels, chimiques, physiques, génétiques, endocriniens, immunologiques, iatrogènes...

Actuellement, les avortements touchent environ 10 % des brebis dans le monde ([www.office-elevage.fr](http://www.office-elevage.fr)). En Algérie, la situation est mal connue car elle ne fait pas l'objet de recensement systématique.

*Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sont des parasites intracellulaires présentant des ressemblances structurales, génétiques et immunologiques (**DUBEY, 2003**), identifiés partout dans le monde comme les principales causes infectieuses d'avortements chez les bovins et les petits ruminants respectivement (**REKIKI, 2000**).

La toxoplasmose ovine, causée par *Toxoplasma gondii* est reconnue être à l'origine de graves pertes économiques dans les élevages ovins dans de nombreux pays à travers le monde (**MASALA et al., 2003**). Dans ce genre d'infection, la brebis peut avorter à n'importe quel stade de la gestation avec possibilité de malformations fœtales, de mises bas avant terme, de résorption et de momification fœtales ainsi que des mortalités à la naissance (**MALIK et al., 1990**). Ces phénomènes ont été signalés en Grande Bretagne, en Nouvelle Zélande, en Australie, aux USA, en Uruguay, en Norvège et autres pays (**BLEWETT et WATSON, 1984; DUBEY et BEATTIE, 1988; SKJERVE et al., 1998; FREYRE et al., 1999 ; MASALA et al., 2003**).

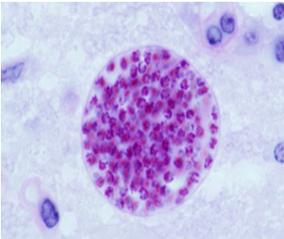
Chez les ovins non gestants, l'infection est classiquement asymptomatique (**CRUZ VAZQUEZ et al., 1992**).

La néosporose, causée par le protozoaire *Neospora caninum*, est fréquemment diagnostiquée chez les bovins à travers le monde entier (**ANDERSON et al., 1991**). Chez les ovins, elle est suspectée comme étant une cause potentielle d'avortement. En effet, des avortements, des naissances d'agneaux chétifs, des agneaux positifs et cliniquement sains ont été observés chez des brebis gestantes infectées expérimentalement avec des tachyzoïtes de *N. caninum* (**DUBEY et LINDSAY 1990B ; MC ALLISTER et al., 1996B ; BUXTON et al., 1997 ; 1998 ; 2001 ; JOLLEY et al., 1999**). Bien que *N. caninum* se soit révélé comme cause de mortalité chez les agneaux nouveau-nés congénitalement et naturellement exposés à l'infection, il n'existe que peu de preuves qu'il soit réellement une cause importante d'avortement chez cette espèce (**DUBEY et al., 1990 ; DUBEY et LINDSAY, 1990 ; OTTER et al., 1997 ; BUXTON et al., 1998 ; HURTADO et al., 2001 ; HELMICK et al., 2002 ; DUBEY, 2003 ; WEST et al., 2006 ; HOWE et al., 2008**).

Les données sur l'infection par *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum* dans les élevages ovins et leurs associations avec les avortements chez la brebis sont quasiment inexistantes en Algérie. Ce travail a pour but d'estimer la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum* dans les fermes ovines de la région Est d'Alger par l'utilisation de tests sérologiques. Il a également été conçu pour étudier les possibles associations entre les avortements observés et la séroprévalence vis-à-vis de ces deux pathogènes. Les facteurs de risque associés aux avortements et à la séropositivité vis-à-vis de ces deux parasites ont également été étudiés grâce à la mise en place d'un questionnaire épidémiologique.



## Revue de la littérature



## CHAPITRE I : *Toxoplasma gondii*

## I.1. Historique

Nicolle et Manceaux (1908) découvrirent un protozoaire dans les tissus d'un rongeur apparenté au hamster, le gundi, *Ctenodactylus gondi*, qui fut utilisé pour la recherche de la leishmaniose dans le laboratoire de Charles Nicolle à l'Institut Pasteur de Tunis. Nicolle cru d'abord que le parasite était un piroplasma, puis *Leishmania*, mais il réalisa aussitôt qu'il avait découvert un nouvel organisme qu'il nomma *T. gondii* sur la base de la morphologie (mod.L. *tox*= arc, *plasma*= vie) et l'hôte. Ainsi, sa désignation complète fut *T.gondii* (**DUBEY, 2008**). Rétrospectivement le nom correct du parasite devait être *T.gundii* ; Nicolle et Manceaux avaient mal identifiés l'hôte comme étant *Ctenodactylus gondi* (**DUBEY, 2007**). Splendore (1908) découvrit le même parasite chez le lapin au Brésil, et l'identifia par erreur comme étant *Leishmania*, mais ne le nomma pas.

Au cours des trente prochaines années, des organismes apparentés à *T.gondii* ont été retrouvés chez plusieurs autres hôtes, en particulier les espèces aviaires (**DUBEY, 2002a**), mais l'espèce viable de *T.gondii* fut d'abord isolée par Sabin et Olitsky (1937) et se révéla identique à l'isolat humain de *T.gondii* en utilisant une protection croisée.

La protection de *T.gondii* s'avéra être un complexe impliquant à la fois l'immunité innée et spécifique. Dans les années 1940, les anticorps humoraux ont été trouvés qu'ils tuaient les tachyzoïtes extracellulaires mais non ceux intracellulaires (**SABIN et OLITSKY, 1937 ; SABIN et FELDMAN, 1948**). Durant les prochaines cinquante années, l'immunité protectrice a été trouvée médiée principalement par les cellules lymphoïdes immunes (**FRENKEL, 1967 ; SUZUKI et al., 1988 ; GAZZINELLI et al., 1991**).

Bien que *T.gondii* ait une distribution mondiale et peut être la plus large gamme d'accueil de tout parasite, il n'ya qu'une seule espèce, *T.gondii* dans le genre *Toxoplasma*. La raison pour laquelle certains hôtes développent une toxoplasmose clinique alors que la plupart restent asymptomatiques est largement inconnue. Pendant les années 1980 et 1990, des méthodes ont été développées pour connaître les différences génétiques parmi les isolats humains et animaux de *T.gondii* (**PFEFFERKORN et PFEFFERKORN, 1980 ; DARDÉ et al., 1987 ; TIBAYRENE et al., 1991 ; SIBLEY et al., 1992 ; HOWE et SIBLEY, 1995**). La cartographie des gènes de *T. gondii* a été récemment réalisée (**KHAN et al., 2005**) et aidera sans doute à la recherche de meilleurs antigènes pour le diagnostic, la protection ainsi que le mécanisme de la maladie.

Jusqu'à récemment, *T.gondii* fut considérée clonale avec très peu de variabilités génétiques (**HOWE et SIBLEY, 1995**). En 2006, **LEHMANN et al** firent la première étude approfondie de la variabilité génétique parmi plus de 275 isolats de *T.gondii* obtenus dans le monde entier à partir d'un seul hôte (poulet fermier) et dans un seul laboratoire (**DUBEY et al., 2002**) et trouvèrent des différences géographiques avec certains isolats confinés au Brésil, tandis que d'autres étaient distribués dans le monde. Phénotypiquement, les isolats de *T. gondii* à partir de poulets asymptomatiques en provenance du Brésil étaient virulents pour la souris (**DUBEY et al., 2002**). Ce point est intéressant car il n'ya pas de souche non pathogène de *T. gondii* et la virulence chez la souris peut n'avoir aucune pertinence clinique à l'égard de la maladie chez l'homme et le bétail (**DUBEY, 2008**).

Les dates clefs du parasite depuis sa découverte sont reprises par l'**Annexe 01**.

## **I.2. Classification, morphologie et biologie du parasite**

### **I.2.1. Classification**

*T. gondii* est un protozoaire rattaché au phylum Apicomplexa, un groupe diversifié constitué principalement de parasites intracellulaires qui infectent un large éventail d'hôtes, et causent parfois de graves maladies chez les animaux et les humains (**HUNTER et SIBLEY, 2012**), à la classe des Coccidies grâce à des études de microscopie électronique et plus précisément aux Coccidies formant des kystes tissulaires (**BARTA, 2001 ; TENTER et al., 2002**). Finalement, sa classification systémique actuelle est la suivante (**BARTA, 2001 ; SU et al., 2003**) :

Règne : *Protista*

Phylum : *Apicomplexa*

Classe : *Coccidia*

Famille : *Sarcocystidae*

Sous-famille : *Toxoplasmatinae*

Genre : *Toxoplasma*

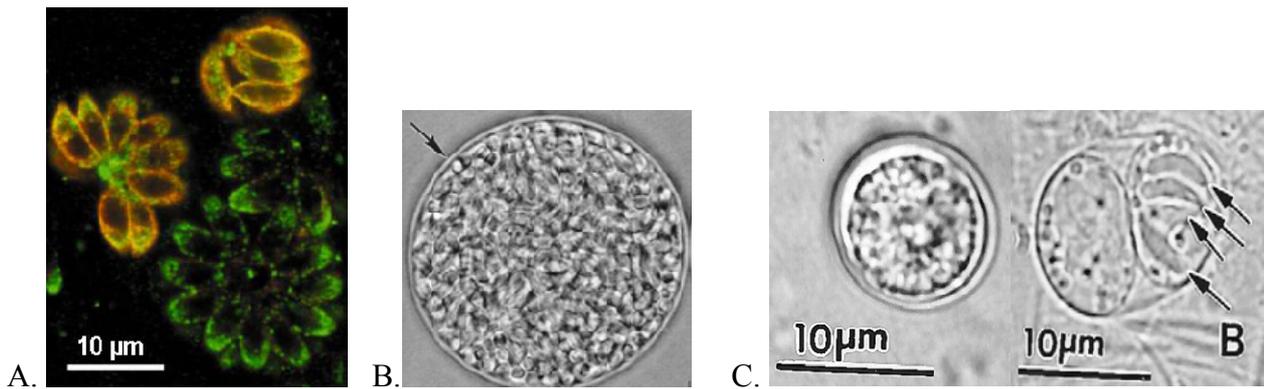
Espèce : *Gondii*

## I.2.2. Morphologie

*T. gondii* existe sous trois formes infectieuses, selon l'hôte et le stade infectieux considérés.

### A. Le tachyzoïte

La forme tachyzoïte tient son nom, initialement proposé par Frenkel, du grec « tachos » (rapide) (**FRENKEL, 1973**) (**Figure 01A**). C'est en effet la forme de multiplication rapide du parasite, elle peut être retrouvée dans tous les types cellulaires d'un organisme. La multiplication des tachyzoïtes se fait par endodyogénies successives, une forme spécialisée de reproduction asexuée au cours de laquelle deux tachyzoïtes-fils se forment dans le parasite parent. Au cours de l'endodyogénie, l'appareil de Golgi se divise en premier, il est alors doublé au pôle antérieur du noyau. Ensuite, les portions antérieures du complexe de la membrane interne et les microtubules subpelliculaires apparaissent comme deux structures antérieures en forme de dôme puis le noyau prend une forme en fer à cheval et ses extrémités se déplacent dans le dôme antérieur du tachyzoïte en formation. Le complexe membranaire interne et les microtubules subpelliculaires continuent leur expansion vers le pôle postérieur et recouvrent la moitié du noyau qui se divise finalement en deux. Le nouveau tachyzoïte continue à se développer jusqu'à ce qu'il atteigne la surface du tachyzoïte parent. Le complexe membranaire interne de ce dernier disparaît et sa membrane externe devient le plasmalemme du tachyzoïte-fils. Les phénomènes d'endodyogénie successifs ont lieu au sein d'une vacuole parasitophore et aboutissent à la formation d'une structure en rosette. En forme de croissant, le tachyzoïte mesure de 2 à 6 µm et présente deux extrémités différentes, l'une arrondie, l'autre pointue ou conoïdale. La membrane externe de cette forme parasitaire est constituée de trois couches superposées : le plasmalemme associé à deux couches formant un complexe interne de vésicules aplaties. En plus des structures internes classiquement retrouvées chez les organismes eucaryotes (noyau, mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, microtubules...), il contient des organelles particulières : rhoptries, micronèmes, granules denses, conoïde, apicoplaste, anneaux polaires et apicaux (**Figure 02**). Ces organelles ont un rôle essentiel lors de l'invasion des cellules-hôtes (**DUBEY et al., 1998 ; SPEER et al., 1999**).

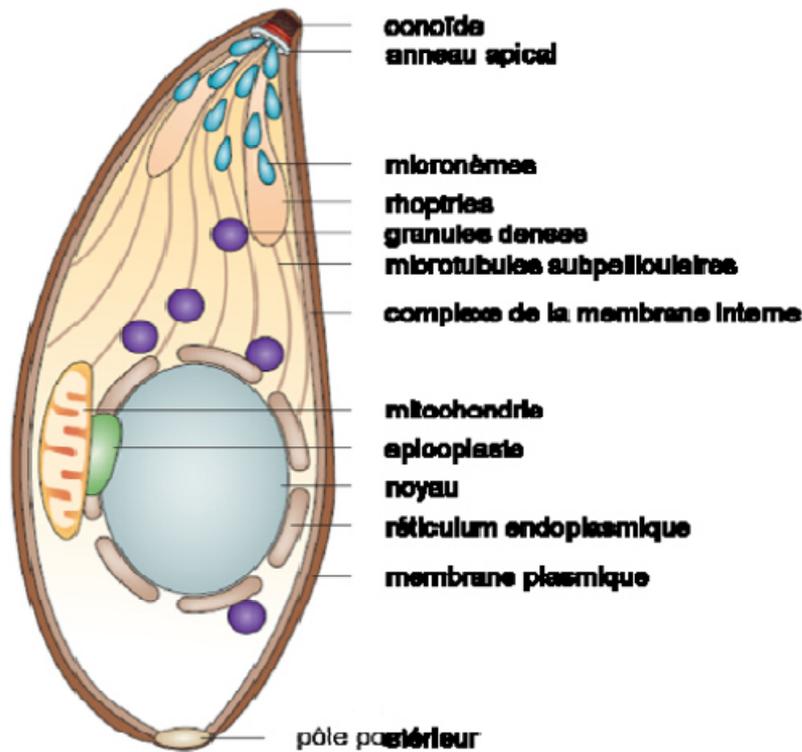


**Figure 01** : Les trois formes infectieuses de *Toxoplasma gondii* (**DUBEY et al., 1998 ; MEISSNER et al., 2002**)

A. Tachyzoïtes intracellulaires en rosette, forme caractéristique de leur division. Forme de multiplication rapide.

B. Bradyzoïtes, forme de multiplication lente, contenus dans un kyste cérébral.

C. Oocyste non sporulé (gauche) et oocyste contenant deux sporocystes, dont l'un comptant quatre sporozoïtes (droite). L'oocyste est la forme de résistance dans le milieu extérieur.



**Figure 02** : Ultrastructure du tachyzoïte de *Toxoplasma gondii* (BAUM *et al.*, 2006)

En forme de croissant, le tachyzoïte présente une extrémité arrondie et une extrémité conoïdale. La membrane externe est constituée de trois couches superposées. En plus des organites classiques d'un eucaryote, le tachyzoïte contient des organelles particulières : rhoptries, micronèmes, granules denses, conoïde, apicoplaste, anneaux apicaux, impliqués dans l'invasion des cellules-hôtes.

### **B. Le bradyzoïte**

Le terme bradyzoïte vient du grec « brady » (lent) et désigne la forme parasitaire qui se multiplie lentement au sein de kystes intracellulaires, des structures sphériques qui protègent le bradyzoïte du système immunitaire, chez l'hôte intermédiaire comme chez l'hôte définitif (**Figure 01B**).

Ces kystes grossissent à mesure que les bradyzoïtes, dérivés des tachyzoïtes, se multiplient par endodyogénie mais restent intracytoplasmiques. Leur taille est ainsi très variable, pouvant aller de 5 µm de diamètre à 70 µm dans de rares cas de kystes intracérébraux, et contiennent de deux à plusieurs centaines de bradyzoïtes.

Les kystes se localisent préférentiellement dans les cellules neurales et musculaires où ils persistent tout au long de la vie de l'hôte infecté sans déclencher de réaction inflammatoire.

La paroi du kyste dérive de celle de la vacuole parasitophore. La membrane de cette dernière présente de nombreuses petites invaginations tandis qu'une seconde couche homogène se développe sous la membrane. Les invaginations de la membrane se ramifient et certaines finissent par des bourgeons. La paroi du kyste est lisse et fine (0,5  $\mu\text{m}$ ), et ne contient ni glycogène ni aucun autre polysaccharide. Le kyste contient des bradyzoïtes en forme de croissant mesurant chacun  $7 \times 1,5 \mu\text{m}$  (*FERGUSON et HUTSHISON, 1987 ; DUBEY et al., 1998*).

Les bradyzoïtes diffèrent peu des tachyzoïtes. Le noyau du bradyzoïte est plus postérieur que celui du tachyzoïte, qui a tendance à être central. Les bradyzoïtes sont plus minces que les tachyzoïtes et contiennent des granules d'amylopectine absents ou présents en faible quantité chez les tachyzoïtes. Enfin, les bradyzoïtes sont plus résistants que les tachyzoïtes à une destruction par des enzymes protéolytiques (*DUBEY et al., 1998 ; SPEER et al., 1999*). Les deux stades, tachyzoïte et bradyzoïte, peuvent également être différenciés par l'expression de certains antigènes malgré leurs caractéristiques morphologiques communes.

Des antigènes spécifiques d'un stade ont été mis en évidence et peuvent notamment être utilisés comme marqueurs pour suivre l'interconversion tachyzoïte-bradyzoïte au cours des études réalisées in vitro. La plupart des antigènes de surface identifiés, ou SAG, peuvent être classés en deux familles, reliées soit à SAG1 soit à SAG2. La famille de SAG1 compte SAG3, les protéines SRS1 à SRS4 (SAG-related sequences), SAG5 et BSR4 (bradyzoïte-specific recombinant). Alors que SAG1 et les SRS1 à 3 sont uniquement présentes sur les tachyzoïtes, BSR4 est restreinte aux bradyzoïtes et SAG3 est présente sur les deux stades. Cette famille de protéines jouerait un rôle dans l'attachement avant l'invasion parasitaire. La famille de SAG2 compte quatre protéines proches, SAG2A à D. Tandis que SAG2A et B sont uniquement exprimés sur les tachyzoïtes, SAG2C et D sont restreints aux bradyzoïtes. SAG4 et SAG4.2 sont des protéines de surface spécifiques du bradyzoïte additionnelles, sans similarité structurale avec les autres SAG (*LYONS et al., 2002*).

### **C. Le sporozoïte**

Les sporozoïtes sont des formes résultant de la multiplication sexuée du parasite, contenus dans une structure résistante aux conditions extérieures, l'oocyste (**Figure 01C**).

Les oocystes se développent chez l'hôte définitif avant d'être excrétés dans le milieu extérieur où ils sporulent et peuvent persister plusieurs mois tout en gardant leur pouvoir infectieux. Les oocystes non sporulés ont une structure sphérique de 10 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre alors que la forme sporulée mesure de 11 à 13  $\mu\text{m}$ .

Le cytoplasme d'un oocyste sporulé a un grand noyau avec un nucléole distinct et un nucléoplasme amorphe. Cet oocyste est limité par une membrane unitaire contenant peu de micropores. Le noyau se divise deux fois, donnant ainsi quatre noyaux, situés à la périphérie de l'oocyste non sporulé. Lors de cette étape, une seconde membrane se forme. Une fois le cytoplasme divisé, deux sporoblastes sphériques sont constitués, chacun avec deux noyaux.

Par la suite, les sporoblastes s'allongent, devenant ainsi des sporocystes. Les deux membranes externes des sporoblastes deviennent la couche externe de la paroi des sporocystes et le plasmalemme de la masse cytoplasmique devient la couche interne. La formation des sporozoïtes débute avec l'apparition de deux plaques denses aux deux extrémités du sporocyste. Chaque noyau se divise en deux et est incorporé dans l'une des plaques denses en cours d'élongation. Ainsi, les oocystes sporulés contiennent deux sporocystes en forme d'ellipse de 6 à 8  $\mu\text{m}$  et chaque sporocyste renferme quatre sporozoïtes (*DUBEY et al., 1998*).

La paroi de l'oocyste sporulé est constituée de trois couches : une couche externe dense aux électrons, une couche moyenne réfringente et une couche interne moyennement dense, tandis que celle du sporocyste compte deux couches : une fine couche externe dense aux électrons et une couche interne encore plus fine moyennement dense (*SPEER et al., 1998*).

L'ultrastructure du sporozoïte est similaire à celle du tachyzoïte bien que le sporozoïte soit plus riche en micronèmes, rhoptries et granules d'amylopectine (*DUBEY et al., 1998*).

### **I.2.3. Biologie**

#### **I.2.3.1. Habitat**

À la différence des formes de reproduction sexuée, spécifiquement observables dans les entérocytes, les bradyzoïtes et les tachyzoïtes n'ont aucune spécificité de cellules : ils sont observables dans les cellules du système des phagocytes mononuclées (monocytes, histiocytes, macrophages), mais aussi dans les cellules épithéliales, les fibroblastes, les hépatocytes, les neurones... Ils ne parasitent en revanche jamais les globules rouges (*BEUGNET et BOURDOISEAU, 2005*).



## **-Cycle sexué**

Chez le chat domestique, la contamination naturelle a lieu rapidement après le sevrage par ingestion de kystes tissulaires dans les proies infectées, comme les petits mammifères ou les oiseaux. La séroprévalence varie avec l'âge et est plus importante chez les chats errants qui chassent leurs proies que chez les chats domestiques qui sont nourris avec des aliments en conserve (*TENTER et al., 2000*).

Le cycle sexué a essentiellement été décrit suite à une contamination par des kystes tissulaires. Dans les intestins du chat, les bradyzoïtes libérés envahissent les cellules entéroépithéliales afin d'y effectuer leur multiplication asexuée.

La différenciation sexuée en macrogamétocytes femelles ou en microgamétocytes mâles débute trois à quinze jours après la contamination. Dans la lumière intestinale, les microgamétocytes libèrent des microgamètes mâles flagellés qui peuvent alors fertiliser les macrogamètes femelles contenus dans les cellules entéroépithéliales. Des oocystes immatures sont libérés des cellules épithéliales et rejetés quotidiennement dans les fèces du chat. Ils ne sont pas directement infectieux pour les animaux ou les humains. Le développement du caractère infectieux, ou sporulation, prend de un à vingt-et-un jours sous des températures de 11 à 25 °C et des conditions d'humidité suffisantes (*DUMÈTRE et DARDÉ, 2003*).

Des infections expérimentales ont montré que les félinés excrètent des oocystes dans les fèces trois à dix jours après ingestion de bradyzoïtes, dix-huit jours après ingestion d'oocystes sporulés et treize jours après ingestion de tachyzoïtes (*DUBEY et al., 1998*).

Un chat peut produire plusieurs millions d'oocystes, la plupart du temps sans signes cliniques, après l'ingestion d'un seul kyste tissulaire. Cependant, cette excrétion a lieu sur une courte durée (une à deux semaines) dans la vie du chat. On estime qu'à un moment donné et dans une population donnée, 1% à 2 % des chats excrètent des oocystes, ce qui est suffisant pour assurer une contamination efficace du milieu extérieur (*HILL et DUBEY, 2002 ; DUMÈTRE et DARDÉ, 2003*).

## **-Cycle asexué**

Suite à l'ingestion d'oocystes, les sporozoïtes sont libérés et entrent dans les entérocytes dans les quatre heures. Dans les six à douze heures suivantes, les sporozoïtes se transforment en tachyzoïtes qui commencent à se diviser dans une vacuole parasitophore au sein des cellules endothéliales capillaires, des macrophages, des lymphocytes, des neutrophiles, des éosinophiles, des cellules des muscles lisses et des fibroblastes de la lamina propria intestinale. Six jours plus tard, des parasites sont retrouvés dans le cerveau et dès sept jours post-infection, les bradyzoïtes se forment (**DUBEY, 1998**).

Suite à l'ingestion de kystes tissulaires, les bradyzoïtes pénètrent dans les entérocytes et les cellules de la lamina propria dans les deux heures. Quelques heures plus tard, les bradyzoïtes se transforment en tachyzoïtes. Dans les quatre jours suivants, les tachyzoïtes ont atteint le cerveau, les poumons et les autres organes. Deux jours plus tard, les kystes se forment. Leur localisation et leur nombre dépend de l'hôte : chez les rongeurs (souris et rats), les kystes sont plutôt présents dans le cerveau tandis que chez les ruminants (bétail, ovins, chèvres...) ils sont préférentiellement localisés dans les muscles (**DUBEY, 1998**).

*In vitro*, l'entrée des tachyzoïtes dans des cellules non phagocytaires, comme les fibroblastes, est un processus rapide (15 à 30 secondes) et actif qui implique des moteurs actine/myosine dans le parasite. L'invasion est toujours initiée au pôle apical de *T. gondii*. Le contenu des micronèmes est libéré dès le contact initial du pôle apical avec la surface de la cellule-hôte. Immédiatement après, les rhoptries injectent leur contenu dans le cytoplasme local de la cellule-hôte. Les protéines de rhoptries interviennent dans la biogenèse de la vacuole parasitophore et dans l'association des organelles de l'hôte à cette vacuole. Enfin, alors que le parasite est entièrement encapsulé dans sa vacuole parasitophore, les granules denses libèrent leurs protéines dans le lumen de la vacuole. Ces protéines modifient la vacuole pour permettre l'acquisition de nutriments de la cellule-hôte (**BLACK et BOOTHROYD, 2000 ; CARRUTHERS, 2002**).

La vacuole de *T. gondii* est remarquable par sa capacité à échapper à toute fusion avec des vésicules cytoplasmiques. La paroi de la vacuole est lisse et exempte de presque toute protéine intra membranaire.

Vingt pourcents de la vacuole sont fournis par le parasite au cours de l'entrée mais la majorité de la membrane initiale est dérivée de la cellule-hôte (**BLACK et BOOTHROYD, 2000**). Cette membrane intervient dans le réarrangement des microtubules de l'hôte, le recrutement et l'association de haute affinité avec les mitochondries et le réticulum endoplasmique de l'hôte, la capture de divers lipides depuis les mitochondries et le réticulum endoplasmique et la subversion de certains facteurs de transcription, kinases et phosphatases de l'hôte. De plus, les pores de la membrane permettent un accès bidirectionnel au cytoplasme de l'hôte pour des molécules de taille supérieure à 1300 Daltons comme des nucléotides, des acides aminés ou des sucres simples (**MARTIN et al., 2007**).

La sortie du parasite est rapide et entraîne la lyse de la cellule-hôte tout en libérant des parasites très mobiles. Aucun événement sécrétoire de la part du parasite n'a été mis en évidence (**BLACK et BOOTHROYD, 2000**). La dissémination des parasites dans l'organisme donne lieu à une phase de parasitémie qui déclenche la réponse immunitaire de l'hôte. Les rares parasites qui échappent à l'élimination par le système immunitaire de l'hôte s'enkystent alors dans les organes cibles.

### **1.2.3.3. Les différentes souches de *T. gondii***

Des analyses faites avec les techniques de biologie moléculaire ont permis de classer les souches de *T. gondii* en trois génotypes ou lignées clonales, appelées souches de Type I, Type II et Type III (**SIBLEY et BOOTHROYD, 1992 ; HOWE et SIBLEY, 1995 ; AJZENBERG et al., 2004**). À côté de ces trois souches, il existe des souches dites "rares" ou "atypiques", qui sont des recombinants des types I, II et III (**GRIGG et al., 2001**).

#### **-Type I**

Ces souches sont très virulentes chez la souris, en effet, l'infection chez la souris par les souches de type I est mortelle dans la phase aiguë de l'infection. La dose létale (DL) 100 des souches de type I est de 1 tachyzoïte viable qui provoque la mort des souris en moins de 10 jours avec une haute parasitémie. En revanche, ces souches sont non virulentes chez le rat et parfois sont complètement éliminées par leur système immunitaire (**ZENNER et al., 1999**).

#### **-Type II**

Les souches de type II sont de virulence moyenne comme les souches 76K, ME49, DEG, PIH et sont responsables de la toxoplasmose chronique chez la souris. Elles ne sont pas mortelles dans la phase aiguë de la toxoplasmose sauf chez les souris naturellement sensibles comme les souris C57BL/6 ou dans le cas d'une infection avec une forte dose.

La DL100 des souches de type II est  $10^3$ . Elles sont à l'origine de la plupart des infections chez l'Homme et chez les animaux domestiques (*HOWE et SIBLEY, 1995 ; GROSS et al., 1997*).

### **-Type III**

Ces souches sont avirulentes chez la souris (comme VEG, CTG, STRL). Elles sont fréquentes chez les animaux mais elles ne sont pas associées à la maladie (*HOWE et SIBLEY, 1995*). Une étude récente montre que la plupart des souches isolées des animaux infectés en Afrique, appartenaient au génotype de type III (*MERCIER et al., 2010*).

Ces trois souches sont des lignées clonales qui avaient probablement un ancêtre commun il y a 10 000 ans. Elles conserveraient leur clonalité grâce à deux adaptations :

- 1) les hôtes intermédiaires sont généralement infectés par une seule souche, ainsi lors de leur ingestion par un chat, l'infection est monotypique et ne produit pas de nouveaux génotypes.
- 2) la transmission directe entre les hôtes intermédiaires successifs rend le chat facultatif dans le cycle de vie du parasite, occultant ainsi le cycle sexuel et le risque inhérent de génération de nouveaux génotypes (*SIBLEY et BOOTHROYD, 1992 ; SIBLEY, 2003*).

### **-Les souches atypiques ou recombinantes**

Les souches recombinantes (contenant les mélanges des génotypes de 3 populations clonales) représentent moins de 5% des souches totales (*HOWE et SIBLEY, 1995*). Elles ont été isolées à partir d'animaux sauvages ; singes-écureuils (*CARME et al., 2009*), loutres en Californie centrale (*MILLER et al., 2004 ; CONARD et al., 2005*), jaguar en Guyane française (*DEMAR et al., 2008*).

Cependant, ces souches exotiques remonteraient à un million d'années. Ainsi, apparues avant les trois lignées actuelles, elles représenteraient plus vraisemblablement un état ancestral (*SIBLEY, 2003*).

#### **I.2.3.4. Diversité antigénique**

*Toxoplasma gondii* possède différents types d'antigènes (*NGOUBANGOYE, 2007*) :

### **-Les antigènes pariétaux ou de surface**

Ils sont surtout de nature glycoprotéique. Le plus important d'entre eux a un PM de 30kDa (glycoprotéine 30 ou SAG-I), il est présent chez les tachyzoïtes.

## **-Les antigènes cytoplasmiques**

Ce sont des protéines de 15 à 133 kDa, seules trois d'entre elles sont vraiment importantes car elles permettent de mettre en évidence la présence du toxoplasme lors du diagnostic sérologique.

### **I.3. Pathogénie et immunité**

#### **I.3.1. Prolifération**

Grâce à leur appareil apical, les toxoplasmes pénètrent activement dans les cellules de l'hôte. Ils se retrouvent dans des vacuoles parasitophore qui ne fusionnent pas avec les lysosomes, les parasites échappent donc à une digestion intracellulaire. Ils prolifèrent au rythme d'une division toutes les 4-5 heures pour les souches virulentes, toutes les 7 à 15 heures pour les souches moins virulentes.

Cette phase de prolifération entraîne des destructions cellulaires très importantes, avec possibilité de troubles graves et d'invasion fœtale via le placenta (*BUSSIERAS et CHERMETTE, 1992*).

#### **I.3.2. Réponse immunitaire des ovins contre *Toxoplasma gondii***

##### **I.3.2.1. Réponse immunitaire des ovins non gestants**

*Toxoplasma gondii* est un parasite intracellulaire, la réponse immunitaire à médiation cellulaire, dite de type Th1, semble donc être la plus adaptée et la plus protectrice des modalités de réponse immunitaire, notamment lors d'une primo-infection (*INNES et al., 2007*).

## **-Effecteurs de la réponse immunitaire cellulaire et leurs cinétiques**

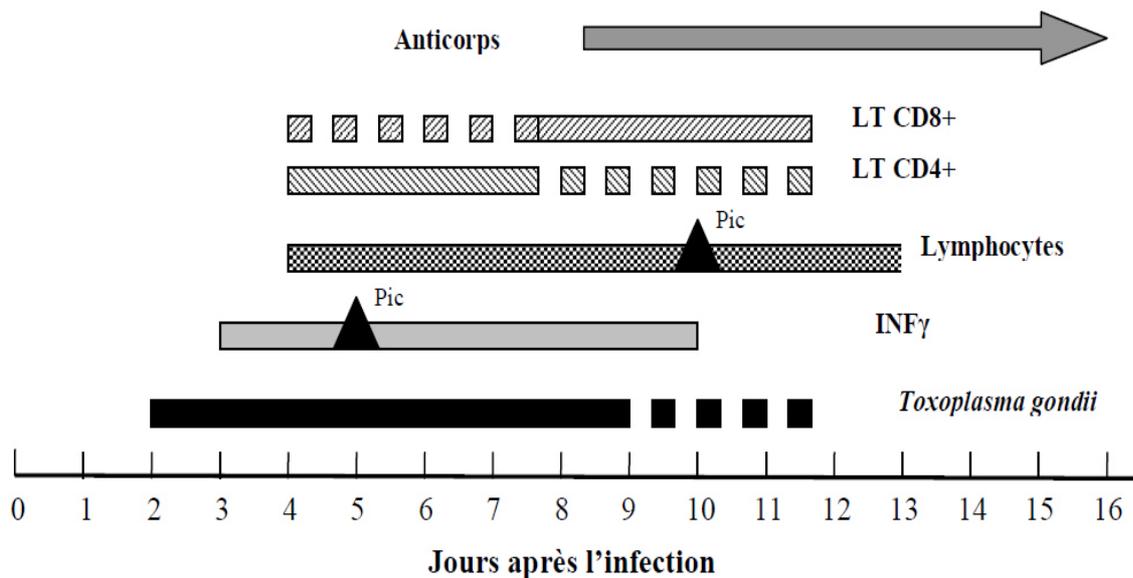
Des études utilisant la technique de cannulation lymphatique ont permis d'examiner directement la nature des effecteurs de la réponse immunitaire contre *Toxoplasma gondii*, ainsi que la cinétique d'apparition de ces effecteurs chez les ovins (*INNES et WASTLING, 1995b*). Ainsi, après inoculation de tachyzoïtes, l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ) est produit très précocement. Des IFN biologiquement actifs sont détectables dans la lymphe dès 48 à 96 heures après une primo-infection et ils persistent dans la lymphe pendant 6 à 9 jours. Un pic d'IFN $\gamma$  se produit 3 à 5 jours après l'inoculation (*INNES et al., 1995b*) (**Figure 04**). Chez la souris, *Toxoplasma gondii* est capable d'activer directement les macrophages qui produisent TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor) et interleukine 12 (IL-12), cytokine qui joue un rôle pivot dans la production d'IFN $\gamma$ .

In vitro, l'IFN $\gamma$  inhibe la multiplication intracellulaire du tachyzoïte dans les fibroblastes et les macrophages. De plus, l'IFN $\gamma$  est indispensable pour fournir un microenvironnement de cytokines favorables à l'induction d'une réponse immunitaire adaptée, de type Th1 (INNES, 1997).

L'IFN $\gamma$  est produit essentiellement par les lymphocytes T (LT) CD4+ mais aussi par les LT CD8+. Après une primo-infection, les premiers lymphocytes à être produits sont les LT CD4+. Au dixième jour après l'inoculation, il y a un pic de lymphocytes (UGGLA et BUXTON, 1990): 50% des cellules présentes dans la lymphe efférente sont des lymphocytes.

Les LT CD8+ deviennent alors prédominants (Figure 04). Le ratio CD4/CD8 diminue lorsque le nombre de LT spécifiques augmente (INNES et al., 1995a). Les LT CD8+ sont stimulés par l'interleukine 2 (IL-2) produite par les LT CD4+. Le parasite est présent dans la lymphe du deuxième au douzième jour après la primo-infection, mais sa quantité diminue considérablement à partir du neuvième ou dixième jour, conjointement à l'augmentation de la population lymphocytaire (BUXTON et al., 1994). Les LT CD4+ et surtout CD8+ inhibent la multiplication intracellulaire des tachyzoïtes in vitro.

L'activité cytotoxique contre les cellules infectées par le toxoplasme est attribuée aux LT CD8+ qui ont besoin de la présentation par les molécules CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) de classe I d'un peptide antigénique pour être activés (INNES et al., 1995a).



**Figure 04** : Cinétique de la réponse de l'hôte lors d'une primo-infection à *Toxoplasma gondii*, dans la lymphe efférente (INNES et WASTLING, 1995a).

Par conséquent, chez les ovins comme chez la souris, à l'inverse de l'Homme, le lymphocyte T CD8+ a un rôle protecteur prédominant lors d'une infection à *Toxoplasma gondii* (**PARKER et al., 1991; PURNER et al., 1996**). La cytokine clef qui va être sécrétée précocement et intervenir dans la résistance de l'hôte est l'INF $\gamma$ . Afin que la protection immunitaire soit la plus efficace possible, il y a donc une action synergique des effecteurs et notamment des LT CD4+, CD8+ et de l'INF $\gamma$ . Sous la pression de cette réponse immunitaire, le parasite change de forme biologique, et s'enkyste.

### **-Mécanismes intracytoplasmiques induits par l'INF $\gamma$**

*Toxoplasma gondii* est un parasite intracellulaire obligatoire et après une pénétration active dans les cellules de l'hôte, les tachyzoïtes se multiplient rapidement dans une vacuole parasitophore. Cette vacuole résiste à la fusion avec les vésicules du système endo-lysosomal mais elle permet la circulation des nutriments et des métabolites de la cellule hôte vers le parasite et, inversement, la sécrétion de facteurs qui contrôlent le maintien de la vacuole, du parasite vers la cellule hôte.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'INF $\gamma$  est une cytokine qui a un rôle majeur dans la résistance de l'hôte à *T. gondii*. L'INF $\gamma$  induit notamment un programme de transcription complexe dont le premier médiateur est le facteur de transcription STAT-1. La plupart des facteurs régulés par l'INF $\gamma$  sont dépendants de STAT-1 et comprennent les trois enzymes suivantes : iNOS (inducible nitric oxide synthase), IGTP (interferon-inducible GTPase) et IDO (indole-amine 2,3-dioxygénase) (**YAP et al., 2006**).

iNOS est une enzyme capable de catalyser la formation d'oxyde nitrique à partir de l'arginine. L'expression d'iNOS par les macrophages nécessite l'activation combinée d'INF $\gamma$  et de TNF $\alpha$ . L'oxyde nitrique formé inhiberait alors le métabolisme des mitochondries et de certaines enzymes, essentiels à la réplication et à la respiration du parasite. Néanmoins, des souris déficientes pour iNOS survivent à une infection aiguë par *T. gondii* (**SUZUKI, 2002**). D'autres facteurs intracytoplasmiques, indépendants d'iNOS jouent donc un rôle important dans la résistance de l'hôte au toxoplasme : IGTP et IDO.

IGTP est une autre des enzymes induites par l'INF $\gamma$ , qui est impliquée dans la résistance cellulaire. Les IGTP proviennent de la famille de GTPases p47 qui ont été localisées dans le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et la membrane des 29 phagosomes. Ainsi les IGTP s'associeraient avec la membrane de la vacuole parasitophore, favorisant ainsi sa dégradation par les lysosomes (**YAP et al., 2006**).

L'INF $\gamma$  est aussi responsable d'une autre activité anti-toxoplasme dans les cellules, via l'activation de l'IDO. Cette enzyme rompt le cycle aromatique du L-tryptophane. Elle prive ainsi la cellule hôte mais aussi le parasite, d'un acide aminé essentiel, compromettant de cette façon, le métabolisme du toxoplasme (**BHOPALE, 2003**).

En ce qui concerne la réponse humorale : après une primo-infection, naturelle ou expérimentale, par *Toxoplasma gondii*, le titre d'anticorps spécifiques est détectable dans la lymphe dès 7 à 8 jours, et il augmente significativement durant les 2 à 3 semaines qui suivent l'infection (**BLEWETT et al., 1983**). La persistance des anticorps après une infection naturelle semble être longue : les anticorps restent détectables pendant plusieurs années. En revanche, lors d'infection expérimentale avec des tachyzoïtes vivants, les résultats sont variables suivant les études, et le titre anticorps semble diminuer plus rapidement (**BUXTON et al., 1991**).

Les immunoglobulines M sont les plus abondantes pendant le premier mois suivant une primo-infection. Au cours du second mois, les IgG deviennent la classe d'immunoglobulines prédominante (**HANDMAN et REMINGTON, 1980 ; BLEWETT et al., 1983**). Une analyse de la lymphe efférente par Western Blot montre que la réponse contre les tachyzoïtes de la souche S48 est dirigée contre un nombre relativement faible de groupes antigéniques, notamment à 32, 30, 24 et 11 kDa. L'antigène de 30 kDa est probablement la principale glycoprotéine de surface de *T. gondii*, désignée par les termes gp30 ou SAG-1 (**WASTLING et al., 1995**). Gp30 est impliquée dans la stimulation des réponses immunitaires à la fois cellulaire et humorale chez la souris (**KASPER et KHAN, 1993**).

Après une seconde infection avec des tachyzoïtes, le taux d'anticorps à proximité du site de l'infection atteint très rapidement de grandes concentrations, et les immunoglobulines sont détectables dans la lymphe dès 3 à 4 jours. Les anticorps semblent jouer un rôle clef dans le blocage de l'entrée des parasites dans les cellules, prévenant ainsi l'invasion cellulaire et la multiplication des tachyzoïtes (**INNES et WASTLING, 1995b ; WASTLING et al., 1995**). Bien que la réponse cellulaire semble être celle qui confère le plus grand degré de protection lors d'une primo-infection, au cours des infections suivantes, la réponse humorale paraît essentielle pour bloquer précocement l'invasion du parasite dans les cellules de l'hôte (**INNES et al., 2007**).

### **I.3.2.2. Réponse immunitaire des ovins gestants**

Chez les ovins gestants, l'utérus gravide est un site 'immunologiquement privilégié' (**TOMASI, 1983**). Les tachyzoïtes trouvent leur chemin vers le placenta où ils envahissent et se multiplient à l'intérieur du septa caronculaire maternel dans le placentome et delà ils envahissent les cellules fœtales voisines du trophoblaste (**BUXTON et FINLAYSON, 1986**).

Le système immunitaire des ovins est modulé pendant la gestation afin de prévenir le rejet du fœtus semi-allogénique. Cela se manifeste par un amortissement de la réponse immunitaire pro-inflammatoire comme l'interleukine 2 (IL-2) et l'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) au niveau de l'interface materno-fœtale (**ENTRICAN et WHEELHOUSE, 2006 ; INNES et VERMEULEN, 2006**). Ce changement dans l'environnement immunitaire du placenta fournit au parasite un emplacement favorable pour s'établir et se multiplier.

Le stade de gestation constitue un facteur important dans la détermination de la sévérité de l'infection. En effet, plus l'infection a lieu à un stade précoce de la gestation et plus sévères seront les conséquences pour le fœtus (**WATSON et BEVERLEY, 1971 ; HARTLEY et MOYLE, 1974 ; BLEWETT et al., 1982**). L'infection du placenta et du fœtus au tout début de gestation est en général fatal pour le fœtus, en raison de l'absence de réponse immune de ce dernier permettant l'inhibition de la multiplication du parasite (**BUXTON et FINLAYSON, 1986**). En effet, la capacité du fœtus à reconnaître et à répondre à l'agent pathogène ne commence que pendant la première moitié de la gestation et se développe tout au long de celle-ci (**BUXTON, 1990**). L'infection à la mi-gestation peut aboutir à la naissance d'un agneau mort-né ou faible accompagné généralement d'un petit fœtus momifié. L'infection en fin de gestation peut entraîner la naissance d'un agneau cliniquement normal mais infecté, car à ce stade la compétence du système immunitaire du fœtus est bien avancée (**BLEWETT et WATSON, 1983 ; BUXTON et RODGER, 2008**).

Un autre facteur important dans la détermination de la sévérité de l'infection est la capacité du fœtus à développer une réponse immunitaire contre le parasite qui augmente avec l'âge gestationnel du fœtus (**INNES et VERMEULEN, 2006**). En effet, le système immunitaire du fœtus commence à répondre à *T.gondii* à ou au plutôt après 60 jours de gestation où les deux réactions cellulaire et humorale peuvent être détectées (**BUXTON et FINLAYSON, 1986**). Des anticorps spécifiques circulants anti-*T.gondii* IgM et IgG sont détectables 30 jours après l'infection maternelle et peuvent être utilisés dans le diagnostic des avortements à *T.gondii* (**BUXTON et FINLAYSON, 1986**).

L'infection des brebis avant la gestation, n'entraîne pas la maladie durant cette dernière et les agneaux naissent en bonne santé, non infectés (*HARTLEY, 1961*).

Les brebis infectées avant leur mise en reproduction puis éprouvées expérimentalement donnent naissance dans 90 % des cas à des agneaux vivants, non infectés, en comparaison au groupe de brebis naïves qui donnent naissance dans 28 % des cas seulement à des agneaux vivants (*MCCOLGAN et al., 1988*).

Ces expérimentations montrent que la maladie se manifeste principalement chez les brebis qui sont infectées pour la première fois durant la gestation et que la sévérité de l'infection est liée à l'âge gestationnel du fœtus au moment de la transmission placentaire. En outre, les brebis infectées à une seule gestation sont peu susceptibles de donner naissance à des agneaux infectés lors de gestations ultérieures suggérant la possibilité d'immuniser les brebis avant leur mise en reproduction (*INNES et al., 2009*).

#### **I.4. Symptômes chez l'animal**

##### **I.4.1. Toxoplasmose du chat**

Bien qu'étant l'hôte définitif du parasite, le chat exprime très peu les signes d'une infection lors de la toxoplasmose. Ceci s'explique car ce dernier a contracté du fait du contact permanent une immunité vis-à-vis du parasite. Lorsque cette immunité est inexistante ou même rompue soit par des maladies telles que la leucose féline (FeLV) ou le FIV (virus de l'immunodéficience féline) communément appelé SIDA du chat, ou même par le changement de site, le chat peut présenter certains signes de toxoplasmose acquise. Ce sont des kératites, uvéites, des phénomènes convulsifs, musculaires (polymyosite), des paralysies ou même des gastroentérites et des problèmes respiratoires. Ces symptômes sont pour la plupart inconstants et varient d'un animal à l'autre; il n'existe donc pas de signe pathognomonique d'où la difficulté du diagnostic à partir des signes cliniques. Toutefois, l'infestation peut se distinguer en deux phases (*NGOUBANGOYE, 2007*).

##### **I.4.1.1. Toxoplasmose intestinale**

La phase intestinale passe souvent inaperçue même à la suite d'une infection importante. Le chat peut en effet ingérer des millions d'oocystes quelque soit son âge sans présenter de troubles (*DUBEY et al., 1996*).

De la diarrhée et d'éventuels vomissements ont pu être observés chez des chats infectés mais ces manifestations sont en général bénignes et disparaissent spontanément chez les adultes. Les chatons peuvent cependant en mourir (*LAPPIN et al., 1989; PETERSON et al., 1991*).

#### **I.4.1.2. Toxoplasmose extra intestinale**

La phase extra intestinale est polymorphe et peu caractéristique dans la forme aiguë où l'on peut noter des hyperthermies, adénopathies, broncho-pneumonie, troubles digestifs, atteintes hépatiques, nerveuses et cardiaques (*DUBEY et al., 1996*). Certaines formes seraient à prédominance nerveuse; des myosites sont aussi rapportées.

Dans cette phase, la transmission congénitale est possible (*SAO et al., 1993*). L'atteinte oculaire est fréquente au cours de la toxoplasmose congénitale. Les lésions siégeant dans le segment postérieur associant une atteinte de la choroïde et une inflammation secondaire de la rétine (*DAVIDSON et al., 2000*). Le fond de l'œil révèle des lésions multifocales gris foncé, hyporeflectives et des infiltrats blancs duveteux en dehors de cette zone. Cependant, aucune de ces lésions n'est pathognomonique.

#### **I.4.2. Toxoplasmose du chien**

La toxoplasmose du chien est très souvent en relation avec l'apparition de la maladie de Carré. Il existe plusieurs formes cliniques en fonction de l'âge de l'animal : polyradiculonévrite chez le chiot de moins de trois mois (parésie progressive puis paralysie), forme nerveuse chez des chiots de quatre mois (atteinte du cerveau et de la moelle épinière), forme généralisée chez des chiens de sept à douze mois (fièvre intermittente, dyspnée, diarrhée, vomissements, lésions oculaires rares) (*BUSSIERAS et CHERMETTE, 1992 ; HOSTIS, 1992*).

#### **I.4.3. Toxoplasmose de la faune sauvage**

##### **I.4.3.1. Rongeurs**

Les manifestations cliniques sont connues à partir des données d'infection expérimentale et les signes sont variables en fonction de la souche et de la taille de l'inoculum. Les signes décrits sont notamment digestifs ou pulmonaires à la phase aiguë (pouvant être létale avec la souche de type I) et asymptomatique ou altération progressive de l'état général sur plusieurs mois pour la forme chronique. La dégradation de l'état général peut conduire à une cachexie associée à des signes neurologiques (*STALH et al., 1998*).

### **I.4.3.2. Les autres mammifères**

Plusieurs études ont été menées sur de nombreux mammifères aussi bien marins que terrestres. Dernièrement, des mortalités de loutres de mer par encéphalites ont été reliées à des infections par *T. gondii* associé à *Sarcocystis neurona* (**LINDSAY et al., 2001**). Seulement la plupart des cas sont des découvertes d'autopsie ce qui fait que les manifestations cliniques sont mal connues.

En Australie, on a décrit chez des primates des manifestations pulmonaires, une splénomégalie, une atteinte hépatique et intestinale (**EPIPHANIO et al., 2003**). Chez certains de ces primates en captivité, on rapporte suite aux épidémies de toxoplasmose, de taux de mortalité élevés (**DIETZ et al., 1997**).

### **I.4.4. Toxoplasmose des animaux domestiques**

#### **I.4.4.1. Toxoplasmose du mouton et de la chèvre**

La toxoplasmose est souvent asymptomatique chez l'adulte. Lors d'infections expérimentales, on peut observer une fièvre transitoire et, rarement, des manifestations neurologiques (**BUXON et al., 1986**). La gravité de la toxoplasmose est liée à la fréquence de la transmission fœtale : depuis que la brucellose est bien contrôlée chez les petits ruminants, on estime que la toxoplasmose congénitale serait l'une des principales causes d'avortement chez la brebis et la chèvre (**NICOLAS et al., 1993 ; DUCANSON et al., 2001**).

Lorsque la maladie apparaît nouvellement dans un troupeau jusque-là indemne, elle se caractérise par une vague d'avortements dont les modalités varient selon le stade de gestation. Lors des années suivantes, les avortements deviennent sporadiques et les brebis immunisées sont fertiles et mènent leur gestation à terme. Une contamination survenant au cours des deux premiers mois de gestation conduit le plus souvent à une mort fœtale. Si l'infection se produit entre 2 et 3 mois de gestation, un certain nombre de fœtus meurent et se momifient, d'autres survivent jusqu'à proximité de la mise bas et naissent morts nés. Par contre, lorsque l'infection se produit après 4 mois de gestation, les agneaux naissent pratiquement sains et sont immunisés (**NGOUBANGOYE, 2007**).

#### **I.4.4.2. Toxoplasmose du poulet**

Expérimentalement, l'infection de la poule ou du poulet s'est révélée asymptomatique (**BIANCIFORI et al., 1986 ; KANETO et al., 1997**).

Les pigeons semblent plus sensibles avec des manifestations cliniques sévères qui sévissent parfois sous forme d'épidémie. Les pigeons contaminés présentent une altération de l'état général (anorexie, fièvre), des atteintes oculaires (conjonctivite) et parfois même une encéphalite conduisant fréquemment au décès des oiseaux (*SLIM et al., 1963 ; PAASCH et al., 1983 ; HUBBARD et al., 1986; DUBEY et al., 2002*).

### **I.5. Lésions chez l'animal**

De récentes recherches ont permis de mettre en évidence chez un chat de 8 ans, un granulome localisé au niveau du cerveau par *DEWEY et al* en 2005. Les lésions congestives au niveau du cœur chez les chats atteints de toxoplasmose ont été mises en évidence.

Dans la toxoplasmose congénitale, les lésions sont multiples et localisées essentiellement aux enveloppes fœtales, au fœtus et à l'avorton. Le placenta est épaissi, et présente des foyers de nécrose milliaire généralement de petite dimension mais parfois bien visibles (2-3mm) avec une tendance à la calcification.

Chez l'avorton, parfois momifié, on observe des épanchements sero-sanguinolents dans les cavités splanchniques et des lésions inflammatoires dans divers tissus et organes: foie, poumon, rein, myocarde, encéphale. À ces lésions inflammatoires s'ajoutent des lésions nécrotiques plus ou moins calcifiées.

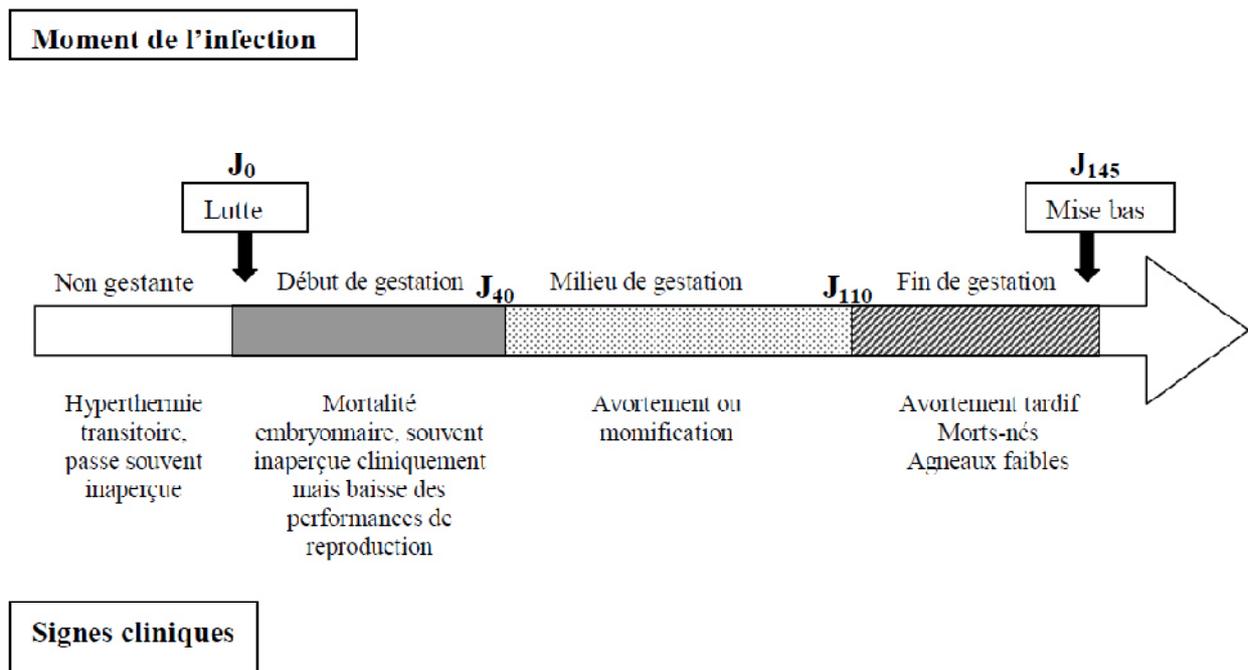
Chez les chiens, on note des lésions hépatiques, pulmonaires, musculaires et nerveuses. Cependant, contrairement à ce que l'on observe chez les chats, les lésions oculaires sont exceptionnelles (*DUBEY et al., 1985*).

### **I.6. Importance de la toxoplasmose ovine**

#### **-Importance médicale et économique**

La toxoplasmose est une cause majeure d'avortements chez les ovins, et elle est présente dans tous les pays du monde. Cette maladie parasitaire est aussi responsable de baisses des performances de reproduction, de résorptions fœtales, de momifications, de mortinatalité et de mortalité néonatales (*INNES et al., 2007*). La toxoplasmose entraîne donc des pertes économiques élevées dans les élevages ovins.

Cependant, la maladie est bénigne si les oocystes sont ingérés par une brebis non gestante. La brebis héberge alors des bradyzoïtes et s'immunise. Si la brebis est gestante, les conséquences de l'infection peuvent devenir sévères (*OWEN et al., 1998*) et sa manifestation clinique dépend du stade de gestation (**Figure 05**). La maladie peut se manifester par de l'infertilité si l'infection a lieu au début de la gestation. Dans tous les cas, la brebis s'immunise de façon durable, après la première infection.



**Figure 05** : Tableau clinique de la toxoplasmose chez la brebis en fonction du stade de gestation (*BUXTON, 1998 ; RODGER et BUXTON, 2006*).

### -Importance sanitaire : une zoonose majeure

La contamination de l'homme dépend du mode de vie et des habitudes alimentaires (*TENTER et al., 2000*). En effet, l'homme peut être contaminé en ingérant des oocystes rejetés par les chats ou en consommant de la viande ou des viscères peu cuites et contenant des kystes à bradyzoïtes, ou encore en consommant du lait non pasteurisé d'animaux infectés (*DUBEY, 1994*). Souvent bénigne, la toxoplasmose peut parfois être très grave, essentiellement chez les personnes immunodéprimées.

La contamination d'une femme enceinte, si elle a lieu à un stade précoce de la grossesse, peut conduire à un avortement.

À un stade plus avancé, l'enfant peut naître viable mais développer des lésions oculaires et nerveuses. Il s'en suit donc un retard mental ou une perte de la vision dans les premières années de vie. La toxoplasmose est aussi mortelle chez des personnes qui ont un syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ou chez des patients sous traitements immunosuppresseurs, suite à une transplantation d'organe ou pendant une chimiothérapie à cause d'un cancer par exemple (**DUBEY, 1994**).

En conclusion, la toxoplasmose est une maladie essentielle à étudier car outre son importance économique en élevage, elle a aussi une importance sanitaire puisqu'il s'agit d'une zoonose dont les conséquences sont majeures (**SUTAINÉ, 2009**).

## **I.7. Épidémiologie de la toxoplasmose**

### **I.7.1. Rôle des chats**

Les oocystes de *T.gondii* sont éliminés par les chats domestiques et autres félidés entraînant ainsi la contamination généralisée de l'environnement (**DUBEY et BEATTIE, 1988**). Les chats domestiques constituent la source majeure de contamination, du fait qu'ils sont des réservoirs communs de l'infection et excrètent un grand nombre d'oocystes (**DUBEY et FRENKEL ; DUBEY, 2001**) alors que seulement quelques chats peuvent excréter les oocystes de *T. gondii* à n'importe quel moment. Les chats infectés latents peuvent excréter les oocystes après être éprouvés par l'infection, alors que les chatons congénitalement infectés peuvent aussi excréter ces oocystes (**DUBEY et CARPENTER, 1993b**).

Les taux d'infection chez les chats sont largement déterminés par le taux d'infection des populations aviaires locales et des rongeurs, qui servent comme source de nourriture (**RUIZ et FRENKEL, 1980a**). À titre d'exemple, les oocystes de *T. gondii* ont été trouvés chez 23,2 % de chats à Costa Rica où l'infection chez les rongeurs et les oiseaux était très élevée (**RUIZ et FRENKEL, 1980a**). Pour les enquêtes épidémiologiques, les données de séroprévalence pour les chats sont plus utiles que les résultats de l'examen fécal car des chats avec des anticorps ont probablement déjà éliminés les oocystes et sont donc des indicateurs de la contamination environnementale (**DUBEY et FRENKEL, 1972**).

Dans les conditions expérimentales, les chats peuvent excréter pas moins de 500 millions d'oocystes après l'ingestion d'une souris infectée par *T. gondii* (**DUBEY et FRENKEL, 1972**). Les chats nourris même avec peu de bradyzoïtes peuvent excréter des millions d'oocystes (**DUBEY, 2001**).

### **I.7.2. Résistance des oocystes dans l'environnement**

Les oocystes sporulés peuvent survivre pendant de longues périodes sous des conditions environnementales modérées. Par exemple, ils peuvent survivre dans des sols ombragés et humides pendant des mois voire des années (**FRENKEL et al., 1975 ; DUBEY et BEATTIE, 1988**).

Les oocystes de *T. gondii* sont très résistants aux désinfectants, mais sont tués à des températures avoisinant les 60°C (**DUBEY, 2004 ; WAINWRIGHT et al., 2007a**). Sous des conditions de laboratoire, les oocystes demeurent infectants de 30 jours à 410 jours ou plus. Ils peuvent demeurer infectants pendant des années dans des climats chauds et plus longtemps dans des climats froids ou dans des bâtiments climatisés (**YILMAZ et HOPKINS, 1972**).

L'inactivation des oocystes de *T. gondii* se produit avec l'exposition à un rayonnement UV pulsé et continu à des doses supérieures ou égales à 500 mJ/cm<sup>2</sup> (**WAINWRIGHT et al., 2007b**).

### **I.7.3. Mode de transmission**

#### **I.7.3.1. Transmission horizontale**

L'ingestion d'eau, de nourriture ou de lait non pasteurisé contaminés par des oocystes fécaux excrétés par les chats, des oocystes provenant de mains, ustensiles ou surfaces contaminés (transmission indirecte) constitue le mode de transmission le plus commun (**DUBEY et BEATTIE, 1988 ; DUBEY, 2008**).

La principale source d'infection pour l'homme est l'ingestion de viande non cuite contenant des kystes tissulaires viables ou l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminées par des oocystes provenant des fèces de chats infectés (**DUBEY, 2004**), au même titre que pour le lait non pasteurisé (**HIGA et al., 2010**).

La transmission d'origine hydrique de *T.gondii* était considérée comme rare mais un large déclenchement de l'infection chez l'homme lié à la contamination d'un réservoir d'eau municipal au Canada par les félinés sauvages et la généralisation de l'infection par les mammifères marins a été détecté (**DUBEY, 2004 ; DUBEY, 2008**).

En outre, les oocystes peuvent être propagés mécaniquement dans l'environnement par les mouches, les cafards, les bousiers et les vers de terre (*KNIEL et al., 2002 ; DUBEY, 2004*).

#### **I.7.3.2. Transmission verticale**

La plupart des ovins acquièrent l'infection à *T. gondii* après la naissance. Bien que les données exactes ne soient pas disponibles, on pense que < 2% des ovins deviennent congénitalement infectés par *T. gondii*, et moins de 4% des ovins infectés persistants transmettent l'infection à la génération suivante (*BUXTON et al., 2007 ; DUBEY, 2009 ; HIGA et al., 2010*). Cependant, la transmission transplacentaire de la mère au fœtus à travers le placenta infecté a été rapportée (*DUBEY et SHARMA, 1980 ; MOURA et al., 2007 ; DUBEY, 2008 ; DUBEY et JONES, 2008 ; LOPES et al., 2009 ; SCARPELLI et al., 2009*).

Aussi, *T. gondii* a été isolé à partir du sperme de béliers infectés expérimentalement (*LOPES et al., 2009*), de porcs (*MOURA et al., 2007*), taureaux et chiens mâles (*ARANTES et al., 2009 ; SCARPELLI et al., 2009*).

#### **I.7.4. Facteurs de risque**

##### **I.7.4.1. L'âge**

Il a été rapporté que l'âge peut être associé avec la séroprévalence de la toxoplasmose. En effet, la séroprévalence est plus élevée chez les ovins et les caprins âgés en comparaison avec les jeunes (*CAVALCANTE et al., 2008 ; KAMANI et al., 2009 ; RAMZAN et al., 2009*).

##### **I.7.4.2. Le genre**

Il a été montré que les ovins et caprins femelles sont plus susceptibles que les mâles aux infections toxoplasmique (*RAMZAN et al., 2009*). Bien que d'autres rapports n'ont pas montré une corrélation significative entre l'infection toxoplasmique et le genre animal (*CABALLERO-ORTEGA et al., 2008 ; CAVALCANTE et al., 2008*).

##### **I.7.4.3. La présence des animaux**

La séroprévalence élevée des anticorps de *T. gondii* chez les ovins peut être associée avec la présence de chats dans presque chaque ferme échantillonnée. Les chatons nouveau-nés sont plus dangereux que les chats âgés (*DUBEY, 1994 ; BUXTON et RODGER, 2008*).

Les chats infectés excrètent les oocystes de *T. gondii* qui, après sporulation, deviennent infectants pour l'homme et les animaux et demeurent infectieux pour une longue période de temps (**DUBEY et JONES, 2008**).

Aussi, des analyses multivariées ont montré que la probabilité d'infection était élevée dans les troupeaux où plus de 10 chats étaient présents. Cela pourrait être lié à une plus grande contamination de l'environnement par les oocystes déféqués dans les excréments de chats (**CAVALCANTE et al., 2008**).

#### **I.7.4.4. Le climat**

Des taux de prévalence élevés de la toxoplasmose dans les zones chaudes et humides en comparaison avec les zones froides et sèches sont attribués à la longue viabilité des oocystes de *T. gondii* dans des environnements moites ou humides (**VAN DER PUIJE et al., 2000**).

Une nouvelle étude conduite à Mexico (**CABALLERO-ORTEGA et al., 2008**) a révélé que l'altitude et la taille de la ferme affectent le taux d'infection, la prévalence étant élevée à basses altitudes et dans les grandes exploitations.

#### **I.7.4.5. Système de gestion**

Dans les systèmes de gestion extensive, les chats peuvent être attirés par les endroits où les animaux sont rassemblés. Cela arrive également dans les pâtures d'itinérance gratuite pendant le jour. Ce qui peut augmenter les chances de contamination de l'environnement, de l'eau et de la nourriture (**CAVALCANTE et al., 2008**).

La séroprévalence chez les ovins en gestion intensive était inférieure à celle observée en gestion semi-intensive (**RAGOZO et al., 2008**). Une étude récente (**NETO et al., 2008**) a montré que les deux systèmes de gestion extensive / semi-extensive ont été identifiés comme des facteurs de risque associés à la toxoplasmose chez les chèvres. L'utilisation des auges en bois pour l'alimentation était également associée à la toxoplasmose des chèvres. Cela pourrait être dû au fait que les oocystes survivent plus longtemps en humidité. Le manque en auges alimentaires a également augmenté la probabilité de l'infection depuis les pâtures ou l'eau contaminées par les oocystes sporulés (**CAVALCANTE et al., 2008**).

## **I.8. Diagnostic**

### **I.8.1. Clinique**

Il est difficile, car la toxoplasmose est le plus souvent asymptomatique, et même quand elle s'exprime cliniquement, le tableau anatomo-clinique est polymorphe. Cependant, la toxoplasmose congénitale doit toujours être envisagée en cas d'avortement collectif dans les troupeaux (surtout chez les brebis) (*NGOUBANGOYE, 2007*).

Les symptômes cliniques chez les ovins comprennent des mortalités embryonnaires précoces, résorption, momification, mortinatalité, mortalités néonatales, ou la naissance d'agneaux vivants mais faibles (*BUXTON et RODGER, 2008*). Jusqu'à 50 % des ovins peuvent développer de la fièvre, des tremblements, dyspnée et avortements au cours des 04 dernières semaines de la gestation. Dans les 03 à 04 jours suivants la naissance, la mort peut survenir avec des signes nerveux chez les nouveau-nés (*WALDELAND, 1976*). Des malformations chez le fœtus ont également été rapportées (*WOODS et ANDERSON, 1992*).

De petits foyers blancs, des lésions de nécrose sur les cotylédons, de nécrose focale dans le cerveau, le foie et les poumons du fœtus constituent les principaux changements observés chez les animaux infectés (*BUXTON et FINLAYSON, 1986*).

### **I.8.2. Expérimental**

Étant donné que les signes cliniques de la toxoplasmose ne sont pas spécifiques et ne permettent donc pas d'établir un diagnostic de certitude (*DUBEY, 2010*), il convient donc de faire appel à des analyses de laboratoire en vue de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de la toxoplasmose.

#### **I.8.2.1. Méthodes directes**

Les méthodes de diagnostic direct permettent de mettre en évidence des lésions spécifiques ou le parasite lui-même. L'examen coprologique, l'histopathologie, l'immunohistochimie, l'inoculation aux souris, la culture cellulaire ou encore l'amplification génique constituent les méthodes les plus utilisées.

##### **I.8.2.1.1. Examen coprologique**

L'examen coprologique est uniquement réalisé chez le chat, ce dernier étant le seul animal domestique excréant les oocystes de toxoplasme.

Cet examen bien que facile à réaliser est cependant peu fiable dans la mesure où l'excrétion des oocystes ne se fait que durant la période patente qui dure environ quinze jours. Au terme de cette période, l'animal a évacué ses parasites et n'en est plus disséminateur. En outre, le chat ne devient évacuateur d'oocystes que lorsqu'il atteint l'âge auquel il commence à se nourrir d'aliments carnés, environ un mois et demi, et ces oocystes ne deviennent infectants qu'au terme de leur sporulation dans le milieu extérieur.

Les oocystes de *Toxoplasma gondii* ont une forme globuleuse, avec un diamètre d'environ 13 à 15µm et ne sont pas segmentés au moment de leur rejet. Ils sont morphologiquement semblables aux oocystes de deux toxoplasmatinés: le genre Hammondia et Besnoitia, la distinction n'est possible que sur des critères biologiques (*MASTSUO et al., 2004*).

#### **I.8.2.1.2. Histopathologie**

Dans les cas d'avortement, les lésions de nécrose multifocale et la calcification pourraient être observées dans le placenta. Les cotylédons placentaires peuvent être de couleur vive à rouge sombre (*DUBEY et BEATTIE, 1988; BUXTON, 1998*). Les parasites peuvent être détectés dans le placenta ainsi que dans le cœur, cerveau, poumons ou foie du fœtus (*DUBEY, 2008*).

Microscopiquement, les lésions de nécrose peuvent être trouvées dans la substance blanche du cervelet et du cerveau fœtal. Des proliférations de cellules lymphoïdes focales et des micro nécroses peuvent être présentes dans les reins, les glandes surrénales, les ganglions lymphatiques ou le cerveau fœtale (*BUXTON, 1998; DUBEY, 2008; DUBEY et JONES, 2008*).

#### **I.8.2.1.3. Immunohistochimie**

Les techniques immunohistochimiques permettent la visualisation à la fois du parasite *T. gondii* intacte et des débris antigéniques dans les tissus de section de matériaux avortés ; ce sont des méthodes sensibles, pratiques et ont l'avantage, en comparaison avec les tentatives d'isolement, de la détection de l'antigène de Toxoplasma même dans les tissus décomposés (*BUXTON, 1998; DUBEY et JONES, 2008*).

#### **I.8.2.1.4. Frottis directs**

Les frottis directs à partir de tissus affectés s'avèrent être des méthodes de diagnostic rapides et faciles (*TERPSIDIS et al., 2009*).

#### **I.8.2.1.5. Inoculation aux souris**

C'est la méthode la plus fiable. Elle nécessite l'usage des matières infectantes notamment les fragments d'organes (cerveau, foie, cœur, placenta broyé), le liquide céphalo-rachidien, du sang, pulpe ganglionnaire. Ces éléments mis en suspension dans un soluté isotonique de chlorure de sodium ou de liquide physiologique additionné à un antibiotique (1000UI de pénicilline et 100mg de streptomycine/ml) sont injectés à des souris par voie intra péritonéale à la dose de 0,5 ml. L'apparition de kystes est lente et nécessite environ 1 mois. Cependant les tachyzoïtes peuvent être isolés du liquide péritonéal après trois à quatre jours d'inoculation lorsque la souche est virulente (*NGOUBANGOYE, 2007*).

#### **I.8.2.1.6. Cultures cellulaires (cellules VERO, fibroblastes humains)**

L'inoculation des échantillons de toxoplasme à des cultures cellulaires (VERO, fibroblastes humains) exige des laboratoires spécialisés et des échecs dus à la destruction des parasites présents suite à l'autolyse des tissus sont fréquents (*NGOUBANGOYE, 2007*).

#### **I.8.2.1.7. Techniques moléculaires (PCR)**

Des techniques moléculaires récentes sont mises au point pour le diagnostic de la toxoplasmose. Ainsi, grâce à la PCR (Polymérase Chain Réaction), on a pu identifier la présence de l'ADN de *Toxoplasma gondii* chez le chien et dans des échantillons biologiques de félins (*MATSUO et al., 2004*).

De récentes recherches ont mis en évidence l'efficacité de la PCR dans le diagnostic d'avortements toxoplasmique chez les agnelles (*PIERGILI et al., 2004*).

Plusieurs tests de PCR ultérieurs ont été développés en utilisant différents gènes cibles. En général, cette technique s'est avérée être utile dans le diagnostic de la toxoplasmose clinique (*DUBEY, 2008*).

Le test PCR ciblant le gène B1 a été largement utilisé (*JALAL et al., 2004*). Récemment, B1-PCR a été reconnue le protocole le plus sensible pour la détection de *T.gondii* (*MASON et al., 2010*).

Il a été postulé que l'augmentation de la sensibilité analytique est accomplie lorsqu'un élément d'ADN répété est amplifié, bien que certaines études ont suggéré qu'il n'y a pas de différence dans le rendement analytique en fonction du nombre de répétitions (*WASTLING et al., 1993; EDVINSSON et al., 2006*).

### **I.8.2.2. Méthodes indirectes (sérologie)**

Les méthodes indirectes sont utilisées comme des méthodes communes pour le diagnostic de la toxoplasmose qui incluent le Dye test ou test de Sabin et Feldman, l'hémagglutination indirecte (IHT), l'immunofluorescence indirecte (IFAT) et l'ELISA.

#### **I.8.2.2.1. Le Dye test ou test de Sabin et Feldman**

Ce test a été développé par Albert Sabin et Harry Feldman en 1948 (*DUBEY, 2008*). Il est fondé sur le fait que les tachyzoïtes libres ne sont colorés par le bleu de méthylène alcalin que s'ils sont mis en présence d'un sérum qui renferme des anticorps spécifiques. Cette perte d'affinité tinctoriale est due à une lyse partielle, la cellule parasitaire perd sa basophilie à la suite de la disparition d'une partie de son cytoplasme. L'anticorps spécifique est un sensibilisateur thermostable, inactif par lui-même, il agit grâce à un activateur thermolabile du sérum frais ; «le facteur accessoire», qui peut en partie être identifié avec le complément hémolytique. «Le facteur accessoire» ne se trouve que dans les sérums des sujets n'ayant jamais été en contact avec des toxoplasmes. Le titre du sérum est donné par la dilution finale pour laquelle 50% des parasites ne se colorent pas (*NGOUBANGOYE, 2007*).

Comme avantage, le Dye test est très sensible et spécifique avec aucune preuve de faux résultats chez l'homme. La capacité d'identification des infections à *T. gondii* basé sur un simple test sérologique a ouvert le champ à de vastes études épidémiologiques sur l'incidence de l'infection (*DUBEY, 2008 ; DUBEY, 2009*), cependant, l'inconvénient est que ce test est très coûteux, long, et non sans danger car il requiert l'utilisation de tachyzoïtes vivants comme antigène qui imposent un entretien des souches et expose au risque la contamination accidentelle du personnel de laboratoire; de même que l'intervention d'un «facteur accessoire» qui n'existe que dans certains sérums et qui doit être dépourvu d'action lytique spontanée vis-à-vis du toxoplasme (*BUXTON, 1998 ; NGOUBANGOYE, 2007*).

#### **I.8.2.2.2. L'hémagglutination indirecte (IHT)**

Elle a été proposée pour la première fois par *JACOBS et LUNDE(1973)* et fait intervenir un antigène soluble.

Cette méthode repose sur l'agglutination d'hématies de mouton traitées par la glutaraldéhyde et sensibilisées par un lysat de toxoplasmes lorsqu'elles sont en présence de dilutions de sérum contenant des anticorps homologues.

La réaction est réalisée dans des plaques pour micro agglutination. On effectuera en parallèle un titrage à partir du sérum traité au 2-mercaptoéthanol pour, selon le procédé utilisé, l'agglutination directe (*NGOUBANGOYE, 2007*).

L'hémagglutination indirecte est un test simple rapide et peu coûteux, c'est une méthode très pratique et utile dans le diagnostic vétérinaire. Ce test mesure les anticorps qui apparaissent deux semaines ou plus après la primo infection mais cependant il est moins sensible que le Dye test ou l'IFAT (*JACOBS et al., 1960*).

#### **1.8.2.2.3. L'immunofluorescence indirecte (IFAT)**

Elle se fait à partir de frottis sur lequel un colorant ; l'isocyanate de fluorescéine est recouvert par du sérum à différentes dilutions. Après un temps de contact suffisant, les frottis sont rincés et recouverts de sérum antiglobuline fluorescent (SAF). Lorsqu'on examine la préparation en lumière ultraviolet, les toxoplasmes présentent une intense fluorescence si la réaction est positive (la fluorescence est localisée sélectivement sur la membrane parasitaire). Le problème de fluorescence non spécifique a rendu plus difficile l'interprétation de la réaction. Pour contourner ce problème, on a recouru à une contre coloration par le bleu d'Evans (*NGOUBANGOYE, 2007*).

L'IFAT exige l'usage de tachyzoïte intacts et est plus sensible et spécifique que l'IHA et l'ELISA qui sont utilisées dans le diagnostic de la toxoplasmose ovine (*JACOBS et al., 1960 ; PIERGILI, 2004*).

#### **1.8.2.2.4. L'ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)**

La technique ELISA utilisée pour la détection d'anticorps anti-*T.gondii* a été adaptée pour être utilisée chez la plupart des animaux domestiques y compris les ovins et les caprins (*DUBEY, 2008 ; DUBEY ; 2009*).

C'est la réaction de référence qui est universellement acceptée. Elle est contraignante et délicate mais possède une spécificité et une sensibilité certaine.

Dans cette méthode, l'antigène (cytoplasmique et membranaire) est fixé au fond des cupules des plaques en polystyrène utilisés en micro titration, le sérum suspect est ajouté, puis l'excès éliminé par lavage. Un sérum anti-immunoglobuline spécifique marqué à la phosphatase ou la peroxydase est ensuite introduit dans la réaction, les anticorps anti-immunoglobulines se fixeront sur les anticorps spécifiques éventuellement retenus par l'antigène.

L'enzyme est alors révélée par un substrat qui donne à l'ensemble, une coloration dont l'intensité est fonction de la positivité du sérum étudié

D'autres techniques immunoenzymologiques peuvent être associées à l'ELISA ce qui permettrait d'aboutir à de meilleurs résultats (*NGOUBANGOYE, 2007*).

Il existe des tests ELISA spécifiques pour les deux sous-types IgG et IgM. Ces tests sont parfaitement adaptés pour cribler un grand nombre d'échantillons et avoir une vue d'ensemble sur le rapport IgM/IgG qui peut être utilisé pour distinguer entre une infection aiguë et chronique (*DENMARK et CHESSUM, 1978*).

### **I.9. Traitement**

Afin de réduire les pertes économiques dues à la toxoplasmose, le traitement chimiothérapeutique des animaux infectés est essentiel dans les troupeaux ovins non vaccinés. Plusieurs médicaments ont été utilisés avec de bons résultats comme le decoquinat (*BUXTON et al., 1996*), une combinaison de pyriméthamine et sulfadimidine, vaquiloprimum et sulfadimidine (*BUXTON et al., 1993b*).

Toutefois, le traitement associant la pyriméthamine provoque une leucopénie et une thrombocytopenie et doit être couplé à l'administration d'acide folique sous une forme inutilisable par le parasite. En outre, la pyriméthamine a des propriétés tératogènes et doit donc être déconseillée aux femelles enceintes (*NGOUBANGOYE, 2007*).

La posologie varie selon les espèces. Chez le chat par exemple, on préconise l'association sulfadiazine 100 mg/kg/j per os à répartir en 4 prises et 1mg/kg de pyriméthamine pendant une à deux semaines. L'adjonction de l'acide folique est nécessaire. Il faut cependant signaler que le traitement n'empêche pas l'élimination définitive des oocystes (*DIA, 1992 ; LAHAMDI, 1992*). L'injection de sulfadimidine à la dose de 33mg/kg/48h (4 injections au total) semble être très efficace pour le contrôle des avortements toxoplasmiques dans les troupeaux ovins (*GIADINIS et al., 2009*).

De plus, le monensin, donné dans la nourriture durant la gestation, réduit significativement l'infection chez les ovins (*BUXTON et al., 1988*). En outre, la clindamycine, spiramycine, atavaquone, azithromycine, clarithromycine et le dapson ont été utilisés avec des résultats variables chez les non ruminants et les humains (*GIADINIS et al., 2009*).

Cependant, le traitement de la toxoplasmose est long et coûteux. L'accent doit plutôt être mis sur les mesures prophylactiques.

## **I.10. Prophylaxie**

Les mesures prophylactiques doivent s'appliquer à tous les acteurs du cycle biologique du parasite à savoir le chat (hôte définitif), l'homme et les autres hôtes intermédiaires.

### **I.10.1. Prophylaxie sanitaire**

Elle est applicable aussi bien sur les animaux que les humains ; chez la femme enceinte et non immunisée contre la toxoplasmose. Plusieurs points sont à respecter dans l'hygiène alimentaire et la vie quotidienne. Ces mesures consistent à :

- Tenir les aliments et l'eau à l'écart des fèces de chats et de l'environnement contaminé (**DUBEY, 1991 ; HYE-YOUN KIM et al., 2009**).
- Limiter la reproduction des chats.
- Maintenir les adultes sains et les tenter de contrôler les futures reproductions.
- Mettre en place de programmes de contrôle adéquats et continus des chats errants afin de réduire le risque de transmission de *T. gondii*.
- Empêcher les animaux de vivre et de rester à l'extérieur ce qui les empêchera de chasser.
- Nourrir les chats avec des régimes commerciaux ou de la nourriture traitée soit par la cuisson ou la congélation pour réduire le risque de transmission de la maladie.
- Laver les mains soigneusement après avoir manipulé de la viande saignante ou de la terre avant chaque repas.
- Manger de la viande très cuite; pas de la viande saignante.
- Laver à grande eau tous les aliments souillés de terre, surtout s'ils doivent être consommés crus (salades vertes, légumes, fraises...etc.).
- Éviter les contacts avec les chats et faire nettoyer tous les jours par une autre personne avec de l'eau bouillante ou un désinfectant leur litière où ils font leur besoin.

-Entretenir une petite population saine de chats matures en vue de réduire l'excrétion d'oocystes, en plus du contrôle de la population de rongeurs (*BUXTON et RODGER, 2008; LOPES et al., 2008; HYE-YOUN KIM et al., 2009*).

Dans le cas de toxoplasmose ovine, la sensibilisation des éleveurs quant à la voie d'infection principale qui est la contamination de l'environnement par les oocystes provenant de fèces des chats ainsi que les mesures visant à réduire l'incidence de la maladie clinique, y compris la bonne gestion de la nourriture et de l'eau ainsi que la vaccination avec le vaccin vivant (Toxovax; Intervet B.V.) réduira l'apparition de la maladie (*BUXTON et al., 2007*). Mais de nombreuses études sont nécessaires pour déterminer si certaines races ovines présentent une susceptibilité génétique particulière à *T.gondii* (*BUXTON et al., 2007*).

### **I.10.2. Prophylaxie médicale (Vaccination)**

La stratégie vaccinale repose sur le fait qu'une primo-infection induit une immunité protectrice à vie, aussi bien chez l'homme que chez l'animal. La vaccination des chats et des animaux destinés à la consommation pourrait être une des solutions pour diminuer le risque d'infection humaine (*MOIRÉ et al., 2009*).

La plupart des essais de vaccination ont été effectués chez la souris, soit avec des extraits parasitaires, des parasites vivants atténués, différentes protéines du parasite, soit par injection des protéines purifiées, de protéines recombinantes, ou de l'ADNc correspondant (*BHOPALE, 2003*).

La réponse cellulaire joue un rôle primordial dans les mécanismes effecteurs de la résistance à *T. gondii*, même si localement, les immunoglobulines A ont un rôle important dans la limitation de l'invasion des cellules épithéliales. Ces études fondamentales ont permis de préciser les réponses immunitaires impliquées dans la protection et en particulier ont montré la part déterminante de l'interféron  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) dans cette protection (*MOIRÉ et al., 2009*).

#### **-Vaccination par les parasites vivants**

Plusieurs études de vaccination ont également été menées chez les animaux de rente et chez les chats. Les premiers essais de vaccination ont été effectués chez les moutons avec des parasites tués, sans résultat avérés chez les brebis gestantes (*BUXTON, 1993*).

Par contre, l'injection de souches vivantes de toxoplasme, comme la souche RH ou la souche vivante incomplète S48, provoque la réduction de la charge parasitaire chez des porcs et prévient les avortements chez les brebis (*DUBEY et al., 1991 ; BUXTON, 1993*). Chez le porc, des adjuvants ont été utilisés pour diminuer la dose de tachyzoïtes vivants injectés : des doses de 1000 tachyzoïtes, injectées avec des oligonucléotides comme adjuvant, ont induit une protection d'environ 50 % de l'effectif traité (*KRINGEL et al., 2004*).

Chez le mouton et la chèvre, le vaccin composé de la souche S48 réduit de 70 à 80% les avortements, par rapport à des troupeaux témoins. Ce vaccin est commercialisé (Ovilis, Toxovax, Intervet) et utilisé dans les pays où les risques d'avortement dus à la toxoplasmose sont grands (*INNES et VERMEULEN, 2006*).

L'injection de ce vaccin ne conduit pas à la formation de bradyzoïtes et prévient la formation de kystes. Il est utilisé chez l'animal mais possède cependant plusieurs inconvénients. Il n'empêche pas la transmission verticale du parasite aux agneaux. Il est peu stable, sa durée de vie ne dépassant pas deux à trois semaines. Les animaux récemment vaccinés ne peuvent être consommés à cause d'une possible transmission des tachyzoïtes. De plus, la virulence de cette souche naturelle n'est pas bien contrôlée et le risque de réversion existe (*MOIRÉ et al., 2009*).

Les techniques de biologie moléculaire ont permis, en supprimant des gènes ciblés, d'obtenir des souches de virulence atténuée, qui ne sont pas susceptibles de retrouver leur virulence d'origine. Une de ces souches a été obtenue par délétion des gènes *MIC1* et *MIC3* de la souche virulente RH. Ces gènes codent des protéines de micronèmes, impliquées dans l'adhésion des parasites à la cellule-hôte (*CÉRÈDE et al., 2005*).

Une infection d'épreuve par des kystes d'une souche de type II, chez la souris, a provoqué une protection vis-à-vis de la toxoplasmose aussi bien chronique que congénitale. Toutes les souris immunisées montrent une très forte réduction de la charge parasitaire dans le cerveau. Il y a une augmentation très significative de la survie des nouveau-nés (100% contre 60 % chez les témoins non vaccinés) et une forte réduction de la transmission materno-foetale, puisque le taux de souriceaux infectés est de 33 % chez les témoins contre 4 % chez les souriceaux de mères vaccinées (*ISMAEL et al., 2006*).

Des expériences sur les brebis montrent également une protection contre la toxoplasmose abortive. Les brebis vaccinées à l'aide de cette souche, sont totalement protégées contre les avortements dits «précoces» (c'est-à-dire dans les 15 jours après l'infection) et la protection globale contre les avortements est de 60 à 90 % selon les expériences après une infection d'épreuve par des oocystes (*MOIRÉ et al., 2009*).

#### **- Les vaccins moléculaires**

Plusieurs candidats vaccins ont été identifiés. Il s'agit tout d'abord des antigènes majeurs de surface du tachyzoïte comme SAG1, SAG2 et SAG3, ainsi que des protéines des organites du complexe apical comme les molécules de granule dense : GRA1, 4, 7 et de rhoptrie : ROP2. Ces vaccins montrent des protections partielles, mais significatives chez la souris et sont beaucoup moins efficaces que les vaccins vivants atténués.

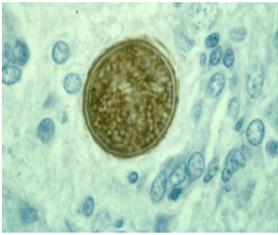
L'utilisation de protéines purifiées à partir de tachyzoïtes ou de vaccins ADN est également testée chez les animaux de rente et les chats. Le principe de la vaccination ADN consiste à injecter non pas la protéine vaccinale mais l'ADN correspondant. L'injection de l'ADN dans le muscle strié aboutit à l'expression de la protéine correspondante dans les myocytes du lieu d'injection.

L'utilisation de broyat de parasites (contenant un mélange de protéines parasitaires) encapsulé dans des micro ou nano particules induisent une réponse immune chez le mouton mais pas de protection après un challenge (*STANLEY et al., 2004*).

Des protéines purifiées, associées à un adjuvant, ont été administrées à des chats par voie nasale, entraînant une bonne protection contre l'excrétion d'oocystes, puisque deux chats sur trois testés n'en sécrétaient pas. Cependant, malgré ces bons résultats, ces études restent à confirmer car les effectifs par lot sont très faibles (trois chats/lot) (*GARCIA et al., 2007*).

Pour l'instant, les vaccins atténués obtenus par génie génétique restent une des solutions les plus intéressantes pour la vaccination des animaux de rente. Ils sont efficaces et induisent une immunité comparable à une infection naturelle. La réversion de virulence de ces souches peut être contrôlée. De plus, *T. gondii* a été montré comme pouvant exprimer de nombreuses protéines étrangères.

Cela laisse donc la possibilité d'utiliser les souches vivantes atténuées comme vaccins vecteurs en faisant exprimer des protéines d'autres apicomplexes (comme *Neospora caninum*) ou des antigènes bactériens ou viraux entraînant également de savortements chez le mouton comme par exemple l'agent responsable de la fièvre Q (**MOIRÉ *et al.*, 2009**).



## CHAPITRE II : *Neospora caninum*

## II.1. Rappels historiques

En 1984, **BJERKAS et collaborateurs** firent la première description du parasite chez six chiots de race boxer atteints de paralysie progressive, un protozoaire morphologiquement très voisin de *Toxoplasma gondii*, mais dépourvus d'anticorps anti-*Toxoplasma*. Quatre années plus tard, grâce à des études de microscopie électronique, ce parasite fut finalement décrit et nommé *Neospora caninum* par **DUBEY** et son équipe (**DUBEY et al., 1988**). Par la suite, des méthodes de diagnostic sérologique et immunohistochimique ont été développées permettant ainsi de distinguer *Neospora caninum* de *Toxoplasma gondii* (**LINDSAY et DUBEY, 1989**). Parallèlement, de nombreux avortements à « protozoaires » ont été décrits chez les bovins en Californie sans qu'aucun anticorps anti-*Toxoplasma* ne soit détecté dans les liquides fœtaux.

En 1989, **THILSTEAD et DUBEY** rapportent que les protozoaires observés dans les avortons réagissent avec des anticorps anti-*Neospora*. Ces organismes et *Neospora caninum* ont été officiellement identifiés comme étant identiques en 1996 par **JARDINE (JARDINE, 1996)**. Par ailleurs *Neospora* a été également retrouvé chez l'espèce équine : il s'agit de l'espèce *Neospora hughesi* qui a été différencié en 1996 (**MARSH et al., 1996 ; MARSH et al., 1999 ; PRONOST et al., 2000**). Un résumé des dates importantes dans la découverte du parasite est rapporté dans l'Annexe 02.

## II.2. Taxonomie-Classification

Tout comme *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* est un protozoaire qui appartient au phylum des Apicomplexa (sporozoaires), caractérisé par la présence d'un appareil apical complexe visible en microscopie électronique et permettant la pénétration dans la cellule hôte (**CHERMETTE et MARQUER, 2000; LOSSON et BOURDOISEAU, 2000**), à l'ordre des Coccidies, à la famille des Sarcocystidés, sous famille des Toxoplasmatinés et au genre *Neospora*.

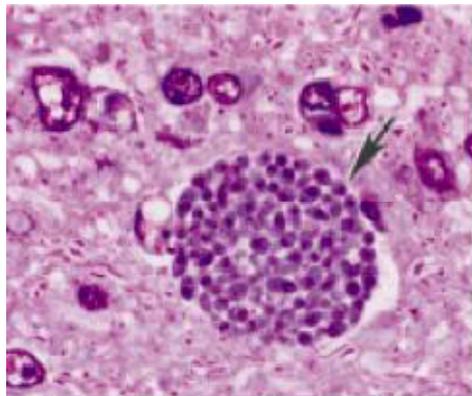
Des études phylogénétiques récentes ont comparé l'ARN ribosomal de *Neospora caninum* avec d'autres protozoaires du groupe des Apicomplexes, un très haut degré d'homologie a été révélé entre *Neospora* sp. et *Toxoplasma gondii*. Cependant, d'autres études ont prouvé que *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* différaient sur le plan morphologique et antigénique (**SARRAZIN, 2009**).

### II.3. Morphologie-Structure

*N. caninum* existe sous trois formes différentes : deux formes asexuées chez l'hôte intermédiaire, les tachyzoïtes et les bradyzoïtes et une forme sexuée chez l'hôte définitif, l'oocyste.

#### a) Les tachyzoïtes

Ils représentent la forme pathogène de *Neospora caninum*. En microscopie électronique, ils apparaissent de forme ovoïde, globuleuse ou en croissant, et mesurent 3 à 7 µm de long sur 1 à 5 µm de large en fonction du stade de division (**DUBEY et LINDSAY, 1996**) (**Figure 06**).



**Figure 06** : Tachyzoïtes regroupés dans l'encéphale d'un chien (**DUBEY et al., 2002**).

En ultrastructure, le complexe apical est composé de vingt-deux microtubules, de deux anneaux apicaux, d'un conoïde et d'un anneau polaire. Ils possèdent aussi des rhoptries (organelles sécrétoires ; 8 à 12 antérieures et 4 à 6 postérieures), des granules denses en grand nombre postérieurement et des micronèmes présents surtout sur la partie antérieure et en nombre variable (**DUBEY et LINDSAY, 1996 ; HEMPHILL, 1999**). Ces derniers permettent aux tachyzoïtes d'adhérer à leur cellule hôte lors d'invasion cellulaire.

Enfin les tachyzoïtes sont aussi constitués d'une membrane plasmique à trois couches, d'un noyau et de son nucléole, de ribosomes, de centrioles, d'une à trois mitochondries, d'un complexe de Golgi, d'un réticulum endoplasmique lisse et rugueux, d'un pore postérieur et d'un corps lipidique (**SPEER et al., 1999**)

Les tachyzoïtes sont des organismes intracellulaires, présents le plus souvent dans une vacuole parasitophore (ou parfois plusieurs) et dont la membrane dérive de la membrane cellulaire de l'hôte (**HEMPHILL, 1999**).

Leur division se fait par endodyogénie, c'est-à-dire que les éléments fils se forment à l'intérieur de la vacuole parasitophore formant ainsi un pseudo-kyste qui peut se rompre quand le nombre de tachyzoïtes devient trop élevé permettant ainsi l'invasion des cellules voisines (**HEMPHILL et al., 1999**).

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**).

#### **b) Les bradyzoïtes et kystes tissulaires**

Les bradyzoïtes constituent la forme quiescente de la phase asexuée. Ils mesurent 6 à 8 µm sur 1 à 2 µm. Leur ultrastructure est très proche de celle des tachyzoïtes. Toutefois, ils ont moins de rhoptries et plus de granules d'amylopectine positives à l'acide périodique de Schiff (PAS). Leur noyau est subterminal à terminal et les micronèmes sont souvent perpendiculaires au plasmalemme. Aucun micropore n'a été décrit (**DUBEY et LINDSAY, 1996**).

Les bradyzoïtes se divisent de manière lente par endodyogénie créant ainsi des kystes tissulaires de forme arrondie à ovale et mesurant jusqu'à 107 µm de long. Ces kystes possèdent une paroi de taille variable, probablement en relation avec la durée de l'infection, mais elle mesure toujours plus d'un micron ce qui constitue un critère de distinction avec *Toxoplasma gondii* dont la paroi des kystes est plus fine (**SPEER et al., 1999**).

La paroi des kystes est constituée d'une membrane externe unique et dense aux électrons ainsi que d'une membrane interne, granuleuse avec des structures tubulaires ramifiées. Elle est argentophile avec un pourtour éosinophile et est plus ou moins bien colorée au PAS.

Les kystes ne possèdent pas de cloison (septum). Ils contiennent plusieurs dizaines de bradyzoïtes (50 à 200) en forme de croissant et inclus dans une substance contenant des structures vésiculaires ramifiées, des corps denses, des électrons et des inclusions lipidiques (**HEMPHILL, 1999**) (**Figure 07**).

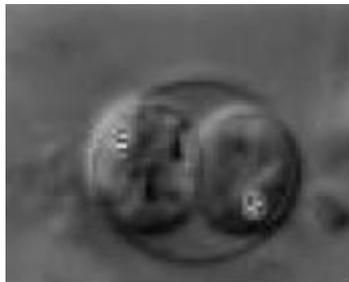
La localisation des kystes de bradyzoïtes est limitée au tissu nerveux : encéphale, moelle épinière, nerfs et rétine (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Cependant, un kyste a été détecté dans un muscle oculaire de poulain (**DUBEY, 1999b**).



**Figure 07:** Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien (*DUBEY et al., 2002*)

### c) Les oocystes

Les oocystes sont de forme sphérique à subsphérique, mesurent 10 à 11  $\mu\text{m}$ , leur paroi est lisse, non colorée et mesure 0.6 à 0.8  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Quand les oocystes sont émis, ils contiennent un sporonte central qui donnera deux sporocystes après sporulation, ces derniers contenant chacun quatre sporozoïtes et un résidu (*DUBEY et al., 2002*) (**Figure 08**). Les oocystes qui n'ont pas sporulé n'ont aucun pouvoir infectant. Cependant leur résistance dans le milieu extérieur n'est pas connue (*CHERMETTE et MARQUER, 2000*).



**Figure 08 :** Oocyste sporulé contenant deux sporozoïtes (*LINDSAY et al., 1999b*).

Les principaux critères qui permettent la distinction entre *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sont rapportés dans le **tableau 01**

**Tableau 01** : Principaux critères de diagnose différentielle entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* (CHERMETTE et MARQUER, 2000).

	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<b>Structure générale</b>	-PAS* négatif	-PAS* positif
<b>Structure du kyste</b>	-Paroi plus épaisse (1-4µm) que la largeur des bradyzoïtes -Kyste tissulaire non septé	-Paroi plus fine (0,5µm) que la largeur des bradyzoïtes
<b>Localisation des kystes tissulaires</b>	-Tissu nerveux (cerveau, moelle épinière, rétine)	-Nombreux tissus
<b>Ultrastructure des tachyzoïtes</b>	-Rhoptries nombreuses -Micronèmes antérieurs et corps denses nombreux	-Rhoptries peu nombreuses -Micronèmes antérieurs et corps denses rares
<b>Mode de multiplication des tachyzoïtes</b>	-Endodyogénie	-Endodyogénie

\*PAS: Coloration à l'Acide Périodique-Schiff.

#### II.4. Cycle évolutif

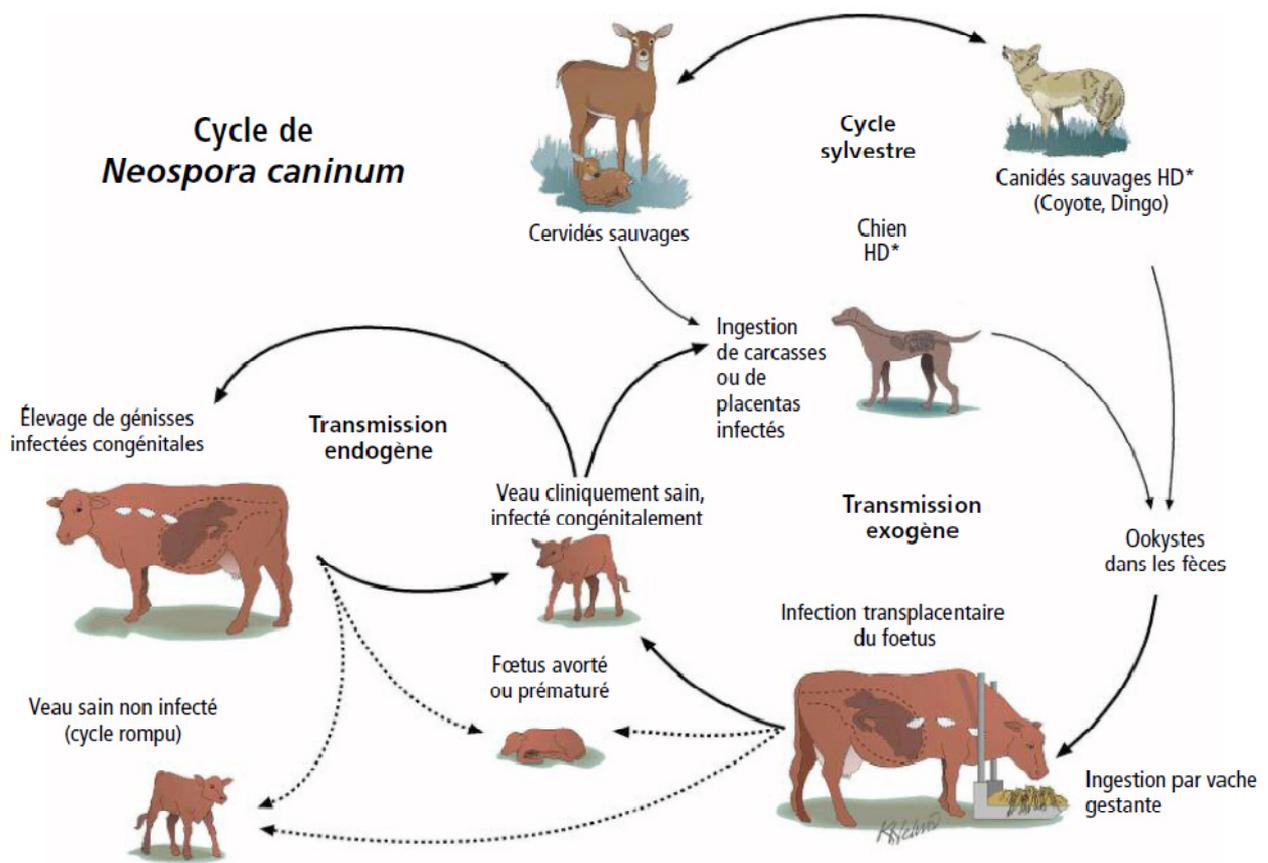
*N. caninum* est caractérisé par un cycle de vie hétéroxène facultatif (**Figure 09**) qui implique un hôte définitif canidé chez lequel une multiplication sexuée se produit, et une variété d'hôtes intermédiaires chez lesquels une multiplication asexuée prend place (DUBEY et LINDSAY, 1996 ; DUBEY et al., 2006, 2007 ; DUBEY et SCHARES, 2011). À ce jour, les seuls hôtes définitifs confirmés de *N. caninum* sont les membres du genre *Canis*, y compris les chiens domestiques et sauvages, le chien (*Canis familiaris*) (MAC ALLISTER et al., 1998), le coyote (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004b), le loup gris (*Canis lupus lupus*) (DUBEY et al., 2011), et les dingos (*Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010). Les bovins constituent les hôtes intermédiaires les plus communs de *N. caninum* ; cependant, ces dernières années, l'infection a été signalée chez de nombreuses espèces de vertébrés à sang chaud, avec chez certaines un potentiel pour servir d'hôtes intermédiaires dans le cycle domestique et sylvatique (GONDIM, 2006 ; DUBEY et al., 2007 ; DUBEY et SCHARES, 2011 ; ALMERIA, 2013).

Le cycle de vie de *N. caninum* est caractérisé par l'existence de trois stades infectieux connus : les sporozoïtes à l'intérieur d'oocystes sporulés, les tachyzoïtes à réplication rapide, et les bradyzoïtes à prolifération lente dans des kystes tissulaires (**DUBEY et al., 2006**).

L'hôte définitif se contamine par l'ingestion de placentas ou de fœtus d'hôte intermédiaire infecté, contenant des kystes à bradyzoïtes (**BUXTON et al., 2002**). 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, 1993**).

Les oocystes constituent la forme de résistance environnementale du parasite. Ils sont générés par la multiplication sexuée des bradyzoïtes dans les cellules épithéliales intestinales de l'hôte définitif (chien) et excrétés dans les fèces sous une forme non sporulée (non infectants) (**DUBEY et al., 2004**). L'excrétion commence cinq à dix jours après l'ingestion de kystes à bradyzoïtes et dure environ dix jours (**MAC ALLISTER et al., 1998 ; LINDSAY et al., 1999 b**). Selon une autre étude, il semblerait que l'élimination d'oocystes puisse perdurer pendant 4 mois. (**MCGARRY et al., 2003**). Aucune donnée ne permet de savoir actuellement si le chien peut ré excréter des oocystes par la suite sans recontamination (**CHERMETTE et MARQUER, 2000**).

À l'extérieur de l'hôte, ces oocystes vont subir une sporulation dans les 24 à 72 heures et développent deux sporocystes, dont chacun contient quatre sporozoïtes, ce qui les rend infectants oralement (**DUBEY et al., 2006 ; 2007 ; REICHEL et al., 2007**).



**Figure 09** : Cycle évolutif de *N. caninum* (MACALLISTER *et al.*, 1998)

\* HD=Hôte Définitif

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).

La recrudescence de l'infection peut avoir lieu en relation avec les changements du statut immunitaire de l'hôte (immunomodulation ou immunosuppression) qui peuvent provoquer la réactivation des bradyzoïtes et leur conversion en tachyzoïtes (HEMPHILL *et al.*, 2006).

Ceci est bien documenté à se produire chez les animaux gravides et permet la dissémination des tachyzoïtes dans d'autres tissus, y compris la dissémination à travers le placenta et l'infection du fœtus (*WILLIAMS et al., 2009*).

Le chien peut à la fois être porteur de la forme sexuée, mais aussi des formes asexuées du parasite lors de la transmission verticale de la mère aux chiots. Le chien est hôte définitif mais peut également faire office d'hôte intermédiaire (*BOUVERET, 2004*).

## **II.5. Pathogénie et immunité**

### **II.5.1. Pénétration et évolution du parasite au sein de l'organisme**

Trois étapes se succèdent dans le processus d'invasion cellulaire à *N. caninum*. Une première phase de reconnaissance et d'attachement du parasite à la cellule hôte, une deuxième étape d'invasion active du parasite et une troisième étape de son développement intracellulaire (*HEMPHILL, 1999*).

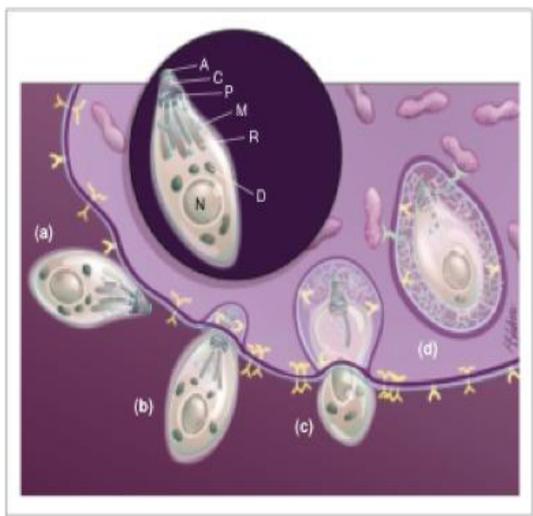
Tout d'abord, le parasite va se fixer à la cellule hôte sans orientation particulière par l'intermédiaire de ses antigènes de surface (*Neospora caninum* SAG-related sequence 2 = 2 NcSRS2). Puis sous l'effet d'un gradient de distribution des récepteurs ou d'une affinité plus importante, le parasite va se réorienter de manière à présenter son pôle apical contre la membrane cellulaire. Cette réorientation provoque l'invagination de la membrane plasmique par le conoïde. Diverses protéines sont alors sécrétées dans la vacuole parasitophore formée par la membrane plasmique de la cellule hôte. Par ailleurs, les micronèmes synthétisent des adhésines qui permettent au parasite de rester attaché à la membrane de l'hôte, puis de rentrer progressivement dans la vacuole parasitophore (*BUXTON et al., 2002*) (**Figure 10**).

Les granules denses sont alors libérées dans la vacuole et participent à la formation d'une membrane interne. Cependant la vacuole parasitophore ne fusionne pas avec les lysosomes car les protéines transmembranaires de la cellule hôte en sont exclues. Ainsi le processus d'invasion par les Apicomplexa est différent d'un processus phagolytique (*HEMPHILL, 1999 ; BUXTON et al., 2002*).

À l'heure actuelle, une douzaine de protéines et deux antigènes de surface, intervenant dans l'adhésion et la formation de la vacuole parasitophore, ont été identifiés chez *Neospora caninum*. Pour l'instant, seules quelques-unes de ces molécules ont fait l'objet de recherches pour déterminer leur rôle exact ; pour les autres, une analogie a été faite avec *Toxoplasma gondii* mais les données restent à vérifier (*BUXTON et al., 2002*).

Récemment, douze anticorps monoclonaux produits expérimentalement ont permis d'établir la présence d'un antigène de surface impliqué dans l'invasion cellulaire (**UCHIDA et al., 2004**) alors que jusque-là, ce sont surtout des antigènes localisés à l'intérieur des granules denses, des micronèmes, de la partie postérieure des rhoptries et de la membrane de la vacuole parasitophore qui avaient été répertoriés (**HEMPHILL, 1999**). Par ailleurs, une nouvelle protéine (NcPI-S) localisée aux granules denses et sécrétée dans la vacuole parasitophore a été mise en évidence (**MORRIS et al., 2004**).

Une étude plus poussée des mécanismes d'invasion cellulaire devrait permettre de comprendre pourquoi certains types de cellules sont plus touchés que d'autres et pourquoi certaines espèces comme les rongeurs sont résistants (**BUXTON et al., 2002**).



**Légende :**

A : anneau apical  
 C : conoïde  
 D : granule 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

**Figure10** : Mécanisme d'invasion cellulaire par un tachyzoïte de *Neospora caninum* (**BUXTON et al., 2002**).

## II.5.2. Réponse immunitaire des ovins au cours de l'infection à *Neospora caninum*

### II.5.2.1. La réponse immunitaire des ovins non gestants

Des expériences ont montré que les brebis non gestantes infectées expérimentalement par les tachyzoïtes de *N. caninum* développent une réponse immunitaire humorale et lymphoproliférative deux semaines après l'infection (**RETTIGNER et al., 2004**). Des résultats similaires ont été rapportés par **INNES et collaborateurs (2001)**.

Des enquêtes menées chez les veaux infectés expérimentalement avaient démontré que la réponse immunitaire spécifique apparaissait 4 à 6 jours post infection (**LUNDEN et al., 1998**).

De larges variations individuelles ont été observées (**RETTIGNER et al., 2004**). De telles variations ont été également observées chez les veaux infectés expérimentalement et les vaches gestantes (**LUNDEN et al., 1998 ; ANDRIANARIVO et al., 2001**). Cependant, les animaux présentant la plus basse réponse cellulaire avaient montré des titres normaux d'IgM et d'IgG ainsi qu'un modèle similaire de reconnaissance des protéines parasitaires (**RETTIGNER et al., 2004**).

Chez les brebis infectées, une diminution significative de la réponse lymphoproliférative au mitogène Con A avait été enregistrée au 21<sup>ème</sup> jour post infection ; ceci en concomitance avec une diminution de la réponse cellulaire vis-à-vis des antigènes de *N. caninum* et *T. gondii*. Une diminution de la réponse cellulaire vis-à-vis du mitogène Con A et des antigènes de *N. caninum* a été observée chez les souris infectées expérimentalement (**KHAN et al., 1997**) ainsi que chez les bovins gestants infectés expérimentalement (**ANDRIANARIVO et al., 2001**). Un contrôle rétroactif de la réponse immunitaire de l'hôte peut se produire à ce moment permettant d'éviter les effets délétères d'une intense réponse cellulaire Th-1 (**DENKERS et GAZZINELLI, 1998**). De manière alternative, cela pourrait représenter une stratégie adoptée par le parasite en vue de circonvenir la réponse immunitaire de l'hôte et ainsi établir une infection persistante (**SEOW, 1998**).

Une sécrétion transitoire d'IgM et soutenue d'IgG avait été détectée au 14<sup>ème</sup> jour post infection, celle-ci est restée élevée jusqu'à la fin de l'étude (**RETTIGNER et al., 2004**). Chez les ovins, **BUXTON et collaborateurs (1997)** avaient enregistré un pic d'IgG spécifiques 4-5 semaines après l'inoculation. En revanche, les bovins non gestants infectés avaient montré une réponse IgG et IgM vis-à-vis des antigènes de *N. caninum* deux semaines après l'infection. Au bout de la quatrième semaine, les taux d'IgM étaient retournés à des niveaux de pré-infection (**DE MAREZ et al., 1999 ; MALEY et al., 2001**).

L'analyse par le Western Blot avait montré que le modèle de reconnaissance était similaire chez tous les animaux infectés. Plusieurs antigènes ont été reconnus par toutes les brebis infectées, les protéines 44, 42 et 28 kDa étaient les plus fortement reconnues (**RETTIGNER et al., 2004**). Chez les brebis infectées oralement, le premier antigène parasite reconnu était la protéine 41 kDa, plusieurs autres antigènes majeurs et mineurs étaient reconnus à partir du 17<sup>ème</sup> jour post infection, la protéine 28 kDa était identifiée dans tous les sérums au 39<sup>ème</sup> jour post infection (**O'HANDLEY et al., 2002**).

La protéine 28 kDa était détectée à partir du 14<sup>ème</sup> jour post infection ; cette apparente contradiction pourrait être due à une différence de préparation des extraits antigéniques ou à l'utilisation de tachyzoites par rapport aux oocystes en tant que source infectieuse (**RETTIGNER et al., 2004**). Des sérums provenant de génisses, vaches et fœtus avortés reconnaissent fortement les protéines de 17-18, 34-35, 37 et 60-62 kDa de *N. caninum* (**ALVAREZ-GARCIA et al., 2002**). **SCHARES et collaborateurs (1998)** avaient considéré la liaison de trois des quatre antigènes immuno- dominants (17, 29, 30 et 37 kDa) comme une indication d'une infection à *N. caninum*. Les différences de poids moléculaires enregistrées d'un auteur à l'autre semblent être liées aux différentes conditions d'électrophorèse (**BARTA et DUBEY, 1992**), étant donné que cette différence dans la reconnaissance par les différentes espèces animales n'est pas une règle (**BJERKAS et al., 1994; HARKINS et al., 1998; OSAWA et al., 1998**).

Quelques bandes ont été faiblement reconnues par des sérums pré-infectés. Des réactions croisées et des liaisons de fond ont été rapportées, plus particulièrement lorsque des antigènes solubles étaient utilisés (**DUBEY et al., 1996; HARKINS et al., 1998 ; NISHIKAWA et al., 2002 ; O'HANDLEY et al., 2002**). La protéine 54 kDa était reconnue en tout début d'expérience par tous les sérums provenant d'animaux infectés, ce qui n'était pas le cas à partir du 49<sup>ème</sup> jour. Cette reconnaissance séquentielle était également valable pour les protéines 59, 38-37 et 27 kDa. Ces antigènes pourraient être associés avec le stade aigu de l'infection (**RETTIGNER et al., 2004**). En effet, cette reconnaissance antigénique séquentielle a été démontrée chez les patients infectés par *T. gondii* et a été reliée aux stades aigu et chronique de l'infection (**MARCOLINO et al., 2000**).

En se basant sur la fréquence et l'intensité de la reconnaissance, les protéines 44, 42, 40, 39 et 28 kDa devraient être considérées comme antigènes immuno-dominants de *N. caninum* chez les ovins. Cependant, l'intensité des bandes avait diminué à la fin de la 8<sup>ème</sup> semaine de la période expérimentale, et par conséquent, les protéines 42 et 28 kDa qui étaient encore reconnues de façon intense devraient être considérées comme utiles dans le diagnostic des infections à *N. caninum*.

En conclusion, après l'infection expérimentale des brebis non gestantes par les tachyzoites de *N. caninum*, ces dernières ont montré une réponse cellulaire et humorale dans les deux semaines suivant l'infection et qui étaient semblables à celles observées chez les bovins infectés expérimentalement. Les antigènes 42 et 28 kDa étaient fortement reconnus par les sérums infectés pendant les huit semaines de période expérimentale, alors que d'autres semblaient être liés à la phase aiguë de l'infection.

Plusieurs recherches s'avèrent nécessaires afin de déterminer la potentielle utilité de ces protéines comme outils diagnostics ou vaccinaux (*RETTIGNER et al., 2004*).

### **II.5.2.2. La réponse immunitaire des ovins gestants**

De récentes études ont montré que le résultat de l'infection expérimentale chez les brebis gestantes était fortement dépendant du moment de l'infection durant la gestation (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*).

L'analyse de la réponse immune périphérique montre une production précoce d'IFN- $\gamma$  chez toutes les femelles infectées en début de gestation, qui décroît à des taux indétectables à partir de la deuxième semaine post-infection, coïncidant avec une augmentation graduelle des taux d'IgG spécifiques. Ces résultats montrent une nette prédominance des taux d'IFN- $\gamma$  durant la réponse immune innée (*ARRANZ-SOLIS et al., 2016*). Des cinétiques similaires ont été décrites dans des rapports précédents réalisés chez les bovins infectés par *Neospora*, où une augmentation précoce de la production d'IFN- $\gamma$ , avec une prédominance notable sur la production d'IL-4, a été détectée lors d'une stimulation des cellules mononucléaires sanguines périphériques (PBMC) entre le 5<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jours post infection (*MACALDOWIE et al., 2004 ; REGIDOR-CERRILLO et al., 2014*).

Le manque de détection d'IL-4 périphérique peut être expliqué par les faibles et indétectables quantités présentes dans le sérum, aussi, il pourrait être du aux réponses différentes entre bovins et ovins. D'un autre côté, et de façon similaire à ce qui a été rapporté chez les deux espèces : bovins et ovins (*O'HANDLEY et al., 2002 ; BARTLEY et al., 2013 ; REGIDOR-CERRILLO et al., 2014*), les taux d'IgG augmentent à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine post infection jusqu'à ce que la mort fœtale se produise vers les 19-21 jours post infection.

L'analyse des placentas provenant de brebis infectées par *N. caninum* en début de gestation a démontré la charge parasitaire élevée avec seulement de discrètes lésions, qui peut être attribuée au laps de temps court qui sépare l'infection de l'avortement (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*). De plus, l'analyse par la technique d'immunohistochimie avait confirmé la présence d'une grande quantité de structures apparentées aux tachyzoïtes, principalement des tachyzoïtes libres, et avait montré que le parasité était principalement localisé dans la partie fœtale du placenta. De même, dans une récente étude réalisée chez les bovins infectés par le même isolat Nc-Spain7, la charge parasitaire a été jugée nettement supérieure dans le cotylédon (*REGIDOR-CERRILLO et al., 2014*).

Ce fait peut être mis en relation avec le système immunitaire fœtal encore immature à ce stade et qui peut permettre au parasite de franchir la barrière placentaire avant que la réponse immunitaire maternelle ne se mette en place, et permettant ainsi sa multiplication libre dans les tissus fœtaux sans restriction (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*). En effet, la plus faible quantité de cellules inflammatoires a été trouvée chez le groupe de brebis en début de gestation (G1) et, de manière intéressante, celles-ci étaient situées exclusivement dans la partie maternelle du placentome. Il semble clair que la réponse immunitaire induite dans le placenta pourrait contrôler la multiplication du parasite dans la zone maternelle mais pas dans celle du fœtus comme observé par l'IHC (Immunohistochimie). Au total, ces faits indiquent la multiplication incontrôlée du parasite dans les tissus fœtaux et probablement les dommages occasionnés comme une cause d'avortement chez les brebis infectées en début de gestation (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*).

D'un autre côté, de sévères lésions ainsi que des infiltrations diffuses de cellules inflammatoires dans le placenta ont été décrites chez les bovins après l'infection en début de gestation (*MACALDOWIE et al., 2004 ; GIBNEY et al., 2008 ; CANTON et al., 2014 ; REGIDOR-CERRILLO et al., 2014*). Ce fait peut indiquer que, en plus du dommage tissulaire fœtal, il pourrait y avoir également un composant à médiation immunitaire locale dans le placenta et qui participerait dans la pathogénèse de l'avortement chez les ovins, étant donné que très peu et seulement de discrètes lésions ont été observées au niveau du placenta des ovins contrairement à celui des bovins.

A cet égard, le profil d'expression de la transcription des cytokines à l'interface materno – fœtale chez les brebis infectées en début de gestation avait montré une forte régulation positive de l'INF- $\gamma$  et L'IL-4 ARNm, et des augmentations plus modérées de TNF- $\alpha$  et d'IL-10, confirmant qu'une réponse immunitaire mixte de type Th-1 et Th-2 a eu lieu. En revanche, aucune expression significative des transcriptions de l'IL-6 et L'IL-12 ne peut être détectée. La comparaison avec d'autres études réalisées chez les bovins (car aucune n'a été faite chez les ovins), a montré une régulation positive similaire de l'INF- $\gamma$ , l'IL-4, TNF- $\alpha$  et l'IL-10, mais aussi une augmentation des niveaux d'expression de l'IL-12 (*ROSBOTTOM et al., 2008 , 2011 ; REGIDOR-CERRILLO et al., 2014*).

Bien que plusieurs paramètres autres que l'espèce hôte puissent également être impliqués, il est concevable que l'IL-12 puisse avoir un rôle moins important pour la réponse immune placentaire chez les ovins en comparaison avec les bovins, ou plus probablement, que leur expression peut rapidement diminuer après un pic d'expression précoce juste après l'infection.

En outre, les taux élevés d'INF- $\gamma$  ARNm à l'interface materno-fœtale ont été trouvés chez les brebis en début de gestation. Ce fait a également été rapporté dans des études comparant les bovins infectés aux jours 70 et 210 de gestation (**ROSBOTTOM et al., 2008 ; CANTON et al., 2014**).

Comme rapporté plus haut, les taux d'expression élevés des IFN- $\gamma$  transcrits pourraient être du à la charge parasitaire élevée trouvée dans le placenta des brebis en début de gestation, qui stimule efficacement une réponse immunitaire Th1 biaisée. En plus, la prolifération incontrôlée des tachyzoïtes dans la partie fœtale du placentome pourrait avoir stimulée continuellement la réponse immunitaire dans la zone maternelle. D'autre part, l'expression de cytokine régulatrice des transcriptions chez les brebis en début de gestation affiche un comportement contrasté avec l'IL-10 qui est régulée à la hausse et le TGF- $\beta$  vers le bas. L'augmentation de l'IL-10 a été précédemment décrite dans les infections bovines, suggérant qu'elle pourrait être sécrétée en réponse aux taux élevés d'IFN- $\gamma$  et à moindre mesure au TNF- $\alpha$ , cytokines de type Th-1 (**ROSBOTTOM et al., 2008, 2011 ; ALMERIA et al., 2011 ; REGIDOR-CERRILLO et al., 2014**).

De façon similaire, la relation entre la charge parasitaire et la production de l'IL-10 dans le placenta a été postulé chez le modèle de souris gestantes, comme un moyen de régulation de la réponse immune de type Th-1 (**LOPEZ-PEREZ et al., 2010**). En revanche, la TGF- $\beta$  est considérée comme une cytokine de signature pour l'activité des cellules T régulatrices, agissant comme un inhibiteur de croissance (**ZENCLUSSEN, 2006**). Donc, cette régulation négative peut être la conséquence de faibles fonctions suppressives des cellules T régulatrices (T regs) à l'interface materno-fœtale, qui pourrait potentiellement faciliter un équilibre biaisé d'INF- $\gamma$ , réponses Th-1/Th-2 avec des effets néfastes sur la gestation (**ENTRICAN, 2002 ; INNES et al., 2002**).

En ce qui concerne l'infection à la mi-gestation (G2), des cinétiques similaires aux brebis en début de gestation (G1) dans les réponses immunitaires périphériques ont été observés. Les anticorps spécifiques anti- *N. caninum* sont maintenus à des taux élevés jusqu'à ce que la mort fœtale survienne 34 à 48 jours post infection. Néanmoins, l'INF $\gamma$  est produit à des taux bas en comparaison avec les brebis en début de gestation (G1) indiquant une stimulation plus faible de la réponse immunitaire initiale chez les brebis en mi-gestation (G2). Ce fait aurait pu conduire à un faible contrôle initial de la parasitémie au niveau périphérique, permettant à un grand nombre de parasites de franchir le placenta (**ENTRICAN, 2002 ; INNES et al., 2002**).

Ceci à son tour, peut avoir pour résultat une stimulation initiale plus élevée de la réponse immunitaire à l'interface materno-fœtale, une tentative pour contrôler la diffusion du parasite au fœtus. Les lésions les plus sévères ainsi que la faible charge parasitaire trouvées au niveau des placentas des brebis en mi-gestation (G2) suggèrent que la réponse inflammatoire développée dans cet organe a été efficace dans le contrôle de la prolifération des tachyzoïtes, peut être à cause du laps de temps plus long entre l'infection et l'avortement, mais qui a également endommagé les tissus placentaires (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*).

Conformément à cela, l'analyse par l'IHC a montré un rare étiquetage de l'antigène parasitaire, principalement trouvé comme antigène particulaire au lieu de tachyzoïtes intacts. Cet antigène particulaire trouve très probablement son origine à partir des tachyzoïtes dégradés par les effecteurs immunitaires. Par ailleurs, les placentas des brebis en G2 abritaient le plus grand nombre de cellules inflammatoires telles que les lymphocytes T. En outre, le développement du système immunitaire fœtal à ce stade pourrait également avoir assisté la réponse immunitaire maternelle afin de contrôler partiellement la transmission transplacentaire, mais pas à un degré protecteur. Cette corrélation avec la faible charge parasitaire et les lésions trouvées au niveau des organes fœtaux issus des brebis en mi-gestation, spécialement au niveau du foie, s'est montrée beaucoup plus faible si on la compare avec les brebis en début de gestation (*ARRANZ-SOLIS et al., 2015*).

Pris ensemble, ces résultats suggèrent que chez les brebis infectées en mi-gestation, la mort fœtale était très probablement une conséquence suite aux sévères lésions suscitées au niveau du placenta. D'autre part, une conclusion frappante de cette étude était la prédominance des CD8 + sur les cellules CD4 +. De précédentes études chez les bovins et les buffles avaient trouvées le contraire (*MALEY et al., 2006 ; ROSBOTTOM et al., 2011 ; CANTON et al., 2013*). En outre, les cellules CD4+ ont été montrées être plus pertinentes dans la protection contre la neosporose (*TANAKA et al., 2000*).

La raison du grand nombre de cellules CD8+ n'est pas encore claire chez les ovins. Il a été trouvé que ces cellules prédominaient sur les cellules CD4+ comme les premiers intervenants vis-à-vis de l'infection à *N. caninum* (48 heures post infection) (*CORREIA et al., 2013*). Toutefois, dans cette présente étude, l'infection n'a pas été à un stade précoce. La raison pour laquelle les cellules CD8+ sont plus abondantes que les CD4+ dans le placenta des ovins au cours des avortements à *N. caninum* mérite de plus amples investigations (*ARRANZ-SOLIS et al., 2016*).

Le profile cytokinique observé dans le placenta des brebis infectées en mi-gestation s'est montré très similaire avec celui des brebis en début de gestation, encore, en gros, il était moins intense en G2. La seule différence à cet égard a été la légère surexpression de L'IL-6 et L'IL-12 trouvée dans ce groupe et qui n'était pas observée aussi bien chez les brebis en début de gestation (G1) que celles en fin de gestation (G3). De précédentes études concernant la neosporose bovine et la toxoplasmose murine ont également mis en évidence une régulation positive de l'IL-6 dans les placentas à la mi-gestation (**LOPEZ-PÉREZ et al., 2010 ; ZHANG et al., 2012**).

D'autre part, des études antérieures chez les bovins ont décrit des augmentations beaucoup plus élevées d'IL-12 après l'infection par *N. caninum*. Cependant, la prédominance d'une réponse Th-1 biaisée, décrite comme la plus efficace pour lutter contre les parasites intracellulaires tels que *Neospora*, était apparemment inefficace pour contrôler la prolifération des parasites dans les placentas des brebis en début (G1) et mi-gestation (G2). Néanmoins, contrairement aux brebis en début de gestation, les brebis en mi-gestation affichaient des niveaux d'expression cytokinique bas, qui en plus de la régulation positive de l'IL-6, peut être une conséquence du contrôle partiel du parasite accompli au niveau de l'interface materno-fœtale.

En ce qui concerne l'infection en fin de gestation (G3), la réponse IgG chez les brebis était moins prononcée et suscitée ultérieurement en comparaison avec les brebis en début (G1) et mi-gestation (G2). Ces différences peuvent suggérer qu'à la fin de gestation il ya une régulation différente de la réponse immunitaire induite contre le parasite, qui peut être attribuée au système immunitaire mature du fœtus et au stade de gestation avancé. De même, la réponse en IFN- $\gamma$  a été légèrement retardée (7<sup>ème</sup> jour post infection), mais était à un niveau similaire avec celui des brebis en mi-gestation (G2). D'autre part, la charge parasitaire et les lésions trouvées dans le placenta des brebis en fin de gestation (G3), bien qu'inférieures et moins fréquentes étaient similaires à celles observées chez les brebis en mi-gestation (G2) (**ARRANZ-SOLIS et al., 2015**).

Cependant, l'IHC a démontré que seulement peu de parasites étaient associés aux lésions, de même, seulement quelques cellules inflammatoires ont été trouvées, localisées principalement dans la partie fœtale du placenta. Ces différences par rapport aux brebis en mi-gestation (G2) peuvent être expliquées par la grande capacité du fœtus à contrôler le parasite à ce stade, mais aussi par le court laps de temps séparant l'infection et la délivrance d'agneaux. Par conséquent, il est tentant d'émettre l'hypothèse que le déclenchement de la mise bas évite au fœtus la récupération de l'infection (**ARRANZ-SOLIS et al., 2015**).

Dans ce scénario, la réponse immunitaire au niveau de l'interface materno-fœtale a révélé un modèle différent par rapport aux autres groupes (G1 et G2) en ce qui concerne le rapport IFN- $\gamma$  / IL-4, l'IL-10 et TGF- $\beta$ . Le rapport IFN- $\gamma$  / IL-4 biaisé en faveur de l'IFN- $\gamma$  dans les groupes G1 et G2 (lorsque la mort fœtale est survenue), a été réduit dans le dernier tiers de gestation (G3), les deux cytokines ont été transcrites à des niveaux similaires. Ce fait n'a pas été décrit chez les bovins, où le même rapport IFN- $\gamma$  / IL-4 biaisé en faveur de l'IFN- $\gamma$  était présent dans le placenta après l'infection par *N. caninum* à la fois en début et en fin de gestation (**ROSBOTTOM et al., 2008**).

L'équilibre entre l'expression des cytokines de type Th-1 et Th-2 a été suggéré d'être d'une importance primordiale dans la détermination de la gravité et l'issue de la maladie après infection par *N. caninum* (**LONG et al., 1998 ; GIBNEY et al., 2008**). Comme aucuns autres rapports à cet égard ne sont disponibles chez les ovins, d'autres études s'avèrent nécessaires pour élucider l'importance du rapport IFN- $\gamma$  / IL-4 dans le contrôle du parasite et ses effets nuisibles chez le fœtus. D'autre part, la diminution des niveaux d'IL-10, outre le fait que les niveaux du TGF- $\beta$  ARNm sont restés stables (contrairement à G1 et G2), peut être évocatrice d'une diminution de fonction de régulation dans le placenta, qui est conforme à l'équilibre IFN- $\gamma$  / IL-4. Notamment, ce rapport plus équilibré chez les ovins en fin de gestation (G3), ne limite pas les lésions observées dans le placenta ou seulement dans une faible mesure, mais évite l'apparition d'avortement (**ARRANZ-SOLIS et al., 2015**).

Enfin, l'analyse des TLR2 et TLR4 ARNm dans le placenta n'a montré aucune expression significative chez aucun des ovins infectés. Ces récepteurs reconnaissent les bactéries et les protozoaires (**UEMATSU et AKIRA, 2008**), et ont été suggérés de jouer un rôle important dans la réponse immunitaire innée dans le placenta humain (**HAYATI et al., 2010**). En outre, une augmentation de l'expression de TLR2 a été trouvée dans les nœuds lymphatiques maternels 56 jours après l'infection par *N. caninum* chez les bovins en fin de gestation (**BARTLEY et al., 2013**).

Le manque d'expression dans le modèle expérimental ovin pourrait suggérer que ces récepteurs ne possèdent pas un rôle important dans la reconnaissance de *N. caninum* dans le placenta ou les ovins, ou plus probablement, que leur activation a lieu à un autre moment différent.

En conclusion, si l'avortement en début de gestation peut être principalement causé par la multiplication incontrôlée du parasite chez le fœtus, l'avortement à la mi-gestation est plus susceptible d'être déclenché par la gravité des lésions développées dans le placenta. Le fait qu'aucun avortement ne se produit en fin de gestation pourrait être dû à la courte période de temps entre l'infection et la naissance des agneaux et à plus forte raison à la maturité du système immunitaire du fœtus. En outre, des réponses anticorps très similaires, des profils de cytokines et de populations cellulaires ont été décrits précédemment chez les bovins. Cependant, un certain nombre de différences entre ovins et bovins sont évidents tels que la plus faible sécrétion d'IL-12 et l'équilibre inversé du rapport de la population cellulaire CD4+/CD8+ dans les placentas des ovins.

Ces résultats jettent une nouvelle lumière dans la pathogenèse de la neosporose des ruminants et posent des questions intéressantes qui certainement justifient d'autres recherches (*ARRANZ-SOLIS et al., 2016*).

## **II.6. Manifestations cliniques et lésions**

### **A. Chez les ovins**

Chez les ovins, le premier cas de neosporose a été identifié en **1990**, suite au réexamen d'un agneau suspecté de toxoplasmose par *HARTLEY et BRIDGE* en **1975**. L'agneau, alors âgé d'une semaine, présentait une incapacité à se lever depuis la naissance, ainsi que des mouvements cloniques des membres antérieurs à certains moments. L'autopsie, suite à la mort naturelle de l'agneau, révéla une encéphalomyélite non suppurative et une réduction unilatérale de la substance grise au niveau de la corne ventrale. Le diagnostic définitif a été posé par *DUBEY et al.* en **1990**, grâce à l'examen des tissus, par microscopie électronique et immunohistochimie (*DUBEY et al., 1990a*).

*N. caninum* a également été détecté en Japan chez des brebis adultes décédées suite à une métrite après que ses foetus jumeaux eurent été délivrés chirurgicalement (*KOBAYASHI et al., 2001*). Des manchons périvasculaires avec des cellules mononucléaires ainsi que la présence de nodules gliales ont été observés chez le cerveau de ces fœtus. Des kystes tissulaires, une gliose focale ainsi que des manchons périvasculaires de cellules mononucléaires ont été observés au niveau du cerveau de cette brebis et l'ADN de *N. caninum* fut détecté par PCR (*SHARIFAH, 2014*).

L'ADN de *N. caninum* a également été détecté dans les tissus de brebis infectées, dans le matériel et les fœtus avortés (*KOBAYASHI et al., 2001 ; HASIG et al., 2003 ; MASALA et al., 2007 ; HOWE et al., 2008 ; ABO-SHEHADA et ABU HALAWEH, 2010 ; HOWE et al., 2012 ; MORENO et al., 2012 ; CASTANEDA-HERNANDEZ et al., 2014*). Il existe seulement un seul rapport d'une maladie neurologique chez les ovins adultes qui présentaient par la suite une légère encéphalite non suppurative (*BISHOP et al., 2010*). Jusqu'à ce jour, *N. caninum* a été isolé chez en culture cellulaire chez une seule brebis gestante (*KOYAMA et al., 2001*) ainsi que chez deux agneaux âgés de 4 mois (*PENA et al., 2007*).

*Neospora caninum* peut donc infecter les ovins et être pathogène pour le fœtus des femelles gestantes. Les lésions sont proches de celles trouvées chez les brebis gestantes lors d'infection par *Toxoplasma gondii*. Il est donc indispensable d'effectuer un diagnostic de laboratoire pour permettre d'obtenir un diagnostic précis, et de lever le doute, en faisant la distinction entre les deux protozoaires (*BUXTON et al., 1997b*).

Les lésions chez les ovins sont identiques à celles rencontrées lors de neosporose bovine, qu'elle soit naturelle ou expérimentale. En fait, chez les ovins, l'infection par *Neospora caninum* est le reflet de la maladie chez les bovins (*BUXTON et al., 1997b*).

Les anticorps persistent plus d'un an chez l'animal infecté (*BUXTON et al., 1997b*).

## **B) Chez les bovins**

### **1) Symptômes**

L'infection des bovins par *Neospora caninum* est le plus souvent asymptomatique. La neosporose se manifeste cependant parfois, par des avortements chez la vache et, plus rarement, par des troubles nerveux chez les jeunes veaux de moins de deux mois (*BOUVERET, 2004*).

#### **a) Avortement**

L'avortement constitue la seule manifestation clinique de l'infection chez les bovins adultes. C'est un avortement sans prodrome, apyrétique, sans rétention placentaire, ni complication infectieuse (métrite). Des glaires de chaleurs translucides sont parfois observées le jour de l'expulsion du fœtus. 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, 2001a*).

L'avortement peut toucher une seule vache (avortement sporadique) ou jusqu'à 30% des animaux du troupeau en peu de temps (avortements épidémiques) et aucun caractère saisonnier ne semble intervenir (**DUBEY, 1999a**). Les avortements touchent les vaches quel que soit leur âge et quel que soit le type de production (laitier ou allaitant) (**DUBEY, 2000**).

L'avortement survient, en principe, à partir du troisième mois de gestation et jusqu'à neuf mois (**DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998b ; DUBEY, 2000**), avec un maximum d'avortements à *Neospora caninum* 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 dérésorption fœtale, avec retour en chaleurs de l'animal (**DUBEY, 1999a**).

D'autres études montrent également qu'une vache infectée par *Neospora caninum* peut avorter à plusieurs reprises (**ANDERSON et al., 1995**). Cependant, ceci est assez difficile à confirmer puisqu'une vache ayant avorté une première fois est souvent réformée sans tentative d'une nouvelle mise à la reproduction. Il faut aussi noter que le pourcentage d'avortements répétés, dus à *Neospora caninum*, chez une même vache est faible ; il concerne moins de 5% des animaux ayant déjà avorté (**ANDERSON et al., 1995 ; DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998b**).

#### **b) Infection des veaux**

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, 2001a**).

Les veaux nés infectés sont, soit normaux cliniquement, mais infectés chroniquement, soit atteints de troubles nerveux, ce qui est plus rare. En effet, jusqu'à 95% des veaux infectés congénitalement sont normaux cliniquement : ils sont porteurs d'anticorps. L'âge de la mère, le nombre de lactations et l'historique concernant les avortements dans l'élevage n'ont pas de répercussion sur l'infection congénitale du fœtus, mais la transmission verticale semble toucher plus particulièrement les vaches jeunes dans les élevages infectés de manière latente (**DUBEY, 2003**).

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 (naturelle ou suite à l'euthanasie) surviennent plus particulièrement au cours du premier mois (**DUBEY, 1999a**).

Les troubles nerveux se caractérisent par une incapacité à se lever et un retard de croissance fréquent. L'animal peut également présenter de l'ataxie, une raideur des membres, une paralysie, un fléchissement ou une hyperextension 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; BRYAN et al., 1994; DUBEY, 2000*).

La neosporose 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. On peut aussi rencontrer des animaux avec des difficultés pour s'alimenter ou présentant des troubles respiratoires (*KLEIN et al., 1997*).

Certains veaux présentent également un déficit pondéral à la naissance, associé à un faible développement musculaire (*BRUGÈRE-PICOUX et al., 1998 ; DUBEY, 1999a*). Le nombre de veaux mort-nés à terme est plus élevé dans les élevages infectés (*JOURNEL et PITEL, 2001a*).

## **2. Lésions**

### **a) Observations macroscopiques**

Les lésions macroscopiques sont rares et sont localisées uniquement au niveau du cerveau, du cœur et des muscles. On observe alors de petits foyers de nécrose sous forme de stries de couleur pâle à foncée. Certains fœtus, en proportion assez grande, sont momifiés ou autolysés (*BARR et al., 1990*).

### **b) Observations microscopiques**

Il ne semble pas exister de différence lésionnelle microscopique statistiquement valable entre les fœtus d'âge différent (*WOUDA et al., 1997*).

#### **- Les lésions**

Les lésions peuvent être de type dégénératif ou inflammatoire et sont localisées au niveau de nombreux tissus fœtaux, mais plus particulièrement au niveau du système nerveux central, du cœur, des muscles striés et du foie (*BARR et al., 1990 ; WOUDA et al. 1997*).

Si l'état de conservation des tissus le permet, l'examen anatomohistologique de l'encéphale montre des lésions d'encéphalite non suppurative, avec des foyers caractéristiques d'infiltration multifocale, parfois associés à des foyers nécrotiques localisés, ou encore, à des foyers de gliose (*WOUDA et al., 1997*). Les foyers de gliose sont souvent adjacents des capillaires, dont l'endothélium est hypertrophié, et entourés d'un amas de cellules mononucléées. D'une manière générale, la lésion se présente comme un foyer nécrotique central, le plus souvent situé au niveau de la matière blanche ou du tronc cérébral, entouré de cellules inflammatoires mononucléées et de cellules gliales. De plus, cet examen révèle une infiltration leucocytaire non suppurative des méninges (*BARR et al., 1990*). Parfois, les foyers nécrotiques sont, de plus, minéralisés (*BOULTON et al., 1995*).

En ce qui concerne le myocarde, les lésions sont de type inflammatoire, localisées ou diffuses, et de type nécrotique ; elles sont souvent marquées. Cependant, l'autolyse rapide du cœur n'autorise généralement pas cette observation (*WOUDA et al., 1997*). Une infiltration de cellules mononucléées infiltrant l'épicarde, le myocarde et l'endocarde est souvent observée (*BARR et al., 1990*).

Au niveau du foie, l'histologie révèle des foyers inflammatoires riches en cellules mononucléées et en foyers de nécrose hépatocytaire, parfois associés à de la fibrine. Les lésions d'hépatite sont plus nombreuses lors d'épizootie d'avortements dans un élevage par rapport à des élevages où les avortements sont sporadiques (*BARR et al., 1990 ; WOUDA et al., 1997*).

La combinaison de lésions multifocales d'encéphalite et de myocardite permet d'émettre une forte suspicion de neosporose (*WOUDA et al., 1997*).

Des foyers de cellules inflammatoires mononucléées sont visibles dans plusieurs autres organes ou tissus. Ainsi, des infiltrations locales de cellules mononucléées sont visibles, de manière rare, dans les muscles squelettiques. Des foyers de nécrose, de petite taille, sont également visibles dans le rein et le placenta (*BARR et al., 1990*). Les poumons peuvent aussi être touchés (*JOURNEL et PITEL, 2001a*).

#### **- Le parasite**

Au niveau cérébral, les tachyzoïtes sont assez souvent identifiés et peuvent être engroupe ou isolés, ce qui rend, dans ce dernier cas, leur recherche plus difficile. Ils sont généralement situés au niveau des lésions.

Les kystes de *Neospora caninum* sont très rarement identifiés au sein des tissus fœtaux et ne sont quasiment visibles qu'au niveau du cerveau. Ils ne sont en principe pas situés au niveau des lésions (*WOUDA et al., 1997*).

La présence de tachyzoïtes au niveau du foie est souvent associée à un épisode d'avortements épizootiques au sein d'un élevage. Ceci est sans doute à mettre en relation avec une infection primitive de la mère, avec une dose élevée de parasites, provoquant un phénomène aigu (*WOUDA et al., 1997*).

L'observation de tachyzoïtes au niveau du cœur et des muscles squelettiques est possible, mais peu fréquente, notamment du fait de l'autolyse très rapide du cœur (*WOUDA et al., 1997*).

## **C. Chez le chien**

### **1. Symptômes**

Chez le chien, la maladie existe sous deux formes : une forme intestinale (le chien est hôte définitif, dans lequel le parasite effectue sa reproduction sexuée) et une forme disséminée (le chien 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 neosporose 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 hyperextension spastique uni- ou bilatérale des membres postérieurs (au niveau du genou ou du tarse) qui touche environ la moitié des animaux atteints de neosporose clinique : on parle de « position du phoque ».

Les autres signes moins fréquents sont la parésie d'un ou des membre(s) antérieur(s), l'hémi-parésie ou la quadriparésie, l'ataxie, l'hypermétrie, la cécité, l'inclinaison ou les tremblements de la tête, l'apparition des modifications comportementales ou de crises convulsives.

Ces signes peuvent être variables et apparaître simultanément ou non (**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**).

En fin d'évolution, de l'incontinence, de la fièvre, de l'anorexie peuvent apparaître, mais ces symptômes restent relativement rares et le chien reste, le plus souvent, vif et alerte jusqu'à sa mort. De plus, une légère dépression, des modifications des réflexes oculaires, une incapacité à l'ouverture ou à la fermeture de la gueule, des troubles de la déglutition, de la dyspnée et une fibrose musculaire sont parfois relatés et conduisent en général à l'euthanasie. La mort de l'animal survient suite à la paralysie évolutive ou suite à une méningoencéphalomyélite, 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 : le chien a d'abord une démarche en « saut de lapin », il refuse de sauter et a les membres écartelés lorsqu'il se couche. Lors de formes chroniques, et peu évolutives, une guérison spontanée existe (**BARBER, 1998**).

## **2. Lésions**

### **a) Lésions macroscopiques**

Les lésions macroscopiques ne sont en général pas spécifiques de la neosporose chez le chien. On peut observer des lésions de nécrose au niveau du système nerveux central, des granulomes dans les tissus viscéraux ou des striations jaunes ou blanchâtres des muscles (surtout du diaphragme), ainsi que la présence d'un mégaoesophage (**BARBER, 1998**).

D'autre part, le cervelet peut s'atrophier et on note parfois, surtout chez les adultes, une dermatite ulcéralive (**DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998**).

### **b) Lésions microscopiques**

L'histologie peut, comme chez les bovins, dévoiler des lésions assez typiques de la neosporose, mais le recours à l'immunohistochimie est indispensable pour poser un diagnostic de certitude. En effet, l'immunohistochimie permet de différencier des lésions dues à *Toxoplasma gondii*, à *Sarcocystis cruzi* et à *Neospora caninum*. Les parasites sont observés fréquemment sur des coupes de cerveau, de moelle épinière et des muscles, mais aussi, parfois, sur le cœur, les poumons, le foie ou les reins, principalement lors de forme aiguë et généralisée (**BARBER, 1998 ; DE MEERSCHMAN et LOSSON, 1998**).

## **D. Chez les chats**

Du fait de la proximité entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*, le chat a rapidement été suspecté d'être l'hôte définitif de *Neospora caninum*.

En fait, le chat n'interviendrait pas dans le cycle naturel de ce protozoaire. Ainsi, les données actuelles ne concernent que des chats infectés expérimentalement. Cependant, les kystes tissulaires et les tachyzoïtes sont infectants pour cette espèce, par ingestion ou injection sous-cutanée, et la transmission verticale a été reproduite expérimentalement. La transmission au fœtus peut se dérouler indépendamment en phase aiguë (femelle infectée en cours de gestation) ou en phase chronique (femelle infectée avant la gestation) (**DUBEY et LINDSAY, 1989a et 1989b**).

Le protozoaire provoque des lésions chez le chat adulte mais elles sont beaucoup plus sévères, et même fatales, chez les chats chez lesquels on a provoqué une immunodépression par injection de corticoïdes.

Ces lésions sont de même type que celles observées chez le chien infecté naturellement : encéphalomyélite, nécrose des muscles squelettiques... Les lésions sont similaires à celles observées lors de toxoplasmose chez le chat (*DUBEY et al., 1990b*).

Il faut tout de même noter que, selon *GUILLOT et ses collaborateurs(2000)*, un taux sérique élevé en anticorps anti-*Neospora* a été détecté chez certains chats présentant des troubles nerveux. Pour des raisons de santé publique, un examen complémentaire (sérologie, immunohistochimie,...) devrait être effectué chez le chat, au moins lors de suspicion de toxoplasmose, pour poser un diagnostic définitif (*DUBEY et al., 1990b*).

## **II.7. Épidémiologie et prévalence**

### **II.7.1. Sources de parasites**

#### **II.7.1.1. Chien**

Le chien est la première source d'infection puisqu'en tant qu'hôte définitif, il transmet la maladie aux hôtes intermédiaires, en particulier aux bovins, mais aussi aux ovins, caprins, équins et aux cervidés sauvages. Ainsi, bien que la transmission verticale existe dans les troupeaux bovins, l'infection est le plus souvent sous forme latente. 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*).

Aucune donnée ne permet actuellement de savoir si le chien peut ré excréter des oocystes par la suite sans recontamination (*CHERMETTE et MARQUER, 2000*).

#### **II.7.1.2. Bovins**

Les bovins constituent la deuxième source de parasites à l'origine de la contamination d'autres bovins, lors de transmission verticale, mais aussi des hôtes définitifs, lors de transmission horizontale.

Ainsi, l'achat d'un bovin 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*).

#### **II.7.1.3. 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, mais aucune excrétion d'oocystes n'a encore été mise en évidence chez ces espèces (*BUXTON et al., 1997a*).

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 *Neospora caninum* (*BARTELS et al., 1999*). Des pigeons ont d'ailleurs pu être infectés expérimentalement (*MAC GUIRE et al., 1999*).

#### **II.7.1.4. 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 une source d'infection.

#### **II.7.2. Espèces sensibles**

De nombreuses espèces animales se sont montrées sensibles à *Neospora caninum* mais de manière différente. Ainsi, faut-il distinguer les espèces infectées naturellement et celles infectées à la suite d'inoculation expérimentale (*GUNIOT, 2005*).

Concernant les premières, beaucoup sont connues en tant qu'hôtes intermédiaires : les bovins, les caprins, les ovins, les équidés, les cervidés et les canidés (*LOSSON et BOURDOISEAU, 2000*).

Quant au renard, au coyote, au buffle, ou au chameau, seuls des anticorps anti-Neospora ont pu être mis en évidence sans jamais avoir observé de signes cliniques.

De nombreuses espèces ont pu être infectées expérimentalement en tant qu'hôtes intermédiaires, il s'agit des bovins, des ovins, des caprins, des chiens, des chats, des renards, des coyotes, des souris, des rats, des gerbilles, des lapins, des porcs, des singes ou des pigeons. Leur réponse clinique et sérologique est différente en fonction de la souche utilisée et de la voie d'inoculation (**LOSSON et BOURDOISEAU, 2000**). La plupart des rongeurs sont relativement résistants à la neosporose et ne peuvent être infectés qu'à la faveur d'une diminution de l'immunité (utilisation de corticoïdes) (**DUBEY, 1999b**)

### **II.7.3. Mode de transmission**

La contamination des bovins résulte d'une transmission verticale, qui a été la première mise en évidence comme voie majeure de transmission de *Neospora caninum* au sein d'un troupeau, ou d'une transmission horizontale, post-natale (**GUINOT, 2005**).

#### **II.7.3.1. Transmission verticale**

La voie transplacentaire est apparue d'emblée comme le mode majeur de contamination chez les bovins. L'étude de la répartition des vaches séropositives dans les différentes générations (**BJÖRKMAN et al., 1996**) ainsi que la forte corrélation qui existe entre la séropositivité d'une vache et de sa descendance (93% des produits issus de vaches positives sont aussi positifs) (**SCHARES et al., 1998**) ont confirmé l'importance de la contamination par voie verticale. Il est admis que les animaux restent infectés à vie (**HEMPHILL et GOTTSTEIN, 2000**).

La transmission verticale, a été décrite dans les conditions naturelles chez la chienne et la vache, puis chez la chèvre, la jument, la brebis, et a été induite expérimentalement chez les bovins, le mouton, la chèvre, la souris, le chien, le chat, le singe et le porc (**DUBEY, 1999b**).

Cette voie de transmission est particulièrement efficace si l'on se base sur la présence d'anticorps spécifiques précolostraux chez les veaux nés de mères séropositives. Ainsi les taux de transmission de la mère au fœtus varient de 81 à 95% en fonction des études (**PARÉ et al., 1996 ; SCHARES et al., 1998**). Dans la plupart des cas, les veaux issus de mères infectées naissent en bonne santé, ce qui est corrélé à un fort titre d'anticorps chez la mère dans le dernier tiers de gestation (**PARÉ et al., 1996**).

Cependant la transmission transplacentaire n'a pas lieu dans tous les cas et les facteurs impliqués dans son déterminisme restent flous. La période de gestation où a lieu la parasitémie, son intensité et sa durée, l'efficacité de la réponse immunitaire maternelle et la capacité du fœtus à développer une réponse immunitaire semblent influencer l'infection verticale (**HEMPHILL et GOTTSTEIN, 2000**).

Le mode de contamination verticale grâce à son efficacité permet le maintien de *Neospora caninum* au sein d'un troupeau pendant des générations (**ANDERSON et al., 1997**). Les élevages dans lesquels la voie de transmission verticale est prépondérante semblent caractérisés par une séroprévalence faible au sein du troupeau associé à un nombre d'avortements peu élevé (**SCHARES et al., 1998**). Le déterminisme du passage transplacentaire reste à élucider.

### **II.7.3.2. Transmission horizontale**

La confirmation de ce mode de transmission a été établie à partir de la découverte du chien comme hôte définitif dans le cycle de *Neospora caninum*. La transmission verticale ne pouvait pas, à elle seule, assurer la pérennité de la circulation parasitaire ou provoquer des épidémies d'avortements (**ANDERSON et al., 2000**). En effet, dans certains cas, une source ponctuelle semble à l'origine des épisodes abortifs et les différences de séroprévalence entre les différents groupes d'âge dans des troupeaux, suggèrent l'existence d'une source d'infection post-natale (**LOSSON et BOURDOISEAU, 2000**).

#### **II.7.3.2.1. Contamination de l'hôte définitif**

Jusqu'à présent, seuls les enveloppes fœtales, le liquide utérin et le fœtus sont considérés comme matériels à risque potentiel dans la contamination du chien (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Toutefois, des études menées sur des chiens vivant dans des fermes contaminées ont montré que les avortons ne semblaient pas être consommés (**DIJKSTRA et al., 2002a**).

Par ailleurs, si l'on se réfère au cycle du parasite actuellement établi, on suppose que les matières virulentes par lesquelles le chien se contaminerait, contiennent des formes tachyzoïtes. Or, 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**).

Ces dernières recherches supposent aussi que les multiples hôtes intermédiaires du parasite, hébergeant des kystes à bradyzoïtes, peuvent jouer le rôle de proie pour le chien.

Des observations menées sur une population vulpine ont mis en évidence des séroprévalences élevées chez des renards nourris avec des carcasses de bovins (*KRAMER et al., 2004*).

#### **II.7.3.2.2. 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*), ainsi que le coyote en Amérique du Nord (*GONDIM et al., 2004*).

La sporulation, indispensable à l'acquisition des propriétés infectantes, nécessite 24 heures dans de bonnes conditions. Aucune donnée n'est établie sur la résistance des oocystes émis dans le milieu extérieur. 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 (*MACALLISTER et al., 1998 ; LINDSAY et al., 1999b*).

Toutefois, beaucoup de lacunes persistent sur la durée de la phase prépatente, la quantité d'oocystes émis ou sur la capacité du chien à réexcréter des oocystes par la suite sans recontamination (*CHERMETTE et MARQUER, 2000*).

Les vaches étant des herbivores stricts, on suppose que les chiens défèquent dans les aires d'alimentation ou sur les stocks d'aliment, disséminant des oocystes. Les bovins s'infectent ensuite par les aliments ou l'eau. Une étude a montré que les chiens vivants dans un élevage infecté ont davantage tendance à déféquer dans les couloirs d'alimentation ou les stocks d'ensilage (*DJIKSTRA et al., 2002a*).

#### **II.7.4. Impact économique**

Les pertes engendrées par *Neospora caninum* sont multiples et l'impact économique dépendra des coûts « directs » liés aux avortements et des coûts « indirects », conséquences des avortements (*DUBEY, 1999c*).

La valeur des avortons représente une perte considérable compte tenu de la fréquence élevée des avortements. En effet, la fraction des avortements attribuée à *Neospora caninum* (*ANDERSON et al., 1991*) varie de 20 à 43% pour la Californie, 15 à 20% pour les Pays-Bas (*DUBEY, 1999b*).

Par ailleurs, une femelle séropositive aurait deux à trois fois plus de risque d'avorter qu'une femelle séronégative 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 HIETAL, 1997a*).

Enfin, la mise à la reproduction des vaches ayant avorté représente un certain coût lié aux traitements médicaux associés (*CHI et al., 2002*).

La mortalité embryonnaire précoce provoque des retours en chaleur répétés, de l'infertilité ainsi que l'augmentation des intervalles entre vêlages (*TREES et al., 1999*). Cependant il est difficile de savoir si à ce stade, les pertes sont dues à la neosporose ou à une autre cause.

La naissance de veaux infectés ou malades peut induire des pertes, mais en général leur nombre est faible et l'effet d'une infection à *Neospora caninum* sur la durée de vie d'une vache n'est pas connu (*TREES et al., 1999*).

L'impact de la neosporose 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*).

Cependant, il semble que l'influence d'une infection à *Neospora caninum* sur la production de lait dépend de la présence d'avortements dans l'élevage. Ainsi, dans l'Ontario les vaches séropositives produisaient moins de lait que les vaches séronégatives uniquement dans les élevages où des avortements, quelle qu'en soit la cause, avaient été rapportés (*HOBSON et al., 2002*).

L'augmentation du nombre de réformes précoces semble dépendre de deux facteurs principaux : la diminution de la production de lait et les avortements. Ainsi une vache séropositive a deux fois plus de risque d'être réformée qu'une vache séronégative (*THURMOND et HIETALA, 1996*). En Californie, les vaches séropositives sont réformées en moyenne 6,3 mois plus tôt que les vaches séronégatives (*DUBEY, 1999c*). Cependant, aucune augmentation du taux de réforme n'était observée sur la seule base du statut sérologique (*CRAMER et al., 2002*). On peut en déduire que le choix des animaux à réformer dans un élevage sans avortement ne dépendait pas du statut sérologique des vaches (*CRAMER et al., 2002*).

Enfin, la valeur marchande des veaux séropositifs est réduite en raison d'une diminution du gain corporel et du poids de carcasse en postsevrage, 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.

## **II.8. Diagnostic de la neosporose**

### **II.8.1. Clinique et Épidémiologique**

Deux situations doivent amener à suspecter la maladie dans un élevage.

Les avortements sont le signe d'appel le plus fréquent. Ils ont lieu plutôt en milieu et fin de gestation (entre le troisième et le neuvième mois), sont apyrétiques et sans prodrome. Aucune rétention placentaire ni infection utérine ou retour en œstrus décalé n'est observé (*JOURNEL et PITEL, 2001a*). Toutefois, l'estimation des stades de gestation auxquels ont lieu les avortements dus à *Neospora caninum* présente des biais importants compte tenu de la difficulté à détecter les avortements embryonnaires et fœtaux précoces, surtout si un suivi de gestation n'est pas effectué. De plus, le parasite est rarement retrouvé à ces stades-là, ce qui ne signifie pas qu'il n'est pas à l'origine de l'avortement.

Le nombre d'avortements ne constitue pas un élément de suspicion (*JOURNEL et PITEL, 2001a*).

Les affections nerveuses néonatales imputables à la neosporose sont beaucoup plus rares que les avortements. Des troubles locomoteurs associés à des signes nerveux (ataxie, raideur des membres, paralysie) ou à des déficits pondéraux doivent faire penser à la neosporose (*JOURNEL et PITEL, 2001a*).

Les avortements, les affections nerveuses néonatales et la mortinatalité sont des éléments essentiels pour la suspicion de la neosporose dans un élevage, mais ne sont en aucun cas pathognomoniques.

### **II.8.2. Expérimental**

Le diagnostic de laboratoire permet de confirmer ou d'infirmer la présence de la neosporose. Deux types de diagnostic peuvent être effectués : le diagnostic direct qui vise à mettre en évidence les différentes formes parasitaires de *Neospora caninum* et le diagnostic indirect qui lui met en évidence les témoins de l'infection (anticorps).

### II.8.2.1. Méthodes directes

Les méthodes directes mettent en évidence le parasite ou des lésions spécifiques. L'histologie, l'immunohistochimie et l'amplification génique sont les méthodes les plus couramment utilisées. Les principaux avantages et inconvénients des différentes techniques de diagnostic direct sont rapportés dans l'**annexe 03**.

#### II.8.2.1.1. Histologie

Les avortons sont souvent momifiés ou autolysés. Compte tenu de la répartition des lésions, les organes à prélever sont préférentiellement l'encéphale et le cœur et accessoirement le foie et les muscles (**LOSSON et BOURDOISEAU, 2000**). Par contre, sur des veaux nés vivants mais malades, seul un examen de l'encéphale sera effectué. Aucune localisation préférentielle du parasite n'a été établie au sein de l'encéphale.

Les tissus sont fixés dans du formol à 10% puis inclus dans de la paraffine. Après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, les lésions sont recherchées à un grossissement de x 200.

L'examen permet de visualiser des lésions multifocales d'encéphalite ou de myocardite, non-suppurées, caractérisées par des foyers de nécrose entourées de cellules inflammatoires mononucléées.

Les kystes sont rarement observés dans le système nerveux de l'avorton mais faciles à visualiser compte tenu de leur taille importante.

Un diagnostic différentiel avec *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis spp* doit être réalisé (**DUBEY et LINDSAY, 1996**). Des méthodes d'examens plus poussées, comme l'immunohistochimie et l'amplification génique (PCR) permettent de différencier *Neospora caninum* des autres protozoaires (**JENKINS et al., 2002**).

L'histologie constitue donc une méthode de référence, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre. Mais cet examen demande une certaine technicité. De plus, les tissus fœtaux fréquemment lysés sont un handicap. Les tachyzoïtes sont parfois observés dans l'encéphale, le cœur ou le placenta mais ils sont généralement difficiles à voir sur des coupes du fait de leur faible nombre (**LINDSAY et DUBEY, 1989**). Enfin, la sensibilité et la spécificité de cette méthode sont faibles (**OTTER et al., 1997 ; DUBEY, 1999b**).

L'examen de coupes histologiques permet d'établir un diagnostic de suspicion, pourtant les lésions ne sont pas pathognomoniques et le recours à l'immunohistochimie est indispensable pour confirmer la présence de *Neospora caninum*.

#### **II.8.2.1.2. L'immunohistochimie**

Les tissus utilisés sont principalement l'encéphale, le cœur ou le foie, mais d'autres organes préparés pour l'histologie sont utilisables.

Les premiers anticorps polyclonaux ont été produits sur des lapins immunisés (**LINDSAY et DUBEY, 1989**). Cependant, ils réagissaient occasionnellement avec *Toxoplasma gondii* en raison de la présence d'un antigène commun de bradyzoïtes (BAG 5) (**DUBEY et LINDSAY, 1996**), ce qui altérerait la spécificité de manière relative car en pratique, aucun avortement à *Toxoplasma* ne semble avoir été identifié chez les bovins (**ANDERSON et al., 1991**).

Par la suite, l'utilisation d'anticorps monoclonaux a permis d'éviter ce problème. Obtenus à partir de souris, ils reconnaissent spécifiquement l'antigène Mab 6G7 des tachyzoïtes et bradyzoïtes de *Neospora caninum* chez différentes espèces (chiens, bovins, souris, rats, ovins et caprins) (**COLE et al., 1993**).

Par ailleurs, l'étude d'anticorps polyclonaux réagissant contre les protéines de surface Nc-p43 et Nc-p36 de *Neospora caninum*, pourraient donner à terme des informations sur le statut de la maladie (aiguë ou chronique). En effet, les anticorps anti-Nc-p43 reconnaissent les tachyzoïtes et les bradyzoïtes alors que les anticorps anti-Nc-p36 ne réagissent qu'avec les formes tachyzoïtes (**HEMPHILL, 1999**).

L'immunohistochimie permet donc de mettre en évidence les formes tachyzoïtes principalement visibles dans l'encéphale, le foie ou le cœur ainsi que les kystes à bradyzoïtes plus rares et uniquement localisés au système nerveux. La distinction avec les autres protozoaires est donc possible. Par ailleurs, cette technique peut être utilisée si les avortons sont autolysés ou momifiés, ce qui est fréquent dans la neosporose, même si les résultats sont alors plus difficilement interprétables (**ANDERSON et al., 1994**).

Mais l'immunohistochimie reste laborieuse en pratique et demande une certaine habitude de lecture. De plus, son succès dépend du nombre de sections réalisées et du temps passé à l'examen microscopique ce qui la rend peu sensible (**WOUDA, 2000**).

### **II.8.2.1.3. Isolement sur culture cellulaire et inoculation**

Cette technique ne fait pas partie des examens de laboratoire couramment utilisés dans le diagnostic de la neosporose, mais concerne la recherche fondamentale (*MARQUER et CHERMETTE, 2000*).

L'isolement de *Neospora caninum* est réalisé à partir du tissu nerveux des bovins. Cependant, son succès dépend directement du nombre de parasites présents dans l'organe ainsi que de son état de lyse. Or les organes des avortons sont souvent très abimés, la plupart des tachyzoïtes n'étant pas viables (*DUBEY et LINDSAY, 1996*). De plus, le temps de culture est souvent long (jusqu'à deux mois) à cause du faible nombre de parasites présents au départ.

L'inoculation est réalisée sur des souris immunodéprimées (ayant reçu des corticoïdes) par voie sous-cutanée, orale ou intra-péritonéale (*HEMPHILL, 1999*).

Les nombreuses contraintes de cette technique expliquent qu'elle ne soit pas utilisée en pratique.

### **II.8.2.1.4. Amplification génique**

L'amplification génique ou PCR (Polymerase Chain Reaction) est une méthode qui permet l'amplification des séquences d'ADN de *Neospora caninum* à partir d'amorces nucléotidiques. Elle met donc directement en évidence la présence du parasite à l'intérieur des organes prélevés. Pratiquement tous les tissus fœtaux ainsi que le placenta peuvent être analysés. Les meilleurs prélèvements restent l'encéphale et le cœur frais, conservé au frais ou encore congelé. De plus, cette technique est possible sur des fœtus momifiés ou ayant subi un début de lyse (*MARQUER et CHERMETTE, 2000 ; JOURNEL et PITEL, 2001a*).

Les gènes amplifiés sont nombreux. La séquence spécifique de l'ARNr de *Neospora caninum* (région 1 intertranscrite ITS1), qui se situe entre les gènes 5.8S et 16S, a l'avantage d'être présente en nombreux exemplaires. D'autres amorces nucléotidiques, telles que la séquence ITS1 présente entre les gènes 5.8S et 18S de l'ARNr, la petite sous-unité nucléaire de l'ARNr, l'hybridation d'un oligonucléotide spécifique de *Neospora caninum* (fragment du gène 14-3-3) et une séquence de l'ADN (Nc5) sont utilisées (*ELLIS, 1998*).

Différentes techniques de PCR ont été développées : la PCR quantitative, la PCR semi-quantitative, la PCR nichée et la PCR associée à l'hybridation (*ELLIS, 1998*).

La PCR semble être une méthode très sensible et très spécifique (*JENKINS et al., 2002*). Cependant, si beaucoup de tests ont été mis à l'essai, peu d'entre eux sont réellement utilisés en pratique à cause des nombreux faux-positifs et faux-négatifs induits par ce type de technique. Les dernières recherches tendent à améliorer ces défauts (*ELLIS, 1998*).

Les inconvénients de cette méthode sont liés au coût et aux difficultés d'interprétation. En effet, la présence du parasite dans les tissus ne traduit pas forcément son implication dans l'avortement, elle peut être le reflet d'une infection sans signe clinique (*JENKINS et al., 2002*). Il est donc indispensable d'associer la PCR à d'autres techniques directes ou indirectes, un résultat de PCR ne permettant pas à lui seul d'imputer des avortements à *Neospora caninum*.

#### **II.8.2.2. Méthodes indirectes**

Ces techniques permettent de détecter les anticorps spécifiques de *Neospora caninum* dans le sang (*JENKINS et al., 2002*). Les techniques sérologiques attestent l'existence préalable d'un contact entre l'individu et le parasite et ne donnent aucune certitude sur l'imputation des symptômes à *Neospora caninum*.

Différents types de tests sérologiques ont été élaborés. L'immunofluorescence qui a été la première méthode approuvée, sert en général de référence pour valider les autres tests (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999*). Cependant, en l'absence de véritables techniques de références et/ou d'une véritable définition du statut d'infecté, il est difficile de comparer correctement les divers résultats obtenus. En effet, la sensibilité et la spécificité de chaque test sont obtenues à partir de seuils sélectionnés arbitrairement (*FRÖSSLING et al., 2003*). Les principaux avantages et inconvénients des différentes techniques de diagnostic indirect sont rapportés dans l'**annexe 04**.

##### **II.8.2.2.1. Immunofluorescence indirecte (IFI)**

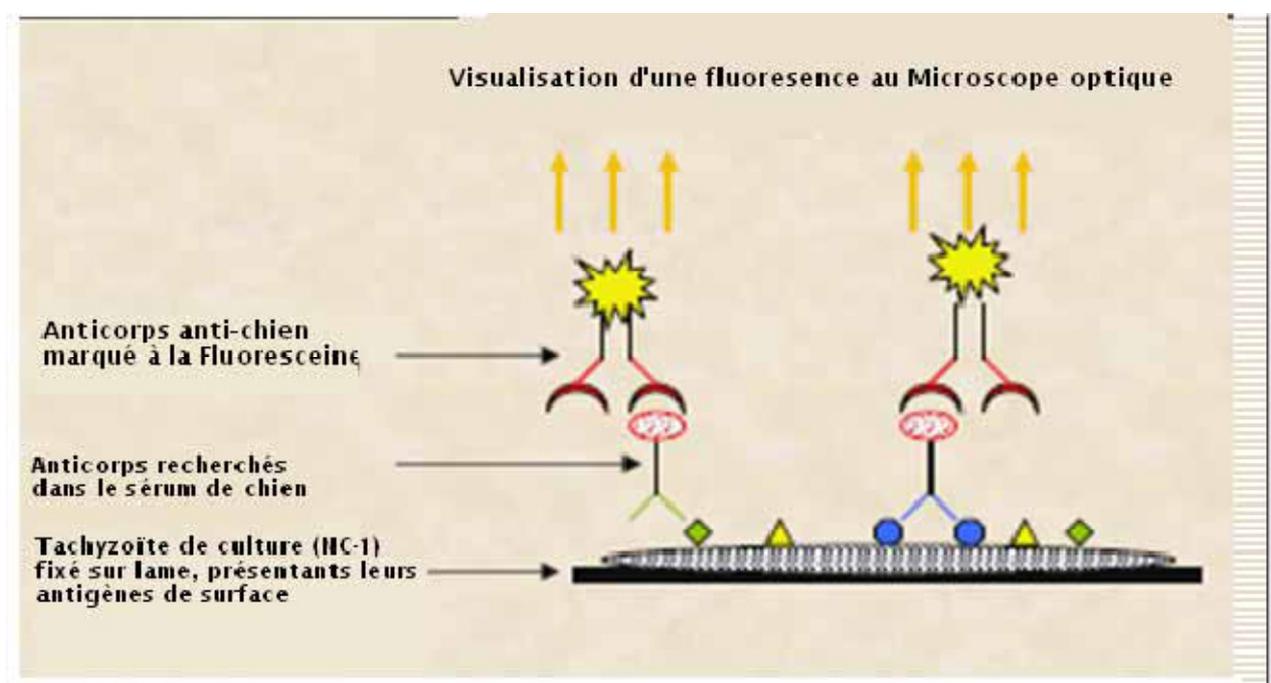
L'IFI a été le premier test sérologique utilisé en 1988 pour détecter les anticorps de *Neospora caninum* chez le chien. Depuis, elle a été utilisée chez beaucoup d'autres espèces comme les bovins, les renards, les chats, les ovins, les caprins, les chevaux, les rongeurs ou encore les primates (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999*).

L'immunofluorescence indirecte consiste à mettre en contact des tachyzoïtes en culture cellulaire avec le sérum à évaluer puis à révéler la présence ou non d'anticorps spécifiques grâce au marquage à la fluorescéine d'anticorps antiglobuline d'espèce (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999*) (**Figure 12**).

Cette technique permet un dosage quantitatif des anticorps et est utilisable sur le sérum des bovins mais aussi sur les liquides péritonéaux ou pleuraux des fœtus.

Toutefois, les performances de ce test dépendent en partie de l'expérience du manipulateur, ce qui le rend subjectif. La visualisation de la fluorescence au microscope doit concerner toute la surface des tachyzoïtes. En effet, si elle n'est présente qu'au pôle apical du tachyzoïte, la réaction n'est pas spécifique, car cette zone contient des antigènes communs à différentes espèces d'Apicomplexa (*ATKINSON et al., 2000*).

L'IFI présente au final très peu de réactions croisées et possède l'avantage d'être rapide et peu coûteuse (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999 ; DUBEY et LINDSAY, 1996*).



**Figure 11:** Principe de la technique de détection des anticorps anti-*Neospora caninum* par immunofluorescence indirecte (*PACHMAN, 1998*).

#### II.8.2.2.2. L'agglutination directe

Le principe du test d'agglutination directe repose sur la mise en contact de tachyzoïtes intacts de *Neospora caninum* avec des anticorps spécifiques du parasite. Il se forme alors un agglutinat entre ces deux composés, mais celui-ci n'est visible qu'à la condition qu'un grand nombre de tachyzoïtes soit présents dans le mélange (*BJÖRKMAN et UGGLA, 1999*).

Il existe différentes variantes de ce test. Ainsi, certaines n'utilisent que les immunoglobulines IgG après destruction des IgM avec du mercaptoéthanol. De même, les tachyzoïtes utilisés peuvent provenir d'une souche bovine ou canine (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

La sensibilité et la spécificité de ces tests sont comparables à celles de l'immunofluorescence indirecte. Ils n'induisent pas de réaction croisée, même avec *Toxoplasma gondii* (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

Cette technique est simple et adaptable à de nombreuses espèces. Elle peut donc être utilisée au même titre que l'immunofluorescence indirecte sans aucun problème (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

#### **II.8.2.2.3. Méthode enzymatique : l'ELISA**

Le principe du test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) repose sur la mise en incubation d'antigènes de *Neospora caninum* avec le sérum à tester. Deux types de tests ELISA existent :

Le premier est un test « ELISA non compétition ». Il consiste à mélanger le sérum à tester avec un antigène de *Neospora caninum* et à rajouter un conjugué spécifique (enzyme) de l'anticorps puis un substrat, qui en présence du conjugué, donne une certaine couleur. Enfin, l'absorbance de la couleur est mesurée au spectrophotomètre.

« L'ELISA compétition » est un test indirect dans lequel un anticorps monoclonal (mAb) est ajouté afin d'entrer en compétition avec les anticorps présents dans le sérum à tester. Si des anticorps anti-*Neospora* sont présents dans le sérum, l'absorbance sera diminuée. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition induit par le sérum testé (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

Les premiers tests ELISA utilisaient un lysat cru de tachyzoïtes contenant un grand nombre d'antigènes intracellulaires ou cytoplasmiques. Or ces derniers ne sont pas très spécifiques, il a donc été proposé d'utiliser des antigènes de surface.

Les antigènes candidats se sont succédés : des tachyzoïtes entiers fixés au formol, une fraction soluble de tachyzoïtes disloqués par des ultrasons de la souche NC-1 du parasite, des protéines extraites de tachyzoïtes et incorporées dans des « iscoms » (**BJÖRKMAN et al., 1997**), des protéines recombinantes (20, 29, 30 et 35 kDa) ou encore la capture d'un antigène spécifique (65 kDa) par un anticorps monoclonal (mAb) (**BJÖRKMAN et UGGLA, 1999**).

Cette méthode est uniquement qualitative et donne un résultat objectif. Elle est rapide et automatisable ce qui facilite l'analyse d'un grand nombre d'échantillons. C'est aussi la seule méthode utilisable sur le lait. En effet, les anticorps anti-*Neospora caninum* peuvent être détectés dans le lait avec une sensibilité et une spécificité comparables à celles obtenues sur sérum (90%) et avec une corrélation maximale entre les résultats sur sérum et sur lait en fin de lactation (**BJÖRKMAN et al., 1997 ; SCHARES et al., 2004**).

Une technique ELISA, basée sur la mesure de l'affinité des anticorps IgG, a récemment été testée expérimentalement. Elle permet de différencier une infection chronique et aiguë. En effet, l'affinité des anticorps IgG augmente progressivement après la contamination puis reste très élevée lors d'infection chronique (**BJÖRKMAN et al., 2003**).

La technique ELISA est facilement standardisable, rapide, peu coûteuse et utilisable sur un grand nombre de prélèvements. Sa spécificité et sa sensibilité sont excellentes. C'est pourquoi elle est la plus utilisée actuellement en routine. Le seul inconvénient étant le manque de standardisation des valeurs seuils entre les différentes trousse de diagnostic (**GUINOT, 2005**).

#### **II.8.2.2.4. Le 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. Elle permet de détecter des anticorps mais aussi de caractériser des antigènes inconnus avec des anticorps connus (**KAMGA WALADJO, 2008**). C'est une technique de choix pour la recherche, mais elle n'en demeure pas moins trop coûteuse et compliquée pour le diagnostic en routine courante.

Quatre antigènes prédominants, intervenant dans la réponse humorale d'un animal infecté par *Neospora caninum*, ont été identifiés par immunoblot. Leur taille est de 17, 29, 30 et 37 kDa (**PARÉ et al., 1995b**).

Un test est positif lorsqu'au moins trois de ces antigènes réagissent avec des anticorps du sérum. Les réactions croisées avec *Toxoplasma gondii* sont négligeables, mais sont tout demême fonction de la dilution du sérum et de l'antigène détecté (**SCHARES et al., 1998**).

#### II.8.2.2.5. Notion de seuil et de comparabilité

Pour de nombreuses espèces, la séropositivité vis-à-vis de *Neospora caninum* est considérée comme un caractère acquis à vie et il existe ainsi de nombreux infectés chroniques asymptomatiques. Trouver des anticorps anti-*Neospora caninum* ne signifie donc pas qu'un animal est atteint cliniquement de neosporose, mais que celui-ci a été en contact avec le parasite à un moment de sa vie. De plus, le taux peut fluctuer et devenir, de temps en temps, en dessous du seuil de détection (**PABON et al., 2007**).

Cette notion même de seuil de positivité a été l'objet de nombreux débats. La difficulté concernant l'élaboration de seuil de positivité concernant l'infection à *Neospora caninum* est qu'il n'existe pas de standard auquel se référer, aucune méthode n'a été validée par la démonstration de parasites viables pour définir un animal positif (**DUBEY et al., 2007**). Ce n'est que récemment que les méthodes de détection de *Neospora caninum* ont été évaluées et les seuils de positivité optimisés.

Pour la majorité des études comparatives, les différents tests utilisés avaient montré un haut degré de concordance négative ( $P \geq 0,84$ ), mais un degré modéré de concordance positive ( $P=0,25$  à  $0,96$ ) (**LALLY et al., 1996 ; JENKINS et al., 2000 ; VON BLUMRODER et al., 2004 ; SILVA et al., 2007 ; WAPENAAR et al., 2007**), à mettre en relation avec l'utilisation de certains tests ELISA qui manquaient de spécificité.

Pour l'espèce canine, selon **SILVA et collaborateurs**, dans une étude de **2007**, les tests ELISA utilisant des parasites entiers pour la détection des anticorps doivent être regardés avec circonspection, surtout si le titre en anticorps est faible. Cependant, les études menées sur les tests sérologiques utilisant des antigènes de *Neospora caninum* ont donné de bons résultats (**PINHEIRO et al., 2005**). Concernant l'IFAT, il est difficile de trancher concernant un seuil de positivité. En effet cette méthode dépend en grande partie de la qualité du matériel utilisé pour évaluer la fluorescence.

En conséquence, il serait justifié que chaque laboratoire établisse sa propre valeur seuil (**SCHARES et al., 2001**). En général, pour l'espèce canine, le seuil de 1/50 est choisi comme seuil de positivité et semble le plus approprié pour diagnostiquer une infection à *Neospora caninum* chez le chien (**COLE et al., 1995 ; PINHEIRO et al., 2005**).

Depuis l'amélioration des tests, il semble que la plupart des méthodes employées dans le commerce soient de bonne qualité pour explorer la prévalence vis-à-vis de *Neospora caninum* dans une population bovine (*VON BLUMRÖDER et al., 2004*) ou canine (*PINHEIRO et al., 2005*) et que les réactions croisées avec les antigènes de *Toxoplasma gondii* ou *Sarcocystis sp.*, si elles surviennent, sont désormais mineures (*LALLY et al., 1996*).

Une étude de **2008** a comparé les résultats de l'IFAT avec ceux de la PCR quantitative. Il semblerait que l'IFAT sous estimerait la séroprévalence des populations canines : sur les 32 PCR positives, seules 8 ont donné un résultat positif par IFAT, ce qui serait peut-être dû au fait que les infections chroniques, où le parasite est enkysté, ne stimulent pas assez le système immunitaire (*GHALMI et al., 2008*).

## **II.9. Traitement et prophylaxie**

### **II.9.1. Traitement**

À ce jour, il n'existe aucun traitement systématiquement efficace de la neosporose. Quelques essais ont eu lieu avec plus ou moins de réussite chez des chiots présentant des troubles neurologiques ou cutanés en utilisant notamment des sulfamides, la pyriméthamine et la clindamycine (*DUBEY, 2003 ; CROOKSHANKS et al., 2007 ; DUBEY et al., 2007*). L'effet d'autres molécules, comme le toltrazuril, le ponazuril et le sulfonamide, a été évalué in vivo chez des modèles murins de neosporose : elles se sont révélés d'une efficacité intéressante (*LINDSAY et DUBEY, 1990 b ; GOTTSETEIN et al., 2001*).

La plupart des molécules n'ont actuellement été testées qu'in vitro (*LINDSAY et al., 1994 ; GUPTA et al., 2002 ; KIM et al., 2002*). Une molécule active contre la coccidiose aviaire, le decoquinate, n'agirait que sur les parasites intracellulaires et non sur les formes extracellulaires (*LINDSAY et al., 1997*). Un autre anticoccidien, dérivé de composants de l'armoise 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 antiparasitaires en médecine humaine, ont aussi montré une activité in vitro contre *N. caninum* (*YOUN et al., 2003 ; 2004*). La dépodécine (0,5 mg/ml) posséderait aussi des propriétés anti-*Neospora* in vitro (*KWON et al., 2003*).

L'extrapolation de ces résultats aux situations in vivo est risquée. Plusieurs paramètres décisifs interviennent in vivo : le passage de la barrière digestive par la molécule ou ses métabolites, les possibles différences entre la molécule native utilisée en culture cellulaire et ses métabolites dans l'organisme et enfin, le passage de la barrière hémato-méningée si l'on souhaite agir sur les stades évolutifs du parasite dans les cellules du système nerveux central. Une approche alternative de l'expression abortive de la maladie serait de n'éviter que le passage transplacentaire. Il reste pour l'instant à déterminer la période à laquelle il faut traiter, les animaux à traiter et la rémanence du principe actif dans l'organisme. Ces dernières années, des résultats encourageants ont été obtenus chez la souris avec le toltrazuril (*GOTTSTEIN et al., 2005 ; STROHBUSCH et al., 2009*).

Dans une première étude, l'essai a consisté à traiter des femelles expérimentalement infectées à 10 jours de gestation, soit par le toltrazuril (52,5 mg/kg/j), soit par l'enrofloxacin (16,77 mg/kg/j) pendant les six jours consécutifs à l'infection et de comparer les résultats à ceux obtenus chez des souris infectées recevant un placebo. Le nombre d'avortements mais aussi la mortalité dans le groupe traité par le toltrazuril ont sensiblement diminué, par rapport au groupe traité par l'enrofloxacin et le groupe placebo. Des analyses par la technique PCR et des examens histologiques menés sur les encéphales des mères et des souriceaux ont montré une diminution significative des réactions positives et des lésions dans le groupe traité par le toltrazuril.

Enfin, aucun des souriceaux nés de mères traitées par le toltrazuril n'a été trouvé infecté et ce résultat est constant au fur et à mesure des gestations successives. Les auteurs concluent à une efficacité de 87 % du toltrazuril (contre 17 % pour l'enrofloxacin) sur l'infection aiguë mais aussi à l'absence de contamination transplacentaire lors des gestations suivantes.

Dans le second essai, le toltrazuril a été administré à la dose de 31,25 mg/kg en une fois ou de façon répétée pendant trois jours de suite à des souriceaux infectés congénitalement par le parasite. Aucun effet secondaire n'a été observé. Quel que soit le mode de traitement, le toltrazuril allonge significativement le délai d'apparition des signes cliniques chez les nouveau-nés et génère un taux de survie significativement supérieur dans les lots traités en comparaison des lots témoins. Ce taux de survie n'est pas significativement modifié par les modalités d'administration de la molécule.

Le groupe de souriceaux recevant le traitement répété pendant trois jours présente cependant un nombre de sujets malades et encore infectés, significativement plus faible que le groupe traité en une fois.

Ce sont aussi ceux qui ont pu développer une immunité humorale plus élevée. Les résultats positifs de ces deux essais sont vraisemblablement favorisés par les propriétés pharmacocinétiques de la molécule dont le passage de la barrière placentaire et la très courte demi vie ont été démontrés (*PITTEL, 2010*).

## **II.9.2. Prophylaxie**

### **II.9.2.1. Prophylaxie médicale**

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Les vaccins anti-protazoaires sont de plus en plus étudiés. Il semble qu'une réponse de type Th1 avec production d'interféron  $\gamma$  (INF $\gamma$ ) et d'interleukine 12 (IL12) soit essentielle dans la prévention d'une neosporose aiguë expérimentale chez la souris. L'objectif étant d'aboutir à une protection de l'infection verticale du fœtus au cours de la gestation, plusieurs approches sont actuellement utilisées : injection de tachyzoïtes virulents tués ou non et vecteurs viraux porteurs de séquences recombinées de *N. caninum* (vaccins à ADN). Des résultats encourageants ont été obtenus chez la souris immunisée avant la gestation par des tachyzoïtes de *N. caninum* et infectée en début de gestation (6-9 jours), stade auquel elles sont les plus sensibles (*LIDDELL et al., 1999*).

Les résultats obtenus chez les bovins en utilisant des tachyzoïtes comme antigènes sont plus contrastés. Les immunités cellulaire et humorale sont bien stimulées, mais le passage vertical du parasite persiste (*ANDRIANARIVO et al., 1999 ; 2000 ; INNES et al., 2001*) ont bien observé la stimulation de l'immunité à médiation cellulaire avec une augmentation significative de la production d'INF $\gamma$  après l'infection, mais aussi une protection contre le passage vertical du parasite. Des résultats encourageants ont été obtenus chez des bovins immunisés avant la mise à la reproduction et ayant subi une infection expérimentale à 140 jours de gestation (*INNES et al., 2001*), la période de gestation entre quatre et six mois étant le plus critique dans la survenue des avortements chez les bovins (*THURMOND et al., 1997 ; THURMOND et HIETALA, 1996 ; MOEN et al., 1998*).

Récemment, un vaccin préparé à partir de tachyzoïtes a reçu une autorisation temporaire de mise sur le marché aux États-Unis (Neoguard®, Intervet USA). Son innocuité a été évaluée en élevage bovin (*BARLING et al., 2003*). Il permet d'obtenir une séroconversion vis-à-vis de *N. caninum* dans 76,6% des cas sans provoquer d'effets secondaires néfastes sur la production lactée ou sur la qualité de la viande des animaux immunisés.

Des résultats encourageants ont aussi été obtenus chez des brebis gestantes vaccinées au jour 1 et 126 par une préparation de tachyzoïtes de *N. caninum* tués (**O'HANDLEY et al., 2003**). Une réponse immunitaire humorale est obtenue chez plus de 80 % des brebis. Aucune trace d'ADN parasite n'est observée chez 10 fœtus examinés, alors que des lésions histologiques sont rapportées chez tous les agneaux examinés (quatre sur quatre). L'utilisation de ce vaccin dans un modèle ovin d'infection conférerait une protection partielle.

Une autre voie d'immunisation fait appel à des vaccins recombinés. Les principaux travaux portent actuellement sur le peptide NcSRS2 aussi appelé Ncp43 impliqué dans l'adhésion et l'invasion parasite (**HEMPHILL et GOTTSTEIN, 1996**). Les souris immunisées sont moins infectées que les témoins. Lors de stimulation *in vitro* de splénocytes par des antigènes de *N. caninum*, il a été observé une réponse proliférative plus importante chez les souris vaccinées, ainsi qu'une production accrue d'INF $\gamma$  ( $p < 0.001$ ) (**NISHIKAWA et al., 2000a; 2001**). En revanche, aucun changement de la production d'IL12 n'a été observé. Les souris vaccinées par le peptide NcSRS2 recombiné produisent de forts taux d'anticorps IgG1 pendant l'immunisation et l'infection d'épreuve (**ANDRIANARIVO et al., 1999 ; CHOROMANSKI et BLOCK, 2000 ; NISHIKAWA et al., 2000a ; NISHIKAWA et al., 2001**).

La même étude montre que les lymphocytes T CD4+ jouent un rôle important dans la prévention de l'infection lors des étapes terminales. Cet essai d'immunisation et de protection contre *N. caninum* accorde un rôle majeur des IgG1 en début d'infection, alors que la réponse des lymphocytes T CD4+ agirait plutôt en fin d'infection. Les effets de la vaccination par le peptide recombiné sur la protection de la transmission verticale du parasite chez la souris ont été également étudiés lors de contamination expérimentale en début de gestation (6-9 jours) (**NISHIKAWA et al., 2001**): les souris vaccinées, puis infectées, ont des portées plus nombreuses que les souris témoins et le taux de survie de leurs souriceaux est plus élevé. Aucun signal n'est détecté par la technique de PCR dans les organes des souriceaux morts issus de mères vaccinées. La réaction des souris vaccinées à l'infection expérimentale se caractérise par une augmentation très rapide du taux d'IgG1 et une augmentation significative de la prolifération des splénocytes en présence d'antigènes de *N. caninum*. L'efficacité de NcSRS2C recombiné a aussi été comparée à celle de la protéine recombinée NcSAG-1 seule ou associée à NcSRS2 et à celle d'une vaccination par ADN codant ces deux protéines (**CANNAS et al., 2003a**). Aucun des animaux vaccinés n'a développé de symptôme après infection expérimentale.

L'infection tissulaire par *N. caninum* évaluée par une technique de PCR quantitative révèle que la quantité d'ADN parasitaire est moindre après un vaccin à ADN qu'en utilisant les protéines recombinées seules ou associées. Une protéine de micronèmes recombinée, NcMIC3, a été testée dans un modèle murin (*CANNAS et al., 2003b*). Les souris sont infectées après immunisation par injection intrapéritonéale de  $2 \times 10^6$  tachyzoïtes.

L'efficacité de l'immunisation est évaluée par l'observation clinique et par la recherche quantitative d'ADN parasitaire dans les tissus. Aucun des animaux ayant reçu la protéine recombinée ou l'adjuvant seul n'a développé de symptôme 21 jours après l'infection. De l'ADN parasitaire n'a été observé dans aucun tissu autre que l'encéphale. L'étude quantitative de l'ADN de *N. caninum* montre une infection moins importante chez les souris immunisées par NcMIC3 que chez celles ayant reçu de l'adjuvant seul. La protection partielle (75 %) est associée à une réaction immunitaire Th2 avec une réponse IgG1 dirigée contre la protéine native NcMIC3 et une réponse mixte IgG1 et IgG2 contre la protéine recombinée (*PITTEL, 2010*).

### **II.9.2.2. Prophylaxie sanitaire**

La prophylaxie sanitaire se décompose formellement en une prophylaxie défensive et une prophylaxie offensive. Elles sont en général fondées sur la connaissance des cycles parasitaires et des données épidémiologiques.

#### **II.9.2.2.1. Mesures défensives**

Les mesures de prophylaxie défensives visent à éviter qu'un cheptel ou un animal ne s'infecte ou ne se réinfecte. Actuellement, sont conseillées quelques mesures simples et peu onéreuses :

- Limiter l'accès des chiens et de tous animaux autres que les bovins aux aires de stockage et de distribution des aliments.
- Éviter l'ingestion de produits de mise bas ou d'avortement par les chiens ou les coyotes.
- Éliminer avortons et placentas même en cas de vêlage à terme d'un veau vivant (*WOUDA et al., 2000*).
- Lutter contre les rongeurs et d'éviter la présence d'oiseaux sauvages et d'oiseaux d'élevage dans les locaux d'élevage et de stockage des aliments (*ANDERSON, 2000; DIJKSTRA et al., 2002b*).

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. Cette technique, si elle est effectuée suivant les recommandations établies par l'Embryo Transfer Society, donne de bons résultats (*BIELANSKI et al., 2002*). 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, encore incertaine à ce jour, 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 (*PITTEL, 2010*).

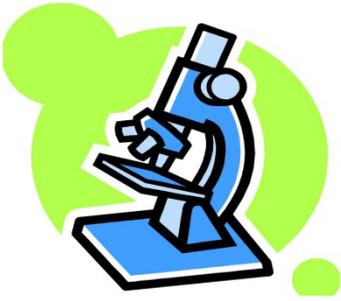
#### **II.9.2.2.2. Mesures offensives**

Les mesures de prophylaxie offensives consistent à éliminer l'agent infectieux responsable ou les animaux qui en sont porteurs.

L'élimination définitive des femelles séropositives de la reproduction est une possibilité. Pour des raisons financières et génétiques, elle n'est pas adaptée aux élevages où une forte séroprévalence est observée (*WOUDA, 2000*). De plus, en l'absence de vaccin reconnu comme efficace, une nouvelle contamination d'un cheptel ne peut être exclue. Il semble même, que si une nouvelle contamination survient, les animaux séronégatifs subissent significativement plus d'avortements que ceux qui étaient déjà séropositifs, une infection antérieure par *N. caninum* entraînant une protection vis-à-vis des avortements en cas de nouvelle contamination (*MCALLISTER et al., 2000*). Une possibilité intermédiaire est l'utilisation, en filière de production de veau, de femelles séropositives de race laitière croisées avec des taureaux de race allaitante. On limite ainsi la pérennisation de l'infection dans le cheptel, on valorise les femelles séropositives et leur descendance et on limite le coût économique en cas d'avortement.

L'élimination des chiens des cheptels où sévissent des problèmes de neosporose ne paraît pas utile. En effet, selon les données épidémiologiques, le risque est accru après l'introduction d'un nouveau chien ou après la naissance d'une portée (*DIJKSTRA et al., 2002b*).

Enfin, en l'état actuel des connaissances, il est quasiment impossible de savoir si un chien, qu'il soit séropositif ou séronégatif, excrète ou va excréter des oocystes de *N. caninum*. En effet, de nombreux chiens excréteurs n'ont pas montré de séroconversion dans les 40 jours suivant le repas infectant (*MCALLISTER et al., 1998 ; SCHARES et al., 2001a*).



## Partie Expérimentale

## I. Objectifs et stratégies

*T. gondii* et *N. caninum* sont deux protozoaires étroitement liés et connus comme causes majeures d'avortements et de mortalité néonatale chez les animaux domestiques et sauvages dans de nombreux pays du monde y compris en Algérie.

Des travaux antérieurs ont montré que chez l'espèce ovine *N. caninum* pouvait être impliqué dans les avortements observés au même titre que *T. gondii*.

En Algérie, très peu de travaux se sont intéressés à l'étude de ces deux agents pathogènes chez la brebis.

Ce travail a de multiples objectifs :

- Estimer le taux d'avortement ovin dans des élevages situés dans la région Est d'Alger.
- Déterminer les facteurs de risque liés à l'avortement dans ces mêmes élevages.
- Estimer le taux de séroprévalence de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* dans la région étudiée.
- Mettre en évidence les coïnfections possibles retrouvées entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*
- Étudier certains facteurs de risque potentiellement associés aux infections par *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum*
- Réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien causal entre la circulation des deux protozoaires et les avortements chez la population ovine étudiée.
- Évaluer le risque attribuable aux avortements pour chaque pathogène.

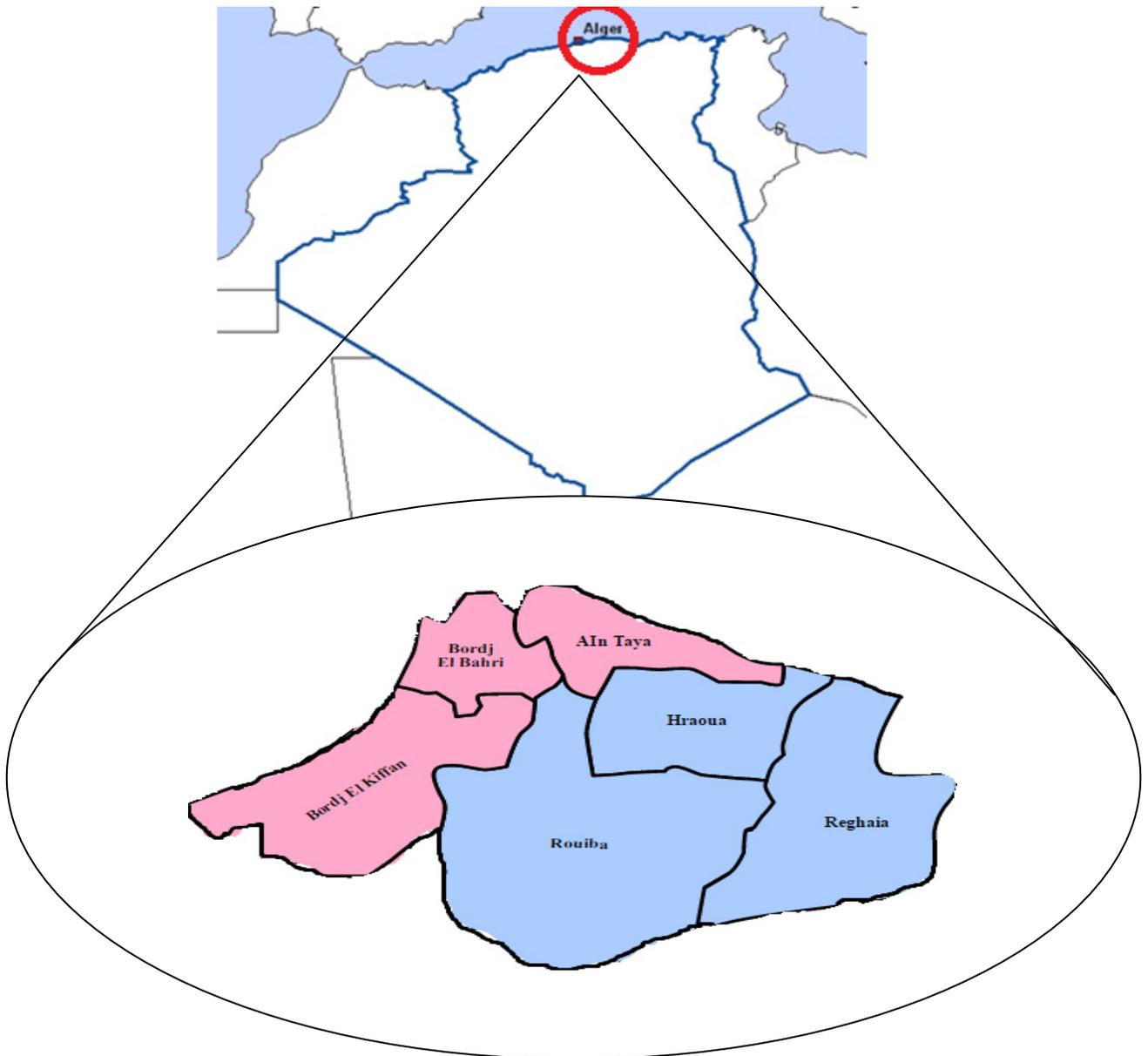
## **II. Matériel et Méthodes**

### **II.1. Description de la région d'étude**

#### **II.1.1. Situation géographique**

L'étude a concerné quelques communes situées dans la région Est d'Alger. Il s'agit de six communes frontalières : Rouïba, Bordj El Kiffan, Bordj El Bahri, Ain Taya, Reghaia, Heuraoua (**Figure 12**).

Ces communes sont situées à 47 Km à l'Est d'Alger avec une superficie de 118,29 Km<sup>2</sup>. Le choix des communes s'est fait en fonction de la faisabilité sur terrain (accès aux fermes, coopération des éleveurs) dans ces régions comparé aux autres régions Ouest, Sud et Centre d'Alger. Les données de l'effectif ovin dans 37 communes d'Alger obtenus après une enquête préliminaire auprès de la Direction des Services Agricole d'El Harrach sont rapportés en **Annexe 05**.



**Figure 12** : Localisation de la zone d'étude (*ILLUSTRATION PERSONNELLE MODIFIÉE, 2016*)

### **II.1.2. Climat**

Dans ces communes, le climat est de type méditerranéen subhumide à hiver doux et relativement pluvieux et à été chaud et sec. L'été, les pluies sont moins importantes qu'elles le sont en hiver.

### **II.1.3. La production animale dans la région d'étude**

La viande bovine constitue la principale production animale dans la région de l'Est d'Alger vu le nombre important d'élevage bovin suivie par l'élevage ovin et l'industrie de basse court.

### **II.1.4. Description du mode d'élevage ovin**

Dans ces régions l'élevage ovin est de type extensif, pendant les périodes de climat difficile, les animaux sont mis dans des abris. L'alimentation est composée en grande partie de pâturage à base de résidus de récoltes, complétée par la paille d'orge et de fourrage sec, l'eau est distribuée à volonté. Ces élevages sont composés principalement par la race Ouled Djellal.

## **II.2. Population animale prélevée**

Les élevages prélevés ont été essentiellement constitués de races croisées (8,62%) et de races Ouled Djellal (88,62%), avec quelques individus de races Hamra (1,03%) et Rumbi (1,72%). L'échantillon était constitué que de femelles (100%). Les animaux ont été répartis en trois classes d'âge :  $\leq 1$  ans, (16,89%), 1-4 ans (46,55%),  $\geq 4$  ans (36,55%) (*FIGLIUOLO et al., 2004*).

## **II.3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique**

### **II.3.1. Mode d'échantillonnage**

#### **II.3.1.1. Enquête épidémiologique descriptive sur les avortements**

Une enquête épidémiologique descriptive a été réalisée au moyen d'un questionnaire bien structuré (**Annexe 06**) et adressé aux éleveurs des fermes prélevées (**Annexe 06**). Le questionnaire a concerné 17 exploitations ovines et un total de 290 brebis (ayant avorté ou non) sélectionnées au hasard.

Le questionnaire est divisé en deux parties :

La première partie concerne l'élevage, le statut sanitaire et les pratiques de gestion de l'élevage. (**Annexe 06**).

La deuxième partie a concerné des données individuelles recueillies pour chaque brebis prélevée : la race, l'âge, le nombre de mises bas, la gestation, le mois de gestation, les antécédents d'avortement et de mortalité néonatale, le stade de gestations où a lieu l'avortement, les antécédents pathologiques, les signes clinique observés au moment du prélèvement (**Annexe 06**).

L'enquête épidémiologique descriptive a été réalisée afin notamment de déterminer comme premier aspect important si la ferme avait connu des épisodes d'avortements et ensuite de récolter un maximum d'informations pour l'analyse des facteurs de risque d'avortement.

Ce questionnaire a servi également pour analyser les facteurs de risque potentiels liés à l'infection par *T. gondii* et *N. caninum* (voir plus loin).

Si on se réfère au chiffre de l'Institut National de Médecine Vétérinaire, l'échantillonnage réalisé a été d'environ 2,96 % pour les élevages ovins de la région (n=9794) et d'environ 3% pour l'effectif ovin dans les communes étudiées (n=290) (**Tableau 02**).

L'échantillonnage a été réalisé en deux étapes ; nous avons d'abord effectué un choix aléatoire (tirage au sort) des fermes à partir d'une liste des éleveurs ovins de la région (*DSA, 2015*). Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude. Par la suite, le nombre de brebis à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total de brebis présente dans celle-ci: soit la ferme comprenait moins de 10 brebis et, dans ce cas toutes les brebis étaient prélevées, soit la ferme contenait plus de 10 brebis et, dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. L'objectif était d'avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présents dans les fermes visitées (*GHALMI et al., 2012 ; SARRAZIN et al., 2013*).

**Tableau 2:** Répartition des brebis et fermes prélevées par commune (*DSV, 2015*)

Communes	Nombre d'ovins total par commune	Nombre de brebis prélevées	Nombre de fermes prélevées / Nombre total de fermes présentes
1. Rouïba	1025 têtes	30	3/8
2. Bordj El Bahri	2030 têtes	60	2/5
3. Ain Taya	1350 têtes	40	2/6
4. Bordj El Kiffan	825 têtes	24	2/4
5. Heuraoua	1889 têtes	56	4/7
6. Reghaïa	2675 têtes	80	4/5
<b>Total</b>	<b>9794</b>	<b>290</b>	<b>17/35</b>

### II.3.1.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum*

L'estimation de la séroprévalence nous a permis de réaliser une étude épidémiologique de type transversale (a cross-sectional study). Cette étude a eu lieu durant la période allant de Juin à Septembre 2015, sur cent quatre-vingt-quatre (n=184) ovins issus de dix élevages ovins (n=10) sélectionnés au hasard.

Les différents élevages ovins sont répartis dans les 04 communes à l'Est de la région d'Alger (**Tableau 03**).

Le **tableau 3** présente la répartition des 184 échantillons analysés par exploitation et par commune.

**Remarque :** 106 échantillons non pas été analysés par la sérologie dont 70 échantillons provenaient des deux communes : Ain Taya et Rouiba et 36 échantillons de la commune de Heuraoua.

**Tableau 3 :** Répartition des 184 échantillons analysés par exploitation et par commune

Communes	Nombre d'ovins total par commune	Nombre de brebis prélevées dans les communes	Nombres de fermes prélevées/Nombre de fermes total	Nombre d'échantillons analysés
1. Bordj El Bahri	2030 têtes	60	2/5	60
2. Bordj El Kiffan	825 têtes	24	2/4	24
3. Heuraoua	1889 têtes	56	2/7	20
4. Reghaia	2675 têtes	80	4/5	80
<b>Total</b>	<b>7419</b>	<b>220</b>	<b>10/21</b>	<b>184</b>

### **II.3.1.3. Étude épidémiologique de type cas- témoin**

Une étude épidémiologique de type cas-témoin a été réalisée, les fermes cas sont définies comme des fermes ayant eu des problèmes d'avortement. Les fermes témoins sont celles qui n'ont jamais connu d'épisodes d'avortements. Lors de cette étude, nous avons analysé 06 fermes cas et 04 fermes témoins. Ceci correspond à un rapport de 6cas/4témoins.

Les 184 brebis prélevées et analysées sérologiquement ont été partagées en deux groupes : les brebis ayant avorté (n=56) et brebis n'ayant jamais avorté (n=126).

Le but de cette étude est de déterminer un éventuel lien entre l'exposition aux deux parasites et les avortements dans les fermes ou encore exprimer une relation entre l'exposition à ces parasites et les avortements à travers le calcul des risques attribués à chaque pathogène.

### **II.4. Nature et préparation des prélèvements**

Des prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction à partir de la veine jugulaire, après contention des animaux. Nous avons récupéré environ 5 ml de sang total dans des tubes secs stériles (système vacutainer sous vide) portant le numéro de l'animal.

Après une centrifugation à 3000 tours pendant 5 min, les sérums ont été obtenus et transvasés dans des tubes Eppendorf puis conservés à -20°C jusqu'à analyse.

### **II.5. Analyses sérologiques**

Sur un total de 290 prélèvements, nous n'avons pu analyser que 184 en fonction des kits sérologiques procurés.

Les analyses sérologiques des 184 sérums collectés ont eu lieu au laboratoire de Microbiologie Médicale de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Alia (ENSV).

Il s'agit d'un ELISA indirect basé sur l'utilisation de l'antigène P30 spécifique de *T.gondii* et d'un extrait antigénique spécifique de *Neospora caninum*. Ce test est commercialisé par la firme IDvet (Grabels, France) pour la détection des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* et anti-*Neospora caninum* dans le sérum.

### **II.5.1. Description et principe du test pour *T. gondii***

Les cupules sont sensibilisées avec l'antigène P30 spécifique de *Toxoplasma gondii*. Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques de *Toxoplasma gondii*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Après lavage, un conjugué anti-multi-espèces marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP. Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).

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

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

La lecture est réalisée à 450nm.

#### **II.5.1.1. Matériel**

- Microplaque ELISA 96 puits sensibilisée avec l'antigène P30 *Toxoplasma*,
- Conjugué concentré 10 fois,
- Contrôle positif,
- Contrôle négatif,
- Tampon de dilution 2,
- Tampon de dilution 3,
- Solution de lavage concentrée 20 fois,
- Solution de révélation,
- Solution d'arrêt (0,5 M),

Autre matériel nécessaire mais non fourni (Pipettes de précision mono ou multi canaux capables de délivrer des volumes de 10 µl, 100 µl et 200 µl, Embouts de pipette à usage unique, Lecteur de microplaques à 96 puits, Eau distillée ou désionisée, Bêchers, Flacons de dilution, pissette....).

### **II.5.1.2. Méthode**

-Tous les constituants ont été portés à température ambiante (21°C +/- 5°C) avant la réalisation du test.

-Après disparition de tous les cristaux, la solution de lavage concentrée 20 fois a été diluée dans l'eau distillée (10 ml de solution de lavage dans 190 ml d'eau distillée).

-Une fois la microplaque retirée de son emballage, nous avons distribué d'abord 90 µl de tampon de dilution 2 dans chaque puits, ensuite, 10 µl de contrôle négatif dans les cupules (A1) et (B1) et 10 µl de contrôle positif dans les cupules (C1) et (D1). Enfin, 10 µl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.

- La plaque a été ensuite couverte par un film de paraffine et incubée pendant 45 minutes à température ambiante.

- À la fin d'incubation, la plaque a été vidée en la retournant brutalement au-dessus d'un évier et lavée trois fois avec environ 300 µl de solution de lavage et séchée en la tapant sur du papier absorbant propre de manière à bien éliminer tout le liquide, tout en évitant le dessèchement des cupules entre les lavages.

- Après, nous avons distribué dans chaque cupule 100 µl de conjugué qui a été préalablement dilué au 1/10ème (1 ml du conjugué dans 9 ml de tampon de dilution 3). Ensuite, la plaque a été incubée pendant 30 minutes à température ambiante.

-Après l'incubation, la plaque a été vidée, lavée 3 fois et séchée.

-Nous avons distribué alors 100 µl de solution de révélation (TMB) dans chaque cupule.

-Encore une fois, la plaque a été incubée pendant 15 minutes à l'obscurité.

-En fin d'incubation, nous avons distribué 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. La couleur passe alors du bleu au jaune.

- Nous avons ensuite procédé à la lecture de la plaque avec un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 450 nm.

-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.  
(DOcp) > 0,350
- Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DOcp) et la moyenne des contrôles négatifs (DOcn) est supérieur à 3

$$(DOcp)/(DOcn) > 3,5$$

-Ensuite, nous avons calculé le pourcentage pour chaque échantillon S/P (S/P%) en appliquant la formule suivante :

$$S/P\% = [(DO \text{ échantillon} / DO \text{ cp})] * 100.$$

-Les échantillons présentant un S/P%:

- ✓ S/P% ≤ 40% : négatif
- ✓ 40% < S/P% < 50% : douteux
- ✓ 50% ≤ S/P% < 200% : positif
- ✓ S/P% ≥ 200% : infection aigue

### **II.5.2. Description et principe du test pour *N.caninum***

Les cupules sont sensibilisées avec de l'extrait antigénique spécifique de *Neosporacanium*. Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques de *Neospora caninum*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-multi-espèce marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps *Neospora* formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

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

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

-en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.

-en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450nm.

#### **II.5.2.1. Matériel**

- Microplaques sensibilisées avec un antigène *Neospora*,

- Conjugué concentré 10 fois,

- Contrôle positif,

- Contrôle négatif,

- Tampon de dilution 2,

- Tampon de dilution 3,

- Solution de lavage concentré 20 fois,

- Solution de révélation,

- Solution d'arrêt (0,5 M),

Autre matériel nécessaire mais non fourni (Pipettes de précision mono ou multi canaux capables de délivrer des volumes de 10 µl, 100 µl et 200 µl, Embouts de pipette à usage unique, Lecteur de microplaques à 96 puits, Eau distillée ou désionisée, Bêchers, Flacons de dilution, pissette....).

#### **II.5.2.2. Méthode**

-Tous les constituants ont été portés à température ambiante (21°C +/- 5°C) avant la réalisation du test.

-Après disparition de tous les cristaux, la solution de lavage concentrée 20 fois a été diluée dans l'eau distillée (10 ml de solution de lavage dans 190 ml d'eau distillée).

-Une fois la microplaque retirée de son emballage, nous avons distribué d'abord 90 µl de tampon de dilution 2 dans chaque puits, ensuite, 10 µl de contrôle négatif dans les cupules (A1) et (B1) et 10 µl de contrôle positif dans les cupules (C1) et (D1). Enfin, 10 µl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.

- La plaque a été ensuite couverte par un film de paraffine et incubée pendant 45 minutes à température ambiante.

- À la fin d'incubation, la plaque a été vidée en la retournant brutalement au-dessus d'un évier et lavée trois fois avec environ 300 µl de solution de lavage et séchée en la tapant sur du papier absorbant propre de manière à bien éliminer tout le liquide, tout en évitant le dessèchement des cupules entre les lavages.

- Après, nous avons distribué dans chaque cupule 100 µl de conjugué qui a été préalablement dilué au 1/10ème (1 ml du conjugué dans 9 ml de tampon de dilution 3). Ensuite, la plaque a été incubée pendant 30 minutes à température ambiante.

-Après l'incubation, la plaque a été vidée, lavée 3 fois et séchée.

-Nous avons distribué alors 100 µl de solution de révélation (TMB) dans chaque cupule.

-Encore une fois, la plaque a été incubée pendant 15 minutes à l'obscurité.

-En fin d'incubation, nous avons distribué 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. La couleur passe alors du bleu au jaune.

- Nous avons ensuite procédé à la lecture de la plaque avec un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 450 nm.

-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 S/P (S/P%) en 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

## II.6. Analyses statistiques

L'exploitation statistique des données recueillies à partir du questionnaire et des résultats des analyses sérologiques a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS version 19 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

Ainsi, les variables ont été codées, enregistrées puis analysées avec un intervalle de confiance de 95 %. La variable dépendante, étant le résultat de l'analyse sérologique à *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*. Celle-ci a été codée 0 pour un échantillon négatif et 1 pour un échantillon positif. Les variables explicatives, indépendantes ont été codées en deux catégories pour ce qui est des questions à réponses oui ou non ; 0 pour non et 1 pour oui. Pour les questions à choix multiples, les catégories de réponses ont été codées de 0 à 4.

- Les prévalences et l'intervalle de confiance (IC) ont été calculés selon les formules suivantes (*TOMA et al., 2001*):

**(P)** =  $n/N * 100$  avec n = nombre de prélèvements positifs et N= nombre total des prélèvements analysés.

**(IC)** =  $P \pm 1.96 \sqrt{p(1-p)/N}$ , avec p = prévalence observée dans l'échantillon.

- L'analyse des facteurs de risque potentiellement associés à la séropositivité vis-à-vis des agents abortifs étudiés a été effectuée par le biais du test du Khi-deux de Pearson ( $\chi^2$ ) avec le calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC).

- La force d'association entre la séropositivité à *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* et les avortements a été mesurée par le biais du test du Khi-deux de Pearson ( $\chi^2$ ) et de l'odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). En se basant sur un risque de première espèce  $\alpha$  égal à 0,05. La variable est considérée comme facteur de risque lorsque l'OR et la valeur de  $p(\chi^2)$  sont significatifs (OR > 1 et valeur de  $p < 0,05$ ).

L'interprétation de l'odds ratio (OR) se fait de la façon suivante :

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

Le risque d'avortement attribué a été calculé selon les travaux de **HALL et al., 2005**.

Le risque d'avortement associé à une maladie est calculé comme étant le % d'animaux séro+ qui ont avorté – le % d'animaux séro- qui ont avorté.

Le risque relatif RR d'avortement est calculé comme le % d'animaux séro+ qui avortent divisé par le % d'animaux séro- qui avortent.

La probabilité que la maladie a causé l'avortement  $P = RR-1/RR$ .



## Résultats

### III. Résultats

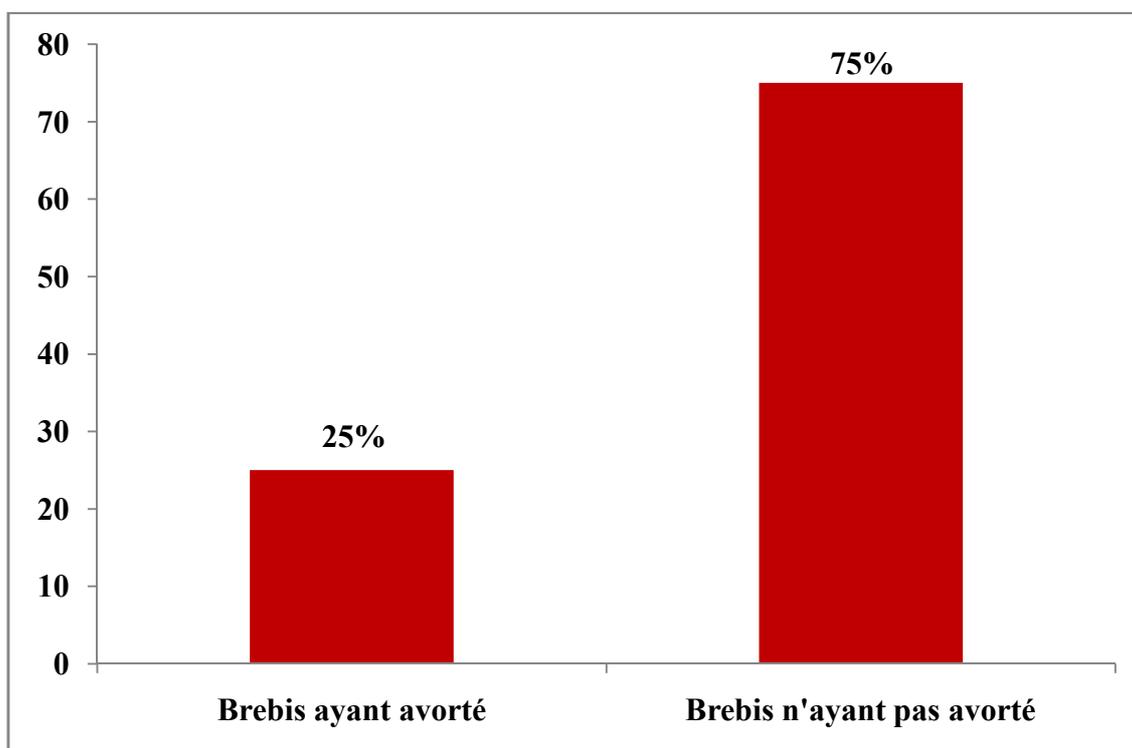
#### III.1. Enquête épidémiologique sur les avortements

##### 1. Prévalence des avortements

Afin de déterminer la présence de facteurs pouvant être liés aux avortements chez la brebis constatés dans les exploitations étudiées, une enquête épidémiologique a été menée sur base d'un questionnaire (**voir annexe 06**) chez 290 brebis issues de 17 fermes situées à l'Est de la région d'Alger.

Nous avons calculé un taux d'avortement qui correspond à la proportion des brebis ayant connu des épisodes d'avortement sur le nombre total d'animaux étudié (**Tableau 3**). Ainsi, sur les 290 brebis étudiées, 72 brebis ont déjà avorté, ce qui correspond à un taux de prévalence de 25 %. Les brebis n'ayant jamais avorté étaient au nombre de 218 soit un taux de 75 %.

Si on calcule l'intervalle de confiance à 95%, on obtient une prévalence d'avortement chez les brebis comprise entre 19,3% et 29.1%.



**Figure 13 :** Taux de prévalence des avortements chez les brebis dans les différentes exploitations étudiées.

**Tableau 03 :** Taux de prévalence des avortements chez les brebis appartenant aux différentes exploitations étudiées

<b>Animaux</b>	<b>Nombre</b>	<b>Taux d'avortement (%)</b>
<b>Brebis ayant avorté</b>	72	25(19%-30%)
<b>Brebis n'ayant jamais avorté</b>	218	75
<b>Total</b>	290	100

## **2. Étude des facteurs de risque liés aux avortements chez la brebis**

Nous avons voulu étudié quelques facteurs de risque qui pourraient être associés significativement à l'avortement chez la brebis.

L'objectif est de tenter de mettre en évidence des facteurs potentiels de risque d'avortement chez la brebis.

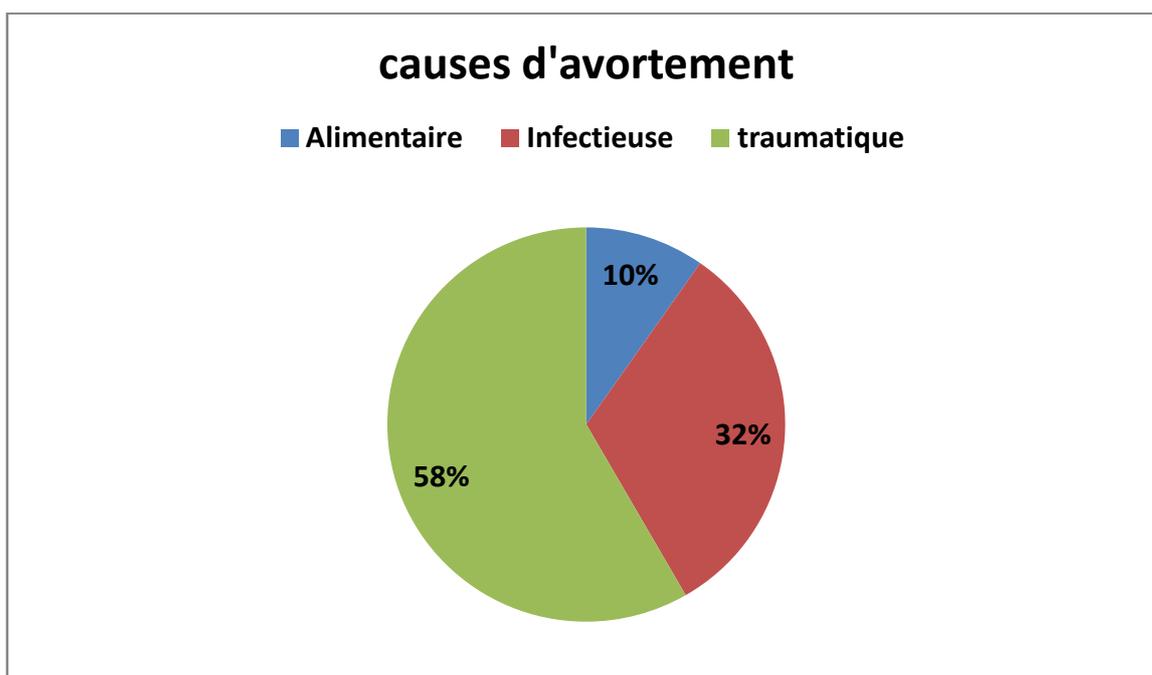
Pour cela, certaines données individuelles ont été enregistrées pour toutes les brebis de l'étude (**voir annexe 7**).

### **2.1. Causes des avortements**

Les causes d'avortements (selon les réponses des éleveurs) ont été considérées dans cette étude. Selon les éleveurs, (58%) des avortements étaient d'origine traumatique, (32%) infectieuse et (10%) alimentaire (**tableau n°4 et figure n°15**).

**Tableau 04 :** Causes des avortements selon les éleveurs.

<b>Causes d'avortement</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Alimentaire</b>	7	10
<b>Infectieuse</b>	23	32
<b>Traumatique</b>	42	58
<b>Vaccination</b>	/	/
<b>Inconnue</b>	/	/



**Figure 14 :** Causes d'avortement selon les éleveurs

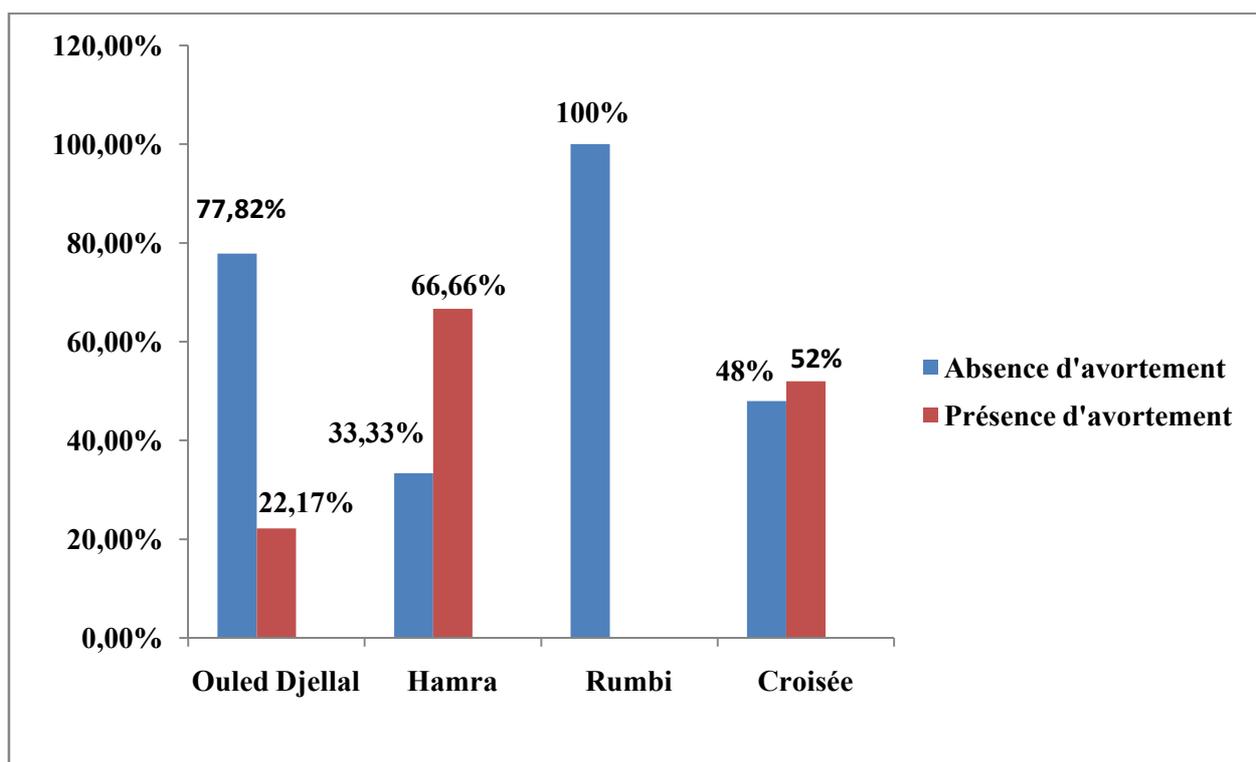
## 2.2. La race

Dans un premier temps, nous avons tenu à étudier l'effet de la race sur les avortements. Notre enquête a relevé des données sur 72 vaches ayant avorté.

Ainsi, sur les 290 brebis étudiées, 257 appartenaient à la Race Ouled Djellal, 3 à la race Hamra, 5 à la race Rumbi et 25 brebis croisées (**tableau n°5**).

L'analyse statistique des taux d'avortement selon la race a montré une différence très significative ( $p < 0,001$ ). Le taux d'avortement le plus élevé (66,66%) a été observé chez brebis de race Hamra.

Cependant, en raison de la non homogénéité des races, on ne peut pas affirmer qu'il y ait un effet de race sur la survenue d'avortements chez les brebis.



**Figure 15** : Effet de la racesur les avortements

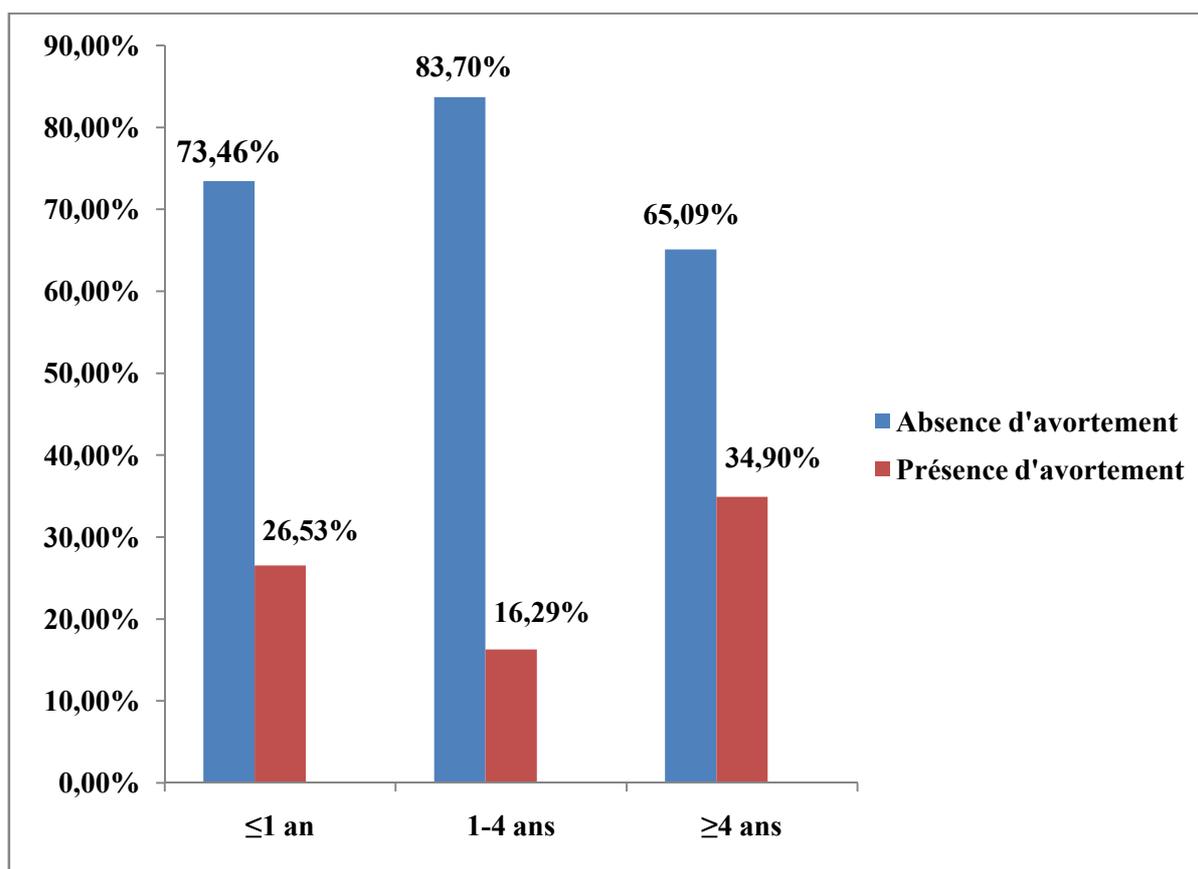
### 2.3. L'âge

Pour étudier le facteur âge, nous avons utilisé la classification suivante : ( $\leq$  1an ; 1-4ans ; 4 et plus) (*FIGLIUOLO et al., 2004*).

Parmi les 290 brebis participant à l'étude, 49 étaient âgées d'un an, 135 entre 1et 4ans et 106avaientplus de 04 ans (**tableau 5**).

Le taux d'avortement le moins élevé (16,29%) a été observé dans la classe d'âge située entre 1 et 4 ans. Avec un taux de 34,90 %, les brebis âgées de plus de 4 année sont présenté le taux le plus élevé (**Figure 16**).

Une différence significative du taux d'avortement a été démontrée entre les différentes classes d'âge avec ( $p < 0,01$ ).



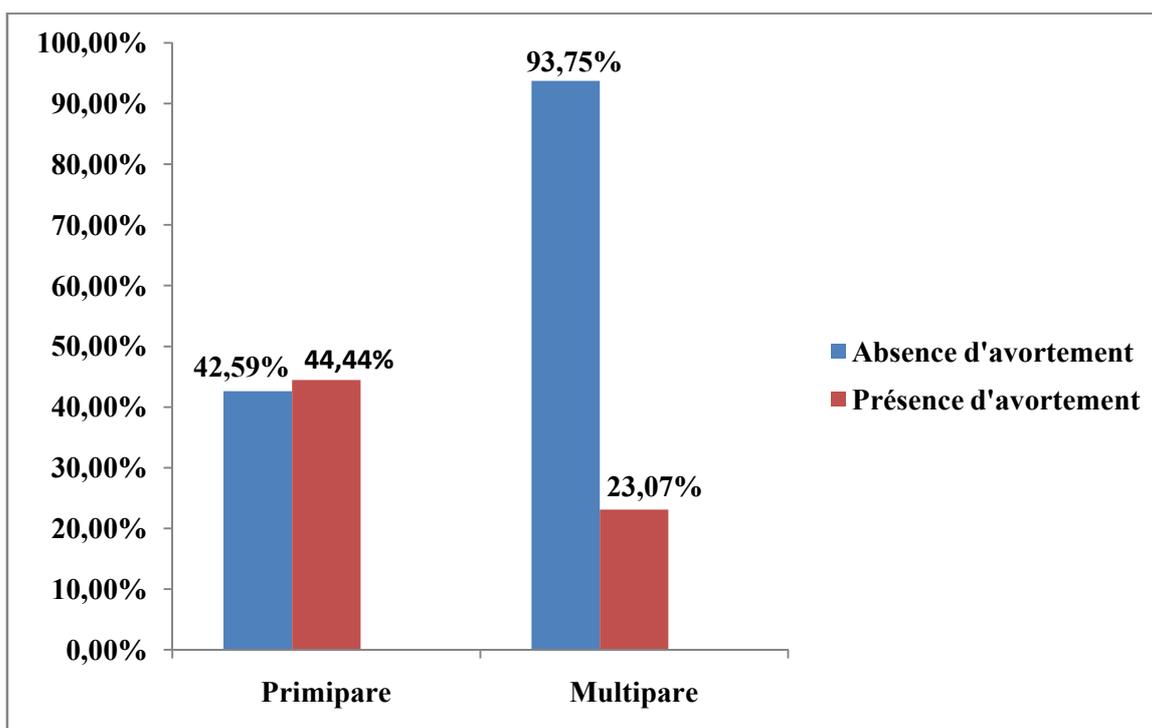
**Figure 16** : Effet de l'âge sur les avortements

#### 2.4. Parité

Parmi les 290 brebis, 208 étaient multipares et 54 étaient primipares. Sur les 208 multipares, 48 ont avorté, soit un taux d'avortement de 23,07%, alors que sur les 54 primipares, 24 ont avorté ce qui correspond à un taux de 44,44% (**tableau 05**).

La **figure 17** montre que les brebis primipares semblent plus disposées à avorter que les multipares.

L'analyse statistique a montré une importante différence significative en fonction de la parité des brebis ( $p < 0,001$ ).



**Figure 17** : Effet de la parité sur les avortements

## 2.5. Présence d'animaux

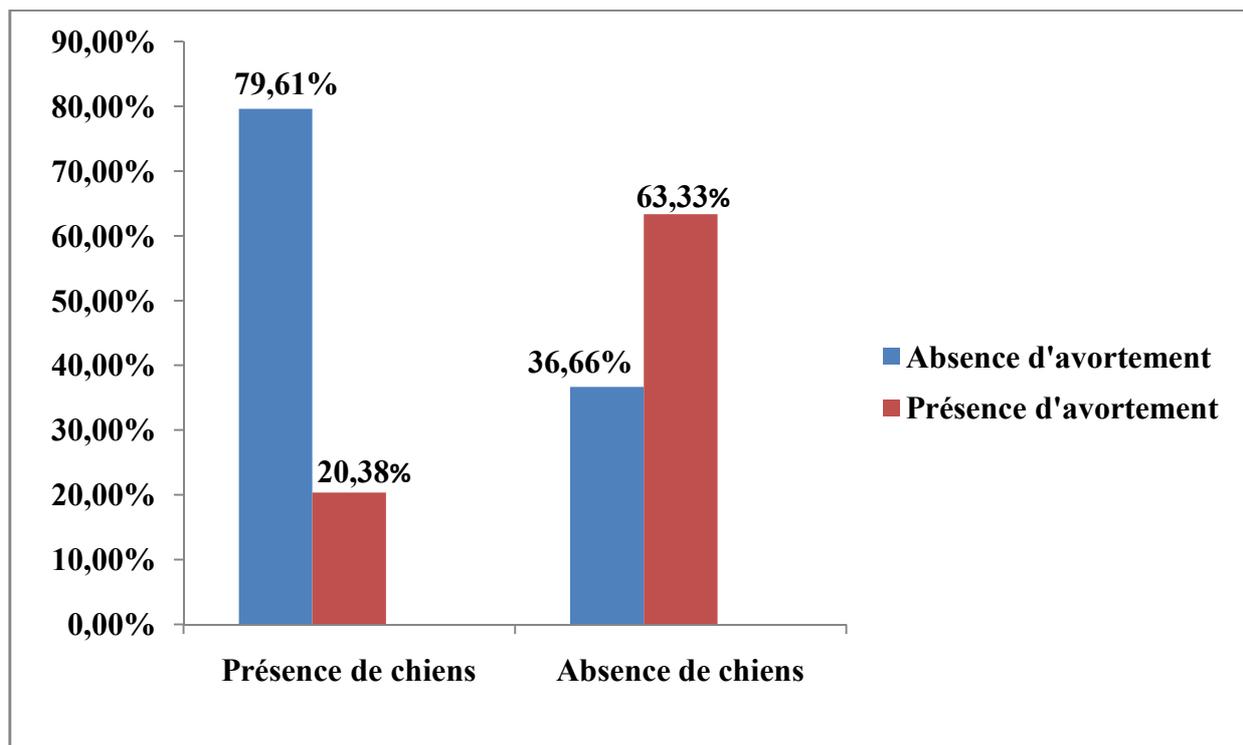
Ensuite, nous nous sommes intéressés pour savoir combien de brebis ont avorté en présence de chiens ou de chats.

Sur les 290 brebis enquêtées, 53 cas d'avortements étaient associés à la présence de chiens sur les 260 brebis (20,38%) alors qu'en absence de chiens, 19 brebis sur les 30 (63,33%) ont avorté (**tableau 05 et figure 18**).

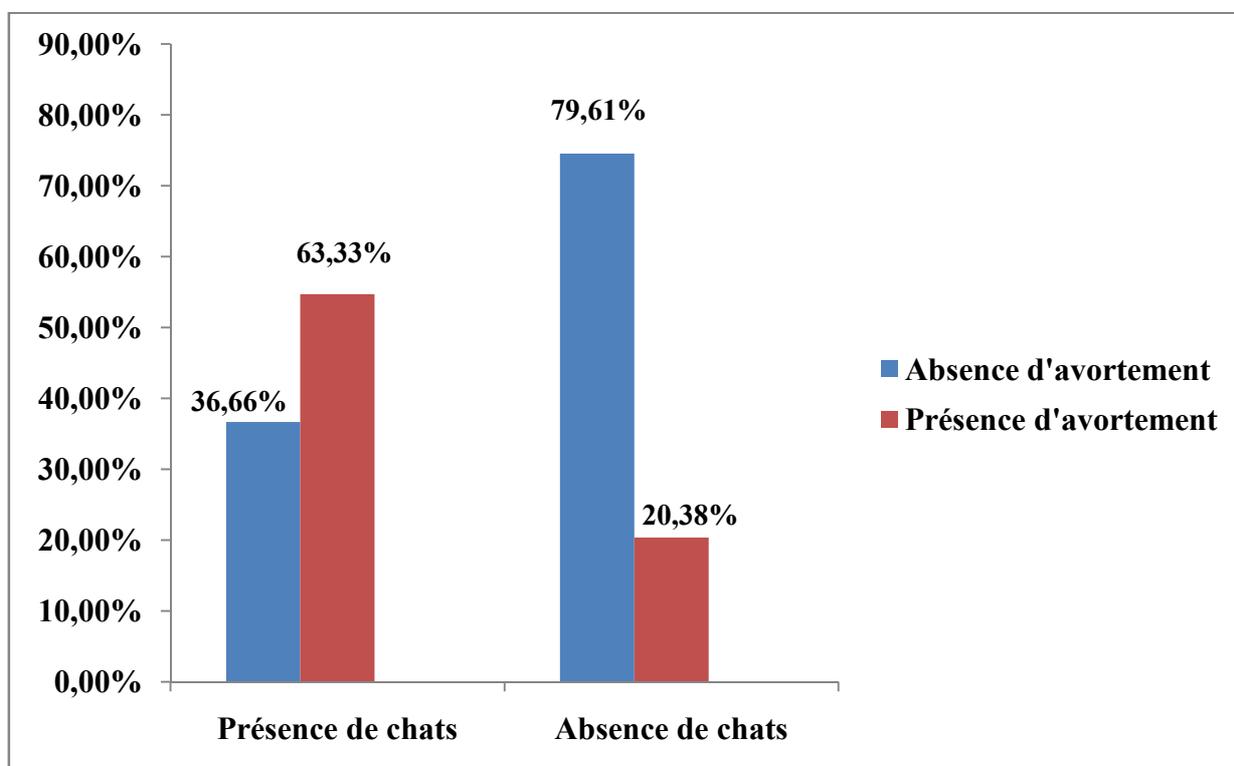
Les résultats montrent qu'en contact des chiens, les brebis avortent moins. Sur le plan statistique, ce constat s'est révélé très significatif ( $p < 0,001$ ).

Si on prend en considération les taux d'avortements en fonction de la présence ou de l'absence des chats, on remarque que sur les 290 étudiées, 30 provenaient des fermes hébergeant des chats. 19 cas d'avortements étaient associés à la présence de chats sur les 30 brebis (63,33%) alors qu'en absence de chats, 53 brebis sur les 260 (20,38%) ont avorté (**tableau 05 et figure 19**).

Les résultats montrent qu'en contact des chats, le taux d'avortement est le plus élevé. Sur le plan statistique, ce constat s'est révélé très significatif ( $p < 0,001$ ).



**Figure 18 :** Effet du contact du chien avec les brebis sur les avortements

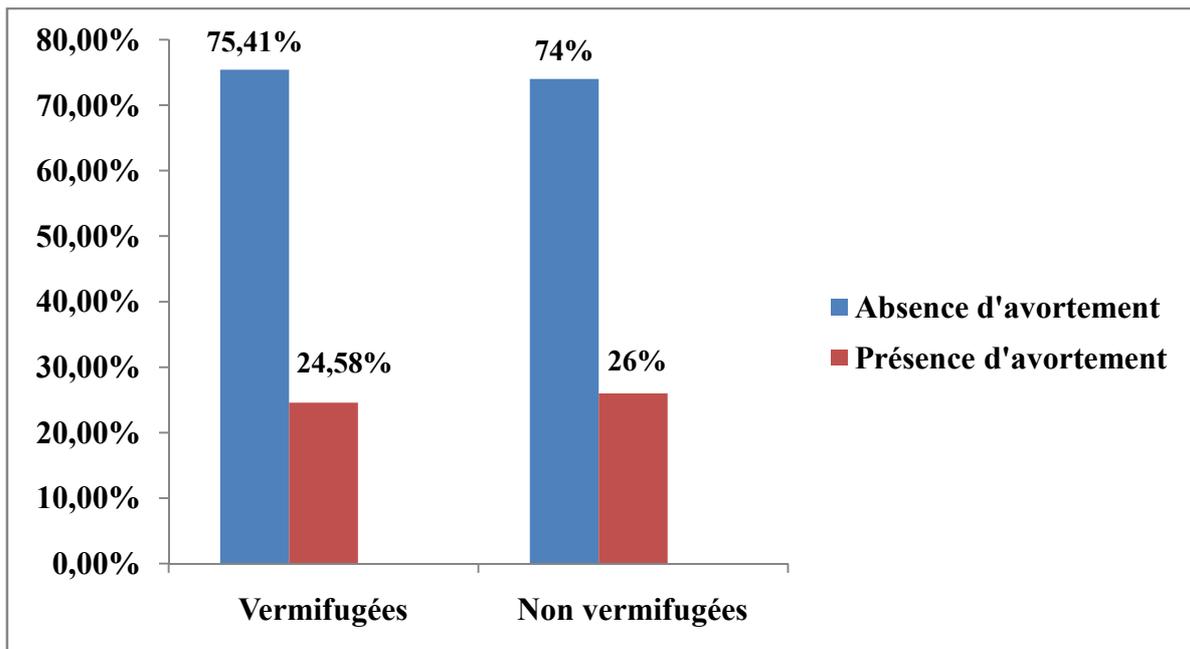


**Figure 19 :** Effet du contact du chat avec les brebis sur les avortements

## 2.6. Vermifugation

Le paramètre suivant décrit fut la vermifugation. Ainsi, sur les 290 brebis étudiées, 240 ont été vermifugées et 50 non vermifugées. Sur les 240 vermifugées, 59 ont avorté soit un taux de 24,58% et parmi les 50 non vermifugées, 13 ont avorté correspondant à un taux de 26% (**tableau 05 et figure 20**).

Sur le plan statistique, la différence observée n'était pas statistiquement significative ( $p=0,5$ ).



**Figure 20** : effet de la vermifugation sur les avortements

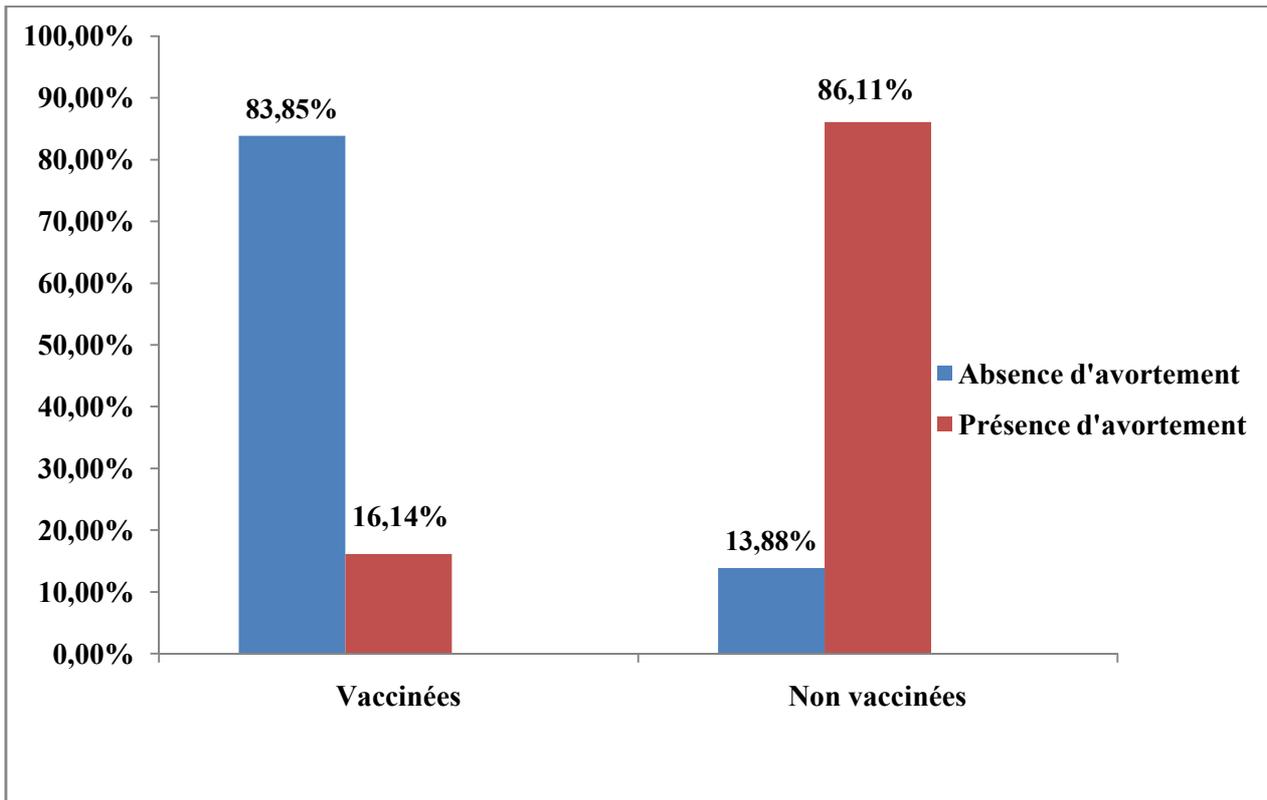
## 2.7. Vaccination

Dans le même ordre d'idée que la vermifugation, on s'est intéressé à la vaccination des animaux.

Parmi les 290 brebis ayant participé à notre étude, 254 sont vaccinées et 36 non vaccinées.

Sur les 254 vaccinées, 41 ont avorté soit un taux de 16,14% et parmi les non vaccinées, 31/36 ont avorté correspondant à un taux de 86,11% (**tableau 05 et figure n°21**).

Les résultats montrent ainsi un taux d'avortement plus important chez les brebis non vaccinées. Cette différence dans les prévalences entre les deux groupes est statistiquement très significative ( $p<0,001$ ).



**Figure 21** : Effet de la Vaccination sur les avortements

**Tableau n° 05:** facteurs de risque liés aux avortements chez la brebis

Avortement Facteurs	Présence d'avortement		Absence d'avortement	
	S%	IC 95%	S%	IC 95%
<b>Race</b>				
<b>Ouled Djellal</b>	57/257(22,17%)	16,83-27,16	200/257(77,82%)	71,74-82,25
<b>Hamra</b>	2/3(66,66%)	11,30-100	1/3(33,33%)	0-87,29
<b>Rumbi</b>	0/5(0%)	0	5/5(100%)	100
<b>Croisée</b>	13/25(52%)	32,01-71,98	12/25(48%)	28,01-67,98
<b>P</b>	<b>&lt;0,01 (S)</b>			
<b>Âge (ans)</b>				
<b>≤ 1</b>	13/49(26,53%)	13,46-38,53	36/49(73,46%)	60,31-85,68
<b>1-4</b>	22/135(16,29%)	9,68-22,31	113/135(83,70%)	76,53-89,46
<b>≥ 4</b>	37/106(34,90%)	24,79-43,20	69/106(65,09%)	55,73-74,26
<b>P</b>	<b>&lt;0,01 (S)</b>			
<b>Parité</b>				
<b>P</b>	48/54(44,44%)	19,06-54,93	18/29(62,06%)	43,97-80,02
<b>M</b>	24/208(23,07%)	18,57-29,42	187/248(75,40%)	69,50-80,49
<b>P</b>	<b>&lt;0,001 (TS)</b>			
<b>Stade d'avortement</b>				
<b>Premier Trimestre</b>	54/72(75%)	63,21-86,78		
<b>Deuxième Trimestre</b>	18/72(25%)	4,58-45,41		
<b>P</b>	<b>0,001 (TS)</b>			
<b>Présence de chiens</b>				
<b>Oui</b>	53/260(20,38%)	15,03-24,96	207/260(79,61%)	73,94-84,05
<b>Non</b>	19/30(63,33%)	45,37-80,62	11/30(36,66%)	18,47-53,52
<b>p</b>	<b>0,001 (TS)</b>			
<b>Présence de chats</b>				
<b>Oui</b>	19/30(63,33%)	45,37-80,62	11/30(36,66%)	18,47-53,52
<b>Non</b>	53/260(20,38%)	15,03-24,96	207/260(79,61%)	73,94-84,05
<b>p</b>	<b>0,001 (TS)</b>			
<b>Vermifugation</b>				
<b>Oui</b>	59/240(24,58%)	18,48-29,51	181/240(75,41%)	69,40-80,59
<b>Non</b>	13/50(26%)	13,59-38,40	37/50(74%)	61,59-86,40
<b>P</b>	<b>0,5 (NS)</b>			
<b>Vaccination</b>				
<b>Oui</b>	41/254(16,14%)	11,39-20,60	213/254(83,85%)	78,28-87,71
<b>Non</b>	31/36(86,11%)	74,43-97,56	5/36(13,88%)	1,78-24,21
<b>P</b>	<b>0,001 (TS)</b>			

NS : non significatif ( $p>0,05$ ) S : significatif ( $p<0,05$ ) SS : très significatif ( $p<0,01$ )

### III.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis des infections par *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum*

Sur un total de 184 sérums de brebis analysées, 90 et 42 brebis se sont révélées positives aux anticorps spécifiques de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* respectivement en utilisant le kit ELISA Indirect de la firme IDvet, ce qui correspond à des séroprévalences de 49% (IC95% 41,62%-56,37%) pour *T. gondii* et 22,82 % (IC95% 15,89%-28,10%) pour *N. caninum*.

Les analyses statistiques ont montré que l'infection par *Toxoplasma gondii* est significativement plus importante que celle de *Neospora caninum*.

Le taux de séroprévalence de la coïnfection par les deux protozoaires était de 15 % (28/184) (IC95% 10%-20,4%).

Les résultats sont exposés dans le **tableau 06**. Il est à rappeler que parmi les 184 brebis analysées, 56 avaient avorté, soit un taux de prévalence de 30%.

**Tableau 06** : Statut sérologique vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum*

Agents abortifs	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Neospora caninum</i>	Coïnfection
Séroprévalence (IC 95%)	49% (41,62%-56,37%)	22,82 % (15,89%-28,10%).	15% (10%-20,4%).

### III.3. Étude des facteurs de risque liés à la séroprévalence des infections par *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum*

Le **tableau 07** présente l'association entre la présence des anticorps anti-*Toxoplasma gondii*, anti-*Neospora caninum*, la présence des deux à la fois et les différents facteurs de risque potentiels considérés.

Le **tableau 07** fait ressortir ce qui suit :

- La race des brebis n'a pas significativement influencé la séroprévalence de *Toxoplasma gondii*, de *Neospora caninum* ou encore de la coïnfection par les deux parasites ( $p > 0,05$ ). En effet, les différentes races semblent être infectées de façon similaire.

- Par contre, nous avons remarqué que le taux de séropositivité vis-à-vis de *Neospora caninum* et d'une coïnfection par *N. caninum* et *T.gondii* était plus élevé chez les animaux jeunes de moins d'un an, 41,37% et 31,03% respectivement ( $p < 0,05$ ) (**tableau 07**). Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été constatée entre la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* et l'âge de l'animal ( $p > 0,05$ ).
- Si on analyse les brebis selon leur stade de gestation et la période d'avortement, on ne constate pas de différence significative ( $p > 0,05$ ) avec la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii*, de *N.caninum* et de la coïnfection (**tableau 07**).
- Aucune différence significative n'a été relevée entre la présence ou l'absence de chiens et la séropositivité vis-à-vis de *T.gondii* et/ou *N. caninum*. Cependant, les brebis qui ont montré un taux élevé de séropositivité vis-à-vis de *T.gondii* (51,21%) étaient celles qui vivaient en contact de chats contrairement aux brebis qui logeaient dans des fermes dépourvues de chats (30%). Cette différence s'est montrée statistiquement significative ( $p = 0,05$ ).
- De façon très intéressante, une différence très significative a été obtenue en fonction de la parité ( $p < 0,01$ ). En effet, les brebis nullipares ont montré le taux de séropositivité le plus élevé (75%) vis-à-vis de *N. caninum* comparés aux brebis multipares et primipares (**tableau 07**).

**Tableau 07** : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum*

Agents pathogènes	Infection					
	<i>Toxoplasma gondii</i>		<i>Neospora caninum</i>		Coïnfection par les deux parasites	
	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
<b>Race</b>						
Ouled Djellal	85/176(48,29%)	40,46-55,53	40/176(22,72%)	15,75-28,24	26/176(14,77%)	8,76-19,23
Hamra	3/3(100%)	100	1/3(33,33%)	0-87,75	1/3(33,33%)	0-87,29
Rumbi	2/5(40%)	0-83	1/5(20%)	0-55,77	1/5(20%)	0-55,77
<b>p</b>	<b>0,1 (NS)</b>		<b>0,9 (NS)</b>		<b>0.5 (NS)</b>	
<b>Âge (ans)</b>						
≤ 1	16/29(55,17%)	36,52-73,47	12/29(41,37%)	22,73-59,26	9/29(31,03%)	13,82-48,17
1-4	40/80(50%)	29,04-50,95	16/80(20%)	11,05-28,94	9/80(11,25%)	4-17,99
≥ 4	34/75(45,33%)	33,51-56,48	14/75(18,66%)	9,12-26,87	10/75(13,33%)	5,23-20,76
<b>p</b>	<b>0,9 (NS)</b>		<b>0,02 (S)</b>		<b>&lt;0,05 (S)</b>	
<b>Stade de gestation</b>						
DG	14/25(56%)	36,14-75,85	7/25(28%)	10,04-45,95	6/25(24%)	6,91-41,08
FG	1/5(20%)	0-55,77	0/5(0%)	0	0/5(0%)	0
<b>P</b>	<b>&gt; 0,1 (NS)</b>		<b>&gt; 0,1 (NS)</b>		<b>&gt; 0,1 (NS)</b>	
<b>Stade</b>						
1 <sup>er</sup> trimestre	26/43 (60,46%)	45,05-74,99	25/43(58,13%)	42,94-73,05	16/43 (37,20%)	22,27-51,72
2 <sup>ème</sup> trimestre	9/13(69,23%)	43,34-94,65	5/13(38,46%)	11,07-64,92	3/13(23,07%)	0-46,34
<b>P</b>	<b>&gt; 0,5 (NS)</b>		<b>&gt; 0,2 (NS)</b>		<b>&gt; 0,3 (NS)</b>	
<b>Présence CN</b>						
Oui	84/164(51,21%)	43,19-58,80	38/164(23,17%)	16,42-29,57	24/164(14,63%)	8,58-19,41
Non	6/20(30%)	9,50-50,49	4/20(20%)	2,11-37,88	4/20(20%)	2,11-37,88
<b>P</b>	<b>&gt;0,05 (NS)</b>		<b>&gt;0,5 (NS)</b>		<b>&gt;0,5 (NS)</b>	
<b>Présence CT</b>						
Oui	6/20(30%)	9,5-50,5	4/20 (20%)	2,11-37,88	4/20(20%)	2,11-37,88
Non	84/164(51,21%)	43,19-58,80	38/164 (23,17%)	16,42-29,57	24/164(14,63)	8,58-19,41
<b>P</b>	<b>0,05 (S)</b>		<b>&gt;0,5 (NS)</b>		<b>&gt;0,5 (NS)</b>	
<b>Parité</b>						
N	3/8(37,5%)	2,86-71,13	6/8(75%)	44,38-100	3/8(37,5%)	2,86-71,13
P	12/21(57,14%)	35,39-78,60	6/21(28,57%)	8,40-47,59	5/21(23,80%)	4,63-41,63
M	75/155(48,38%)	39,97-56,02	30/155(19,35%)	22,63-37,36	20/155(12,90%)	6,72-17,22
<b>P</b>	<b>0,5 (NS)</b>		<b>0,001(TS)</b>		<b>0,1 (NS)</b>	

**S** : Séroprévalence ; **TS** : Très Significatif ; **Si** : Significatif ; **NS** : Non Significatif ; **DG** : début gestation ; **MG** : Mi-gestation ; **FG** : Fin gestation ; **N** : Nullipare ; **P** : Primipare ; **M** : Multipare ; **CN** : chien ; **CT** : chat.

### III.4. Étude épidémiologique de type cas-témoin

La corrélation entre la séroprévalence aux infections par *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum* et la présence d'avortement a été estimée chez les brebis prélevées. Nous avons réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence aux deux protozoaires.

Sur la base d'un questionnaire épidémiologique, les animaux ont été séparés d'abord en brebis provenant des fermes cas (n=6) (celles où des épisodes d'avortements étaient déjà survenus) et un groupe de brebis appartenant à des fermes témoins (n=4) (fermes n'ayant jamais connu de problèmes d'avortement) (**voir tableau 08**).

Ensuite, nous avons considéré le problème sous un autre aspect, et avons constitué deux groupes de brebis : brebis ayant avorté et brebis n'ayant jamais connu ce phénomène.

Les sérums d'un total de 184 brebis (102 provenant des fermes cas et 82 des fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques de *Toxoplasma gondii* et de *Neospora caninum*.

**Tableau 08** : Caractéristiques des fermes

Statut des fermes	Nombre de ferme prélevés	Nombre d'animaux prélevés (%)
Cas	6	102 (55,43)
Témoin	4	82 (44,56)
Total	10	184

#### III.4.1. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii*

##### III.4.1.1. Séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* en fonction du statut des fermes

Parmi les 184 sérums analysés, 90 se sont montrés positifs à *Toxoplasma gondii* en ELISA correspondant à une séroprévalence globale de 49 % (IC 95% 41,62%-56,37%).

Parmi les 90 positifs pour *Toxoplasma gondii*, 41 individus soit 45,55 % (IC 95% 34,51%-55,48%) appartenaient à des fermes cas et 49 soit 54,44% (43,49%-64,50%) provenaient des fermes témoins.

**Tableau 09** : Séroprévalence de *Toxoplasma gondii* en fonction du statut des fermes

<i>Statut de la ferme</i>	<i>Nbre (%)</i>	<i>fermes +</i>	<i>fermes -</i>	<i>Séroprévalence (IC95%)</i>
<b>Témoin</b>	4	4	0	100%
<b>Cas</b>	6	6	0	100%
<b>Total</b>	10	10	0	100%

Au moins un animal séropositif vis à vis de *Toxoplasma gondii* a été trouvé dans les 10 fermes étudiées soit 100% des fermes.

**Tableau 10** : Séroprévalence vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* par ferme et par individu

<i>Statut de la ferme</i>	<i>Nbre (%)</i>	<i>Nbre de brebis prélevées (%)</i>	<i>+</i>	<i>Séroprévalence (%) IC 95%</i>
<b>Témoin</b>	4	82(44,56)	49	59,75 (48,13- 69,86)
<b>Cas</b>	6	102(55,43)	41	40,19 (31,26- 50,73)
<b>Total</b>	10	184	90	48,91 (40,63- 55,36)

Sur les 184 animaux prélevés, dans 10 fermes, 90 soit 48,91% présentaient des anticorps anti-*Toxoplasma gondii*. Sur les 82 animaux prélevés dans les 4 fermes témoins, 49 soit 59,75% étaient séropositifs et sur les 102 animaux prélevés dans des fermes cas, 41 individus soit 40,19 % étaient séropositifs. Il existe une différence significative entre les séroprévalences dans les animaux des fermes cas et ceux des fermes témoins ( $p < 0.05$ ).

#### **III.4.1.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation**

L'association entre l'exposition à *Toxoplasma gondii* et le fait d'observer des avortements dans la ferme a été étudiée en premier lieu (tableau 11).

**Tableau 11** : Étude cas-témoin au niveau des fermes avec comme facteur d'exposition la séropositivité à *Toxoplasma gondii*

	<i>Fermes</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoin</i>	<i>Total</i>
<i>ELISA Toxoplasma gondii</i>	Séropositives	6 (6,5)	4 (4,5)	10
	Séronégatives	0 (0,5)	0 (0,5)	0
	Total	6	4	10
	Taux d'exposition	100%	100%	100%
	Odd	13	9	
	Odds Ratio (IC)	1.44 (0,02-87,17)		
	p	0,86		

\* : lorsqu'une des valeurs est égale à 0, le calcul de l'OR se fait en ajoutant 0,5 à chacun des nombres.

L'analyse montre que l'OR ratio n'est pas significativement différent de 1 ( $p=0,86$ ) et que donc il n'y a pas d'association significative entre le statut de la ferme et le fait d'avoir des individus présentant des anticorps anti-*T. gondii*.

#### III.4.1.3. Étude cas-témoin au niveau individuel

Sur le plan individuel, les animaux ont été séparés en brebis provenant des fermes cas ( $n=102$ ) et un groupe de brebis appartenant à des fermes témoins ( $n=82$ ).

Le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 0,45 (**tableau 12**). L'OR est significativement différent de 1 ( $p<0,05$ ), il existe donc dans ce cas un effet protecteur du fait d'avoir des anticorps anti-*T. gondii* et le statut de la ferme. Ceci confirme le fait qu'on trouve d'avantage d'animaux séropositifs dans les fermes témoins que dans les fermes cas.

**Tableau 12:** Cas-témoin au niveau individuel.

	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
<b>ELISA <i>Toxoplasma gondii</i></b>	Séropositifs	41	49	90
	Séronégatifs	61	33	94
	Total	102	82	184
	Taux d'exposition	40,19 %	59,75 %	48,91%
	Odd	0,6	1,48	
	Odds Ratio	0,45 (IC95% 0,25.-0,82)		
	P	0,01		

#### III.4.1.4. Étude de l'association entre la séropositivité et l'avortement des brebis

Enfin, nous avons étudié l'association entre la séropositivité vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* et le statut de la brebis vis-à-vis des avortements indépendamment de son appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin. Ainsi, parmi les 184 animaux testés, 56 avaient subi un avortement soit un taux de 30,43% et 128 soit 69,5% n'avaient pas subi d'avortement (**tableau 13**).

Par définition, les 56 brebis ayant subi des avortements proviennent de fermes cas alors que les 128 animaux n'ayant pas avorté viennent indifféremment des fermes cas et témoins.

**Tableau 13 :** Association entre séropositivité et avortement chez la brebis

Test ELISA <i>T.gondii</i>	Brebis ayant avorté	Brebis n'ayant pas avorté	Total
<b>Brebis exposées (séropositives)</b>	35	55	90
<b>Brebis non exposées (séronégatives)</b>	21	73	94
<b>Total</b>	56	128	184
<b>Taux d'exposition</b>	62,5%	43,0%	
<b>P</b>	0.016		
<b>OR (IC95%)</b>	1,44 (1,16-4,21)		

On constate que l'Odds ratio est significativement supérieur à 1 ( $p < 0,05$ ) ce qui signifie qu'il existe une association statistique entre le fait de posséder des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* et le fait d'avorter chez la brebis.

Donc l'ensemble de cette étude semble révéler que la séropositivité vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* dans les fermes cas était moindre que dans les fermes témoins mais que quelle que soit l'appartenance de l'animal il y a bien une association significative entre la séropositivité et l'avortement.

### III.4.2. Étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séoprévalence vis-à-vis de *Neospora caninum*

#### III.4.2.1. Séoprévalence vis-à-vis de *Neospora caninum* en fonction du statut des fermes

Parmi les 184 sérums analysés, 42 brebis se sont révélées positives aux anticorps spécifiques de *Neospora caninum* utilisant le kit ELISA Indirect de la firme IDvet, ce qui correspond à des séoprévalences de 22,82 % (IC95% 15,89%-28,10%).

Parmi les 42 séropositifs pour *Neospora caninum*, 30 individus soit 71,42% (IC95% 58,14%-85,85%) appartenaient à des fermes cas et 12 soit 28,57% (IC 95% 14,14%-41,85%) provenaient des fermes témoins.

**Tableau 14 :** Séoprévalence de *Neospora caninum* en fonction du statut des fermes

<i>Statut de la ferme</i>	<i>Nbre (%)</i>	<i>fermes +</i>	<i>fermes -</i>	<i>Séoprévalence (IC95%)</i>
<b>Témoin</b>	4	2	2	50% (0-100)
<b>Cas</b>	6	6	0	100%
<b>Total</b>	10	8	0	80% (54,5%-100%)

Au moins un animal séropositif vis à vis de *Neospora caninuma* été trouvé dans les 8/10 fermes étudiées soit un taux de 80%. Ainsi, 6/6 fermes cas soit 100% et 2 fermes témoins sur 4 soit 50% possédaient au moins un animal séropositif. Les séoprévalences observées entre les fermes cas et témoins étaient donc significativement identiques ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 15 :** Séroprévalence vis-à-vis de *Neospora caninum* par ferme

<i>Statut de la ferme</i>	<i>Nbre (%)</i>	<i>Nbre de brebis prélevées(%)</i>	<i>+</i>	<i>séroprévalence (%) IC 95%</i>
<b>Témoin</b>	4	82(44,56)	12	14,63 (7-22,3)
<b>Cas</b>	6	102(55,43)	30	29,41 (31,26- 50.73)
<b>Total</b>	10	184	42	22,82 % (15,89-28,10).

Sur les 184 animaux prélevés, dans les 10 fermes, 42 soit 22,82 % présentait des anticorps anti-*Neospora caninum*. Sur les 82 animaux prélevés dans les 4 fermes témoins, 12 soit 14,63% étaient séropositifs et sur les 102 animaux prélevés dans des fermes cas, 30 individus soit 29,41 % étaient séropositifs. Il existe une différence significative entre les séroprévalences dans les animaux des fermes cas et ceux des fermes témoins ( $p < 0.05$ ).

### III.4.2.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation

Comme fait précédemment avec *Toxoplasma gondii*, l'association entre l'exposition à *Neospora caninum* et le fait d'observer des avortements dans la ferme a été étudié (**tableau 16**).

**Tableau 16 :** Étude cas-témoin au niveau des fermes avec comme facteur d'exposition la séropositivité à *Neospora caninum*

	<i>Fermes</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoin</i>	<i>Total</i>
<b><i>ELISA</i></b> <b><i>Neospora caninum</i></b>	Séropositives	6 (6,5)	2 (2,5)	08
	Séronégatives	0 (0,5)	2 (2,5)	0
	Total	6	4	10
	Taux d'exposition	100%	50%	80%
	Odd	13	1	
	Odds Ratio (IC)		13	
	p		0.14	

\* : lorsqu'une des valeurs est égale à 0, le calcul de l'OR se fait en ajoutant 0,5 à chacun des nombres.

L'étude cas-témoin montre un taux d'exposition de 100% pour les fermes cas et 50% pour les fermes témoins. Le calcul de l'OR indique que celui-ci n'est pas significativement différent de 1 et donc, il n'y a pas de lien significatif entre le fait d'avoir des individus séropositifs dans une ferme et le statut de la ferme.

### III.4.2.3. Étude cas-témoin au niveau individuel

Sur le plan individuel, les animaux ont été séparés en brebis provenant des fermes cas (n=102) et un groupe de brebis appartenant à des fermes témoins (n=82).

Le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 2,43. L'OR est significativement différent de 1 (p=0,02) et donc il y a une association significative entre la séropositivité à *Neospora caninum* et le fait que l'individu appartenait à une ferme cas ou une ferme témoin.

**Tableau 17** : Cas-témoin au niveau individuel pour le cas de *Neospora caninum*

	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
<b>ELISA</b> <i>N. caninum</i>	Séropositifs	30	12	42
	Séronégatifs	72	70	142
	Total	102	82	184
	Taux d'exposition	29%	14%	22%
	Odd	0,41	0,17	
	Odds Ratio	2,43 (IC95% 1,15-5,12)		
	p	0,02		

### III.4.2.4. Étude de l'association entre la séropositivité et l'avortement des brebis

Enfin, nous avons comme pour *Toxoplasma gondii* étudié l'association entre la séropositivité vis-à-vis de *Neospora caninum* et le statut de la brebis vis-à-vis des avortements indépendamment de son appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin. Ainsi, parmi les 184 animaux testés, 56 avaient subi un avortement soit un taux de 30,43% et 128 soit 69,5% n'avaient pas subi d'avortement (**tableau 18**).

**Tableau 18** : Association entre séropositivité et avortement chez la brebis

Test ELISA <i>N. caninum</i>	Brebis ayant avorté	Brebis n'ayant pas avorté	Total
Brebis exposées (séropositives)	30	12	42
Brebis non exposées (séronégatives)	26	116	142
<b>Total</b>	56	128	184
<b>Taux d'exposition</b>	53,57%	9,37%	
<b>P</b>	<0.001		
<b>OR (IC95%)</b>	11.15 (5,04-24.65)		

On constate que l'Odds ratio est significativement supérieur à 1 ( $p < 0,05$ ) ce qui signifie qu'il existe une association statistique entre le fait de posséder des anticorps anti-*Neospora caninum* et le fait d'avorter chez la brebis.

Donc l'ensemble, cette étude semble révéler qu'il existe plus de séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* dans les fermes cas que dans les fermes témoins et que quelle que soit l'appartenance de l'animal il y a bien une association significative entre la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et l'avortement chez la brebis. Par conséquent l'exposition à *Neospora caninum* semble un facteur de risque pour l'apparition d'avortements dans les fermes ovines.

### III.4.3. Étude cas-témoin avec facteur d'exposition la coïnfection par les deux parasites

#### III.4.3.1. Étude cas-témoin au niveau individuel

De même, l'association entre les avortements et la séropositivité (vis-à-vis des deux parasites à la fois) des animaux dans les fermes cas et témoins a été testée au niveau individuel (**tableau 19**).

Sur les 184 individus testés, 28 soit 15,22% (10-20,4%) étaient séropositifs pour les deux pathogènes. L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 27,53% pour les animaux de fermes cas et de 7,8% dans le groupe témoin.

Le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 4,48 (IC 95% 1,89-10,59) qui est significativement différente de 1 ( $p < 0,05$ ).

Par conséquent l'exposition conjointe à *Toxoplasma gondii* et à *Neospora caninum* semble un facteur de risque pour l'apparition d'avortements dans les fermes ovines.

**Tableau 19** : Cas-témoin au niveau individuel pour la coïnfection *T. gondii* et *N. caninum*

	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
<b>ELISA <i>T. gondii</i> + <i>N. caninum</i></b>	Séropositifs	19	9	28
	Séronégatifs	50	106	156
	Total	69	115	184
	Taux d'exposition	27,53%	7,8%	
	Odd	0,38	0,08	
	Odds Ratio	4,48 (IC 95% 1,89-10,6)		
<b>P</b>				<0,001

### III.4.3.2. Étude de l'association entre la séropositivité vis-à-vis des 2 parasites et l'avortement des brebis

Enfin, nous avons étudié l'association entre le fait que des individus soient co-infectés (par les 2 parasites) et le fait qu'ils avortent (**tableau 20**).

On constate que sur les 56 brebis qui ont avorté récemment, 19 soit 33,92% étaient séropositives alors que parmi les 128 brebis n'ayant pas avorté, 12 soit 9,37% étaient séropositives. Ces prévalences sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

Le calcul de l'odds ratio montre que celui-ci est significativement supérieur à 1 ( $p < 0,05$ ). Il en résulte qu'il existe une association significative entre le fait qu'une brebis possède des anticorps anti *Toxoplasma gondii* et anti *Neospora caninum* à la fois et le fait qu'elle ait récemment avorté.

L'étude montre une association significative entre le fait d'être séropositif pour les 2 parasites et le fait d'avorter ( $P < 0,05$ ).

**Tableau 20** : association entre séropositivité vis-à-vis des deux parasites et l'avortement chez la brebis

Test ELISA <i>N. caninum-T.gondii</i>	Brebis ayant avorté	Brebis n'ayant pas avorté	Total
brebis exposées (séropositives)	19	12	31
brebis non exposées (séronégatives)	37	116	153
<b>Total</b>	56	128	184
<b>Taux d'exposition % (IC 95%)</b>	33,92% (21,5-46,3)	9,37% (4,3-14,4)	
<b>P</b>	<0,001		
<b>OR (IC95%)</b>	4,96 (2,2-11,2)		

### III.5. Risque d'avortement attribué

#### III.5.1. Risque d'avortement attribué à *Toxoplasma gondii*

Quatre-vingt-dix (90) des 184 (49%) brebis se sont montrées séropositives à *Toxoplasma gondii* comme déterminé par le test ELISA IDvet, alors que 94 étaient séronégatives.

Parmi les 56 brebis ayant avorté, 35 (62,5%) sérums se sont révélés séropositifs à *Toxoplasma gondii*.

En bilan, 35 sérums sur les 90 (38,88%) séropositifs à *Toxoplasma gondii* provenaient de brebis ayant avorté et 21/94 (22,34%) brebis révélées séronégatives à *Toxoplasma gondii* appartenaient aux brebis ayant aussi avorté.

Ainsi, le risque d'avortement attribué à *Toxoplasma gondii* était de 16,54%; le risque relatif était de 1,74% et la probabilité que *Toxoplasma gondii* soit la cause des avortements était de 42% (**tableau 21**).

#### III .5.2. Risque d'avortement attribué à *Neospora caninum*

Quarante-deux (42) des 184 (22,82%) brebis se sont montrées séropositives à *Neospora caninum* comme déterminé par le test ELISA IDvet, alors que 142 étaient séronégatives.

Parmi les 56 brebis ayant avorté, 30 (53,57%) sérums se sont révélés séropositifs à *Neospora caninum*.

En bilan, 30 sérums sur les 42 (71,42%) séropositifs à *Neospora caninum* provenaient de brebis ayant avorté et 26/142 (18,30%) brebis révélées séronégatives à *Neospora caninum* appartenaient aux brebis ayant aussi avorté.

Ainsi, le risque d'avortement attribué à *Neospora caninum* était de 53,12% ; le risque relatif était de 3,9 % et la probabilité que *Neospora caninum* soit la cause des avortements était de 74% (**tableau 21**).

**Tableau 21:** Risque d'avortement lié aux différents agents abortifs étudiés

	Risque attribuable (%)	Risque relatif	Probabilité de causer l'avortement (%)
<i>Toxoplasma gondii</i>	16,54	1,74	42
<i>Neospora caninum</i>	53,12	3,9	74

### III. 5.3. Risque d'avortement avec les infections concurrentes

Le risque d'avortement chez les brebis qui se sont montrées séropositives à la fois à *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* était de 67,85% (19/28).

Les brebis séropositives que pour *N.caninum*, avait un risque d'avortement de 78,57% (11/14).

Les brebis séropositives que pour *T. gondii* avait un risque d'avortement de 25,80% (16/62).

Enfin, chez les brebis ayant avorté et séronégatives vis-à-vis des deux agents abortifs testés, le risque d'avortement obtenu était de 12,5% (10/80) (**tableau 22**).

**Tableau 22** : risque d'avortement avec les infections concurrentes

	<i>T. gondii</i> + <i>N.caninum</i> -	<i>T.gondii</i> - <i>N.caninum</i> +	<i>T.gondii</i> + <i>N.caninum</i> +	<i>T.gondii</i> - <i>N.caninum</i> -
<b>Brebis ayant avorté</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>19</b>	<b>10</b>
<b>Brebis n'ayant pas avorté</b>	<b>46</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>70</b>
<b>Risques d'avortement avec des infections concurrentes (%)</b>	<b>25,80%</b>	<b>78,57%</b>	<b>67,85%</b>	<b>12,5%</b>



## **Discussion Générale**

#### IV. Discussion

La toxoplasmose et la neosporose sont des infections mondialement répandues causées respectivement par *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*, deux parasites intracellulaires obligatoires rattachés au phylum Apicomplexa et qui sont considérés comme causes importantes de troubles de reproduction chez les bovins et les petits ruminants (**DUBEY et SCHARES, 2011**).

Chez les ovins, la toxoplasmose est associée à des troubles de la reproduction tels que l'avortement et la naissance d'agneaux mort-nés ou faibles (**INNES et al., 2009**). La neosporose est par contre décrite moins fréquemment et est associée également à des avortements et morbidité néonatale (**DUBEY et LINDSAY, 1996 ; JOLLEY et al., 1999; KOBAYASHI et al., 2001**).

Notre étude fournit en premier lieu des informations sur les avortements et les facteurs de risque qui les influencent chez la brebis dans la région Est de la wilaya d'Alger. Dans une seconde étude, une enquête sur les séroprévalences vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* a été menée et les facteurs de risques susceptibles d'influencer sur les infections par ces pathogènes ont été envisagés.

##### IV.1. Enquête épidémiologique sur les avortements

En plus des objectifs cités plus haut, cette enquête avait aussi pour but d'évaluer la connaissance des éleveurs sur les causes éventuelles d'avortements des brebis dans les fermes étudiées et de recueillir des informations relatives aux mesures de préventions et de traitements entreprises contre ce problème.

Sur un total de 290 brebis étudiées, 72 brebis ont déjà avorté, ce qui correspond à un taux d'avortement de 25% (IC 95% 19-30). Une étude marocaine fait état d'un taux d'avortement de 47% (**HAMZY EL IDRISSE et al., 1995**). Une autre étude menée au Maroc indique un taux d'avortement de 7% (**BENKIRANE et al., 1990**).

Au Québec, un taux d'avortement compris entre 2 et 5% est considéré comme normal (**DEBREUIL et ARSENEAULT, 2003**). Dans la creuse en France, on rapporte également que le pourcentage probable d'avortement par an est de 2% (<http://www.medvet.umontreal.ca/reseauovinscaprins/Documents/rmvAvortements.pdf>).

Il semble donc bien que selon l'échantillon envisagé, les résultats obtenus pour le taux d'avortement soient variable. D'autre part, il faut distinguer les données qui concernent le taux d'avortement annuel des données cumulées sur plusieurs années. Ainsi, au Royaume Uni, des taux annuels d'avortement de 5,74 à 8,78% ont été rapportés chez la race Charollais alors que le taux d'avortement cumulé était de 15,5% (*DARLAY et al., 2014*).

Les questions adressées aux éleveurs ont révélé que près de 58% de ces avortements observés sont dus à des causes traumatiques, 32% à des causes infectieuses et enfin 10% à des causes alimentaires. Il est à signaler que ces pourcentages sont approximatifs et avancés par les éleveurs sans qu'aucun examen complémentaire ne soit effectué. Ainsi, les éleveurs focalisent leur attention sur des critères qu'ils observent facilement et qui sont en général en rapport avec l'expérience acquise.

### **Facteurs de risque liés aux avortements**

La connaissance des facteurs de risque susceptibles d'influencer positivement ou négativement la prévalence des avortements est nécessaire pour une bonne compréhension de son épidémiologie, ainsi que leurs implications en termes de stratégies de contrôle adaptées aux conditions locales.

Les données sur les facteurs susceptibles de favoriser l'apparition des avortements chez l'espèce ovine, sont assez rares et méritent plus d'attention à l'avenir. À ce sujet nos résultats sont pour la plupart des constats qui doivent être confirmés par d'autres travaux similaires.

Ainsi, un certain nombre de facteurs potentiellement liés aux avortements chez la brebis a été analysé il en ressort que ce qui suit :

Les avortements ont été d'une façon significative ( $p < 0,01$ ) plus observés chez les brebis de race Hamra comparativement aux autres races. Cependant, ces résultats doivent être interprétés avec prudence en raison de la non homogénéité des races des brebis. En effet, la race Hamra était la moins représentée et une analyse sur un échantillon plus grand devrait être menée.

Une différence significative a été démontrée dans le taux d'avortement entre les différentes classes d'âge ( $p < 0,01$ ). En classant les animaux en 3 catégories d'âge ( $\leq 1$ an ; 1-4ans ; 4 et plus), le taux le plus élevé a été observé chez les brebis âgées de plus de 4 ans (83,70%). Le risque augmente avec l'âge puisque les brebis plus âgées sont statistiquement plus susceptibles d'être en contact avec des agents abortifs.

Nous avons constaté une influence très significative sur le taux d'avortement en fonction de la parité des brebis ( $p < 0,001$ ). En effet, les brebis primipares se sont révélées plus exposées aux avortements comparées aux multipares. Ce constat semble lié au fait que les primipares soient immunologiquement naïves par rapport aux multipares qui ont développé une immunité assez solide pour empêcher les récurrences. Néanmoins, des données de la littérature sont en désaccord avec cette observation. Ainsi, au Royaume-Uni le taux d'avortement est plus élevé chez les brebis multipares (**DARLAY et al., 2014**).

Nous avons par ailleurs étudié le facteur présence de chien et les avortements. La plupart des animaux analysés étaient en contact avec des chiens (260/290 soit 89,6%). La présence de chiens est plus importante chez les animaux qui n'ont pas avorté par rapport aux animaux qui ont avorté et ce de manière significative ( $p < 0,01$ ). La présence de chiens n'est donc pas un facteur de risque pour les avortements chez la brebis. D'après notre étude, ce serait plutôt un facteur protecteur. Ceci est confirmé par le calcul de l'odds ratio (0,14 avec IC95% 0,07-0,3,  $p < 0,001$ ). Or, le chien est le vecteur principal de *N. caninum* qui s'est révélé être un facteur d'avortement chez la brebis dans notre étude (voir plus loin). Ceci s'explique peut-être par le fait que *N. caninum* n'est pas le facteur d'avortement majeur chez la brebis par rapport aux autres causes d'avortement. Néanmoins, il faudrait pour conclure pouvoir également étudier la sérologie des chiens présents dans les fermes vis-à-vis de *N. caninum*.

A l'opposé, une minorité d'animaux étudiés étaient en contact avec des chats (30/290 soit 11,4%). La présence de chats est clairement associée aux avortements ( $p < 0,01$ ). Ceci est confirmé par le calcul de l'odds ratio (OR=6,7 ; IC : 3-15,  $p < 0,01$ ). Résultat logique puisque le chat est le seul hôte définitif de *T. gondii*, parasite considéré comme une cause majeure d'avortement chez la brebis.

La prévalence des avortements en fonction de la vaccination contre la clavelée et la brucellose a montré que le taux d'avortement le plus élevé est observé chez les brebis non vaccinées. Cette différence entre les brebis vaccinées et non vaccinées est statistiquement significative ( $P < 0,001$ ). Ceci est à mettre en relation avec le fait que la vaccination peut aussi stimuler le système immunitaire de l'hôte par un effet adjuvant ce qui pourrait faciliter la réponse immune vis-à-vis d'autres agents pathogènes. D'autre part, cela rend compte de la bonne gestion de la ferme et cela peut être mis en relation avec l'hygiène générale de l'exploitation.

L'étude du facteur vermifugation ne met pas en évidence de différence significative en fonction des brebis vermifugées et non vermifugées. On en conclue que la vermifugation ne semble pas être un facteur de risque important dans la survenue des avortements.

#### **IV.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et/ou *N. caninum***

De nombreuses études sur les séroprévalences vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum* ont été réalisées chez les ovins dans différentes régions du monde. Ces séroprévalences varient en fonction du pays, de la région, du type de test sérologique et de la valeur utilisée comme seuil.

La séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum* chez les ovins est fréquemment évaluée par le test IFAT, bien que différents tests sérologiques soient valables pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre les deux parasites chez différentes espèces animales (**DUBEY et al., 1996 ; SHAAPAN et al., 2008**). Ces tests peuvent ne pas être appropriés pour déterminer l'état de l'infection de manière correcte sur une échelle individuelle, mais pourraient être utiles pour des études de prévalences au niveau d'un troupeau ou d'une population (**MAINAR-JAIME et BARBERAN, 2007**).

En Algérie, peu de travaux ont été réalisés sur ces parasites chez la brebis, si ce n'est quelques travaux ponctuels, dans le cadre de mémoires de fin d'études.

Ce travail réalisé sur un total de 184 échantillons de sérums ovins a permis de détecter la présence d'anticorps spécifiques à 2 protozoaires. Ainsi, la technique ELISA indirecte a révélé 90 brebis (49%) positifs à *T. gondii*, 42 (22,82%) à *N. caninum* et 28 (15%) aux deux parasites.

Les séroprévalences obtenues indiquent que ces protozoaires sont largement distribués dans les fermes ovines de la région étudiée.

Si on compare nos résultats avec ceux réalisés à travers le monde, on constate que nos séroprévalences se sont montrées supérieures à celles obtenues par **TATIANA et collaborateurs (2009)** dans la région Centre du Brésil utilisant la technique IFAT. Ces derniers ont rapporté des séroprévalences de 38,22% pour *T. gondii*, 8,81% pour *N. caninum* et 4,67% pour la coïnfection par les deux parasites, sur un effectif de 1028 ovins, les deux sexes confondus.

D'autres travaux toujours au Brésil dans les régions d'Uberlândia, Minas Gerais, ont montré des séroprévalences assez élevées en utilisant différentes méthodes sérologiques (**ROSSI et al., 2011**).

En effet, sur un total de 155 ovins dont 95 % étaient des femelles, 62,6 % étaient positifs à *T. gondii* et 26,4 % à *N. caninum* par la technique ELISA. En utilisant le test IFAT, 46,5 % étaient positifs à *T. gondii* et 47,1 % à *N. caninum* avec un taux de 20% pour la coïnfection par les deux parasites.

En Grèce, des résultats assez proches aux nôtres ont été rapportés par **DIAKOU et collaborateurs (2013)** qui ont montré des séroprévalences de 53,71% pour *T. gondii* et 16,8% pour *N. caninum* en utilisant la technique ELISA.

En Pologne, une séroprévalence de 55,9% a été trouvée pour *T. gondii* chez les moutons en utilisant la technique ELISA (**HOLEC-GASIOR et al., 2015**).

Dans d'autres études, des séroprévalences plus faibles ont été obtenues. À titre d'exemple, en Argentine et plus précisément dans la région de Pampa, sur les 704 ovins prélevés, des séroprévalences de 17,3 % pour *T. gondii* et 3 % pour *N. caninum* ont été rapportées en utilisant la technique IFAT (**YANINA et al., 2013**). De même, au Brésil, dans la région de Sao Paulo, **FIGLIUOLO et collaborateurs (2004)** ont obtenu des séroprévalences de 34,7% pour *T. gondii*, 9,2 % pour *N. caninum* et 3,5 % pour les deux parasites en utilisant la technique IFAT. Dans la même région, **LANGONI et collaborateurs (2011)** ont rapporté des séroprévalences de 18,6% pour *T. gondii* en utilisant les techniques MAT et IFAT et 12,8% pour *N. caninum* par la méthode IFAT.

En république Tchèque, des travaux réalisés sur 547 ovins en utilisant la technique ELISA, ont montré des séroprévalences de 59% pour *T. gondii*, 12 % pour *N. caninum* et 10 % pour la coïnfection par les deux parasites (**BARTOVA et al., 2009**).

Ces différences dans les séroprévalences obtenues s'expliquent par les différents tests sérologiques, les valeurs seuils, les méthodes d'échantillonnage utilisées qui rendent difficile la comparaison des taux d'infections entre les pays et régions.

#### **IV.3. Étude des facteurs de risque liés à *T. gondii* et/ou *N. caninum***

La connaissance, via des études épidémiologiques, des facteurs de risques dans le troupeau ovin infecté par *T. gondii* et/ou *N. caninum* est importante pour le développement et l'implémentation de mesures de contrôles afin de maîtriser ces pathologies abortives et de protéger le cheptel des avortements induit par ces protozoaires.

Dans cette étude, différents facteurs ont été analysés en fonction de leur impact éventuel sur la séroprévalence de *T. gondii* et/ou *N. caninum* chez la brebis.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence un lien entre la séropositivité vis-à-vis de *T.gondii* et la race des brebis étudiées ( $p>0,05$ ). En effet, les différences races semblent être infectées de façon similaire. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **GEBREMEDHIN et collaborateurs (2014)**. De même pour *N. caninum*, aucune association significative n'a été mise en évidence avec les différentes races, comme évoqué dans d'autres travaux (**ANDRADE et al., 2012 ; ROCHA et al., 2014**). En revanche, pour le cas de *Neosporacanium*, les travaux de **MOURA et collaborateurs (2014)** ont montré que la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* était plus élevée chez les ovins appartenant à la race croisée.

L'analyse du facteur âge, montre qu'il n'y a pas d'association significative entre l'âge et la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* ( $P> 0,05$ ). Ceci est en accord avec les résultats d'autres études (**WU SM et al., 2011 ; ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2013 ; MING-YANG et al., 2015**).

Pour le cas de *N.caninum*, la séropositivité s'est montrée plus élevée chez les animaux jeunes de moins d'un an ( $P<0,05$ ). Des études existent qui contredisent ce constat et montrent une augmentation de la séroprévalence de ce parasite en fonction de l'âge de l'animal (les adultes plus exposés que les jeunes) (**FIGUEIREDO et al., 2001 ; OGAWA et al., 2003 ; FIGLIUOLO et al., 2004 ; JITTAPALAPONG et al., 2005 ; PINHEIRO et al., 2009 ; HALOS et al., 2010 ; SAKATA et al., 2012 ; ANDRADE et al., 2013 ; GEBREMEDHIN et al., 2014**). La séroprévalence élevée chez les adultes a été expliquée par le fait que les risques d'exposition à la source d'infection augmentent avec l'âge des animaux. Certains auteurs déduisent que la plupart des animaux acquièrent l'infection après la naissance (**YIBELTAL, 2008 ; RAMZAN et al., 2009 ; DUBEY, 2010 ; GEBREMEDHIN et al., 2013**).

Nos résultats diffèrent aussi de ceux rapportés dans d'autres études où les auteurs n'ont pas pu mettre en évidence une différence statistiquement significative avec l'âge des animaux ( $P>0,05$ ) (**ROMANELLI et al., 2007 ; UENO et al., 2009 ; SALABERRY et al., 2010 ; ROSSI et al., 2011 ; ANDRADE et al., 2012 ; ROCHA et al., 2014**).

Si on analyse les brebis en fonction de leur stade de gestation, on ne constate pas de différence significative ( $p>0,05$ ) avec la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii*, de *N.caninum* et de la coïnfection suggérant que quelque soit le stade de gestation, les brebis sont exposées de façon similaire à l'infection par *T. gondii* et/ou *N. caninum*. De même que pour la période d'avortement, aucune différence significative n'a été constaté avec la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii*, *N. caninum* ou encore la coïnfection par les deux agents.

Cependant, en raison de l'absence de travaux concernant le stade de gestation ou encore la période d'avortement en fonction de l'infection par *T. gondii* et/ ou *N. caninum*, nous nous pouvons nous prononcer sur l'existence ou non d'une association entre ces deux facteurs et l'infection par ces deux parasites.

En ce qui concerne la parité, les analyses statistiques n'ont pas montré une différence significative entre la positivité vis-à-vis de *T. gondii* et le fait que les brebis soient nullipares, primipares ou multipares. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par **MING-YANG et collaborateurs (2015)** qui n'ont pas pu mettre en évidence un lien entre la positivité vis-à-vis de *T.gondii* et la parité. En revanche, et de façon très intéressante une différence très significative a été obtenue entre la positivité vis-à-vis de *N. caninum* et la parité des brebis ( $p < 0,001$ ). En effet, les brebis nullipares ont montré le taux de séropositivité le plus élevé (75%) comparées aux brebis multipares et primipares. Cependant, vu l'absence d'études consacrées à la parité des brebis en fonction de l'infection par *N. caninum*, nous ne pouvons discuter notre résultat avec d'autres travaux.

Parmi les facteurs étudiés, l'analyse du contact du chat avec les brebis nous a semblé très intéressante. Étant donné que le chat soit l'hôte définitif de *Toxoplasma gondii*, on s'attend à ce que la présence de cet animal soit un facteur qui favorisera la présence d'anticorps anti-*Toxoplasma* chez la brebis. Il faut signaler que peu d'animaux étaient en contact avec des chats (20/184 soit 10,9%). On constate une association légèrement significative ( $p=0,05$ ) entre la présence de chats et la présence d'anticorps anti-*Toxoplasma* chez la brebis. Ce point est controversé dans la littérature puisque certaines études ne montrent pas d'association significative entre la présence de chats et la séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* (**MORAES et al., 2011 ; NETO et al., 2011 ; PEREIRA et al., 2012 ; RACHEL et al., 2014**). En revanche, d'autres études ont montré que la présence de chats pouvait constituer un facteur de risque important associé à l'infection par *T. gondii*, dans la mesure où ils éliminent les oocystes dans l'environnement et donc sont considérés comme importants dans la chaîne épidémiologique du parasite (**TESOLINI et al., 2012 ; MENDONÇA et al., 2013 ; FERNANDO et al., 2016**).

De même pour *N. caninum*, le chien est l'hôte définitif et donc on s'attend à ce que la présence de chiens au contact des brebis soit un facteur de risque d'obtenir des brebis séropositives vis-à-vis de *N. caninum*.

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence d'association entre la présence de chiens et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum*. Il faut noter que la plupart des animaux testés (164/184 soit 89,1%) étaient en contact avec des chiens. Dans la littérature, cette absence d'association est aussi rapportée (**SCHARES et al., 2009**). Dans ce cas, *N. caninum* est transmis surtout de manière verticale à la descendance.

En revanche, plusieurs études existent montrant que la présence de chiens dans les fermes était considérée comme un facteur de risque vis-à-vis de l'infection par *N. caninum* (**AL-MAJALI et al., 2008 ; ABO-SHEHADA et ABU-HALAWEH, 2010 ; MUNHOZ et al., 2010 ; MACHADO et al., 2011**). Ce point reste donc largement controversé dans la littérature. Une étude de la sérologie des chiens vis-à-vis de *N. caninum* aurait pu sans doute éclairer ce point. Par conséquent, il semble que le raisonnement classique qui consisterait à dire que pour *T. gondii*, la présence de chats favorise la séropositivité des brebis à *T. gondii* et de là les avortements n'est pas tout à fait soutenu par cette étude et de même pour *N. caninum* et le lien avec la présence de chiens. La source de contamination des animaux reste donc à déterminer tant pour *T. gondii* que pour *N. caninum*. La présence de ces parasites chez les chiens et les chats des fermes devrait être étudiée. D'autre part, ceci tend à indiquer que la transmission verticale de la mère à l'agneau est le mode principal de transmission. Néanmoins, le problème de la primo-infection se pose alors. Faut-il chercher probablement d'autres hôtes définitifs que le chat pour *T. gondii* ou le chien pour *N. caninum*.

#### **IV.4. Étude épidémiologique de type cas-témoin**

Afin de vérifier si *T. gondii* et *N. caninum* étaient impliqués dans la survenue d'avortement chez les brebis, nous avons réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence vis à vis *T. gondii* et à *N. caninum*.

Un total de 10 fermes de la région Est d'Alger a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique, les fermes étaient réparties en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient survenus, phénomène non observé dans les fermes témoins. Utilisant ce critère, 6 fermes cas et 4 fermes témoins ont été définies. Les sérums d'un total de 184 brebis (102 dans les fermes cas et 82 dans les fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques de *T. gondii* et de *N. caninum*. Une ferme était considérée comme positive si au moins un seul animal était positif.

Si on étudie l'implication de *T. gondii* dans les avortements au niveau des fermes ovines (n=10), l'analyse a montré que l'OR n'est pas significativement différent de 1 (p=0,86) et que donc il n'y a pas d'association significative entre la séropositivité vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* et la présence d'avortements dans les fermes ovines. Il faut noter que le faible nombre de fermes testées ne permet pas de conclure à ce niveau sur le caractère significatif ou non de cette association. Ceci est en accord avec les résultats de certaines études (**NIKOLAOS et al., 2012 ; CORREIA et al., 2015 ; GHELLER et al., 2016**).

Au niveau individuel, parmi les 184 sérums analysés, 90 se sont montrés positifs en ELISA, soit une séroprévalence globale de 49%. Parmi les 90 positifs, 41 appartenaient à des fermes cas et 49 provenaient de fermes témoins. Le calcul de l'Odds ratio a montré une valeur de 0,45 (0,25-0,82) avec un taux d'exposition de 40,19% pour les fermes cas et 59,75% pour les fermes témoins, ce qui signifie qu'il existe un effet protecteur du fait de posséder des anticorps anti-*T. gondii* et le statut de la ferme. Ceci confirme le fait qu'on trouve d'avantage d'animaux séropositifs dans les fermes témoins que dans les fermes cas.

En revanche et d'une façon intéressante, l'étude de l'association entre la séropositivité à *Toxoplasma gondii* et le statut de la brebis vis-à-vis des avortements indépendamment de son appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin, montre que l'Odds ratio est significativement supérieur à 1 (p<0,05) ce qui signifie qu'il existe une association statistique entre le fait de posséder des anticorps anti-*Toxoplasma gondii* et le fait d'avorter chez la brebis.

L'ensemble de ces différentes études semble révéler que la séropositivité vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* dans les fermes cas était moindre que dans les fermes témoins mais que quelle que soit l'appartenance de l'animal il y a bien une association significative entre la séropositivité et l'avortement.

Cette association entre la séropositivité à *T. gondii* et la présence d'avortements est en parfait accord avec des travaux précédents qui montrent que des brebis séropositives sont probablement plus à risque d'avorter que des brebis séronégatives (**HAMIDINEJAT et al., 2008 ; HUSSEIN et al., 2011 ; ISSA et OMER, 2011 ; MAHA-ALAZEMI, 2014 ; MIKAIL et BARWARY, 2014**). Si on considère la valeur prédictive positive du test utilisé, c'est-à-dire la probabilité que l'animal ait avorté quand le test est positif, elle n'est que de 38% ce qui est faible et ceci indique encore une fois que le fait de détecter des anticorps anti-*Toxoplasma* chez une brebis ne permet pas de prévoir le devenir de l'animal, il faut simplement parler de risque.

Si on s'intéresse maintenant à *N. caninum*, l'étude cas-témoin qui avait comme objectif de mettre en évidence un lien causal entre la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* chez les brebis et les avortements a montré un taux d'exposition de 100% pour les fermes cas et 50% pour les fermes témoins. Le calcul de l'OR indique que celui-ci n'est pas significativement différent de 1 et donc, il n'y a pas de lien significatif entre le fait d'avoir des individus séropositifs dans une ferme et le statut de la ferme.

De nouveau, le faible nombre de fermes testées ne permet pas de conclusion dans cette étude.

Sur le plan individuel, la situation était différente puisque le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 2,43. L'OR est significativement supérieur à 1 ( $p < 0,05$ ), il y a donc une association significative entre la séropositivité à *Neospora caninum* et le fait que l'individu appartenait à une ferme cas ou une ferme témoin.

Enfin, l'association entre la séropositivité vis-à-vis de *Neospora caninum* et le statut de la brebis vis-à-vis des avortements indépendamment de son appartenance à une ferme cas ou une ferme témoin a aussi été évalué et les résultats ont montré que parmi les 184 animaux testés, 56 avaient subi un avortement soit un taux de 30,43% et 128 soit 69,5% n'avaient pas subi d'avortement. Le calcul de l'odds ratio a révélé une valeur de 11.15 (5,04-24.65) significativement supérieur à 1 ( $p < 0,05$ ) ce qui est en faveur d'une association statistique entre le fait de posséder des anticorps anti-*Neospora caninum* et le fait d'avorter chez la brebis.

Donc globalement, si on analyse l'implication de *N. caninum* dans les avortements chez la brebis, on constate qu'il existe plus de séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* dans les fermes cas que dans les fermes témoins et que quelle que soit l'appartenance de l'animal il y a bien une association significative entre la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et l'avortement chez la brebis. Par conséquent, l'exposition à *Neospora caninum* est un facteur de risque pour l'apparition d'avortements dans les fermes ovines.

Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**ASADPOUR et collaborateurs (2013)** qui montrent également l'existence d'une relation étroite entre *N. caninum* et les avortements chez les ovins. En revanche, les résultats de nos travaux sont en désaccord avec d'autres études qui n'ont pu prouver aucune association entre *N. caninum* et les avortements chez la brebis (**HELMICK et al., 2002 ; HAESSIG et al., 2003 ; VOGEL et al., 2006 ; SPILOVSKA et REITEROVA, 2008 ; BEHROUZ et al., 2013**).

Si on tient compte de la coinfection par les deux parasites, on constate que le taux d'exposition est de 27,53% pour les animaux de fermes cas et de 7,8% dans le groupe témoin.

Le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 4,48 (IC 95% 1,89-10,59), significativement supérieure à 1 ( $p < 0,05$ ). Par conséquent, l'exposition conjointe à *Toxoplasma gondii* et à *Neospora caninum* est un facteur de risque pour l'apparition d'avortements dans les fermes ovines.

Ainsi, si on analyse l'ensemble des études cas-témoins on constate que l'OR est le plus élevé pour la séropositivité aux deux pathogènes (4,48), ensuite vient *N. caninum* (OR=2,43) et enfin *T. gondii* (OR=1,44). Nous pouvons donc conclure que le risque d'avortement est le plus élevé si les deux pathogènes sont présents, ensuite si *N. caninum* est présent et enfin si *T. gondii* est présent chez l'animal.

#### **IV.5. Risque d'avortement attribué**

Dans cette étude, nous avons souhaité pousser nos investigations et calculer le risque d'avortement attribué à *T. gondii* et/ou *N. caninum*, le risque relatif RR d'avortement et la probabilité que la maladie, la toxoplasmose ou la neosporose soient la cause d'avortement.

Dans cette étude, le risque d'avortement attribué à *Toxoplasma gondii* était de 16,54%; le risque relatif était de 1,74% et la probabilité que *Toxoplasma gondii* soit la cause des avortements était de 42%.

Pour le cas de *N. caninum*, le risque d'avortement attribué à ce pathogène était de 53,12%; le risque relatif de 3,9 % et la probabilité que *Neospora caninum* soit la cause des avortements était de 74%.

Les résultats montrent ainsi que le risque attribué à *N. caninum* dans les avortements chez la brebis est supérieur à celui attribué à *T. gondii*. Par ailleurs, le RR et la probabilité que *N. caninum* soit la cause des avortements dans les fermes sont plus importants chez ce parasite.

En bilan, les résultats sont en faveur d'un plus grand risque d'avortement lorsque les brebis sont séropositives que pour *N. caninum*, de 78,57% (11/14) suivi par un risque de 67,85% lorsque les brebis sont coinfectées par *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*.

Les brebis séropositives que pour *T. gondii* avait un risque d'avortement de 25,80% (16/62).

Enfin, chez les brebis ayant avorté et séronégatives vis-à-vis des deux agents abortifs testés, le risque d'avortement obtenu était de 12,5% (10/80).

Donc le risque d'avortement est le plus élevé si l'animal est infecté par les deux pathogènes. Ceci tend à démontrer que le fait d'être infecté par l'un des pathogènes ne protège pas de l'autre alors que ce sont des parasites proches génétiquement et immunologiquement.



## **Conclusion générale et recommandations**

## V. Conclusion et recommandations

Ce travail constitue la première étude d'envergure sur la séroprévalence vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum* chez les ovins en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la région Est d'Alger.

L'enquête épidémiologique sur les avortements nous a permis d'estimer la prévalence dans la région Est d'Alger qui était de 25 % au niveau individuel. Cette étude nous a également renseigné sur les différents facteurs de risque qui peuvent favoriser l'apparition des avortements dans la région prospectée tels la race, l'âge, la parité, la présence de chats et la vaccination des animaux.

L'étude de la séroprévalence chez les ovins a montré un taux global de 49% pour *T. gondii*, 22,82% pour *N. caninum* et 15% pour la coinfection avec les deux parasites, ce qui témoigne d'une circulation fréquente de ces parasites dans les élevages de la région Est d'Alger.

L'analyse des facteurs de risque susceptibles d'influencer le risque d'exposition à *Toxoplasma gondii* et/ou *Neospora caninum* a permis de mettre en évidence une association entre l'âge et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et vis-à-vis d'une coinfection par les deux parasites, une association entre la parité et la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* et enfin une relation positive entre la séropositivité à *T. gondii* et la présence de chats dans les ferme. Les autres facteurs n'ont pas été influents (race, stade de gestation, période d'avortement, présence de chiens).

L'étude épidémiologique de type cas témoin a montré une association positive entre la présence d'anticorps dirigés contre *T. gondii* et contre *N. caninum* et les avortements chez la brebis. Ce lien était encore plus fort lorsque les deux pathogènes sont en coinfection chez la brebis.

En effet, l'exposition conjointe à *Neospora caninum* et à *T. gondii* semble être un facteur de risque important dans l'apparition d'avortements chez les brebis.

Ainsi, l'analyse globale de l'étude cas témoin à travers le calcul de l'OR a montré que le risque d'avortement est le plus élevé, d'abord si les deux pathogènes sont présents chez l'animal, ensuite si ce dernier est infecté par *N. caninum* et enfin si *T. gondii* est présent chez l'animal. Ce constat est assez surprenant, puisqu'à ce jour, aucune confirmation formelle n'a été avancée quant à l'implication directe ou indirecte de *N. caninum* dans le phénomène d'avortement chez la brebis contrairement à *T. gondii*.

Au terme de ce travail, il est ressort les recommandations suivantes :

Il serait souhaitable de recourir avant toute étude épidémiologique à un recensement très rigoureux des fermes ovines existantes au niveau du territoire national ou bien même au niveau de la région où se déroulera l'étude ; prévoir des recherches plus approfondies, sur un effectif plus important, ce qui permettra d'étudier chaque facteur de risque séparément et ce sur une période plus longue afin de constater la répétition dans le temps des cas d'avortement et essayer d'y remédier en prenant les mesures prophylactiques et thérapeutique adéquates.

L'idéal est de recourir aux examens complémentaires afin de déterminer exactement l'agent en cause en cas d'avortement.



## Références bibliographiques

## *Références bibliographiques*

- ABO-SHEHADA. M.N., ABU-HALAWAH.M.M.** Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. Preventive Veterinary Medicine., 2010, **93**, 25-32.
- AJZENBERG D., BAÑULS A.L., SU C., DUMÈTRE A., DEMAR M., CARME B., DARDÉ M.L.** Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol., 2004, **34**, 1185-1196
- AL-MAJALI A.M., JAWASREH K.I., TALAFHA H.A., TALAFHA A.Q.** Neosporosis in sheep and different breeds of goats from Southern Jordan: Prevalence and risk factors analysis. American Journal of Animal and Veterinary Science., 2008, **3**, 47–52.
- ALMERIA S.** *Neospora caninum* and wildlife. ISRN Parasitol., 2013, 1–23.
- ALMERIA S., ARAUJO R.N., DARWICH L., DUBEY J.P., GASBARRE L.C.** Cytokine gene expression at the materno-foetal interface after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. Parasite Immunol., 2011, **33**,517–523.
- ALVARADO-ESQUIVEL.C.,SILVA-AGUILAR.D.,VILLENA.I.,DUBEY.J.P.** Seroprevalence and correlates of *Toxoplasma gondii* infection in domestic sheep in Michoacan State, Mexico. Preventive Veterinary Medicine., 2013, **112** (3–4), 433–437.
- ALVAREZ-GARCIA G., PEIREIRA-BUENO J., GOMEZ-BAUTISTA M., ORTEGA-MORA L.M.** Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoite antigens by naturally infected pregnant cattle and aborted foetuses. Vet. Parasitol., 2002, **107**, 15–27.
- ANDRADE G.D.S., FABIO. R. P. B., CHRISTIANE. M. B. M. R., ALESSANDRO. D. S. G., AURORA.M. G. G., ANTONIO. M. G.** Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in sheep in the state Minas Gerais, southeastern Brazil. Veterinary Parasitology., 2012, **188**, 168-171.
- ANDRADE M.M.C., CARNEIRO M., MEDEIROS A.D., Neto A.V., VITOR R.W.A.** Seroprevalence and risk factors associated with ovine toxoplasmosis in Northeast Brazil. Parasite., 2013, **20**, (20).
- ANDRIANARIVO A.G., BARR B.C., ANDERSON M.L., ROWE J.D., PACKHAM A.E., SVERLOW K.W., CONRAD P.A.** Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. Parasitol. Res., 2001, **87**, 817–825.
- ANDERSON B. C.** Contamination of feed stuffs caused by farm dogs. J Am Vet Med Assoc., 2000 **217**(9), 1294.
- ARRANZ-SOLIS D., BENAVIDES J., REGIDOR-CERRILLO J., FUERTES M., FERRE I., FERRERAS M., COLLANTES-FERNANDEZ E., HEMPHILL A., PÉREZ V., ORTEGA-MORA LM.** Influence of the gestational stage on the clinical course, lesional development and parasite distribution in experimental ovine neosporosis. Vet Res., 2015, **46**, 19

**ASADPOUR R., JAFARI-JOOZANI R., SALEHI N.** Detection of *Neospora caninum* in ovine abortion in Iran. *J Parasit Dis.*, 2013, **37**, 105–109.

**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.

**BARLING K. S., LUNT D. K., GRAHAM S. L., CHOROMONSKI L. J.** Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef feedlot steers. *J Am Vet Med Assoc.*, 2003, **222**(5), 624–627.

**BARTA J.R.** Molecular approaches for inferring evolutionary relationships among protistan parasites. *Veterinary Parasitology.*, 2001, **101**, 175-186

**BARTA J.R., DUBEY J.P.** Characterization of anti-*Neospora caninum* hyperimmune rabbit serum by Western blot analysis and immunoelectron microscopy. *Parasitol. Res.*, 1992, **78**, 689–694.

**BARTOVA. A., K. SEDLAK.K., LITERAK.I.** *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in sheep in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology.*, 2009, **161**,131-132.

**BARTLEY PM., KATZER F., ROCCHI M.S, MALEY S.W., BENAVIDES J., NATH M., PANG Y., CANTON G., THOMSON J., CHIANINI F., INNES E.A.** Development of maternal and foetal immune responses in cattle following experimental challenge with *Neospora caninum* at day 210 of gestation. *Vet Res.*, 2013, **44**, 91.

**BLACK M.W., BOOTHROYD J.C.** Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000, **64** , 607-623.

**BEHROUZ. E., MASOUD. A., HASSANVAND. A., MOHAMMAD. Z., MOJGAN. A., FARZAD. E.** The first report of *Neospora caninum* prevalence in aborted and healthy sheep from west of Iran. *Springer-Verlag.*, 2013, **24**, 19-22.

**BENKIRANE. A., JABLI. N., RODOLAKIS. A.** Fréquence d'avortement et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives ovines dans la région de Rabat (maroc). *Ann. Rech. Vet.*, 1990, **21**, 267 – 273.

**BEUGNET F., BOURDOISEAU G.** Coccidiose toxoplasmique du chat et toxoplasmose. *EMC-Vétérinaire.*, 2005, **2**, 63-73

**BHOPALE G. M.** Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status. *Microbes Infect.*, 2003, **5**, 457-62.

**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.

- BJERKAS I., JENKINS M.C., DUBEY J.P.** Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1994, **2**, 214–221.
- BJERKAS I., MOHN S.F., PRESTHUS J.** Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenkd., 1984, **70**, 271–274.
- BLEWETT D. A., BRYSON C. E., MILLER J. K.** Studies of antibody titres in experimentally induced ovine toxoplasmosis. Res Vet Sci., 1983, **34**, 163-6.
- BLEWETT D. A., MILLER J. K., BUXTON D.** Response of immune and susceptible ewes to infection with *Toxoplasma gondii*. Veterinary Record., 1982, **111**, 175–178.
- BOUVERET M.** Approche séroépidémiologique des avortements à *Neospora caninum* chez les bovins dans le département du Jura. Thèse Med Vet. ENV Lyon, 2004, 222p.
- BUSSIERAS J., CHERMETTE R.** Parasitologie Vétérinaire Tome II: Protozoologie, Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 186 p, 51-54, 87-96.
- BUXTON D.** Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances. Vet Res., 1998, **29**, 289-310.
- BUXTON D.** Ovine toxoplasmosis: a review. Journal of the Royal Society of Medicine., 1990, **83**, 509–511.
- BUXTON D., FINLAYSON J.** Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. J Comp Pathol., 1986, **96**, 319-33
- BUXTON D., MALEY S.W., THOMSON K.M., TREES A.J., INNES E.A.** Experimental infection of non-pregnant and pregnant sheep with *Neospora caninum*. J. Comp. Pathol., 1997, **117**, 1–16.
- BUXTON D., RODGER S. M.** Toxoplasmosis and neosporosis. In Diseases of sheep. 4th Ed (ed. Aitken, I. D.) Wiley-Blackwell, Hoboken ., 2008, 112–118.
- BUXTON D., THOMSON K., MALEY S., WRIGHT S., BOS H. J.** Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenge when pregnant. Vet Rec., 1991, **129**, 89-93.
- BUXTON D., MCALLISTER M.M., DUBEY J.P.** The comparative pathogenesis of neosporosis. Trends Parasitol., 2002, **18**, 546–552.
- BUXTON D., THOMSON K. M., MALEY S., WASTLING J. M., INNES E. A., PANTON W. R., NICOLL S.** Primary and secondary responses of the ovine lymph node to *Toxoplasma gondii*: cell output in efferent lymph and parasite detection. J Comp Pathol., 1994, **111**, 231-41.
- CANNAS A., NAGULESWARAN A., MULLER N., EPERON S., GOTTSTEIN B., HEMPHILL A.** Vaccination of mice against experimental *Neospora caninum* infection using NcSAG1- and NcSRS2-based recombinant antigens and DNA vaccines. Parasitology., 2003 a, **126** (4), 303–312.

**CANNAS A., NAGULESWARAN A., MULLER N., GOTTSTEIN B., HEMPHILL A.** Reduced cerebral infection of *Neospora caninum*-infected mice after vaccination with recombinant microneme proteinNcMIC3 and ribi adjuvant. J Parasitol., 2003b, **89**(1), 44–50.

**CANTON G.J., KATZER F., BENAVIDES-SILVAN J., MALEY S.W., PALAREA-ALBALADEJO J., PANG Y., SMITH S., BARTLEY P.M., ROCCHI M., INNES E.A., CHIANINI F.** Phenotypic characterisation of the cellular immune infiltrate in placentas of cattle following experimental inoculation with *Neospora caninum* in late gestation. Vet Res., 2013, **44**,60.

**CANTON G.J, KATZER F., MALEY S.W., BARTLEY P.M., BENAVIDES-SILVAN J., PALAREA-ALBALADEJO J., PANG Y., SMITH S.H., ROCCHI M.S., BUXTON D., INNES E.A., CHIANINI F.** Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy. Vet Res., 2014, **45**, 11.

**CANTON GJ, KONARD J.L, MOORE D.P, CASPE S.G., PALAREA-ALBALADEJO J., CAMPERO C.M., CHIANINI F.** Characterization of immune cell infiltration in the placentome of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) infected with *Neospora caninum* during pregnancy. J Comp Pathol., 2014, **150**, 463–468.

**CARME B., AJZENBERG D., DEMAR M., SIMON S., DARDÉ M. L., MAUBERT B., DE THOISY B.** Outbreaks of toxoplasmosis in a captive breeding colony of squirrel monkeys. Vet Parasitol., 2009, **163**(1-2), 132-135.

**CARRUTHERS V.B.** Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. Acta Trop. 2002, **81**, 111-122

**CHERMETTE R., MARQUER A.** *Neospora caninum*: un nouveau parasite ?. Point vétérinaire, 2000, Vol.31, n°208, 9-14.

**CHOROMANSKI L., BLOCK W.** Humoral immune responses and safety of experimental formulations of inactivated *Neospora* vaccines. Parasitol Res., 2000, **86**(10): 851–853.

**CONARD P. A., MILLER M. A., KREUDER C., JAMES E. R., MAZET J., DABRITZ H., JESSUP D. A., GULLAND F., GRIGG M. E.** Transmission of *Toxoplasma*: clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. Int J Parasitol, 2005, **35**(11-12), 1155-1168.

**CORREIA A., FERREIRINHA P., COSTA A.A., DIAS J., MELO J., COSTA R., RIBEIRO A., FAUSTINO A., TEIXEIRA L., ROCHA A., VILANOVA M.** Mucosal and systemic T cell response in mice intragastrically infected with *Neospora caninum* tachyzoites. Vet Res., 2013, **44**, 69.

**CORREIA. E.L.B., THAIS. F.F., FABRINE. A.D.S., SERGIO.S.D.A., HILDA F.D.J.P., SOLANGE.M.G., RINALDO. A.M., CLEBERT. J.A.** Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. Vet. Parasitol, 2015, Vol.24, n°3, 383-386.

**CROOKSHANKS J. L., TAYLOR S.M., HAINES D.M., SHELTON G.D.** Treatment of canine pediatric *Neospora caninum* myositis following immunohistochemical identification of tachyzoites in muscle biopsies. Can Vet J., 2007, **48** (5), 506–508.

**DARDÉ M. L., BOUTEILLE B., PESTRE-ALEXANDRE M.** Differentiation iso enzymatique de 7 souches de *Toxoplasma gondii* par iso-electrofocalisation en gel de polyacrylamide. Bull. Soc. Fr. Parasitol., 1987, **5**, 33–39.

**DEBREUIL.P., ARSENEAULT.J.** Les avortements chez les petits ruminants. La médecine vétérinaire du Québec, 2003, Vol. 33, n°1 et 2, 6-12.

**DEMAR M., AJZENBERG D., SERRURIER B., DARDÉ M. L., CARME B.** Atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. Am J Trop Med Hyg., 2008, **78**(2), 195-197.

**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.

**DENKERS E.Y., GAZZINELLI R.T.** Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. Clin. Microbiol. Rev., 1998, **11**, 569–588.

**DIAKOU.A., PAPADOPOULOS.E., PANOUSIS.N., KARATZIAS.C., GIADINIS.N.** *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. Veterinary Parasitology., 2013, **198**, 387-390.

**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., 2002b, **105**(2): 89–98.

**DUBEY J.P. 1993.** *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidian of humans and animals. In Julius P. Kreier (eds), Parasitic Protozoa, vol.6, 2ème édition, Academic press, San Diego, California,: 1-158.

**DUBEY JP.** Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol., 1998, **28**, 1019-1024.

**DUBEY J.P.** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Veterinary Parasitology., 1999, **84**, 349-367.

**DUBEY J. P.** A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol., 2002a, **106**,121–153.

**DUBEY J. P.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol., 2003, **41**(1), 1–16.

**DUBEY J. P.** 2007. The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: Weiss, L. M. & Kim, K. (ed.), *Toxoplasma gondii*. The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods. Academic Press, New York. p. 1–17.

**DUBEY J.P.** The History of *Toxoplasma gondii*-The First 100 Years. J Eukaryot Microbiol., 2008, **55**(6), 467-475.

**DUBEY J.P.** Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2010.

**DUBEY J.P., BARR B.C., BARTA J.R., BJERKAS I., BJÖRKMAN C., BLAGBURN B.L., BOWMAN D.D., BUXTON D., ELLIS J.T., GOTTSTEIN B., HEMPHILL A., HILL D.E., HOWE D.K., JENKINS M.C., KOBAYASHI Y., KOUDELA B., MARSH A.E., MAC ALLISTER M.M., MODRY D., OMATA Y., SIBLEY L.D., SPEER C.A., TREES A.J., UGGLA A., UPTON S.J., WILLIAMS D.J.L., LINDSAY D.S.** Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. International Journal for Parasitology., 2002, Vol.32, n°8, 929-946.

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

**DUBEY J.P., CARPENTER J.L., SPEER C.A., TOPPER M.J., UGGLA A.** Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1988, **192**, 1269–1285.

**DUBEY J.P., JENKINS M.C., RAJENDRAN C., MISKA K., FERREIRA L.R., MARTINS J.** Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. Vet. Parasitol., 2011, **181**, 382–387.

**DUBEY. J.P., LINDSAY. D.S.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol., 1996, **67**, 1–59.

**DUBEY. J.P., LINDSAY. D.S., ADAMS. D.S., GAY. J.M., BASZLER. T.V., BLAGBURN. B.L., THULLIEZ. P.** Serological responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. Am. J. Vet. Res., 1996, **57**, 329–336.

**DUBEY J.P., LINDSAY D.S., SPEER C.A.** Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin. Microbiol. Rev., 1998, **11**, 267-299.

**DUBEY.J.P., SCHARES. G.** Neosporosis in animals- The last five years. Veterinary Parasitology., 2011, **180**, 90-108.

**DUBEY J.P., SCHARES G., ORTEGA-MORA L.M.** Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin. Microbiol. Rev., 2007, **20**, 323–367.

**DUBEY J.P., SREEKUMAR C., KNICKMAN E., MISKA K.B., VIANNA M.C., KWOK O.C.** Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. Int. J. Parasitol., 2004, **34**, 1157–1167.

**DUMÈTRE A., DARDÉ M.L.** How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? FEMS Microbiol.Rev., 2003, **27**, 651-661.

**EI IDRISSEI. AH., MANYARI. A., BENKIRANE. A.** Fréquence des avortements infectieux des ovins au Maroc (Région de Zaer et du Moyen-Atlas). Actes Inst Agron Vét (Maroc)., 1995, **15**, 11-14.

**ENTRICAN G.** Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. J Comp Pathol., 2002, **126**, 79–94.

**ENTRICAN G., WHEELHOUSE N. M.** Immunity in the female sheep reproductive tract. Veterinary Research., 2006, **37**, 295–309.

**EPIPHANIO S., SINHORINI I.L., CATAO DIAS J.L.** Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. *J Comp Pathol*, 2003, **129**, 196-204

**ESTEBAN-REDONDO I., INNES E. A.** *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, 1997, **20**, 191-6.

**FERGUSON D.J.P., HUTCHISON W.M.** An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. *Parasitol. Res.*, 1987, **73**, 483-491.

**FERNANDO.J.R.M., MULLER.R.A., ADRIANNE.M.D.A., JOSÉ.W.P.J., MARIA. J.D.S., WAGNER. J.N.P. RAFAEL.F.D.C.V., RINALDO. A.M.** Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 2016.

**FIGLIUOLO.L.P.C., KASAI.N., RAGOZO.A.M.A., DE PAULA.V.S.O., DIAS.R.A., SOUZA.S.L.P., GENNARI.S.M.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology.*, 2004, **123**, 161-166.

**FIGUEIREDO J.F., SILVA D.A.O., CABRAL D.D., MINERO J.R.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*, 2001, **29**, 687-692.

**FRENKEL J. K.** Adoptive immunity to intracellular infection. *J. Immunol.*, 1967, **98**, 1309-1319.

**GAZZINELLI R. T., HAKIM F. T., HIENY S., SHEARER G. M., SHER A.** Synergistic role of CD41 and CD81 T lymphocytes in IFN-gamma production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. *J. Immunol.*, 1991, **146**, 286-292.

**GEBREMEDHIN E.Z., AGONAFIR A., TESSEMA T.S., TILAHUN G., MEDHIN G., VITALE M., DI MARCO V., COXE, VERCRUYSE J., DORNY P.** Seroepidemiological study of ovine Toxoplasmosis in East and West Shewa zones of Oromia Regional State, Central Ethiopia. *BMC Vet Res.*, 2013, **9**, 117.

**GEBREMEDHIN.E.Z., MUKARIM. A., TSEHAYE. H., TESFAYE. S. T.** Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats slaughtered for human consumption in Central Ethiopia. *BMC Research Notes.*, 2014, **7**, 696.

**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.

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

**GHELLER.J.M., RAFAEL.C., ADRIANO. O.D.T.C., MEIRE.C.S.** Occurrence and risk factors for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sheep of the Guarapuava region, Paraná, Brazil. *J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 2016, Vol.53, n°2, 177-181.

**GIBNEY E.H., KIPAR A., ROSBOTTOM A., GUY C.S., SMITH R.F., HETZEL U., TREES A.J., WILLIAMS D.J.** 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.

**GONDIM L.F.** *Neospora caninum* in wildlife. *Trends Parasitol.*, 2006, **22**, 247–252.

**GONDIM L.F., MCALLISTER M.M., PITT W.C., ZEMLICKA D.E.** Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 2004b, **34**, 159–161.

**GOTTSTEIN B., EPERON S., DAI W. J., CANNAS A., HEMPHILL A., GREIF G.** Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol Res.*, 2001, **87**(1), 43–48.

**GOTTSTEIN B., RAZMI G. R., AMMANN, P., SAGER H., MULLER N.** Toltrazuril treatment to control diaplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice. *Parasitology.*, 2005, **130** (1), 41–48.

**GRIGG M.E., GANATRA J., BOOTHROYD J.C., MARGOLIS T.P.** Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.*, 2001, **184**, 633–639

**GROSS U., KEMPF M. C., SEEBER F., LÜDER C. G., LUGERT R., BOHNE W.** Reactivation of chronic toxoplasmosis: is there a link to strain-specific differences in the parasite?, *Behring Inst Mitt*, 1997, **99**, 97–106.

**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.

**HAESSIG.M., SAGER.H., REITT.K., ZIEGLER.D., STRABEL.D., GOTTSTEIN.B.** *Neospora caninum* in sheep : a herd case report. *Vet. Parasitol.*, 2003, **117**, 213–220.

**HALOS L., THÉBAULT A., AUBERT D., THOMAS M., PERRET C., GEERS R., ALLIOT A., ESCOTTE-BINET S., AJZENBERG D., DARDÉ M.L., DURAND B., BOIREAU P., VILLENA I.** An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *International Journal for Parasitology.*, 2010, **40**, 193–200.

**HAMIDINEJAT H., GORANINEJAD S., GHORBANPOOR M., NABAVI L., AKBARNEJAD F.** Role of *Toxoplasma gondii* in abortion of ewes in Ahvaz (south-west Iran), *Vet Inst Pulawy.*, 2008, **52**, 369–71.

**HANDMAN E., REMINGTON J. S.** Antibody responses to toxoplasma antigens in mice infected with strains of different virulence. *Infect Immun.*, 1980, **29**, 215–20.

**HARKINS D., CLEMENTS D.N., MALEY J., MARKS J., WRIGHT S., ESTEBAN I., INNES E.A., BUWTON D.** Western blot analysis of the responses of ruminants infected with *Neospora caninum* and with *Toxoplasma gondii*. *J. Comp. Pathol.*, 1998, **119**, 45–55.

**HARTLEY W. J.** Experimental transmission of toxoplasmosis in sheep. *New Zealand Veterinary Journal.*, 1961, **9**, 1–7.

- HARTLEY W. J., MOYLE G. G.** Further observations on the epidemiology of ovine toxoplasma infection. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science.*, 1974 **52**, 647–653.
- HAYATI AR., MOHAMED A.E., TAN G.C.** An immunohistochemical study of Toll-like receptors 2 and 4 in placenta with and without infection. *Malays J Pathol.*, 2010, **32**, 13–19
- HELMICK.B., OTTER.A., MCGARRY.J., BUXTON.D.** Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res.Vet.Sci.*, 2002, **73**, 187-189.
- HEMPHILL A.** The host-parasite relationship in neosporosis. *Advances in Parasitology.*, 1999, Vol.43, 47-104.
- HEMPHILL A., GOTTSTEIN B.** Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol Res.*, 1996, **82**(6): 497–504.
- HEMPHILL A., VONLAUFEN N., NAGULESWARAN A.** Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with *Neospora caninum*. *Parasitology.*, 2006, **133**, 261–278.
- HILL D., DUBEY J.P.** *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2002, **8**, 634-6
- HOLEC-GASIOR.L., DOMINIAK-GORSKI.B., JOZEF K.** First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep in Pomerania, northern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2015, Vol.22, n°4,604-607.
- HOWE D.K., SIBLEY L.D.** *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J. Infect. Dis.*, 1995, **172**, 1561–1566.
- HUNTER A.C., SIBLEY L.D.** Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nat Rev Microbiol.*, 2012, **10**(11), 766-778
- HUSSEIN.M.F., ALMUFARREJ.SI., ALJUMAAH.R.S., AL-SAIADY.M.Y., AGAR ELNABI. A.R., ABU ZAID T.S.** Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* and its association with abortion in sheep in Saudi Arabia. *Acta Veterinaria*, 2011, Vol.61, n°4, 405-414.
- INNES E.A.** Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1997, **20**, 131-8.
- INNES E. A., BARTLEY P. M., MALEY S.W., WRIGHT S. E., Buxton D.** Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. *Vaccine.*, 2007, **25**, 5495-503.
- INNES. E.A., BARTLEY. P.M., BUXTON. D., KATZER. F.** Ovine toxoplasmosis. *Parasitology.*, 2009, **136**, 1887–1894.
- INNES E.A., ANDRIANARIVO A.G., BJÖRKMAN C., WILLIAMS D.J., CONRAD P.A.** Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.*, 2002, **18**, 497–504.

**INNES E.A., LUNDEN A., ESTEBAN I., MARKS J., WRIGHT S., RAE A., HARKINS D., VERMEULEN A., MCKENDRICK I.J., BUXTON D.** A previous infection with *Toxoplasma gondii* does not protect against a challenge with *Neospora caninum* in pregnant sheep. *Parasite Immunol.*, 2001, **23**, 121–132.

**INNES E. A., PANTON W. R., SANDERSON A., THOMSON K. M., WASTLING J. M., MALEY S., BUXTON D.** Induction of CD4+ and CD8+ T cell responses in efferent lymph responding to *Toxoplasma gondii* infection: analysis of phenotype and function. *Parasite Immunol.*, 1995a, **17**, 151-60.

**INNES E., WASTLING J. M.** Analysis of *in vivo* Immune Responses during *Toxoplasma gondii* Infection using the Technique of Lymphatic Cannulation. *Parasitol Today*, 1995a, **11**.

**INNES E. A., WASTLING J. M.** Analysis of *in vivo* Immune Responses during *Toxoplasma gondii* Infection using the technique of Lymphatic Cannulation. *Parasitol Today.*, 1995b, **11**, 268-271.

**INNES E. A., PANTON W. R., THOMSON K. M., MALEY S., BUXTON D.** Kinetics of interferon gamma production *in vivo* during infection with the S48 vaccine strain of *Toxoplasma gondii*. *J Comp Pathol*, 1995b, **113**, 89-94.

**INNES E. A., VERMEULEN A. N.** Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. *Parasitology.*, 2006, **133**, 145–168.

**INNES E. A. WRIGHT S.E., MALEY S., RAE A., SCHOCK A., KIRVAR E., BARTLEY P., HAMILTON C., CAREY I.M., BUXTON D.** Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int J Parasitol.*, 2001, **31**(13): 1523–1534.

**INNES E.A., BARTLEY P.M., BUXTON D., KATZER F.** Ovine toxoplasmosis. *Parasitology.*, 2009, **136**, 1887-1894.

**ISSA.N.A., OMER.L.T.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in aborted ewes and does in Duhok province of Iraq. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.*, 2011, **1**(10), 627-630.

**JARDINE J.E.** The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Vet Parasitol.*, 1996, **62**(3-4), 231-40.

**JITTAPALAPONG S., SANGVARANOND A., PINYOPANUWAT N., CHIMNOI W., KHACHAERM W., KOIZUMI S., MARUYAMA S.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. *Vet Parasitol.*, 2005, **127**, 17–22.

**JOLLEY. W.R., MCALLISTER. M.M., MCGUIRE. A.M., WILLS. R.A.** Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Vet. Parasitol.*, 1999, **82**, 251–257.

**KASPER L. H., KHAN I. A.** Role of P30 in host immunity and pathogenesis of *T. gondii* infection. *Res Immunol.*, 1993, **144**, 45-8.

**KHAN I.M., SCHWARTZMAN J.D., FONSEKA S., KASPER L.H.** *Neospora caninum*: role for immune cytokines in host immunity. *Exp. Parasitol.*, 1997, **85**, 24–34.

- KHAN A., TAYLOR S., SU C., MACKEY A. J., BOYLE J., GLOVER R. D., TANG K., PAULSEN I. T., BERRIMAN M., BOOTHROOYD J. C., PFEFFERKORN E. R., DUBEY J. P., AJIOKA J. W., ROOS D. S., WOOTTON J. C., SIBLEY L. D.** Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. *Nucleic Acids Res.*, 2005, **33**, 2980–2992.
- 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.
- KING J.S., SLAPETA J., JENKINS D.J., AI-QASSAB S.E., ELLIS J.T., WINDSOR P.A.** Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 2010, **40**, 945–950.
- KOBAYASHI. Y., YAMADA. M., OMATA. Y., KOYAMA. T., SAITO. A., MATSUDA. T., OKUYAMA. K., FUJIMOTO. S., FURUOKA. H., MATSUI.T.** Naturally occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. *J. Parasitol.*, 2001, **87**, 434–436.
- 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.
- LANDMANN J. K., JILLELLA D., O'DONOGHUE P. J., MCGOWAN M. R.** 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.
- LANGINI.H., HAROLDO. G. J., FELIPE. F. G., LEILA. S. U., FERNANDA.C. G., ROBSON.S. U., ERIC. P. R., ROGÉRIO. M. A., RODRIGO. C. D.S.** Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology.*, 2011, **177**, 50-54.
- LEHMANN T., MARCET P. L., GRAHAM D. H., DAHL E. R., DUBEY J. P.** Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, **103**, 11423–11428.
- LIDDELL S., JENKINS M. C., COLLICA C. M., DUBEY J. P.** Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination. *J Parasitol.*, 1999, **85** (6): 1072–1075.
- LINDSAY D. S., BUTLER J. M., BLAGBURN B. L.** Efficacy of decoquinatate against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet Parasitol.*, 1997, **68**(1-2), 35–40.
- LINDSAY D.S., DUBEY J.P.** *Neospora caninum* (Protozoa: apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, 1989, **75**, 772–779.
- LINDSAY D. S., DUBEY J. P.** Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa : Apicomplexa) infections in mice. *J Parasitol.*, 1990b, **76**(2), 177–179.
- LINDSAY D. S., RIPPERY 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.

**LINDSAY D.S., UPTON S.J., DUBEY J.P.** A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. International Journal for Parasitology, 1999, Vol.29, n°10, 1521-1523.

**LONG MT., BASZLER T.V., MATHISON B.A.** Comparison of intracerebral parasite load, lesion development, and systemic cytokines in mouse strains infected with *Neospora caninum*. J Parasitol., 1998, **84**, 316–320.

**LOPEZ-PÉREZ I.C., COLLANTES-FERNANDEZ E., ROJO-MONTEJO S., NAVARRO-LOZANO V., RISCO-CASTILLO V., PÉREZ-PÉREZ V., PEREIRA-BUENO J., ORTEGA-MORA L.M.** Effects of *Neospora caninum* infection at mid-gestation on placenta in a pregnant mouse model. J Parasitol., 2010, **96**, 1017–1020.

**LOSSON B., BOURDOISEAU G.** *Neospora caninum*: un nouvel agent abortif chez les bovins. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 2000, n°7, 107-114.

**LUNDEN A., MARKS J., MALEY W.M., INNES E.A.** Cellular immune response in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*. Parasite Immunol., 1998, **20**, 519–526.

**LYONS R.E., MCLEOD R., ROBERTS C.W.** *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. 2002, **18**, 198-201.

**MACALDOWIE C., MALEY S.W., WRIGHT S., BARTLEY P., ESTEBAN-REDONDO I., BUXTON D., INNES E.A.** Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. J Comp Pathol., 2004, **131**:142–156.

**MCALLISTER M. M., BJORKMAN C., ANDERSON- SPRECHER R., 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): 881–887.

**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.

**MCCOLGAN C., BUXTON D., BLEWETT D.** Titration of *Toxoplasma gondii* oocysts in non-pregnant sheep and the effects of subsequent challenge during pregnancy. Veterinary Record., 1988, **123**, 467–470.

**MACHADO. G.P., KIKUTI. M., LANGONI. H. PAES.A.C.** Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep end dogs from farms. Vet. Parasitol., 2011,**182**, 356-358.

**MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural).** 2008, Alger, Algérie.

**MAHA-ALAZEMI.S.H.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in aborted ewes in Kuwait. Journal of the Egyptian Society of Parasitology, 2014, Vol.44, n°2, 393-396.

**MAINAR-JAIME.R.C., BARBERÁN. M.** Evaluation of the diagnostic accuracy of the modified agglutination test (MAT) and an indirect ELISA for the detection of serum antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep through Bayesian approaches. Vet. Parasitol., 2007, **148**, 122–129.

**MALEY S.W., BUXTON D., MACALDOWIE C.N., ANDERSON I.E., WRIGHT S.E., BARTLEY P.M., ESTEBAN-REDONDO I., HAMILTON C.M., STORSET A.K., INNES E.A.** Characterization of the Immune Response in the Placenta of Cattle Experimentally Infected with *Neospora caninum* in Early Gestation. J Comp Pathol., 2006, **135**, 130–141

**MALEY S.W., BUXTON D., THOMSON K.M., SCHRIEFER C.E.S., INNES E.A.** Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1-year study. *Vet. Parasitol.*, 2001, **96**, 1–9.

**MARCOLINO P.T., SILVA D.A.O., LESER P.G., CAMARGO M.E., MINEO J.R.** Molecular markers in acute and chronic phases of human toxoplasmosis: determination of immunoglobulin G avidity by western blotting. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2000, **7**, 384–389.

**MARSH A.E., BARR B.C., MADIGAN J., LAKRITZ J., NORDHAUSEN R., CONRAD P.A.** Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *J Am Vet Med Assoc.*, 1996, **209** (11), 1907-1913.

**MARTIN A.M., LIU T., LYNN B.C., SINAI A.P.** The *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole membrane : transactions across the border. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2007, **54** , 25-28.

**MEISSNER M., REISS M., VIEBIG N., CARRUTHERS V.B., TOURSEL. C., TOMAVO S., AJIOKA J.W., SOLDATI D.** A family of transmembrane microneme proteins of *Toxoplasma gondii* contain EGF-like domains and function as escorts. *J. Cell Sci.*, 2002, **115**, 563-574.

**MENDOÇA C.E.D.A., BARROS S.L.B., GUIMARÃES A.A., FERRAUDO A.S., MUNHOZ A.D.** Prevalence and risk factors associated to ovine toxoplasmosis in northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.*, 2013, **22** (2), 230–234.

**MERCIER A., DEVILLARD S., NGOUBANGOYE B., BONNANAU H., BAÑULS A. L., DURAND P., SALLE B., AJZENBERG D., DARDÉ M.L.** Additional haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: population structure and mouse-virulence of strains from Gabon, *PLoS Negl Trop Dis.*, 2010, **4** (11), e876.

**MIKAIL.F.B., AL-BARWARY.L.T.O.** Seroprevalence of toxoplasmosis in aborted ewes by using different immunologic tests in Duhok governorate, Kurdistan region, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 2014, Vol.28, n°1, 11-15.

**MILLER M. A., GRIGG M. E., KREUDER C., JAMES E.R., MELLI A. C., CROSBIE P. R., JESSUP D. A., BOOTHROYD J. C., BROWNSTEIN D. CONARD P. A.** An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. *Int J Parasitol*, 2004, **34**(3), 275-284.

**MING-YANG. Y., JIN-LEI. W., SI-YANG. H., SI-YUAN. Q., DONG-HUI. Z., GUANG-XUE. L., QI-DONG. T., XING-QUAN. Z.** Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* in Tibetan Sheep in Gansu province, Northwestern China. *BMC Veterinary Research.*, 2015, **11**, 41.

**MOEN A. R., WOUDA W., MUL M. F., GRAAT E. A., VAN WERVEN T.** Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology.*, 1998, **49** (7): 1301–1309.

**MORAES L. M. B., RAIMUNDO J. M., GUIMARAES A., SANTOS H. A., MACEDO J.G. L., MASSARD C. L., MACHADO R. Z., BALDANI C. D.** Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhao, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2011, Vol. 20, n°4, 312-317.

**MORRIS M.T., CHENG W.C., ZHOU X.W., BRYDGES S.D., CARRUTHERS V.B.** *Neospora caninum* expresses an unusual single-domain Kazal protease inhibitor that is discharged into the parasitophorous vacuole. *Int. J. Parasitol.*, 2004, **34**, 693-701.

**MOURA.A.B., MARCELO. F.G., JULIANA. A.F., ANTONIO. P.D.S. AMÉLIA.P.S., ROSILÉIA. M.D.Q.** *Neospora caninum* seroprevalence and risk factors for ewes from Santa Catarina Plateau, Brazil. *Ciências Agrárias*, 2014, Vol.35, nº5, 2591-2600.

**MUNHOZ. K.F., NETO. M. D. L., SANTOS. S.M.A., GARCIA. J.L., GUIMARÃES.J J.D.S., VIDOTTO.O., HEADLEY.S.A.,YAMAMURA.M.H.** Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Paraná, Brazil. *Ciênc. Agr.* 2010, **31**,1031-1040.

**NETO A. V., MOURA A. B., GÜTHS M. F., SOUZA A. P., SARTOR A. A., BELLATO V.** Soroprevalência e fatores de riscos para infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos do Planalto Serrano de Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: CONBRAVET, 2011.

**NGOUBANGOYE B.** Étude comparative de la distribution de *Toxoplasma gondii* parmi les populations humaines et animales et contribution à l'étude de la virulence des souches en circulation dans un village de la forêt équatoriale : Dienga au Sud Est du Gabon. *Mém. Fin de cycle*, E.I.S.M.V, Dakar, 2007, 121p.

**NIKOLAOS. T., PAVLO.M., FRANZ.J. C., EVAGGELOS. K., CHRISTOS. B., SMARAGDA. S., GEREON. S.** *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: Seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices. *Veterinary Parasitology.*, 2012, **190**, 340-348.

**NISHIKAWA Y., IKEDA H., FUKUMOTO S., XUAN X., NAGASAWA H., OTSUKA H., MIKAMI T.** Immunization of dogs with a canine herpesvirus vector expressing *Neospora caninum* surface protein, NcSRS2. *Int J Parasitol.*, 2000 a, **30**(11), 1167–1171.

**NISHIKAWA Y., XUAN X., NAGASAWA H., IGARASHI I., FUJISAKI K., OTSUKA H., MIKAMI T.** Prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/c mice by recombinant vaccinia virus carrying NcSRS2 gene. *Vaccine.*, 2001, **19** (13-14): 1710–1716.

**NISHIKAWA Y., CLAVERIA F.G., FUJISAKI K., NAGASAWA H.** Studies on serological cross-reaction of *Neospora caninum* with *Toxoplasma gondii* and *Hammondia heydorni*. *J. Vet. Med. Sci.*, 2002, **64**, 161–164.

**OGAWA I., NAVARRO I., FREIRE R.L., OLIVEIRA R.C., VIDOTTO O.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da região de Londrina no Estado do Paraná. *Cienc Agrar.*, 2003, **4**, 57–62.

**O'HANDLEY R., LIDDELL S., PARKER C., JENKINS M.C., DUBEY J.P.** Experimental infection of sheep with *Neospora caninum* oocysts. *J. Parasitol.*, 2002, **88**, 1120–1123.

**O'HANDLEY R. M., MORGAN S. A., PARKER C., JENKINS M. C., DUBEY J. P.** Vaccination of ewes for prevention of vertical transmission of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res.*, 2003, **64**(4), 449–452.

**OSAWA T., WASTLING J., MALEY S., BUXTON D., INNES E.A.** A multiple antigen ELISA to detect Neospora-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet. Parasitol.*, 1998, **79**, 19–34.

**PARKER S. J., ROBERTS C. W., Alexander J.** CD8<sup>+</sup> T cells are the major lymphocyte subpopulation involved in the protective immune response to *Toxoplasma gondii* in mice. *Clin Exp Immunol*, 1991, **84**, 207-12.

**PEREIRA M. F., PEIXOTO R. M., LANGONI H., GRECA J.A., AZEVEDO S. S., PORTO W. J. N., MEDEIROS E. S., MOTA R. A.** Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats in Pernambuco, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2012, Vol. 32, n°2, 140-146.

**PFEFFERKORN L.C., PFEFFERKORN E.R.** *Toxoplasma gondii*: genetic recombination between drug resistant mutants. *Exp. Parasitol.*, 1980, **50**, 305–316.

**PINHEIRO J.R. J.W., MOTA R.A., OLIVEIRA A.A.F., FARIA E.B., GONDIM L.F.P., DA SILVA A.V., ANDERLINI G.A.** Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. *Parasitol. Res.*, 2009, **105**, 709–715.

**PRONOST S., P-H PITEL., et al.** La néosporose équine. *Point Vet.*, 2000, **31**(208), 299-304.

**PURNER M. B., BERENS R. L., NASH P. B., VAN LINDEN A., ROSS E., KRUSE C., KRUG E. C., CURIEL T. J.** CD4-mediated and CD8-mediated cytotoxic and proliferative immune responses to *Toxoplasma gondii* in seropositive humans. *Infect Immun*, 1996, **64**, 4330-8.

**RACHEL. I. J. C. K.L., FRANCISCO. C. R. D. O., EDWARDS. F. T., JITENDER. P. D., GUILHERME. N. D. S., ANA. M. R. F., WALTER. L.** Occurrence and risk factors associated to *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Rio de Janeiro, Brazil. *Springer Science.*, 2014, **46**, 1463,1466.

**RAMZAN M., AKHTAR M., MUHAMMAD F., HUSSAIN F.I., HISACZYNSKA-SAWICKA. E., HAQ A.U., MAHMOOD M.S., HAFEEZ M.A.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in Rahim Yar Khan (Punjab), Pakistan. *Trop Anim Health Prod.*, 2009, **41**,1225–1229.

**REGIDOR-CERRILLO J., ARRANZ-SOLIS D., BENAVIDES J., GOMEZ-BAUTISTA M., CASTRO-HERMIDA J.A., MEZO M., PEREZ V., ORTEGA-MORA L.M, GONZALEZ-WARLETA M.** *Neospora caninum* infection during early pregnancy in cattle: how the isolate influences infection dynamics, clinical outcome and peripheral and local immune responses. *Vet Res.*, 2014, **45**, 10.

**REICHEL M.P., ELLIS J.T., DUBEY J.P.** Neosporosis and hammondiosis in dogs. *J. Small Anim. Pract.*, 2007, **48**, 308–312.

**RETTIGNER C., SAADIA L., DE MEERSCHMANA F., FOCANT C., BECKERS J.F., BERTRAND L.** Immune response and antigen recognition in non-pregnant ewes experimentally infected with *Neospora caninum* tachyzoites. *Veterinary Parasitology.*, 2004, **122**, 261-271.

**ROCHA.D.D.S.,LUCIANA.A.G.RODRIGO.A.B.,CARLOS.E.D.M.,TAIANE.G.D.,ALEXAD RE.D.M., GEORGE.R.A.** Seroprevalence and factors associated with *Neospora caninum* infection in sheep from southeastern Bahia, Brazil. Rev. Bras. Med. Vet., 2014, **36** (4), 443-447.

**ROMANELI P.P., FREIRE R.L., VIDOTTO O., MARANA E.R.M., OGAWA L., DE PAULAV.S.O.** Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State. Res Vet Sci., 2007, **82**(2), 202-207.

**ROSBOTTOM A., GIBNEY E.H., GUY C.S., KIPAR A., SMITH R.F., KAISER P., TREES A.J., WILLIMAS D.J.** Upregulation of cytokines is detected in the placentas of cattle infected with *Neospora caninum* and is more marked early in gestation when fetal death is observed. Infect Immun., 2008, **76**,2352–2361.

**ROSBOTTOM A., GIBNEY H., KAISER P., HARTLEY C., SMITH R.F., ROBINSON R., KIPAR A., WILLIAMS D.J.** Up regulation of the maternal immune response in the placenta of cattle naturally infected with *Neospora caninum*. PLoS One., 2011, e6, 15799.

**ROSSI G.F., CABRAL D.D., RIBEIRO D.P., PAJUABA A.C.A.M., CORREA R.R., MOREIRA R.Q., MINEO T.W.P., MINEO J.R., SILVA D.A.O.** Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlandia, Minas Gerais State Brazil, by different serological methods. Vet. Parasitol., 2011, **175**, 252-259.

**SABIN A. B., FELDMAN H. A.** Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). Science., 1948, **108**, 660–663.

**SAKATA F.B.L.S., BELLATO V., SARTOR A.A., DE MOURA A.B., DE SOUZA A.P., FARIAS J.A.** *Toxoplasma gondii* antibodies sheep in Lages, Santa Catarina, Brazil, and comparison using IFA and ELISA. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária., 2012, **21** (3), 196–200.

**SALABERRY S.R.S., OKUDA L.H., NASSAR A.F.C., DE CASTRO J.R., LIMA-RIBEIRO A.M.C.** Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlandia county, MG. Rev. Bras. Parasitol., Vet., 2010, **19**,148-151.

**SARRAZIN C.** Transmission verticale de *Neospora* sp. chez les mammifères : quelles conséquences pour l'élevage canin. Thèse Med Vet. ENV d'Alfort, 2009, 191p.

**SCHARES G., HEYDORN A. O., CUPPERS A., CONRATHS F. J., MEHLHORN H.** Cyclic transmission of *Neospora caninum*: serological findings in dogs shedding oocysts. Parasitol Res., 2001a, **87**(10), 873-877.

**SCHARES G., PETERS M., WURM R., BÄRWALD A., CONRATHS F.J.** The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. Vet. Parasitol., 1998, **80**, 87–98.

**SCHARES G., WILKING H., BOLLN M., CONRATHS F.J., BAUER C.** *Neospora caninum* in dairy herds in Schleswig-Holstein, Germany. Berl. Münch.Tierärztl. Wochenschr., 2009, **122**, 47–50.

**SEOW H.F.** Pathogen interactions with cytokines and host defence: an overview. Vet. Immunol. Immunopathol., 1998, **63**, 139–148.

**SHAAPAN. R.M., EI-NAWAWI. F.A., TAWFIK.M.A.A.** Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. *Vet. Parasitol.*, 2008, **153**, 359–362.

**SIBLEY L.D.** Recent origins among ancient parasites. *Vet. Parasitol.*, 2003, **115**, 185-198.

**SIBLEY L.D., BOOTHROYD J.C.** Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature*. 1992, **359**, 82-85.

**SIBLEY L. D., LEBLANC A. J., PFEFFERKORN E. R., BOOTHROYD J. C.** Generation of a restriction-fragment-length-polymorphism linkage map for *Toxoplasma gondii*. *Genetics.*, 1992, **132**, 1003–1015.

**SPEER C.A., CLARK S., DUBEY J.P.** Ultrastructure of the oocysts, sporocysts, and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, 1998, **84**, 505-512.

**SPEER C.A., DUBEY J.P., MAC ALLISTER M.M., BLIXT J.A.** Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, 1999, Vol.29, n°10, 1509-1519.

**SPILOVSKA.S., REITEROVA.K.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in aborting sheep and goats in the Eastern Slovakia. *Folia Veterinaria.*, 2008, **1**, 33-35.

**STROHBUSCH M., MULLER N., HEMPHILL A., KREBBER R., GREIF G., GOTTSTEIN B.** Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. *Parasitol Res.*, 2009, **104**(6), 1335–1343.

**SU C., EVANS D., COLE R.H., KISSINGER J.C., AJIOKA J.W., SIBLEY L.D.** Recent Expansion of *Toxoplasma* Through Enhanced Oral Transmission. *Science.*, 2003, **299**,414

**SUZUKI Y.** Host resistance in the brain against *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*, 2002, **185** Suppl 1, S58-65.

**SUZUKI Y., ORELLANA M.A., SCHREIBER R.D., REMINGTON J. S.** Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science.*, 1988, **240**, 516–518.

**TANAKA T., HAMADA T., INOUE N., NAGASAWA H., FUJISAKI K., SUZUKI N., MIKAMI T.** The role of CD4(+) or CD8(+) T cells in the protective immune response of BALB/c mice to *Neospora caninum* infection. *Vet Parasitol.*, 2000, **90**, 183–191.

**TATIANA. E.H.U., VITOR.S.P.G., MARCOS.B.H., TALES. L. B.D., BRUNO. M. A., SILVIO. L. P.D.S., SOLANGE. M. G., RODRIGO. M. S.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. *Springer Science.*, 2009, **41**, 547-552.

**TENTER A.M., BARTA J.R., BEVERIDGE I., DONALD W.D., HEINZ M., MORRISON A.D., THOMPSON R.C.A., CONARD P.A.** The conceptual basis for a new classification of the coccidia. *International Journal of Parasitology.*, 2002, **32**, 595-616.

**TENTER A. M., HECKROTH A. R., WEISS L. M.** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.*, 2000, **30**, 1217-58.

**TESOLILI P.M.A., LEÃO A.G.C., BELTRAME M.A.V., GUMEIRO M.V., BARIONI G.** Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da raça Santa Inês na região da Grande Vitória, estado do Espírito Santo. Revista Brasileira de Ciência Veterinária., 2012, **19** (1), 38–41.

**THILSTEAD J.P., DUBEY J.P.** Neosporosis-like abortion in a herd of dairy cattle. J. Vet. Diagn. Invest., 1989, **1**, 295-209.

**TOMASI T.B.** Mechanisms of immunosuppression in neonatal and pregnant mice. In: Wegmann TG, Gill TT with Cumming CD, Nisbet-Brown, eds. Immunology and reproduction, chapter 14, New York: Oxford University Press, 1983.

**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., 1996, **58**(12): 1381–1385.

**THURMOND M.C., HIETALA S.K., BLANCHARD P.C.** Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. J Vet Diagn Invest., 1997, **9**(1): 44–49.

**TIBAYRENE M., KJELLBERG F., ARNAUD J., OURY B., BRENIÈRE S. F., DARDÉ M. L., AYALA F.J.** Are eukaryotic microorganisms clonal or sexual? A population genetics vantage. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1991, **88**, 5129–5133.

**UCHIDA Y., IKE K., KUROTAKI T., ITO A., IMAI S.** Monoclonal antibodies preventing invasion of *Neospora caninum* Tachyzoites into hosts cells. J. Vet. Med. Sci., 2004, **66**, 11, 1355-1358.

**UEMATSU S., AKIRA S.** Toll-Like receptors (TLRs) and their ligands. Handb Exp Pharmacol., 2008, **183**, 1–20.

**UENO T.E.H., GONÇALVES V.S.P., HEINEMANN M.B., DILLI T.L.B., AKIMOTO B.M., SOUZA S.L.P.D., GENNARI S.M., SOARES R.M.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. Trop. Anim. Health Prod., 2009, **41**, 547-552.

**UGGLA A., Buxton D.** Immune responses against *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. Rev Sci Tech, 1990, **9**, 441-62.

**VOGEL.F.S.F., ARENHART.S., BAUERMAN.F.U.** Anticorps anti-*Neospora caninum* en bovinos, ovinos e bubalinos de Estado do Rio Grande do Sul. Cien. Rural., 2006, **36**, 1948-1951.

**WASTLING J. M., HARKINS D., MALEY S., INNES E., PANTON W., THOMSON K., BUXTON D.** Kinetics of the local and systemic antibody response to primary and secondary infection with S48 *Toxoplasma gondii* in sheep. J Comp Pathol., 1995, **112**, 53-62.

**WATSON W. A., BEVERLEY J. K. A.** Epizootics of toxoplasmosis causing ovine abortion. Veterinary Record., 1971, **88**, 120–124.

**WILLIAMS D.J., HARTLEY C.S., BJORKMAN C., TREES A.J.** Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* – how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. Parasitology., 2009, **136**, 1895–1900.

**WOUDA W.** Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis : a review. *Vet Q.*, 2000, **22**(2), 71–74.

**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.*, 2000, **52** (2), 233–245.

**WU SM. D.C., HUANG.S.Y., ZHANG.D.L., CHEN. J, G.G.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Tibetan sheep in Tibet, China. *J. Parasitol.*, 2011, **97**(6), 1188–1189.

**YANINA P., HECKER., DADIN P., MOORE., JORGE A., MANAZZA., JUAN M., UNZAGA., ERNESTO J. A., SPÄTH., LAIS L., PARDINI., MARIA C. V., JOSÉ L. R., CARLOS. M. C.** First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop Anim Health Prod.*, 2013, **45**, 1645-1647.

**YAP G. S., SHAW M.H., LING Y., SHER A.** Genetic analysis of host resistance to intracellular pathogens: lessons from studies of *Toxoplasma gondii* infection. *Microbes Infect*, 2006, **8**, 1174-8.

**YIBELTAL M.M.** Seroprevalence Study of Toxoplasmosis in Small Ruminants and Humans (HIV/AIDS Patient) in Selected District of South Wollo, Ethiopia, MSc. Thesis. Debre-Zeit, Ethiopia: Addis Ababa University, Faculty of Veterinary Medicine, 2008.

**YOUN H. J., LAKRITZ J., KIM D. Y., 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.

**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 fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.*, 2004, **125**(3-4): 409–414.

**ZHANG H., HU X., LIU X., ZHANG R., FU Q., XU X.** The Treg/Th17 imbalance in *Toxoplasma gondii*-infected pregnant mice. *Am J Reprod Immunol.*, 2012, **67**, 112–121

**ZENCLUSSEN A.C.** Regulatory T cells in pregnancy. *Springer Semin Immunopathol.*, 2006, **28**, 31–39.

**ZENNER L., ESTAQUIER J., DARCY F., MAES P., CAPRON A., CESBRON-DELAUW M. F.** Protective immunity in the rat model of congenital toxoplasmosis and the potential of excreted-secreted antigens as vaccine components. *Parasite Immunology.*, 1999, **21**, 261-272.

### *Webographie*

<http://www.medvet.umontreal.ca/reseauovinscaprins/Documents/rmvAvortements.pdf> (consulté le 30/09/2016).

<http://www.office-elevage.fr> (consulté le 02/10/2016).



## Annexes

**Annexe 1 : Dates clés de la toxoplasmose depuis sa découverte**

<b>Année</b>	<b>Evènement marquant</b>	<b>Publications</b>
<b>1908</b>	Le parasite est découvert chez le rongeur, <i>Ctenodactylus gundi</i> en Tunisie.	<b>NICOLLE et MANCEAUX, 1908</b>
	Le parasite est retrouvé chez le lapin en Brésil.	<b>SPLENDRE, 1908</b>
<b>1909</b>	Dénomination du parasite <i>Toxoplasma gondii</i> .	<b>NICOLLE et MANCEAUX, 1909</b>
<b>1937</b>	Le parasite est isolé pour la première fois à partir d'un animal.	<b>SABIN et OLITSKY, 1937</b>
<b>1939</b>	Le parasite est isolé chez l'homme	<b>WOLF et al., 1939</b>
	Démonstration de la transmission du parasite chez l'homme.	
	Description du premier cas prouvé de la toxoplasmose congénitale.	
<b>1941</b>	Premier cas de toxoplasmose rapporté chez un enfant.	<b>SABIN, 1941</b>
<b>1942</b>	Reconnaissance des anticorps neutralisants de <i>T. gondii</i> .	<b>SABIN et RUCHMAN, 1942</b>
<b>1948</b>	Découverte que les anticorps tuaient les formes extracellulaires mais non intracellulaires du parasite.	<b>SABIN et FELDMAN, 1948</b>
<b>1973</b>	Description de la morphologie du parasite et du cycle évolutif	<b>FRENKEL, 1973</b>
<b>1988</b>	L'interféron $\gamma$ trouvée comme principale cytokine protectrice.	<b>SUZUKI et al., 1988</b>
<b>1991</b>	Rôle des lymphocytes CD4+ et CD8+ dans la protection.	<b>GAZZINELLI et al., 1991</b>
	Mise au point du vaccin T-263 pour prévenir l'excrétion des oocystes de <i>T. gondii</i> par les chats.	<b>FRENKEL et al., 1991</b>
<b>2005</b>	Cartographie du génome de <i>T. gondii</i>	<b>KHAN et al., 2005</b>
<b>2006</b>	Différenciation entre les souches continentales, intercontinentales et pandémiques de <i>T. gondii</i>	<b>LEHMANN et al., 2006</b>
<b>2008</b>	Mise en évidence de la transmission congénitale chez une large variété d'animaux sauvages, le cerf de Virginie	<b>DUBEY et al., 2008</b>

**Annexe 2 : Dates clés de la neosporose depuis sa découverte**

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

**Annexe 3 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de diagnostic direct de *Neospora caninum* (PITEL et al., 2001 ; LELEU, 2003)**

<b>Technique</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Histologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Technique de référence.</li> <li>-Visualisation des foyers de nécrose entourés de cellules inflammatoires.</li> <li>-Eventuellement observation de tachyzoites ou kystes tissulaires.</li> <li>-Coût modéré.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Très difficile si autolyse.</li> <li>- Demande une habitude de lecture.</li> <li>-Nécessité de plusieurs coupes, jamais exhaustives.</li> </ul>
<b>Immunohistochimie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Distinction de <i>Neospora</i> des autres Apicomplexa.</li> <li>- Visualisation des lésions et du parasite.</li> <li>- Utilisables chez les fœtus mommifiés.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Difficile si autolyse.</li> <li>-Qualité de l'anticorps.</li> <li>-Demande une habitude de lecture.</li> <li>- Nécessité de plusieurs coupes, jamais exhaustives.</li> </ul>
<b>PCR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Détection d'ADN à partir de nombreux tissus.</li> <li>-Grande sensibilité et spécificité.</li> <li>-Possible même si début d'autolyse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Nécessite un matériel spécifique en laboratoire.</li> <li>-Pas de visualisation des lésions.</li> </ul>
<b>Culture/Inoculation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Permet l'isolement du parasite et sa caractérisation.</li> <li>-Mise en évidence du pouvoir pathogène.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Longue, coûteuse.</li> <li>- Non applicable en routine, réservé à la recherche.</li> </ul>

**Annexe 4 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de diagnostic direct de *Neospora caninum* (PITTEL et al., 2001, LELEU, 2003)**

<b>Technique</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>IFAT</b>	-Méthode sérologique de référence -Rapide et peu coûteux	-Lecture subjective nécessitant une certaine expérience -Seuil non standardisé
<b>ELISA</b>	-Automatisation possibles -Diversité des kits commercialisés - Réalisable sur lait	- Seuil non standardisé
<b>NAT</b>	-Spécifique et très sensible -Pas de réactif spécifique d'espèce	-Nécessité d'un nombre important de tachyzoïtes
<b>Western Blot</b>	-Très spécifique et très sensible -Permet de décrire l'intensité de la réponse	-Longue, coûteuse, uniquement utilisé pour la recherche

**Annexe 5 : Effectif ovin dans les communes d'Alger (DSA, 2014)**

Commune	Brebis	Béliers	Antenaises	Antenais	Agneaux	Agnelles	Ovins
Ain Bénian	210	25	100	0	76	45	456
Ain Taya	257	91	70	58	80	74	630
Baba Hassen	140	26	22	18	26	26	258
Baraki	345	68	80	74	125	78	770
Ben Aknoun	0	0	0	0	0	0	0
Beni Messous	0	0	0	0	0	0	0
Bir Mourad Rais	0	0	0	0	0	0	0
Birkhadem	0	0	0	0	0	0	0
Birtouta	520	6	8	7	25	30	596
Bordj El Bahri	80	10	34	40	32	30	226
Bordj El Kiffan	286	178	42	59	60	44	669
Bouzareah	0	0	0	0	0	0	0
Cheraga	230	25	130	180	30	35	630
Dar El Beida	0	0	0	0	0	0	0
Dely Brahim	0	0	0	0	0	0	0
Douera	788	56	426	264	472	462	2468
Draria	170	18	50	50	50	45	383
El Achour	45	20	35	40	15	15	170
El Harrach	49	1	2	3	55	42	152
El Marsa	28	4	8	4	6	12	62
Eucalyptus	282	22	22	20	20	38	404
Gué de Constantine	750	350	120	300	210	200	1930
Heuraoua	120	230	282	219	310	230	1391
Khraissia	40	28	50	42	32	48	240
Kouba	0	0	0	0	0	0	0
Mahelma	340	20	20	10	85	100	575
Ouled Chebel	550	5	15	5	40	50	665
Ouled Fayet	300	350	50	200	50	50	1000
Rahmania	390	25	10	15	90	110	640
Reghaia	935	170	122	78	148	195	1648
Rouiba	1120	230	245	100	120	240	2055
Saoula	50	15	30	30	50	90	265
Sidi Moussa	85	25	26	23	41	27	227
Souidania	90	6	10	5	20	25	156
Staoueli	250	20	15	10	70	80	445
Tessala El Merdja	165	4	15	3	12	14	213
Zeralda	140	6	5	6	30	20	207

Total général	8755	2034	2044	1863	2380	2455	19531
------------------	------	------	------	------	------	------	-------

**Annexe 6 : Copie du questionnaire**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE-ALGER**

**Étude de la réponse sérologique vis-à-vis de *T. gondii* et *N. caninum* chez une population ovine de la région Est d'Alger**

Date : .....

Nom de l'éleveur : .....

Adresse : .....

N°Tél : .....

Nom du vétérinaire traitant : .....

**Renseignements concernant l'exploitation**

1. agréé : oui  non

2. Effectif total :

3. Nombre d'ovins :

4. Nombre de brebis gestantes :

5. Élevage intensif ou extensif ?

6. État d'hygiène de la ferme : Bon  Moyen  Mauvais

7. Présence d'autres animaux dans la ferme : oui  non

8. Si oui lesquels :

9. Contact direct des chats et chiens avec les ovins : oui  non

10. Y a-t-il des problèmes d'avortements dans l'exploitation ?

11. Si oui donnez le nombre d'avortements enregistré depuis le démarrage de l'exploitation :

12. Les avortements ont lieu généralement en quelle saison ? :

13. Les origines des avortements enregistrés ?

14. Déclaration de l'avortement : oui  non

15. Existence de mortalités néonatales : oui  non

16. Antécédents pathologiques ?

17. Dépistage du cheptel :                      oui                       non

18. Si oui contre quelle maladie ?

19. animaux vaccinés ?

20. Alimentation

**Renseignement concernant la brebis prélevée**

1. Race :

2. Age :

3. État corporel :

4. Brebis : nullipare                       primipare                       multipare

5. Mode de reproduction : Saillie naturelle                       Insémination artificielle

6. Age de la brebis à la première saillie ?

7. Age de la brebis au premier vêlage ?

8. Vaccinée :            oui                       non

9. Si oui contre quelle maladie :

10. Est-ce que cette brebis a déjà avortée ?                      oui                       non

11. Si oui, cause de l'avortement selon l'éleveur :

Selon le vétérinaire :

12. Stade de gestation au moment de l'avortement : précoce  mi- gestation

Fin de gestation

13. Combien de fois a-t-elle avortée ?

14. Devenir de l'avorton et les membranes fœtaux ?

15. Les chats, les chiens sont-t' ils en contact avec l'avorton ?

**Annexe 7 : Données individuelles des brebis prélevées**

<b>Code brebis</b>	<b>Race</b>	<b>Parité</b>	<b>Gestation</b>	<b>Stade de gestation</b>	<b>Avortement</b>
REG1	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG2	Ouled Djellal	P	1	DG	1
REG3	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG4	Ouled Djellal	P	1	DG	1
REG5	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG6	Ouled Djellal	M	1	DG	0
REG7	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG8	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG9	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG10	Ouled Djellal	M	1	DG	1
REG11	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG12	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG13	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG14	Ouled Djellal	M	1	DG	1
REG15	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG16	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG17	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG18	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG19	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG20	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG21	Ouled Djellal	M	1	DG	1
REG22	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG23	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG24	Ouled Djellal	M	1	FG	1
REG25	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG26	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG27	Ouled Djellal	M	1	DG	1
REG28	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG29	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG30	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG31	Ouled Djellal	P	1	DG	1
REG32	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG33	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG34	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG35	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG36	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG37	Ouled Djellal	M	0	0	1
REG38	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG39	Ouled Djellal	P	1	FG	1
REG40	Ouled Djellal	P	1	DG	1
REG41	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG42	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG43	Ouled Djellal	M	0	0	0

REG44	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG45	Ouled Djellal	N	1	DG	0
REG46	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG47	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG48	Ouled Djellal	M	1	DG	0
REG49	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG50	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG51	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG52	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG53	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG54	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG55	Ouled Djellal	P	1	FG	0
REG56	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG57	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG58	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG59	Ouled Djellal	P	0	0	0
REG60	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG61	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG62	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG63	Ouled Djellal	P	0	0	0
REG64	Rumbi	M	0	0	0
REG65	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG66	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG67	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG68	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG69	Ouled Djellal	N	0	0	0
REG70	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG71	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG72	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG73	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG74	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG75	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG76	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG77	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG78	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG79	Ouled Djellal	M	0	0	0
REG80	Ouled Djellal	P	0	0	0
BEF1	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF2	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEF3	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF4	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF5	Ouled Djellal	P	0	0	1
BEF6	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEF7	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF8	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF9	Ouled Djellal	P	0	0	0
BEF10	Ouled Djellal	P	1	DG	1

BEF11	Ouled Djellal	M	1	DG	1
BEF12	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEF13	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF14	Ouled Djellal	P	0	0	0
BEF15	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF16	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF17	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF18	Rumbi	M	0	0	0
BEF19	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF20	Rumbi	P	0	0	0
BEF21	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF22	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF23	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEF24	Ouled Djellal	P	1	DG	0
BEB1	Hamra	M	0	0	1
BEB2	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB3	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB4	Ouled Djellal	P	1	DG	0
BEB5	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB6	Ouled Djellal	N	0	0	0
BEB7	Ouled Djellal	M	1	FG	0
BEB8	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB9	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB10	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB11	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB12	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB13	Ouled Djellal	N	0	0	0
BEB14	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB15	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB16	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB17	Ouled Djellal	N	0	0	0
BEB18	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB19	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB20	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB21	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB22	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB23	Ouled Djellal	P	1	DG	1
BEB24	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB25	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB26	Ouled Djellal	P	1	DG	0
BEB27	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB28	Ouled Djellal	M	0	0	1
BEB29	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB30	Ouled Djellal	M	1	FG	0
BEB31	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB32	Ouled Djellal	N	1	DG	0
BEB33	Ouled Djellal	M	0	0	0

BEB34	Ouled Djellal	M	1	DG	0
BEB35	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB36	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB37	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB38	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB39	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB40	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB41	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB42	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB43	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB44	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB45	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB46	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB47	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB48	Ouled Djellal	P	0	0	0
BEB49	Rumbi	M	0	0	0
BEB50	Rumbi	P	0	0	0
BEB51	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB52	Ouled Djellal	M	1	DG	0
BEB53	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB54	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB55	Ouled Djellal	M	1	DG	0
BEB56	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB57	Ouled Djellal	P	1	DG	0
BEB58	Ouled Djellal	M	1	DG	0
BEB59	Ouled Djellal	M	0	0	0
BEB60	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER1	Ouled Djellal	M	1	DG	0
HER2	Hamra	M	0	0	1
HER3	Hamra	M	0	0	0
HER4	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER5	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER6	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER7	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER8	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER9	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER10	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER11	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER12	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER13	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER14	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER15	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER16	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER17	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER18	Ouled Djellal	N	1	DG	0
HER19	Ouled Djellal	M	0	0	1
HER20	Ouled Djellal	M	0	0	1

HER21	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER22	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER23	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER24	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER25	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER26	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER27	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER28	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER29	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER30	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER31	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER32	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER33	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER34	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER35	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER36	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER37	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER38	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER39	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER40	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER41	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER42	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER43	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER44	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER45	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER46	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER47	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER48	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER49	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER50	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER51	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER52	Ouled Djellal	N	0	0	0
HER53	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER54	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER55	Ouled Djellal	M	0	0	0
HER56	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI1	Ouled Djellal	P	0	0	1
ROUI2	Ouled Djellal	P	0	0	1
ROUI3	Ouled Djellal	P	0	0	0
ROUI4	Ouled Djellal	P	0	0	0
ROUI5	Ouled Djellal	P	0	0	0
ROUI6	Ouled Djellal	P	0	0	0
ROUI7	Ouled Djellal	P	0	0	1
ROUI8	Ouled Djellal	P	0	0	0
ROUI9	Ouled Djellal	M	0	0	1
ROUI10	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI11	Ouled Djellal	M	0	0	1

ROUI12	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI13	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI14	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI15	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI16	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI17	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI18	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI19	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI20	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI21	Ouled Djellal	M	0	0	1
ROUI22	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI23	Ouled Djellal	M	0	0	1
ROUI24	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI25	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI26	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI27	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI28	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI29	Ouled Djellal	M	0	0	0
ROUI30	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA1	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA2	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA3	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA4	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA5	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA6	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA7	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA8	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA9	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA10	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA11	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA12	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA13	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA14	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA15	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA16	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA17	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA18	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA19	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA20	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA21	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA22	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA23	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA24	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA25	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA26	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA27	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA28	Ouled Djellal	M	0	0	0

ATA29	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA30	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA31	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA32	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA33	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA34	Ouled Djellal	M	0	0	1
ATA35	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA36	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA37	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA38	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA39	Ouled Djellal	M	0	0	0
ATA40	Ouled Djellal	M	0	0	0