



Composition du jury :

- Promoteur : Melle F. GHALMI, chargée de cours ENV-Alger
- Président : Mme N. AZZAG, chargée de cours ENV-Alger
- Examineur : Melle K. AIT OUDIA, maître assistante ENV-Alger
- Examineur : Melle N. BENYAHIA, maître assistante ENV-Alger

Année universitaire : 2004/2005

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية
الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم والعلم والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE -ALGER

المدرسة الوطنية البيطرية

PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
DOCTEUR VETERINAIRE

Neospora caninum et la néosporose

Aspects épidémiologiques et prévalence

Presenté par Melle BELKAHLA NOURA
Soutenu le 23/06/2005

Composition du jury :

- Promoteur : Melle F. GHALMI, chargée de cours ENV-Alger
- Président : Melle K. AIT OUDIA, maître assistante ENV-Alger
- Examineur : Mme N. AZZAG, chargée de cours ENV-Alger
- Examineur : Melle N. BENYAHIA, maître assistante ENV-Alger

Année universitaire : 2004/2005

DEDICACES

A mes adorables parents, pour leur très grande patience, leur compréhension, leur soutien et leur amour.

A mes frères et mes sœurs pour leur aide.

A ma meilleure amie HANAN et sa famille.

A celles et ceux qui me connaissent de près ou de loin surtout ASSIA.

REMERCIEMENTS

Mes plus vifs remerciements vont tous d'abord :

A ma promotrice Melle GHALMI Farida pour ses conseils et aide durant toute l'année pour la réalisation de ce travail.

Tous mes enseignants de L'Ecole Nationale Vétérinaire pour les efforts fournis durant ces cinq années de formation.

Aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidées et soutenues tout le long de mon travail.

Tables des matières

Résumé

Introduction..... 1

Neospora caninum et la néosporose : synthèse bibliographique..... 3

I. L'agent étiologique et son cycle de vie..... 4

1. Classification du parasite..... 4

2. Structure et biologie..... 5

2.1. Morphologie et structure..... 5

2.2. Cycle évolutif de *N. caninum*..... 8

2.3. Hôtes de *Neospora caninum*..... 10

2.4. Culture *in vitro*..... 10

II. Epidémiologie et Prévalence..... 11

1. Prévalence et répartition géographique..... 12

A. Néosporose canine..... 12

B. Néosporose bovine..... 13

2. Source de parasite..... 15

3. Modes de transmissions..... 16

A. Une transmission verticale..... 16

B. Une transmission horizontale..... 16

4. Facteurs de réceptivité et de sensibilité..... 17

A. Chez le chien..... 17

B. Chez les bovins 19

III. Tableau clinique et lésionnel..... 21

1. Pathogénie..... 21

2. Pathologie..... 21

A. Chez le chien..... 21

B. Chez les bovins..... 25

3. Lésions..... 26

IV. Diagnostic	27
1. Chez le chien.....	27
A. Diagnostic clinique et différentiel.....	27
B. Diagnostic de laboratoire.....	27
2. Chez les bovins.....	29
A. Diagnostic clinique et différentiel.....	29
B. Diagnostic de laboratoire.....	29
V. Les approches thérapeutiques.....	32
VI. Prophylaxie et contrôle.....	34
V II. Impact zoonotique de la néosporose.....	35
VIII. Impact économique de la néosporose	35
IX. Références bibliographiques.....	36

RESUME

Neospora caninum est un protozoaire appartenant au groupe des coccidies, il est très proche sur le plan structural de *Toxoplasma gondii*. La néosporose est le nom de la maladie causée par *Neospora caninum*.

Ce parasite a été à l'origine décrit chez le chien chez qui il est responsable de paralysie, d'atteintes neurologiques sévères et de mortalité. Le chien est l'hôte définitif de ce nouveau protozoaire, il a un rôle important dans la dissémination de la maladie chez les bovins qui sont les hôtes intermédiaires avec d'autres espèces animales. L'infestation des bovins se fait après l'ingestion des oocystes éliminés par le chien à la suite d'une phase sexuée du parasite dans le tube digestif de ce dernier.

le seul signe clinique chez les bovins adultes est l'avortement . chez le veau , des troubles neuromusculaires sont observés à la naissance. Toute fois , le veau peut naître cliniquement sain mais reste toujours porteur chronique.

A l'heure actuelle, la néosporose est considérée, chez le bétail, comme une cause majeure d'avortement.

A la différence de *T. gondii* la transmission transplacentaire de *Neospora caninum* persiste pendant plusieurs générations.

Ce présent travail consiste à faire une présentation détaillée d'un nouveau parasite qu'est *Neospora caninum* par une synthèse bibliographique en se basant principalement sur les aspects épidémiologiques et prévalence.

Mots clés : *Neospora caninum*-néosporose-chien-bovin

SUMMARY

Neospora caninum is a protozoon pertaining to the group of the coccidies, it is very close on the structural level to *Toxoplasma gondii*. The neosporosis is the name of the disease caused by *Neospora caninum*.

This parasite in the beginning was described in the dog in which it is responsible for paralysis, of severe neurological attacks and of mortality. The dog is the final host of this new protozoon; he has a significant role in the dissemination of the disease at the bovines which are the intermediate hosts with other animal species. The infestation of the bovines is done after the ingestion of the oocysts eliminated by the dog following a phase sexuée from the parasite in the digestive tract from this last.

The only clinical sign at the adult bovines is the abortion. In calf, disorders neuromusculaires are observed with the birth. Any time, the calf can naitre clinically healthy but remains always carrying chronicle.

At present, the neosporosis is considered, in the cattle, as a major cause of abortion.

With the difference in *T gondii* the transmission transplacentaire of *Neospora caninum* persists during several generations.

This present work consists in making a detailed presentation of a new parasite which is *Neospora caninum* by a bibliographical synthesis while basing itself principalement on the epidemiologic aspects and prevalence.

Key words: Caninum-neosporosis-dog-bovine Neospora

Introduction

Neospora caninum est un protozoaire intracellulaire de la classe des *Apicomplexa*, essentiellement responsable d'avortement chez les bovins et d'une pathologie neuromusculaire chez l'espèce canine.

Ce parasite a été observé pour la première fois en 1984 par Bjerkas et son équipe qui décrirèrent chez six chiots de race Boxer atteints de parésie et d'ataxie, un protozoaire morphologiquement très voisin de *Toxoplasma gondii* agent de toxoplasmose. Malgré de nombreuses similitudes tant sur le plan morphologique que lésionnel entre *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii*, l'absence d'anticorps dirigés contre ce dernier semble indiquer l'intervention d'un nouveau protozoaire parasite.

En 1988, Bjerkas et Presthus tentèrent d'identifier ce protozoaire énigmatique en utilisant l'immunohistochimie ainsi que la microscopie photonique et électronique. Ils démontrèrent l'existence de différences antigéniques et ultrastructurales entre ce parasite et *Toxoplasma gondii*.

La même année, Dubey et ses collègues aux USA, au cours d'une étude rétrospective, examinèrent des échantillons tissulaires de 30 chiens qui étaient morts entre 1947 et 1987 avec un diagnostic présumé de toxoplasmose. Chez certains de ces animaux, la présence d'un parasite semblable à celui décrit par Bjerkas et son équipe a été identifié. Le parasite est alors différencié des autres sporozoaires sur base des différences ultrastructurelles et antigéniques et est dénommé *Neospora caninum* (Dubey et al., 1988a).

Par la suite, Dubey et al., 1988b, sont parvenus à isoler le parasite, le cultiver in vitro et réaliser ainsi l'infection expérimentale chez la souris et le chien. Divers outils de diagnostic spécifiques (tests immunohistochimique et sérologique) ont pu être développés pour mettre en évidence les anticorps anti-*Neospora caninum* (Lindsay et Dubey, 1989).

En 1989, Thilsted et Dubey observent chez plusieurs avortons provenant d'une même exploitation bovine des lésions d'encéphalite et de myocardite non nécrosante associées à la présence de *Neospora caninum*.

Le parasite est ensuite identifié au sein de nombreux avortons bovins (Anderson et al., 1991 ; Barr et al., 1991) mais aussi chez des veaux morts- nés (Dubey et al., 1990) et chez des veaux présentant divers troubles nerveux (Dubey et al., 1989).

Actuellement, *Neospora caninum* a été identifié dans de nombreux pays, il est considéré comme un agent important d'avortement chez les bovins en Californie, en Nouvelle-Zélande et en Hollande (Anderson et al., 2000).

L'objectif de ce présent travail est de faire une synthèse bibliographique sur la néosporose tout en mettant l'accent sur les aspects épidémiologiques et prévalence de cette nouvelle pathologie à travers le monde.

NEOSPORA CANINUM ET LA NEOSPOROSE

Synthèse bibliographique

I. Agent étiologique et son cycle de vie

1) Classification du parasite

Neospora caninum est un protozoaire intracellulaire. De par ses caractères morphologiques et biologiques, il se range au sein du phylum des *Apicomplexa*.

Les Apicomplexa sont des parasites intracellulaires possédant tous un appareil apical complexe visible en microscopie électronique.

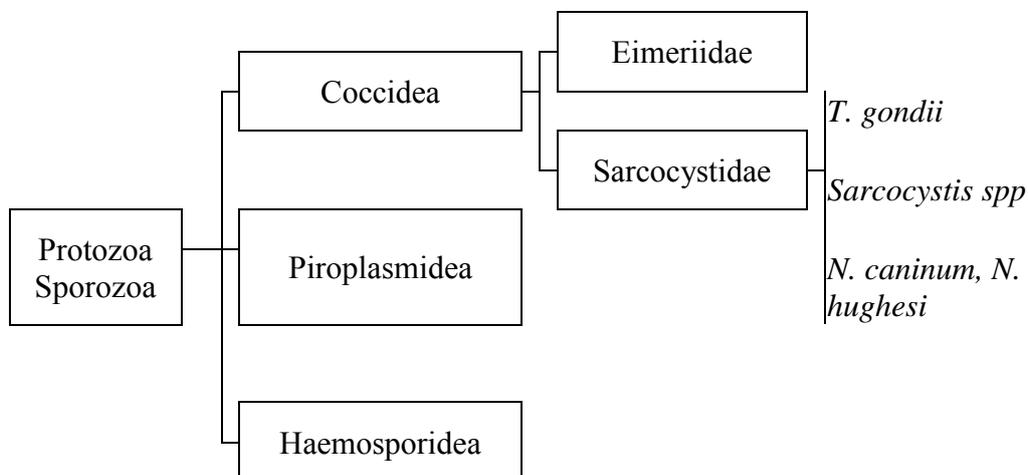
L'existence de kystes au sein du tissu nerveux de l'animal rapproche *N. caninum* de la famille des Sarcocystidae (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Le parasite a donc été placé dans la famille des Sarcocystidae, sous famille Toxoplasmatinae avec les genres *Toxoplasma* sp, *Hammondia* sp et *Besnoitia* sp.

Outre l'espèce *N.caninum*, le genre *Neospora* contient une seconde espèce, *Neospora hughesi*, isolée à partir du cheval (Marsh et al., 1998 ; 1999).

La position taxonomique de *Neospora* sp a souvent été remise en question notamment vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* et de *Hammondia heydorni*. Néanmoins, des différences morphologiques (essentiellement ultrastructurales) et l'absence de réaction sérologique croisée avec *T.gondii* (Dubey et al., 1988a) ainsi que l'utilisation des techniques de biologie moléculaire ont confirmé que *Neospora* sp constituait bien un genre indépendant (Ellis et al., 1994 ; Marsh et al., 1995 ; Mugridge et al., 1999) mais aussi que *N.caninum* et *N.hughesi* constituaient deux espèces différentes (Holmdahl et al., 1996 ; Marsh et al., 1999 ; Walsh et al., 2001).

La position taxonomique de *Neospora caninum* est la suivante :



2) Structure et biologie :

2-1- Morphologie et structure :

Plusieurs stades du cycle biologique de *N.caninum* ont été décrits à savoir le tachyzoïte, le kyste tissulaire et l'oocyste.

➤ Les tachyzoïtes :

Le tachyzoïte est doué d'un pouvoir élevé de multiplication et est considéré comme la forme pathogène du parasite. Il se présente sous la forme d'un organisme ovoïde ou en forme de croissant mesurant 3 à 7 microns de long sur 1 à 5 microns de large. Il se multiplie par endodyogénie ;

En microscopie électronique, les principaux organites observés sont les microtubules, les deux anneaux apicaux, le conoïde, l'anneau polaire, les micronèmes, les rhoptries, les mitochondries, le noyau, le nucléole, l'appareil de golgi et le réticulum endoplasmique lisse et rugueux.

Chez l'animal infecté, les tachyzoïtes se retrouvent dans de nombreux types cellulaires : cellules nerveuses, macrophages, fibroblastes, cellules endothéliales vasculaires, myocytes, cellules rénales tubulaires et hépatocytes (Dubey et al., 1988 ; Speer et Dubey, 1989).

Le tachyzoïte pénètre activement dans la cellule cible ; ce processus, très rapide, est complété en moins de cinq minutes (Hemphill et al., 1996). Parfois, les tachyzoïtes sont très nombreux par cellule (jusqu'à 100 tachyzoïtes dans un seul plan de section) dans une vacuole parasitophore (parfois plusieurs vacuoles parasitophores par cellule).



Fig 1 : Tachyzoïtes de *N. caninum* (Dubey,1999)

➤ **Les kystes tissulaires à bradyzoïtes :**

Les kystes tissulaires sont arrondis ou ovoïdes et peuvent atteindre une centaine de microns de diamètre. La paroi du kyste lisse et épaisse est dépourvue de septa. Elle peut atteindre 4 microns d'épaisseur alors que la paroi du kyste de *T. gondii* a une épaisseur inférieure à un micron. Elle se colore plus ou moins bien au PAS et est argentophile (Dubey, 1993).

Le kyste contient un grand nombre de bradyzoïtes minces et allongés, 7 X 2 microns, ayant une structure voisine de celle des tachyzoïtes quoiqu'un peu différente (rhoptries moins nombreuses et granules plus abondants).

Les kystes tissulaires de *N.caninum* ont été principalement observés dans le tissu nerveux (cerveau, moelle épinière, nerfs et rétine). Dernièrement des kystes ont également été observés dans des muscles chez le bovin (Peters et al., 2001).



Fig 2 : Kystes à bradyzoïtes de *N. caninum* (Dubey, 1999)

➤ **Les Oocystes :**

Une forme arrondie de petite taille (10x11microns) ; émis non sporulés dans les excréments de l'hôte définitif (chien), contenant une masse granuleuse. Après sporulation dans le milieu extérieur en 24 heures (Lindsay et al., 1999), l'oocyste contient deux sporocystes avec chacun quatre sporozoïtes (oocyste de type Isospora).

Les oocystes de *Neospora caninum* sont indistinguables de ceux de *Hammondia heydorni* retrouvés dans les fèces de chien, et de ceux de *Toxoplasma gondii* et de *Hammondia Hammondi* excrétés par le chat.



Fig 3 : Oocystes de *N.caninum* apres sporulation (Mc Allister, 1998)

2.2. Le cycle biologique de *N.caninum* :

Malgré le parallèle qui était envisagé avec la toxoplasmose, le cycle de *N.caninum* est demeuré longtemps inconnu. Parmi les modes de transmission, seule la voie transplacentaire fut rapidement démontrée. Actuellement, on connaît grandes étapes du cycle évolutif qui se confirme être de type coccidien (Marquer, 1999).

Le cycle parasitaire de *N. caninum* fait intervenir deux hôtes : un hôte définitif où à lieu la reproduction sexuée ; jusqu'à présent seul le chien a été identifié jouant un tel rôle (Mc Allister et al., 1998 ; Lindsay et al., 1999) et un hôte intermédiaire, siège de la multiplication asexuée d parasite.

➤ **Une phase asexuée chez un hôte intermédiaire (HI) :**

De nombreuses espèces d'hôtes intermédiaires peuvent intervenir, parmi lesquelles le chien et le bovin (Dubey et Lindsay, 1996 ; Dubey, 1999). Il se produit une multiplication asexuée sous forme de tachyzoïtes, que l'on trouve dans de multiples cellules et qui provoquent des lésions tissulaires par nécrose. Par la suite, sous l'influence de la réponse immunitaire de l'hôte, apparaît la forme bradyzoïte, à multiplication lente, localisée dans des kystes intracellulaires au sein du tissu nerveux.

➤ **Une phase sexuée chez un hôte définitif (HD) :**

Le chien est l'hôte définitif qui permet, dans son tube digestif, la reproduction sexuée de *N. caninum*, aboutissant au rejet d'oocystes coccidien non sporulés dans les selles. Ce rôle du chien en tant qu'hôte définitif n'a été démontré que très récemment en 1998 (Mc Allister et al., 1998) et confirmé par (Lindsay et al., 1999).

Le chien joue donc le rôle à la fois d' HI et d' HD pour *N. caninum*. Les rares et récentes publications sur le sujet font état d'une émission d'oocystes pendant cinq jours après l'infection des chiens par ingestion de kystes tissulaires, et d'une durée d'excrétion d'une dizaine de jours (Mc Allister et al., 1998 ; Lindsay et al ., 1999).

Parmi les autres carnivores hôtes définitifs potentiels, le chat ne semble pas intervenir. Cependant, ces expérimentations méritent d'être renouvelées , et des essais plus poussés méritent d'être entrepris chez les canidés sauvages , tels le renard , le coyote ou le dingo, qui sont fréquemment infectés comme le montrent les études sérologiques (Mc Allister et al., 1999).

➤ Une phase de sporulation dans le milieu extérieur:

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

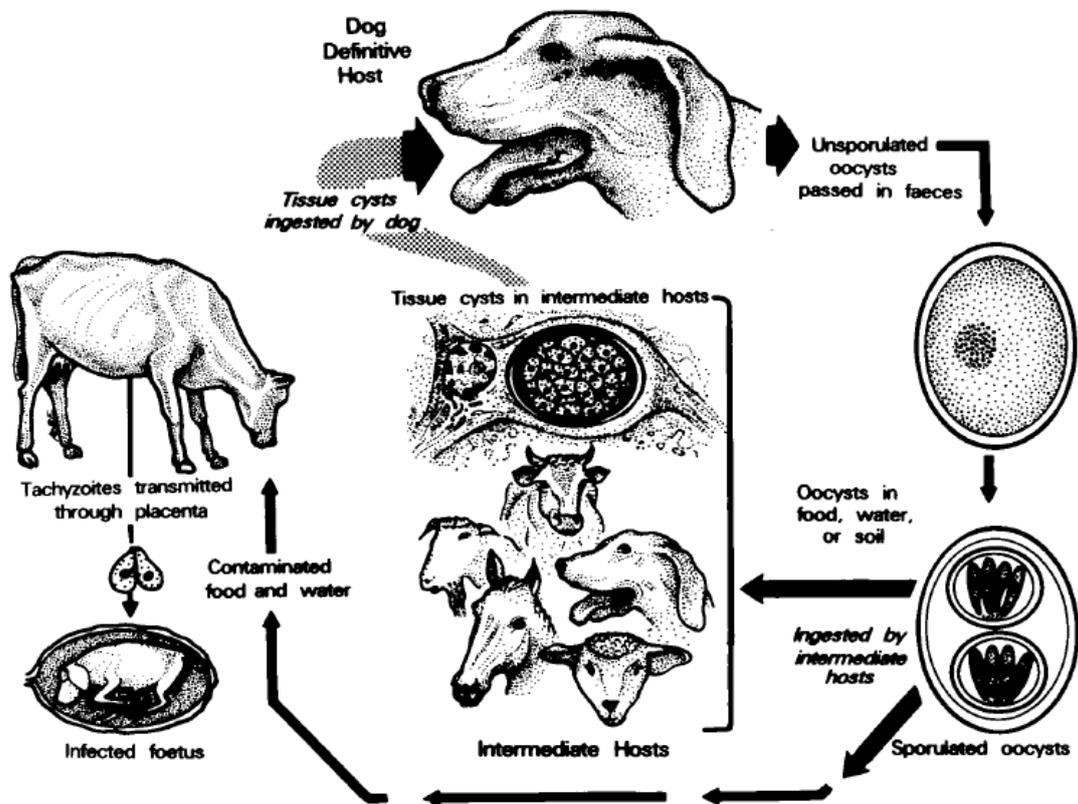


Fig. 1. Life-cycle of *Neospora caninum*.

Fig 4 : Cycle biologique de *N. caninum* (d'après Dubey, 1999)

2.3. Espèces affectées

N.caninum a été identifié et parfois isolé chez de nombreuses espèces animales. Les premiers cas d'infections naturelles ont été décrits chez le chien ; depuis *N.caninum* a été identifié chez les bovins, les ovins (Dubey et al., 1990a), les caprins (Barr et al., 1992 ; Dubey et al., 1996), le cheval (Dubey et Porterfield, 1990 ; Marsh et al., 1996 ; 1998) et certains animaux sauvages comme le cerf à queue noire (Woods et al., 1994) ou le rhinocéros (Williams et al., 2002). En outre, la présence d'anticorps spécifiques anti-*N. caninum* a été mise en évidence chez le buffle d'eau, le coyote, le renard roux et chez le chameau, ce qui suggère que ces animaux pourraient être aussi des hôtes intermédiaires (Lindsay et al., 1996 ; Simpson et al., 1997 ; Dubey et al., 1998, Hilali et al., 1998 ; Almeria et al., 2002).

De nombreuses espèces sont réceptives à l'inoculation expérimentale des tachyzoïtes de *N.caninum* : la souris (Dubey et al 1988), le rat (Dubey et al., 1996), le chien (Dubey et Lindsay 1989), la chèvre (Lindsay et al., 1995), le chat (Dubey et Lindsay 1989), le mouton (Dubey et Lindsay, 1990), le coyote américain (Lindsay et al., 1995a), la gerbille (Dubey et Lindsay 2000), le lapin et le bœuf (Dubey et al., 1992). Ils présentent une réceptivité variable en fonction de la souche parasitaire utilisée, de l'administration éventuelle d'agents immunodépresseurs, de la voie d'inoculation et, en cas de néosporose congénitale, du moment de la gestation.

2.4. Culture *in vitro* :

La culture *in vitro* des tachyzoïtes de *N.caninum* a été réalisée pour la première fois en 1989 par Dubey et Lindsay sur des monocytes et des cellules endothéliales vasculaires bovines. Depuis, la culture a été réalisée sur de nombreuses lignées (Madin-Darby bovine Kidney fibroblastes humains, cellules véro). La formation de kystes et par conséquent de bradyzoïtes n'a pas été observée *in vitro*. En revanche, les tachyzoïtes produits de cette manière sont infectieux même après huit années de passages continus. La cryopréservation ne pose aucun problème particulier ; les techniques utilisées pour *T.gondii* sont applicables. La culture *in vitro* s'accompagne d'un effet cytopathogène observé *in vivo* et explique sans doute, du moins en partie, les lésions observées au niveau du système nerveux central et des autres tissus (Losson et Bourdoiseau, 2000).

II. Epidémiologie et prévalence

1) Prévalence et répartition géographique :

A. Néosporose canine :

La néosporose à *N.caninum* a été décrite chez le chien dans de très nombreux pays (Dubey et Lindsay ,1996 ; Barber et al., 1997 ; Dubey, 1999). La prévalence de l'infection semble plus élevée chez les chiens vivant en milieu rural que ceux vivant en ville (Sawada *et al.*, 1998 ; Wouda *et al.*, 1999b).

De nombreux cas ont été décrits en Amérique du nord et en Europe (Allemagne, Belgique, France, Grande -Bretagne, Pays-Bas, Irlande, Italie, Norvège, Suède). Quelques cas sont également observés en Amérique du sud, en Afrique du sud, en Australie et au Japon. Plusieurs enquêtes sont menées pour évaluer la séroprévalence de l'infection par *N.caninum* chez le chien. La première enquête réalisée dans les Etat de Kansas en 1990, a révélée une séroprévalence de 2, 2% de *N. caninum* contre 25% pour *T.gondi* (Lindsay et al.,1990). L'enquête réalisée pour des chiens de la ville de Liverpool en 1993, a montrée que 16.6% des animaux présentaient un titre, en immunofluorescence indirecte, supérieur à 1/50 et 12.9% un titre supérieur à 1/200, aucun des animaux examinés (même ceux chez les quels les titres étaient les plus élevés) ne présentaient des symptômes évocateurs de Néosporose (Trees et al., 1993). Des prévalences comparables sont rapportés dans d'autres pays européens : 15.3% au Danemark (Rasmussen et Jensen , 1996) et 11% en Belgique (Barber et al., 1997). En Suède une prévalence très faible de 0.05%, a été retrouvée par le test ELISA (Bjorkman et al.,1994). Une étude plus généralisée réalisée en 1997 (Barber et al.,1997) a permis de comparer la séroprévalence entre des pays de quatre continents différents et entre des villes d'un même pays , les valeurs obtenus s'échelonnent de 0% (chiens vivants en Kenya ou sur les îles Falkland) à plus de 20% (chiens vivants en Uruguay ou Tanzanie) l'une des conclusions les plus intéressantes de cette étude est qu'il semble exister un rapport entre la densité de bovins présents dans la région et la séroprévalence chez les chiens (Guillot et al., 2000). En effet, la prévalence de l'infection semble plus élevée chez les chiens vivant en milieu rural que ceux vivant en ville (Sawada et al., 1998 ; Wouda et al., 1999).

B. Néosporose bovine :

Outre son caractère pathogène chez le chien, *N. caninum* est considéré, à l'heure actuelle, comme agent important d'avortement chez les bovins dans plusieurs régions du globe. L'infection par *N. caninum* a été observée dans de très nombreux pays et sur tous les continents sauf l'Océanie (Dubey, 2003a). Ces avortements à *N. caninum* sont signalés de manière formelle en Europe, Scandinavie, Afrique du sud, Moyen-Orient, Australie, Nouvelle Zélande et les Amériques. Dans la plus part de ces pays, l'examen par immunohistochimie des tissus d'avortons a permis de visualiser le protozoaire (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Des enquêtes séroépidémiologiques ont été menées dans plusieurs pays : France, Grande Bretagne, Espagne, Italie, Pays Bas, et USA (voir résultats des enquêtes sérologiques et histologiques réalisées sur des bovins (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Au sein des exploitations, le pourcentage d'animaux séropositifs peut être très élevé, atteignant 70% et plus (Paré *et al.*, 1996 ; Thurmond *et al.*, 1997 ; Wouda *et al.*, 1999a ; Sanderson *et al.*, 2000).

Tableau n° 1 : Résultats des enquêtes sérologiques effectuées en France chez les bovins.

Etude	Nombre de sérums analysés	Pourcentage de sérums positifs
Klein <i>et al.</i> , 1997	575	26
	219	14
Journel <i>et al.</i> , 2000	179	16
	59	45
	68	15
	895	26

Sérums provenant d'animaux ayant avorté ou qui sont élevés dans des exploitations au sein des quelles l'avortement est important. Tous les sérums sont analysés selon la méthode ELISA.

Tableau n° 2 : Résultats des enquêtes sérologiques effectuées chez les bovins (Losson, et Bourdoiseau, 2000)

Etude	Pays	Nombre de sérums analysés	% de sérums positifs	Méthode utilisée
Davision et al., 1999	UK	4295	17	ELISA
Trees et al., 1994	Ecosse	120	9	IFI
Pare et al., 1999	Québec	3059	17	ELISA
Mainar-Jame et al., 1999	Espagne	889	31	ELISA
Magnino et al., 1999	Italie	5912	24	IFI

IFI : Immunofluorescence Indirecte.

ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay.

Tableau n° 3 : Résultats d'analyses histologiques à partir d'avortons chez les bovins
(Losson, et Bourdoiseau, 2000)

Etude	Pays	Nombre d'avorton analysé	% de sérums positifs	Méthode utilisée
Otter et al., 1995	UK	190	4	IHC
Gongalez et al., 1999	Espagne	63	51	I, IHC, IFI
Wouda et al., 1994	PAYS-BAS	2184	18	IHC
Anderson et al., 1995	USA	698	24	IHC

2) source de parasite :

Comme pour tout carnivore réceptif à *Neospora caninum*, les sources de parasites sont représentées, chez le chien, par les multiples hôtes intermédiaires, proies potentielles qui hébergent des kystes tissulaires à bradyzoïtes infectants. Les oocystes sporulés issus de la reproduction sexuée dans le tube digestif du chien peuvent également être des éléments infectants, même si cela n'a jamais été formellement prouvé dans cette espèce. Par ailleurs, il a été démontré expérimentalement, que ces oocystes peuvent donner la maladie chez le veau ; ceci dit qu'une infection, à partir des aliments ou d'eau souillés par les matières fécales des chiens infectés, est possible (Guillot, 2000).

L'existence de réservoirs constitués par d'autres animaux domestique ou sauvages a également été suggérée, dans la mesure où des cas de néosporose, naturelle ou induite expérimentalement, ont été rapportés chez un certain nombre d'espèces : chèvre, chevaux, cerfs, rongeurs, chats et mouton (Dubey et Lindsay, 1996 ; Dubey

3) Modes de transmission :

Trois modes de transmission ont été décrits depuis la confirmation du rôle du chien comme hôte définitif (Mac allister et al., 1998)

a. Une transmission verticale :

La voie transplacentaire, semble être la plus prédominante, et s'explique par le passage du protozoaire à travers le placenta de la mère au fœtus. Ceci a été reconnu d'abord chez la chienne et la vache, dans les conditions naturelles, puis chez la chèvre, la jument et la brebis, et est induite expérimentalement chez la brebis, la chèvre, la souris, la chienne, la chatte, le singe, et le porc (Dubey, 1999) ; l'induction de la néosporose congénitale s'effectue par inoculation sous cutanée ou intramusculaire de tachyzoïtes en culture aux femelles gestantes (Chermette et Marquer, 2000).

Chez le chien, l'efficacité de cette transmission transplacentaire, ou autrement dit le risque qu'un chiot issu d'une chienne infectée naisse lui-même infecté, est encore mal connue.

Des chiots d'une même portée (à risque) ont été suivis sur plusieurs mois; ils ne sont généralement pas tous séropositifs et des signes cliniques apparaissent chez certains chiots, mais pas toujours au même âge (Mayhew et al., 1991). Contrairement à la toxoplasmose génitale, la transmission verticale de la néosporose persiste pendant plusieurs gestations (Guillotetal.,2000).

Chez les bovins, les taux de transfert de l'infection de la mère au fœtus varie de 81 à 95 selon les études et ce mode se répète de génération en génération (Bourdoiseau et Losson, 2000).

b. Une transmission horizontale :

➤ Par ingestion soit de kystes tissulaires à bradyzoïtes soit de tachyzoïtes ; ce mode a été soupçonné en raison de la mise en évidence de la séroconversion (Barber et Trees,1996) ; et l'augmentation de la séroprévalence avec l'âge des chiens (Wouda et al.,1999), puis il a été démontré expérimentalement chez les chiens en leur faisant ingérer des tissus contenant des kystes à bradyzoïtes. Par ailleurs des veaux ont pu être infectés par voie orale à partir de lait enrichi de tachyzoïtes, et un passage galactophore a été démontré chez le souriceau à partir de la mère inoculée par des tachyzoïtes en sous cutanée (Cole et al., 1995). En revanche, une transmission par voie vénérienne n'a jamais été retenue (Dubey et al.,1998).

➤ Par ingestion d'oocystes sporulés de *Neospora caninum* d'origine canine : cette modalité a été démontré expérimentalement chez la souris de laboratoire (McAllister et al., 1998) et chez le veau (De Marez et al, 1999). Donc l'hypothèse d'une infection des bovins par voie orale à partir des aliments ou d'eau souillée par des oocystes sporulés, est possible, et peut expliquer l'apparition de néosporose dans un troupeau d'herbivores jusque là indemne (Guillot et al.,2000)

4) Facteurs de réceptivité et de sensibilité:

a) Chez le chien:

➤ Facteurs intrinsèques:

La race:

Les chiens de race pures semblent plus souvent atteints que les croisés (Guillot et al., 2000), la plupart des cas sont rapportés chez des chiens de race Labrador, Golden, Retriever, Boxer, Grey Hound et Basset Hound (Ruehlmann et al., 1995 ; Barber et Trees,1996 ; Dubey et Lindsay,1996 ; Sheahan et al.,1998) , mais cette prédisposition reste à discuter, du fait qu'elle peut être simplement due à la popularité de certaines races dans le pays ou les cas de néosporose sont déclarés, en plus il est certain que cette maladie est souvent diagnostiquée chez les chiens de race, en raison de la sensibilité des propriétaire, et de l'importance du diagnostic différentielle avec d'autres affection neurologiques congénitale.

L'âge :

L'âge est un facteur important, lié à la fréquence d'apparition des signes cliniques et à leur nature. La néosporose est avant tout une maladie neurologique des chiots (Guillot et al.,2000), les signes cliniques peuvent survenir dès les premiers jours après la naissance mais la majorité des cas sont observés entre la quatrième et la dixième semaine (Ruehlmann et al.,1995 ; Barber et Trees,1996). La néosporose chez l'adulte est avec des symptômes atypique, en particulier cutanée.

L'hypothèse d'une immunodépression lié a l'âge a été évoquer, mais on sait pas encore si les cas observés chez l' adulte sont dues à une primo-infection ou à une simple réactivation des kystes à bradyzoites (Dubey et al., 1995).

Le sexe:

Le sexe ne semble pas être un facteur prédisposant à la néosporose canine, une enquête épidémiologique récente indique toutefois une séroprévalence significativement plus forte chez les femelles que chez les mâles (Wouda et al.,1999).

➤ **Facteurs extrinsèques:**

Les facteurs immunodépressifs :

L'administration de glucocorticoïdes est rendue responsable de l'apparition de signes cliniques de néosporose chez un chien Basset hound âgé de dix ans (Hoskins et al.,1991). Expérimentalement, une corticothérapie à dose immunosuppressive est suffisante pour induire une atteinte généralisée mortelle chez le chien et le chat, en plus une vaccination du chiots, en particulier celle contre la maladie de carré, est incriminée comme facteur déclenchant des signes cliniques (Sherhan et al. , 1998).

L'alimentation :

Aucune relation entre la séropositivité et la consommation habituelle de viande fraîche ou d'abats n'a pu être établie (Trees et al., 1993).

Les régions du monde où l'élevage bovin est le plus répandu correspond toutefois à celle où la séroprévalence chez les chiens est la plus forte (Barber et al.,1997). Une enquête Nord-Américain récente a en outre établi que les chiens de ferme sont significativement plus souvent porteurs d'anticorps *Anti-Néospora* que des chiens vivants en ville (23,6 contre 5,5) (Wouda et al.,1999), donc il semble exister une corrélation entre la séroprévalence des chiens et celle des bovins élevés dans une ferme.

b) Chez les bovins:

➤ Facteurs intrinsèques :

L'âge :

Le risque abortif chez un animal séropositif semble diminuer avec le nombre de vêlages, mais ces données sont à prendre avec prudence, car la réforme prématurée des vaches après un avortement pourrait constituer un biais important (Losson et Bourdoiseau, 2000).

La race:

Aucune prédisposition raciale n'a été mise en évidence; cependant une différence est observée dans certains pays , comme l'Espagne, entre la séroprévalence de la maladie chez le bétail laitier 35,9 et allaitant 17,9 (Quintanilla - Gozalo et al., 1999).

Stade physiologique :

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

➤ Facteurs extrinsèques :

Présence du chien :

Plusieurs études épidémiologiques ont attiré l'attention sur le rôle épidémiologique du chien comme hôte définitif de la néoosporose ; par exemple, en France et en Espagne, on révèle une association positive entre la séroprévalence chez le bétail et la présence de chiens au sein des élevages (Ouled Amrouch et al., 1999 ; Mainar-Jame et al., 1999).

Présence d'autres espèces d'hôtes définitifs :

L'intervention d'autres carnivores n'est pas exclue ; en effet, plusieurs études américaines et européennes montrent une séroprévalence parfois élevée au sein de la population vulpine (Losson, Bourdoiseau, 2000). D'autres données ont révélé une corrélation entre la présence de poulets, de lapins ou de canards et la présence d'anticorps spécifiques et/ou d'avortement chez le bétail (Losson et Bourdoiseau, 2000).

Alimentation :

Plusieurs facteurs liés à l'alimentation sont avancés, sans que l'on puisse réellement connaître leurs rôles:

Une déficience en sélénium.

Une quantité excessive de nitrate.

Présence de mycotoxines sur l'aliment moisiss.

Facteurs immunodépresseurs :

Liés aux maladies intercurrentes, telles que l'infection par le virus de la BVD, l'Herpès virus bovin type 4 (BHV4) ou le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine (IBR), l'infection par actinomyces pyogènes, leptospira hardjo, ou encore le traitement par les corticoïdes.

III. Tableau clinique et lésionnel :

1. Pathogénie :

La pathogénie de la néosporose chez le chien est liée essentiellement à des lésions de méningo-encéphalite et de myosite. Néanmoins, la plupart des organes sont susceptibles d'abriter des lésions ; celles-ci sont fréquemment observées dans le cerveau, le cervelet, le tronc cérébral, les muscles squelettiques et le cœur mais les lésions peuvent également s'observer au sein d'un seul tissu (Dubey *et al.*, 1988a ; Barber et Trees, 1996).

Neospora caninum est un parasite intracellulaire doué d'une multiplication active des tachyzoïtes, qui lui permet une destruction rapide des cellules de l'hôte. Ce parasite peut entraîner des lésions macroscopiques en quelques jours. Les kystes tissulaires intacts n'entraînent aucune réaction de l'hôte, alors que les kystes rompus s'accompagnent de la formation de granulomes (Guillot *et al.*, 2000) .

N.caninum sous forme de tachyzoïte attaque principalement le système nerveux central et périphérique, ainsi que le système musculosequelettique, mais il peut infecter également de multiples autres organes, on observe une atteinte du foie, du poumon, du cœur, de la peau, du pancréas, de l'estomac, des nœuds lymphatiques, de la rate, des yeux, et des surrénales.

2. Pathologie :

a) Chez le chien :

➤ La néosporose du chiot

Les signes neurologiques sont les plus fréquemment observés, ils se manifestent souvent par une paralysie ascendante, d'apparition progressive, qui atteint plus sévèrement les membres postérieurs, cette atteinte débute en premier lieu par une démarche en saut de lapin, puis une répugnance à sauter ou un écartement des membres lors du coucher. Cette parésie peut être uni ou bilatérale, les postérieurs sont tenus en hyperextension dans 50% des cas environ, et le chien présente une position dite du "phoque" qui est très fréquemment observée chez des chiots âgés de moins de 4 mois (Guillot *et al.*, 2000) ; cette hyperextension est probablement due à une atteinte combinée des neurones moteurs et des muscles ce qui conduit à une contracture associée à une fibrose progressive (De Meerschman *et* Losson, 1998). Une ankylose articulaire peut ensuite venir aggraver le tableau clinique, parfois l'animal présente

une amyotrophie localisée ou généralisée et/ou une myalgie (De meerschman et Losson,1998).

D'autres symptômes peuvent être observés chez le chiot :

- Une paralysie de la mâchoire ou impossibilité d'ouvrir la bouche (myosite touchant les masticateurs) qui entraîne en conséquence une difficulté à s'alimenter (Guillot et al.,2000).
- Une dysphagie avec des troubles de déglutition associée ou non à des régurgitations secondaires à un mégaoesophage (Guillot et al.,2000).
- Des troubles de comportement : ataxie, amaurose, crises convulsives ou nystagmus (Guillot et al.,2000).

L'examen neurologique met en évidence une affection de type motoneurone périphérique avec une hypotonie musculaire et des réflexes médullaires parfois diminués, voir même absents, la sensibilité douloureuse est toujours conservée (Guillot et al., 2000).

Dans les cas graves, l'évolution peut être rapidement mortelle avec une installation d'une tétraplégie, une impossibilité à soutenir la tête, et une dysphagie associée ou non à un mégaoesophage qui peut entraîner une broncho-pneumonie par fausse déglutition. La myocardite à *N. caninum* pourrait être une cause fréquente de mortalité chez de très jeunes chiots (Odin et al.,1993). Mais ceci n'est pas confirmé de façon certaine (Barber et Trees,1996).

Le tableau lésionnel, chez le chiot est très varié du fait de la multiplication active des tachyzoïtes dans de nombreux types de cellules de l'organisme (neurones, myosites, hépatocytes, cellules endothéliales, fibroblastes...). Ainsi l'examen nécropsique révèle de multiples lésions disséminées un peu partout dans l'organisme, ces lésions peuvent être observée macroscopiquement au niveau du poumon sous forme de petits foyers rouges en tête d'épingle répartis aléatoirement (Lindsay et al.,1999 ; Dubey et al.,1988) au niveau de l'épicarde, sous forme de petits points jaunes de 1 cm de diamètre et qui peuvent s'étendre même sur le myocarde (Dubey et al.,1988).

L'examen microscopique, lors de signes nerveux, révèle des lésions de méningoencéphalomyélite non suppurative caractérisées par une gliose multifocale et des infiltrations périvasculaires des cellules mononuclées (Dubey et al.,1988), on peut aussi observer, dans certains cas , une myocardite multifocale caractérisée par une infiltration des

macrophages, des lymphocytes et des neutrophiles, une pneumonie pyogranulomateuse interstitielle ou diffuse (Dubey et al., 1988 ;Lindsay et al.,1999), des microgranulomes au niveau du parenchyme hépatique, une néphrite à prédominance lymphocytaire, et on peut aussi constater l'augmentation du taux des éosinophiles au niveau des intestins (Lindsay et al., 1999).



Fig 5 : Chiot présentant des signes neurologiques et musculaires (Wouda, 2000) .

➤ **La néosporose du chien adulte :**

Les cas de néosporose chez l'adulte sont plus rares que chez le chiot, cependant leur présentation clinique est beaucoup plus variée, généralement il est impossible de savoir si la néosporose de l'adulte correspond à une primo-infection ou à une phase de réactivation du parasite (Guillot et al., 2000).

Des études récentes, ont montré que lors de la phase intestinale le chien ne présente aucun signe clinique (Odin et al., 1993 ; Lindsay, Dubey, 1999).

Parfois cette maladie se manifeste, chez l'adulte, par une atteinte nerveuse ressemblant à celle du chiot, et ceci suite à une multiplication rapide des tachyzoïtes dans l'ensemble de l'organisme (Hoskins et al., 1991; Little, 1996 ; Barber et Trees, 1996) ; la parésie observée, dans ce cas ; est directement liée à une atteinte des neurones moteurs et des muscles (polyradiculonévrite et myosite).

L'atteinte cutanée fait partie des manifestations cliniques inhabituelles observées uniquement chez le chien adulte, et qui se présente sous forme de nodules ulcéronécrotiques sur le corps (aucune localisation préférentielle) (Dubey et al., 1988b ; Dubey et Lindsay, 1996 ; Fritz d. et al., 1997 ; Perl et al., 1998 ; Poli et al., 1998). Ces nodules peuvent être très volumineux (jusqu'à 5 cm de diamètre). Lors de l'extension des lésions à l'ensemble du corps l'état général de l'animal est profondément altéré (anoxie, abattement, modifications sanguines...); l'euthanasie est alors inévitable (Fritz et al., 1997 ; Perl et al., 1998).

La néosporose de l'adulte peut parfois se traduire par des signes cliniques de pneumonie (Greig et al., 1995), l'encéphalite (Jackson et al., 1995 ; Ham-van et al., 1996) ou de la pancréatite (Dubey et al., 1988a).

En revanche aucune publication ne fait état d'avortement à *N.caninum* chez le chien.

Pronostic chez le chien :

Le pronostic de la néosporose chez le chien, dépend surtout de la rapidité d'apparition des signes cliniques (très mauvais lors d'installation rapide en quelques jours), et aussi du délai séparant l'apparition des signes et le début du traitement spécifique (Guillot et al., 2000). Selon certains auteurs, il est possible de s'attendre à une récupération totale ou fonctionnelle chez 50 des chiens soumis à un traitement approprié, mais beaucoup d'entre eux conservent une démarche anormale, une amyotrophie ou une scoliose thoracique (Barr,1998), d'importantes anomalies articulaires (ankylose, palmigradie, plantigradie), secondaires à l'immobilisation prolongée et à la fibrose musculaire, peuvent être observées (Guillot et al., 2000). L'hyperéxtension rigide des membres postérieurs est le signe qui a le moins de chance de rétrocéder, aussi les cas suraiguës ou au contraire chroniques, sont ceux chez lesquels la probabilité d'obtenir une réponse est faible (Guillot et al., 2000).

b) Chez les bovins

➤ Néosporose du veau :

L'infection est le plus souvent asymptomatique. Elle se traduit essentiellement par des troubles nerveux, ainsi l'animal présente une parésie avec des difficultés à se lever, une perte de proprioception, une diminution du réflexe rotulien, une exophtalmie ou une déviation du lobe oculaire, des déformations diverses telle que la contracture des membres antérieurs ou postérieurs (Parish et al., 1987 ; O'toole et Jeffery, 1987 ; Barr et al., 1993; Dubey et De Lahunta, 1993 ; Brayon et al., 1994).

Des signes cliniques peuvent apparaître dès la naissance ou bien un peu plus tard vers trois jours (Barr et al., 1993) ou deux semaines (Dubey et al., 1992). Il est probable que la plupart des animaux atteints meurent au bout du premier mois. Seule une petite proportion des animaux infectés de manière congénitale présente une néosporose clinique.

➤ Néosporose de la vache :

La seule expression clinique observée chez des vaches infectées est l'avortement apyrétique et sans rétention placentaire ou le retour en chaleur prématuré (mortalité embryonnaire précoce) (Marquer et Chermette, 2000). Ces avortements surviennent durant le 4^{ème} jusqu'au 6^{ème} mois de gestation (Anderson et al., 2000), et peuvent avoir une allure enzootique ou épizootique au sein du troupeau (Thornton et al., 1994 ; Yaeger et al., 1994 ; Anderson et al., 1994 ; Moen et al., 1995 ; Mc allister et al., 1996). Le fœtus peut mourir in utero, être résorbé, momifié ou autolysé. Le veau peut être mort né ou naître vivant, dans ce dernier cas l'animal est soit cliniquement normal mais infecté chronique, soit cliniquement atteint (Losson et Bourdoiseau, 2000).



Une étude faite en Espagne, a montré que la séroprévalence des avortements à *N.caninum* dans les élevages laitiers (35.9 %) est significativement plus élevée que celle rencontrée dans les troupeaux allaitants (17.9 %) (Quintanilla-Gozalo et al., 1999).

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré qu'une même vache infectée peut avorter plusieurs fois (Obendorf et al., 1995 ; Wouda et al., 1995 ; Anderson et al., 1995 ; Dannat et al., 1995 ; Moen et al., 1995) ; cependant de nombreux animaux sont reformés après leur premier avortement et il est donc difficile de donner des chiffres exactes au sujet du nombre d'animaux infectés susceptibles d'avorter plusieurs fois. En plus des avortements et des infections congénitales, la néosporose peut également entraîner une diminution de la production laitière et une réduction de la vie productive des vaches infectées (Thurmond et Heitala, 1996 ; 1997b).

3. Lésions :

Les lésions dégénératives et/ou inflammatoires peuvent se retrouver au niveau de tous les tissus du fœtus, surtout au niveau du système nerveux centrale, du cœur, des muscles striés et du foie (Barr et al., 1990, 1991 ; Anderson et al., 1991 ; Wouda et al., 1997a). Macroscopiquement, ces lésions sont rares mais peuvent être observée au niveau du cœur, des muscles et du cerveau, elles se présentent sous forme de petits foyers de nécrose de couleur pâle à foncée. Cependant beaucoup de fœtus sont momifiés ou autolysés, et lorsque l'état des tissus le permet, l'examen anatomopathologique du système nerveux révèle de l'encéphalomyélite non suppurative caractérisée par des foyers d'infiltration multifocale accompagnée ou non de foyers disséminés de nécrose, ainsi que l'infiltration leucocytaire non suppurative des méninges. La lésion la plus classique au niveau du tissu nerveux consiste en un foyer d'infiltration des cellules inflammatoires mononuclées entourant une lésion nécrotique centrale, de la prolifération gliale peut être observée surtout chez les avortons âgés de plus de 6 mois (De Meerschman et Losson, 2000). Plusieurs études ont mentionné la présence des lésions, au niveau du myocarde sous forme de foyers inflammatoires et de nécrose, ainsi que des lésions hépatiques sous forme de foyers inflammatoires riches en cellules mononuclées (Barr et al., 1990 ; Wouda et al., 1997b) .

IV. DIAGNOSTIC

1- Chez le chien :

a- Diagnostic clinique et différentiel :

Le diagnostic clinique de la néosporose canine repose en partie, sur l'existence d'une paralysie ascendante chez les jeunes individus, en particulier si plusieurs animaux de la même portée sont atteints.

Cependant, face à une atteinte neuromusculaire de type myosite et polynévrite, il convient d'envisager, d'une part, chez le chiot, les différentes myopathies congénitales ou métaboliques, et les neuropathies congénitales ou héréditaires comme l'axonopathies évolutives du boxer, les maladies de surcharge lysosomiale ou les troubles par insuffisance de myélinisation et d'autre part, chez l'adulte, les polyradiculonévrite (aiguës ou chronique), les polymyosites idiopathiques ou infectieuses (leishamanoïse, leptospirose...), les dermatophitoses, et éventuellement une intoxication botulinique (Guillot et al., 2000).

Lors d'atteinte du système nerveux central, le diagnostic différentiel doit faire intervenir les autres maladies inflammatoires qui peuvent être à l'origine de méningo-encéphalite : maladie de carré, méningite aseptique suppurée, méningo-encéphalite granulomateuse..., aussi la toxoplasmose doit être prise en considération.

Il faut préciser que l'examen clinique ne permet, généralement, pas d'établir un diagnostic de certitude, le recours aux examens de laboratoire est indispensable.

b- Diagnostic de laboratoire

➤ Examens non spécifiques :

Le dosage des créatinines kinases et la réalisation d'un examen électromyographique peuvent s'avérer très intéressants, car ces examens permettent de confirmer la suspicion clinique de la maladie neuromusculaire. L'électromyographie, qui cartographie les muscles et les nerfs affectés, permet on outre d'affirmer si l'animal est atteint de polymyosites, de polyradiculonévrite ou de l'association des deux (Guillot et al., 2000) .

Une évaluation de l'activité des enzymes hépatiques est également fréquemment utilisée (Barr et Trees, 1996), aussi l'analyse de liquide céphalo-rachidien permet de confirmer l'existence d'une encéphalite ou d'une méningomyélite (augmentation du taux de protéines et/ou du nombre de cellules) (Guillot, 2000).

➤ Examens spécifiques :

Le diagnostic de laboratoire de la néosporose canine est basé, d'une part sur la sérologie (détection des anticorps spécifiques à *Neospora caninum*). De nombreux outils pour le diagnostic sérologique ont été développés : le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT), des tests immunoenzymatiques (ELISA), le test d'agglutination directe (Packham *et al.*, 1998 ; Romand *et al.*, 1998) et la technique de Western blot ont tous été utilisés pour la recherche d'anticorps spécifiques. Les tests IFA et ELISA sont les plus largement utilisés par les laboratoires de diagnostic tandis que la technique de Western blot connaît un intérêt croissant au sein des laboratoires de recherche.

Une autre méthode fréquemment utilisée est l'immunohistochimie qui permet de mettre en évidence la présence d'antigènes parasitaires au sein des tissus infectés. Les tachyzoïtes sont fréquemment observés au sein du cerveau (85 % des fœtus examinés) mais ils sont également présents dans le foie (26 %) et le cœur (14 %) (Wouda *et al.*, 1997b). Néanmoins cette technique reste assez peu sensible (Dubey, 2003a).

L'examen immunohistochimique est indispensable, car on ne peut distinguer, en microscopie photonique, les tachyzoïtes de *N.caninum* de ceux de *T. gondii*. Cette technique permet également l'identification des kystes à bradyzoïtes avec certitude, à l'aide des anticorps monoclonaux ou polyclonaux (Lindsay et Dubey, 1989 ; Peters *et al.*, 2000).

L'examen histologique d'une biopsie musculaire peut également révéler la présence de tachyzoïtes associée à des lésions de nécrose et de minéralisation (Guillot *et al.*, 2000).

La mise en évidence des kystes à bradyzoïtes nécessite un examen histologique et ne peut être réalisé qu'après la mort de l'animal puisque les kystes sont localisés exclusivement dans les cellules nerveuses (encéphale, moelle épinière, rétine).

De nouvelles méthodes de diagnostic utilisant des techniques de biologie moléculaire (polymerase chain reaction : PCR) ont été développés ces dernières années (Müller *et al.*, 1996 ; Ho *et al.*, 1997 ; Baszler *et al.*, 1999).

La présence d'ADN parasite peut être mise en évidence au sein des tissus. Bien que cette technique ne soit pas utilisée en routine, elle a été largement développée et de nombreuses méthodes de PCR reposant sur l'utilisation de séquences spécifiques de divers gènes ont été développées.

L'identification des chiens excréteurs d'oocystes, étape importante pour le contrôle de la transmission horizontale du parasite. Toutefois, les études expérimentales indiquent que la production d'oocystes est souvent faible et réduite dans le temps (Lindsay *et al.*, 1999), ce qui rend aléatoire toute tentative de recherche des oocystes dans les matières fécales.

2- Chez les bovins :

a. Diagnostic clinique et différentiel :

L'avortement est la seule manifestation clinique chez une vache atteinte de néosporose. L'apparition d'un avortement enzootique ou épizootique dans un élevage bovin, entre le 4^{ème} et 7^{ème} mois de gestation conduit à envisager la présence de la néosporose.

Toutefois, la confirmation de la néosporose clinique dans un troupeau reste délicate. Il faut différencier cette affection avec toute maladie abortive chez les bovins, d'une part, et plus rarement avec les atteintes nerveuses et /ou locomotrices chez le veau d'autre part. Ainsi pour les avortements, il faut envisager les différentes causes possibles infectieuses (telle que la brucellose, la salmonellose, la sarcosporidiose, la chlamydie, la fièvre Q, la listériose, les mycoses, la leptospirose, l'atteinte par le virus BVD ou l'IBR), ou non (nutritionnelles, génétiques) de même pour l'encéphalomyélite du veau qu'on doit distinguer d'un grand nombre d'affection potentielles (malformations congénitales, coccidiose à *Eimeria* sp, la rage, la maladie d'Aujeszky, l'intoxication par le plomb, les carences en vitamines du groupes B...). Le diagnostic différentiel de la néosporose comporte également la toxoplasmose.

En effet, les données épidémiologiques permettent d'éliminer un grand nombre de ces hypothèses, mais pas suffisamment pour conclure, c'est pourquoi il est nécessaire d'avoir recours aux examens de laboratoire.

b. Diagnostic de laboratoire :

Le diagnostic repose sur l'examen des sérums maternel et fœtal et des tissus fœtaux. Idéalement, un échantillon de sérum maternel et l'avorton en entier devraient être soumis au laboratoire de diagnostic. A défaut, la tête du fœtus devrait être prélevée. Il ne semble pas y avoir de localisation préférentielle de *N. caninum* au niveau du tissu cérébral. Les tachyzoïtes de *N. caninum* résistent bien à l'autolyse; il est donc toujours intéressant de prélever du tissu cérébral même si ce dernier présente une autolyse marquée (Dubey, 2003).

La mise en évidence d'anticorps spécifiques anti- *N. caninum* au niveau du sérum d'une vache ayant avorté indique seulement une exposition au parasite. L'examen du fœtus est donc nécessaire en vue de

confirmer le diagnostic (Jenkins et al., 2002). Le cerveau, le cœur, le foie et le placenta représentent les tissus de prédilection.

L'examen histo-pathologique, lorsque l'état des tissus le permet, révèle de l'encéphalomyélite subaiguë multifocale ainsi que de la myocardite et de l'hépatite subaiguës (Anderson et al., 1991; Barr et al., 1991b). Des foyers de nécrose peuvent également être observés au niveau du cerveau et du foie (Barr et al., 1991b ; Anderson et al., 1994).

Une coloration classique à l'hématoxyline éosine, si elle donne la possibilité de visualiser les lésions, permet rarement d'observer les tachyzoïtes qui sont peu nombreux et difficilement identifiables (Shivaprasad et al., 1989 ; Bergeron et al., 2001). L'utilisation de l'immunohistochimie améliore fortement la sensibilité et la spécificité de la technique. Cependant, cette dernière méthode de diagnostic semble limitée par le nombre de parasites présents au sein de chaque section.

La détection d'anticorps spécifiques dans le sérum des vaches peut se révéler utile pour le diagnostic des avortements à *N. caninum* et pour étudier l'épidémiologie du parasite au sein des troupeaux. Plusieurs Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays (ELISA) (Bjerkas et al., 1994 ; Jenkins et al., 1997; Schares et al., 1999 ; 2000 ; Baszler et al., 2001 ; Nishikawa et al., 2001 ; Alvarez-Garcia et al., 2002 ; Howe et al., 2002 ; Reichel et Pfeiffer, 2002), et plusieurs tests d'immunofluorescence indirecte (IFAT) (Conrad et al., 1993b, Barr et al., 1995, Paré et al., 1995 ; Gondim et al., 1999 ; Moore et al., 2002), ainsi qu'un test d'agglutination (Romand et al., 1998) ont été développés. L'immuno-blot présente également un intérêt certain dans le cadre de la détection d'anticorps spécifiques (Schares et al., 1999 ; Atkinson et al., 2000 ; Söndgen et al., 2001).

Récemment, un test ELISA-avidité a été décrit. Ce dernier, permet de faire la distinction entre une infection récente et le portage chronique (Björkman et al., 1999 ; Jenkins et al., 2000 ; Mac Allister et al., 2000 ; Schares et al., 2002).

Ce n'est que récemment que la technique d'amplification génique (polymerase chain reaction) a été développée pour la détection de l'ADN de *N. caninum* (Ellis, 1998), c'est la méthode la plus sensible et la plus spécifique. Cependant elle ne peut être utilisée sur des prélèvements d'avorton (Wouda, 2000), et elle ne peut permettre la distinction entre l'infection et la maladie (Marquer et Chermette).

Tableau n° 4 : principaux avantages et inconvénients des méthodes utilisables en cas de suspicion de neosporose bovine(d'après Marquer et Chermette, 2000).

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Histologie	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode de référence - Visualisation de foyers de nécrose entourés de cellules inflammatoires mononucléées - Visualisation de kystes tissulaires dans les tissus nerveux ; de tachyzoites dans le cerveau dans le cœur et les muscles squelettiques 	<ul style="list-style-type: none"> - Manque de spécificité(faux positifs) - Inutilisable en cas d'autolyse
Immunohistochimie	<ul style="list-style-type: none"> - Visualisation de kystes tissulaires et de tachyzoites surtout dans le cerveau le foie et le cœur - Utilisable chez des fœtus momifiés 	<ul style="list-style-type: none"> -Nécessite une bonne habitude de lecture -Quelquefois existence de réaction croisée avec Tgondii
Amplification génique (PCR)	<ul style="list-style-type: none"> - Possibilité de détection d'ADN de neospora à partir de pratiquement tous les tissus fœtaux et du placenta - Mise en évidence d'ADN alors que les anti-neosporin peuvent ne pas être détectables - Méthode la plus sensible et la plus spécifique 	<ul style="list-style-type: none"> - Coût - Utilisée seule, ne permet pas de distinguer neosporose infection et maladie
IFAT	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode sérologique de référence - Relativement rapide et peu coûteuse 	<ul style="list-style-type: none"> - Lecture non standardisée de la fluorescence - Choix de seuil non standardisé Il conviendrait mieux de comparer les titres de même animaux à deux moments différents
Test immunoenzymatique (ELISA)	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisable sur le lait automatisation réalisable sur un grand nombre d'échantillons 	<ul style="list-style-type: none"> - Choix de seuils non standardisée entre différents Kits Intérêt surtout à l'échelle du troupeau
Agglutination directe	<ul style="list-style-type: none"> - Test spécifique et très sensible, utilisable sur 	<ul style="list-style-type: none"> - Intérêt surtout à l'échelle du troupeau

V. LES APPROCHES THERAPEUTIQUES

1- LES TRAITEMENTS

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

Les molécules coccidiocides donnant les meilleurs résultats *in vitro* sont les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase/thymidilate synthétase qui, à une dose de 10 µg/ml, éliminent 100 % des tachyzoïtes; le Piritrescin est d'ailleurs actif à une dose aussi faible que 0,001 µg/ml. De nombreux macrolides, tétracyclines et lincosamides inhibent presque complètement la multiplication des tachyzoïtes ; c'est le cas également du diclazuril (0,001 µg/ml) (Lindsay *et al.*, 1994).

Les résultats obtenus chez les chiens infectés naturellement dépendent en grande partie du stade de l'infection au moment de l'instauration du traitement. En effet, les meilleurs résultats sont observés chez des chiens n'ayant développé des symptômes que depuis peu au moment de l'instauration de la chimiothérapie. L'administration de sulfonamides (15-30 mg/kg, 2 à 3 fois/jour) en association ou non avec la pyriméthamine (1 mg/kg, 1 fois/jour) et surtout de la clindamycine (20 mg/kg, 2 fois/jour) a donné des résultats encourageants (Barber et Trees, 1996). Le traitement doit généralement être maintenu durant 2 à 9 semaines et des séquelles musculaires peuvent subsister. Jusqu'à présent, aucun traitement n'a pu prévenir la transmission verticale du parasite chez la chienne infectée.

Les auteurs s'accordent, néanmoins, à recommander l'administration de la Clindamycine (11 à 12 mg/kg deux à trois fois par jour), de l'association Sulfamide-Triméthoprime (15 mg/kg deux fois par jour) ou de la Pyriméthamine (1 mg/kg/jour), le tout pendant 4 à 6 semaines (Barber, 1998 ; Dubey et al., 1998 ; Lindsay et al., 1999 ; Pulye, 1999 ; Mayhew et al., 1999 ; Mc. Glennon et al., 1990). L'association de la Pyriméthamine (0.25 à 0.5 mg/kg) à un

Sulfamide (Sulfadiazine 30mg/kg) toutes les 12 heures pendant deux à quatre semaines est également préconisée (Lindsay et al., 1999), l'association de la Clindamycine (10mg/kg trois fois par jour) à La Trimethoprine-Sulfadiazine (15mg/kg deux fois par jour) s'es révélée utile chez un chien atteint de paraplégie et hyperéxtention des membres postérieurs (Knowler et Wheel, 1995), néanmoins dans de tel cas une récupération totale est très aléatoire.

La clindamycine semble la molécule de référence pour le traitement de la néosporose canine, cet antibiotique est généralement bien toléré (une gastro-entérite est parfois observée, qui disparaît dès l'arrêt du traitement), les sulfamides potentialisés sont utiles en seconde intention (Guillot et al., 2000).

Un supplément en acide folique, à la posologie de 5mg / jour est utile pour prévenir les risque d'anémie (Guillot et al., 2000).

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

Actuellement aucun traitement ne peut être proposé, même si certains antibiotiques (tel que Lasolacide, Monsensin, Piritrexin, Pyriméthamine, Trimethoprine, Sulfadiazine) ont pu laisser entrevoir des possibilités thérapeutiques, ou prophylactiques in vitro chez la souris, et seules des mesures préventives peuvent être recommandées.

2- LES VACCINS

La recherche d'un vaccin capable d'inhiber la mise en place de l'infection latente par *N. caninum* et/ou la transmission verticale du parasite est en plein développement. En effet, il a été observé chez la souris que l'inoculation d'un lysat de tachyzoïtes en combinaison avec l'adjuvant ImmunMAXR™ prévenait la transmission verticale du parasite après une inoculation d'épreuve effectuée 2 à 4 semaines plus tard (Liddell *et al.*, 1999). D'autre part, Innes et collègues (2001b) ont observé que des vaches ayant été infectées avant la gestation et réinfectées à la mi-gestation ne transmettaient pas le parasite à leur veau. Ceci tend à démontrer que l'instauration d'une réponse immune protectrice est tout à fait possible.

VI. PROPHYLAXIE ET CONTROLE :

Aucune prophylaxie (médicamenteuse ou vaccinale) efficace n'est applicable à ce jour.

La mesure préventive essentielle de l'infection à *Néospora*, chez les bovins, est de protéger la nourriture et les sources d'abreuvement des destinés à ces animaux vis à vis d'autres pouvant être de potentiels hôtes définitifs, comme le chien.

Il convient, de plus, dans les troupeaux indemnes de veiller à ne pas introduire d'animaux infectés et les troupeaux contaminés, en cas d'avortement, de procéder à l'élimination des placentas et des avortons.

Certains auteurs recommandent également l'abattage des animaux que l'on sait infecter par *N.caninum* et leurs ascendants et descendants (Moen et al., 1998 ; Thurmond et Heitala, 1997) ; cependant, cette recommandation est loin de faire l'unanimité, même s'il est déconseillé de conserver des animaux atteints pour assurer le renouvellement du troupeau.

D'autre part, chez les animaux infectés chroniques, il faut surtout éviter la réactivation des tachyzoïtes en évitant tout facteur immunodépressif, et surtout, la contamination des aliments par les mycotoxines, bien que ces facteurs ne sont que difficilement contrôlables (Bartels et al., 1999).

VII. IMPACT ZOONOTIQUE DE LA NEOSPOROSE :

Les primates non humains sont des hôtes intermédiaires potentiels comme le montrent des études expérimentales sur les singes (Barr et al., 1994) ; l'infection de deux femelles masques rhésus au 43^{ème} jour de gestation par inoculation intramusculaire et intraveineuse de tachyzoïtes de *N.caninum* d'origine bovine s'est traduite par une néosporose congénitale.

Les deux fœtus, prélevés le 7^{ème} et 70^{ème} jours après l'infection des mères, montraient les lésions typiques multifocales, nécrotiques non suppuratives d'encéphalite avec présence de parasites isolés en rétro- culture, ainsi que la présence d'anticorps sérique anti-Neospora. Ainsi, l'infection du singe offre de nombreuses similitudes avec la toxoplasmose congénitale de l'homme (Chermette et Marquer, 2000).

Cependant, le risque zoonotique de *N.caninum* n'est pas connu et deux enquêtes sérologiques récentes chez les humains offrent des résultats contradictoires, l'une des enquêtes a été menée en Irlande du Nord, sur un lot de 199 sérums provenant de donneurs de sangs et un autre lot de 44 sérums d'agriculteurs testés pour (poumon fermier) (Grahaman et al., 1999), les anticorps spécifiques ont été recherchés par immunofluorescence indirecte, avec un seuil de positivité défini au 1/60, aucun anticorps anti-Neospora n'a été retrouvé. L'autre enquête intéressant les Etats Unis (Tranas et al., 1999) ; 1029 sérums de donneurs de sang ont été testés par IFAT, 69 sérums (6.7 %) se sont révélés positifs en IFAT au seuil de 1/100.

Ces résultats démontrent la réalité d'une exposition des humains à *N.caninum*, même si le taux d'anticorps étaient faible, cependant, pour les auteurs, la réalité de l'infection et la signification de cette positive demeurent inconnues, ce qui mérite de nouvelles études (Chermette et marquer, 2000).

VIII. IMPACT ECONOMIQUE DE LA NEOSPOROSE

L'impact économique de *N. caninum* est difficile à estimer ; il est bien entendu nécessaire de prendre en compte la valeur potentielle de l'avorton mais aussi les multiples frais indirects tels que ceux liés au diagnostic, au traitement de la mère, à la nécessité de réinséminer ainsi qu'au remplacement éventuel de la femelle et à la perte de production laitière (Trees *et al.*, 1999 ; Chi *et al.*, 2002).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSON ML., ANDERIANARIVO AG. , CONRAD P., 2000 : Neosporosis in cattle. *Animal reproduction science.*60-61, 417-431.

ANDERSON ML., BARR BC., CONRAD PA.,1994 : Protozoal causes reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clinique N. Amer. Food. Anim. Pract.*10, 439-461.

ANDERSON ML., BLANCHARD PC., BARR BC., DUBEY JP., HOFFMAN RL., CONRAD PA.,1991 : Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle.*198,* 241-244.

ANDERSON ML, REYNOLDS JP. , ROWE JD. , SEVERLOW KW. , PACKHAM AE., BARR BC., CONRAD PA., 1997 : Evidence vertical transmission of *Neospora* sp. Infection in dairy cattle . *J. A. V. M. A.* 8,1169-1172.

ANDERSON M., PALMER CW., THURMOND MC., PICANSO JP., BLANCHARD PC., BREITHEYER RE., LAYTON AW., McALLISTER M., DAFT B., KINDE H., READ DH., DUBEY JP., CONRAD PA., BARR BC., 1995 : Evaluation of abortion in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds California. *J. A V. M. A.* 207, 1206-1210.

ALMERIA S., LENEL P., PABON M., CASTEL L., MAAS S., 2002 : Red foxes are a naturel host of *Neospora caninum* . *Vet. Parasitol.* 107, 287-291.

ALVAREZ-GRACIA., PREIRA-BUENO., COMEZ BAUTISTA M.ORTIGA-MORA LM., 2002: Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoitee antigen by naturally infected pregnant cattle and aborted foetuses.*vet.parasitol.* 29, 15-270.

ATKINSON RA., COOK RW., REDDACLIFF LF., ROTHWLL J.; BRODAY KW., ELLIS JT., 2000: Seroprevalence of *Neospora caninum* infection an abortion outbreak in dairy cattle herd, *Aust. vet. J,* 78, 262-266.

BARBER JS.,1998 : Neosporose canine. *Walthem focus.*8, 15-29.

BARBER JS.,GASSER RB., ELLIS J., REICHEL M F., Mc MILL D., TREES AJ., 1997 : Prevalence of antibodies to *N.caninum* different cnid populations. *J.of parasitol.*83, 1056-1058.

BARBER JS., TREES AJ., 1996 : Clinical aspects of cases neosporosis in dogs.*Vet. Record.*139, 439-443.

BARBER JS., VAN HAM L., POLIS I., TREES A., 1997 : Seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in Belgique dogs. J. Small. Animal. Pract.38, 15-16.

BARR BC., ANDERSON ML., BLANCHARD PC., DAFT BM., KIND H., CONRAD PA.,1990 : Bovine fetal encephalomyelitis and myocarditis associated with protozoal infections. Vet. Pathol.27,354-361.

BARR BC., ANDERSON ML. , DUBEY PJ., CONRAD PA., 1991 : Neospora like protozoal infections associated with bovine abortion. Vet. Parasitology. 28, 110-116.

BARR BC. , ANDERSON ML, SVERLOW. , CONRAD PA., 1995 : Diagnosis of bovine fetal Neospora infection with a indirectfluorescent antibody test. Vet. Rec.137, 611-613.

BARR BC., CONRAD PA., BREITMEYER R., SVERLOW K., ANDERSON ML., REYNOLDS J., CHAUVET AE., DUBEY JP., ARDANS AA.,1993 : Congenital Neospora infection in calves born cows that had previously aborted Neospora infected fetuses : four cases(1990-1992) J. A. V. M. A.202, 113-117.

BARR BC., ROWE JP., SVERLOW KW., BONDURANT R., ARDANS A., OLIVER MN., CONRAD PA.,1994 : Experimental reproduction of bovine fetal Neospora infection and death with a bovine Neospora isolate. J. Vet. Diagn. Invest.6, 207-215.

BARTELS CJM., WOUDA W., SCHUKKEN YH.,1999: Risk factors for *N.caninum* associated abortion storms in dairy in the Netherlands Theriogenology. 52? 247-257.

BASZLER TV., ADAMS S., VANDER-SCHALIF J., MATHISON BA., KOSTOVIC M., 2001: Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of sera antibodies to Neospora caninum in cattle. J. Clin. Microbiol.39, 8-3851-3857.

BERGERON N., GIRARD C. , PARE J., FEETEAU G., REBINSON J., BAILLARGEON P.,2001 : Rare detection of *N.caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves .J. Vet. Invest .13,173p

BJERKAS I., MOHN SF., PRESTHUS J., 1984: Unidentified cystforming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dog. Z. Parasitendk. 70, 271-274.

BJERKAS I., PRESTHUS J., 1988 : Immuno-histochemical and ultrastructural characteristic of a cyst-forming sporozoan in dog. Acta. Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.97, 445-454.

BJORKMAN C., LUNDEN A., UGGALA A., 1994 : Prevalence of antibodies to *N. caninum* and *T. gondii* in Swedish dogs . Acta.Vet. Scand.35, 445-447.

BJORKMAN C., UGGALA A., 1999 : serological diagnosis of *N. caninum* infection.Int. J. parasitol.29, 1497-1507.

BRAYN LA., GAJADHAR AA., DUBEY JP., HAINES DM., 1994 : Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a Neospora sp. Protozoan. Can. Vet. J.35, 111-113.

CHERMETTE R., MARQUER A.,2000 : *Neospora caninum* : un nouveau parasite. Point vet. 31, 285-290.

CHI J.,VANLEEUVEN JA.,WEERSINK A.,KEEFE GP.,2002 : Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea, bovine leukosis virus, mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and *N. caninum*.Prev. Vet. Med. 55,137-153.

COLE RA. , LINDSAY DS. , BLAGBURN BL. , DUBEY JP., 1995 : Vertical transmission of *N. caninum* infection in dogs in mice. J. Parasitol. 81 (5), 730-732.

CONRAD PA., SVERLOW KW., ANDERSON M., ROWE J., BONDURANT R., TUTER G., BREITMEYER R., PALMER C., THURMOND M., ARDANS A., DUBEY JP., DUHAMEL G., BARR BC., 1993 : Detection of sera antibody responses in cattle with natural or experimental Neospora infections. J. Vet. Diagn. Invest, 5,572-578.

CUDDON P., LIN DS., BOWMAN DD., 1992 : *Neospora caninum* in English springer spaniel littermates : diagnosis evaluation and organism isolation. J. Vet. Intern. Med. 6,325-332.

DANNATT., GUYE F., TREES AJ., 1995 : Abortion due to *N. caninum* species in a dairy herd. . Vet. Rec. 137, 566-567.

De MAREZ T., LIDDELL S., DUBEY JP., JENKINS MC., GASBARR L.,1999 : Oral infection of calves with *N. caninum* oocysts from dogs : humoral and cellular immune responses. Inter. J. Parasitol. 29, 1647-1657.

De MEERSCHMAN F., LOSSON B., 1998 : *Neospora caninum* : Un nouvel agent abortif chez les bovins. Ann.Med.142.

DUBEY JP., 2003 : Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. The Korean Journal of Parasitol. Vol 41, 1-16.

DUBEY JP., De LAHUNTA A., 1993 : Neosporosis associated congenital limb deformatis in a calf. *Appl. Parasitol.* 34,229-223.

DUBEY JP., 1999 : Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84, 349-367.

DUBEY JP., CARPENTER JL., SPEER CA., TOPPER ML., UGGAL A., 1998 : Newly recognised protozoan disease of dogs. *J. A. V. M. A.* 192,1269-1285.

DUBEY JP., HATTEL AL., LINDSAY DS., TOPPER ML.,1988 : Neonatal *N. caninum* infection in dogs : isolation of the causative agent and experimental transmission . *J A V M A .* 193, 1259-1263 .

DUBEY JP., KERBER CE., GANSTROM DE., 1999 : Serologic prevalence of sarcocystis neurona. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses in Brasil. *J A V M A.* 15, 59-62.

DUBEY JP. , LEATHERS CW. , LINDSAY DS. , 1989 : *Neospora caninum* like protozoan associated with fetal myelitis in new born calves . *J. Parasitol.* 75, 146-148.

DUBEY JP. , LINDSAY DS. ,1996 : A review of *N. caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*67, 1-59.

DUBEY JP. , LINDSAY DS. , 1993 : Neosporosis. *Parasitology to day.* 9, 452-458.

DUBEY JP. , LINDSAY DS. , ANDERSON ML., DAVIS SW., SHEN SK., 1992 : Induced transplacental transmission of *N. caninum* in cattle. *J A V M A.* 201, 709-713.

DUBEY JP. , RIGOULET J., LAGROUTTE P., GEORGE C., LONGEART L., LENET JL. , 1996 : Fetal transplacental neosporosis a deer (*cervus eldi siamensis*) from a zoo. *J . of Parasitol.* 82, 338-339.

DUBEY JP., ROMAND S., THULLIEZ P., 1999b : Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *J. Parasitol.* 8, 968-969.

ELLIS JT. , 1998 : Polymerase chain reaction approaches for the detection of *N. caninum* and *T. gondii* .*Int. J. Parasitol.* 28, 1053-1060.

ELLIS J., LUTON K., BAVERSTOCK PR., BRINDLEY PJ., NIMMO KA., JOHNSON AM., 1994 : The phylogeny of *Neospora caninum*. Mol. Bioch. Parasitol. 64, 301-311.

FRITZ J T., GEORGE C., DUBEY JP., 1997 : *N. caninum* associated nodular dermatitis in middle-aged dog. Canine. Practice. 21, 21-24.

GONDIUM LPF, GAO L. , McALLISTER., 2002: Improved production of *N.caninum* oocysts cyclical oral transmission between dogs and cattle and in vitro isolation from oocysts. J. Parasitol. 88, 1159.

GRAHAMAN DA., CALVET V., WHYTE M., MARKS J., 1999 : Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection. Vet. Rec. 144, 672-673.

GREIG B., ROSSOW KD., COLLINS JE., DUBEY JP., 1995 : *N. caninum* pneumonia in an adult dog. J A V M A. 206, 1000-1001.

GUILLOT J., ESGIOU C., FRITZ D., 2000 : La neosporose canine. Point. Vet. 31(208), 29-35.

HAM-VAN LML., THOONEN H., BARBER S., 1996 : *N. caninum* infection in the dog : typical and atypical cases. 65, 325-335.

HEMPHILL A., 1996 : Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. parasitology. 112, 183-187.

GONDIUM LPF, GAO L. , McALLISTER., 2002: Improved production of *N.caninum* oocysts cyclical oral transmission between dogs and cattle and in vitro isolation from oocysts. J. Parasitol. 88, 1159.

TREES AJ., 1999: Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. Int. T. Parasitol. 29, 1195-1200.

BARTELS CJM., WOUDA W., SCHUKKEN YH., 1999 : Risk factors for *N. caninum* associated with abortion storms in dairy herds in Netherlands. Theriogenology . 52, 247-257.

SIMPSON VR., MONIES RJ., RILEY P., CROMEY DS., 1997 : Foxes and neosporosis . Vet. Rec. 141, 503p.

HEMPHILL A., GOTTSTEIN B., CONRATHS FJ., De MEERSCHMAN F., ELLIS JT., Mc ALLISTER M., ORTEGA-MORA LM., TREES AJ., TENTER AM., UGGALA A., WILLIAMS DJL., WOUDA WA., 2000 : European perspective on *Neospora caninum*. Inter. J. for parasitology. 30. 877-924.

HILALI M., ROMANDS S., THULLIEZ P., KWOK OC ., DUBEY JP., 1998: Prevalence of *Neospora caninum* and *toxoplasma gondii* antibodies in sera from Egypt. vet. parasitol. 28, 269-271.

HOLLIMAN RE., RAYMOND R., RENTON N., 1994 : The diagnosis of toxoplasmosis using IgG avidity : Epidemiology and infection. 119 : 399-408.

HOLMDAH OJM., MATTSON JG., 1996 : Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by of in vitro amplification of the internal transcribed spacer. Parasitol. 112, 177-182.

HOSKINS JD., BUNGE MM., DUBEY JP., DUNCAN DE., 1991 : Disseminated infection with *N. caninum* in ten-year old dog. Camell. Veterinarian. 81, 329-334.

JACKSON V., De LAHANUNTA., ADASKA J., COOPER B. DUBEY JP., 1995 : *N. caninum* in an adult dog with progressive cerebellar signs. Progress in veterinery neurology. 6,124-127.

JENKINS ., BASZLER T., BJORKMAN C., SCHARES G., WILLIAMS D., 2002 : Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* associated bovine abortion. Int. J. Parasitol .32,631-636.

JENKINS MC., WOUDA W., DUBEY JP.,1997 : Serological respenses over time to recombinant *N.caninum* antigens in cattle after a neosporosis-induced abortion. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology.4, 270-274.

KNOWLER C., WHEELER SJ., 1995 : *Neospora caninum* infection in three dogs.J. small. Anim. Pract. 36,172-177.

LIDDELL S., JENKINS MC., DUBEY JP., 1999 : Vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/ c mice determined by PCR detection . J. Parasitol. 85, 550p.

LINDSAY DS., BUTTER JM., RIPPEY NS., BLABURN NL., 1996 :Demonstration of synergistic effect of sulfamide and dihydrofolate reductase thymidylate synthase inhibitors againts *N. caninum* tachyzoites in cultured cells and characterisation of mutans resistant to Pyrimethamine. An. J. Vet . Res. 75, 58-72.

LINDSAY DS., DUBEY JP., 1989 : Immunohistochemical diagnosis of *N. caninum* in tissus sections. Am. J. Vet. Res. 50, 1981-1993.

LINDSAY DS., DUBEY JP., DUNCAN RB., 1999a : Confirmation that the dog is a definitive host for *N.caninum*. Vet . Parasitology.82, 327-333.

LINDSAY DS., DUBEY JP., Mc ALLISTER M., 1999b : *N.caninum* and the potentiel for parasite transmission. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 21,317-321.

LINDSAY DS., DUBEY JP., UPTON SJ., RIDLEY RK., 1990 : Serological prevalence of *N.caninum* and *T. gondii* in dogs from Kansas. J. Helminthol. Soc. Wash. 57, 86-88.

LINDSAY DS., DUBEY JP.,1989b : In vitro the development of *N.caninum* (protozoa : *Apicomplexa*) from dogs. J. Parasitol. 75, 163-165.

LITTLE PB., 1996 : Central nervous system rendez-vous, canine progressive posterior paralysis . Can. Vet. J. 3, 55-56.

LOSSON B., BOURDOISEAU G., 2000 : *N.caninum* : un nouvel agent abortif chez les bovins. Bulletin des GTV. 7, 107-114.

MAINER-JAME RC., THURMOND MC., BERZAL-HARRANS B., 1999 : Seroprevalence of *N.caninum* and abortion in dairy cow in northern Spain .Vet. Record. 145, 72-75.

MARQUER A, 1999 : Epidemiologie et diagnostic de la neosporose bovin. Revue bibliographique. Thèse pour le doctora vétérinaire. Alfort 117p

MARQUER M., CHERMETTE R., 2000 : La neosporose chez les bovins. Point. Vet. 31(208), 293-298.

MAYHEW IG., SMITH KC., DUBEY JP., GATWARD LK., McGLENNON NJ.,1990 :Traitement of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. J. small anim. Pract. 32, 609-612.

McALLISTER MM., VWILLS RR., LINDSAY DS., TRANS JD., 1998 : Oral inoculation of cates with tissus cyst of *Neospora caninim* . An. J. Vet. Res. 59(4), 440-444.

McALLISTER MM., HUFFMAN EM., HHEITALA SK., CONRAD PA., ANDERSON ML., SALMAN MO.,1996 : Evidence suggesting a point source exposure in a out break of bovine abortion due to neosporosis. J. vet. Diagn. ; invest. 8, 355-357.

McALLISTER. , DUBEY JP., DAVIS S., LINDSAY DS., WILLIAM R., JOLLEY., REBECCA AW., ANGELA M., McGUIRE., 1998b : Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Inter. Journal. Parasitol. 28, 1473-1778.

McGLENNON NJ., JEFFERIES AR., CASAS C., 1990 : Polyradiculoneuritis and polymyositis due to toxoplasma like protozoan/ diagnosis and treatment. J. small. Anim. Pract. 31, 102-104.

MOEN AR., WOUDA W., MULS MF., GROAT EAM., VAN WERVEN T., 1998 : Increased risk of abortion following *N.caninum* abortion outbreaks : a retrospective cohort study in four dairy herds. Theriogenology. 49, 1381-1385.

MOEN AR., WOUDA W., VAN WERVEN T., 1995 : clinical and seroepidemiological follow-up study in four dairy herds with an outbreak of neospora abortion . Proc. Dutch. Society for veterinary epidemiology and economics. Lelystand. 93-103.

MOORE DP., CAMPERON CM., ODEAN A., 2002 : Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. Vet. Parasitol.107, 303-316.

MULLER N., ZIMMERMANN V., HENTRICH B., GOTTSTEIN B., 1996 : diagnosis of *N. caninum* and *T. gondii* infection par PCR and hybridization immunoessay. J. clin. Microbilo. 82,272-279.

MUGRIDGE NB., MORRISON DA., HECKEROTH AR., JOHNSON AM., TENTER AM., 1999 : Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 29, 1545-1556.

OBENDORF DL., MURRAY N., VELDHUIS G., MUNDAY BL., DUBEY JP., 1995 : abortion caused by neosporosis in cattle. Aust. Vet. J. 71, 117-118. ;

ODIN M., DUBEY JP., 1993 : Sudden death associated with *N.caninum* myocarditis in a dog . J.Amer. vet. Med. Assn. 203 : 831-833.

O'TOOL D., JEFFERY M., 1987 : Congenital sporozoan encephalomyelitis in calf. Vet. Rec. 121, 563-566.

OTTER A., JEFFERY M., SCHOLS SFE. , HELMICK B., WILESMITH JW., TREES AJ., 1997 : comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis. Vet. Res. 141, 487-489.

OULED AMROUCH A., KLEIN F., OSDOIF C., HUSNI OM., TOURATIER A., MOEZ S., MALLOT JP., 1999 : Estimation of seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.* 30, 531-538.

PACKHAM AF., SVERLOW KW., CONRAD PA., 1998 : A modified agglutination test for *Neospora caninum* development . optimization and comparison to the indirect fluorescent –antibody and enzyme-linked immunofluorescent assay. *Clin. Diagn. Lab Immunol.* 5, 467p

PARE J., THURMOND MC., HIETALA SK., 1996 : Congenital *N.caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can. J. Vet. Res.* 60, 133-139.

PARE S., 1995 : Mise a jour sur les infections a *Neospora* sp. Chez les bovins. *Medecin. Veterinarian du Quebec.* 25 (1), 12-16.

PARISH SM., MAAG-MILLER L., BESSER TE., WEIDNER JP., McELWAIN T., KNNWLS DS., LEATHERS CW., 1987 : myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *JAVMA.* 191(12), 1599-1600.

PERL S., HARRUS S., SATUCHN C., YAKOBSON B., HAYNES D., 1998 : Cataneous neosporosis in a dog in Israel. *Vet. Parasitol.* 79, 257-261.

PETERS M., WARNER F., SCHARES G., 2000 : Canine neosporosis : clinical and pathological findings and first isolation of *N. caninum* in Germany. *Parasitol.Res.* 86, 1-7.

PFEIFFER DU., WILLIAMSON NB., THORNTON RN., 1997 : A simple spreadsheet simulation model of the economic effects of *Neospora caninum* abortions cattle in New Zeland. *Epidemiologie animale.* 31-32.

PLUYE A., 1999 : un cas de neosporose chez un chiot. *Pract. Med. Chir. Anim. Comp.* 34, 597-602.

POLI A., MANCIANTI F., CARLI MA., STROCIO MC., KRAMER L., 1998 : *N.caninum* infection in a Bernese cattle dog from Italy. *Vet. Parasitol.* 76,79-85.

QUINTANILLA –GOZALO A., PEREIRA-BUENO J., TABARES E., INNES EA., GONZALEZ-PANIELLA R., ORTEGA-MORA LM., 1999 : seroprevalence of *N. caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain *Int.J. parasit.* 29, 1201-1208.

RASMUSSEN K., JENSEN AL., 1996 : some epidemiological feature canine neosporosis in Denmark. Vet. Parasitology. 52, 348-349.

REICHEL MP., DRAKE JM., 1996 : the diagnosis of *N. caninum* abortion in cattle. N.Z. Vet. J. 44, 151-154.

ROMAND S., THULLIEZ P., DUBEY JP., 1998 : Direct agglutination test for serologic diagnosis of *N. caninum*. Parasitol. Res. 84, 50-53.

RUEHLMANN D., PODELL M., OGLESBEE M., DUBEY JP., 1995 : canine neosporosis : a case reported and literature review. J. amer. Anim. Hosp. Assn. 31, 174-183.

SAWADA M., PARCK CH., KONDO H., 1998 : Serological of antibody to *N. caninum* in Japanese dogs. J. Vet. Med. Sci. 60, 853-854.

SCHARES G., RAUSER., ZIMMER K., PETERS M., WURM., DUBEY JP., De GAAF DC., EDELHOFER R., MERTENS C., HESS G., CONRATHS FG., 1999 : Serological differences in *N. caninum* –associated epidemic and endemic abortions. J. Parasitol. 85, 688-694.

SHEAHAN BJ., CAFFREY JP., DUBEY JP., MCHENRY DF., 1998 : Caninum encephalomyelitis in seven dogs. Irish. Vet. 132, 125-126.

SHIVAPRASED HL., ELY R., DUBEY JP., 1989 : A Neospora-like protozoan found in aborted bovine placenta. Vet. Parasitol. 34, 145p.

SPEER CA., FAYER R., 1989 : Sarcocystis of animals and man. CRS Press. Boca Raton. Florida. 215p

THONTON RN., GAJADHAR A., EVANS J., 1994 : neospora abortion epidemic in a dairy herd N. Z. Vet. J. 42, 190-191

THURMOND MC., HIETALA SK., 1997 : effect of *N. caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. J. V. M. A. 210, 672-674.

TRANAS JD., HEINZEN RA., WEISS LM., McALLISTER., 1999 : Serological evidence of human infection with protozoan Neospora. C. clin. Diagn. Immunol. 6(5), 765-767.

TREES AJ., 1999: Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. Int. T. Parasitol. 29, 1195-1200.

TREES AJ., GUYE F., TENNAN BJ., BALFOUR AH., UBEY JP., 1993 : Prevalence of antibodies to *N. caninum* in a population urban dogs in England. Vet. Rec. 132, 125-126.

WALSH CP., VEMULPALLI R., SRINANGANATHAN N., ZAJAC AM., JENKINS MC., LINDSAY DS., 2001 : Molecular comparison of the dense granule proteins GRA6 and GRA7 of *Neospora hughesi* and *Neospora caninum* . Int. J. Parasitol. 31, 253-258.

WILLIAMS JH., FSPIE L., VAN WILP F., MATTHEE A., 2002 : Neosporosis in a white rhinoaeros. Call. Ivdskr. S.Vet. Ver 73, 38p.

WOUDA W., 2000 : Diagnosis and epidemiology of neosporosis : review. The veterinary quarterly. 22 (2), 71-74.

WOUDA W., De GREE ALW., MOEN AR., VAN KNAPEN P., 1995 : laboratory experiences with bovine *Neospora* abortion in dutch dairy herds. Proceedings of the symposium neospora aborths. Bjj het rund. 3-9

WOUDA W., DIJKSTRA T., KRAMER AM., VAN MAANEN C., BRINKHO JM., 1999 : seroepidemiological evidence for relation between *N. caninum* infections in dogs and cattle. Inter. J. parasitol. 29, 1677-1682.

HEMPHILL A., 1996 : Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. parasitology. 112, 183-187.

,

WOUDA W., MOEN AR., VISSER IJR., VAN-KNAPEN F., 1997a : :bovine fatele neosporosis : a comparison of epizootic an sporadic abortion and different age classes with regard to lesionsevery and immunohistochemical identification in brain, heart and liver. J A V M A. 9, 180-185.

WOUDA W., DUBEY JP., JENKINS MC., 1997b : serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. J. parasitol. 83, 545-547.

YAEGER NJ., SHAWD-WESSELS S., LESLIE-STEEN P., 1994 : *Neospora* abortion strom in midwestern dairy. J. Vet. Diagn. Invest. 6, 506-508.

