

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر



MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MAGISTER EN SCIENCES VETERINAIRES

Option : Immunologie Animale

**Étude de la séroprévalence des infections par le virus
Schmallenberg et *Neospora caninum* chez les bovins
dans la région de Freha (Tizi-Ouzou)**

Présenté par : Dr. Ghenima AHMIL

Soutenue le 28/06/2017

Le jury :

Président: Pr. Khelef. Djamel	Professeur	ENSV d'Alger
Promoteur: Dr. Azzag. Naouelle	MCA	ENSV d'Alger
Co-Promoteur: Pr. Ghalmi. Farida	Professeur	ENSV d'Alger
Examineur 1: Dr. Hafsi. Fella	MCA	ENSV d'Alger
Examineur 2: Pr. Ait oudhia. Khatima	Professeur	ENSV d'Alger

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre
profonde gratitude et nos vifs remerciements :

Avant tous, nous remercions **ALLAH** le tout puissant pour nos
avoir donné la force et la patience pour mener à terme ce travail.

A ma famille qui m'a toujours encouragée et soutenue
durant toutes mes études.

A ma chère promotrice **Dr. AZZAG Naouelle,**

Chère Co-promotrice **Professeur. GHALMI Farida**

Maitre **Bernard CHINA**

Pour avoir accepté de me guider sur le bon chemin de ce travail.
Aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger mon travail
A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation
de ce modeste mémoire.

Merci à tous, très sincèrement

DIDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et ne cessent pas de me soutenir et de me faire confiance : mes très chers parents : **Ahmil Mohand** et **Tazir Fatma**, mes grands parents : **Ahmil Rabah** et **Sahraoui Yamina**- pour l'amour et le soutien que m'avez offert tout le long de mon cursus, je vous dis merci.....

Un jet d'encre ne suffira jamais à vous remercier

A mes chères sœurs : **FAYROUZ, SABRINA** et son mari **NASSIM** et **NOURHANE**

A mon frère : **ABDELHAK**

A ma grande famille *AHMIL

A ma promotrice ^{Mme} **AZZAG Naouelle**, ^{Mme} **GHALMI Farida** , ^{Mr} **Bernard CHINA**

A toutes mes amies et amis et les enseignants d'ENSV.

A toute personne qui me connait

GHENIMA

Résumé

Le virus de Schmallenberg (SBV) est un Bunyaviridea émergent qui circule en Europe depuis 2011. Ils touchent les ruminants en provoquant des malformations congénitales sévères, des mortinatalités et des avortements. *Neospora caninum* est un parasite Apicomplexa qui affecte le bétail et qui est une cause majeure d'avortements. Ces deux agents causent des pertes économiques dans les élevages. Une étude séro-épidémiologique dans la région de Freha (Tizi-Ouzou) a été effectuée afin d'estimer la prévalence des avortements chez les bovins ainsi que l'implication de certains facteurs de risques dont l'exposition aux deux agents infectieux étudiés. 195 vaches appartenant à 28 fermes ont été analysées dont 184 pour la sérologie. Cette étude se divise en trois parties :

(i) l'étude des prévalences. La prévalence des avortements était de 13% (26/195). La séroprévalence SBV par ELISA était de 42% (78/184) pour SBV et de 5% (10/184) pour *N. caninum*. La prévalence des coinfections était de 2% (4/184).

(ii) La deuxième partie était consacrée à l'étude des facteurs de risque qui peuvent influencer la séroprévalence ainsi que les avortements. Selon les résultats de l'enquête épidémiologique réalisée ; L'âge, la parité, le mode d'élevage et le contact avec les chiens sont des facteurs de risque d'avortements chez les vaches étudiées. Pour la sérologie SBV, on a constaté que la taille de l'exploitation, l'hygiène et la présence des chiens dans l'exploitation sont des facteurs de risque, pour la sérologie vis-à-vis de *N. caninum*, seul le contact vaches-chiens s'est révélé un facteur de risque.

(iii) La troisième partie consistait en une étude cas témoins visant à étudier le lien épidémiologique entre l'exposition aux pathogènes et les avortements. A l'échelle individuelle il n'y a pas une liaison entre la séropositivité SBV ou *N. caninum* et les avortements. Au niveau des exploitations, sur un total de 28 fermes, 19 étaient témoins (68%) et 9 cas (32%) avec 25 vaches avortées sur les 184 analysées. Les résultats ont montré une association très significative entre le fait d'avoir au moins un individu séropositif pour *N. caninum* dans la ferme et le fait d'avoir des avortements dans le troupeau.

Mots clés : Virus Schmallenberg, N.caninum, séroprévalence, avortement, facteur de risque, vache, Freha, Ghenima.

Summary

Schmallenberg virus (SBV) is an emerging Bunyaviridae circulating in Europe since 2011. They affect ruminants by causing severe congenital malformations, stillbirths and abortions. *Neospora caninum* is an Apicomplexa parasite that affects livestock and is a major cause of abortions. These two agents cause economic losses in the farms. A seroepidemiological study in the region of Freha (Tizi-Ouzou) was carried out to estimate the prevalence of abortions in cattle as well as the involvement of certain risk factors including exposure to the two infectious agents studied. 195 cows belonging to 28 farms were analyzed, including 184 for serology. This study is divided into three parts:

(I) the study of prevalence. The prevalence of abortions was 13% (26/195). The seroprevalence by ELISA was 42% (78/184) for SBV and 5% (10/184) for *N. caninum*. The prevalence of co-infections was 2% (4/184).

(ii) The second part was devoted to the study of risk factors that may influence seroprevalence as well as abortions. According to the results of the epidemiological survey carried out; Age, parity, mode of rearing and contact with dogs are risk factors for abortions in cows studied. For SBV serology, it was found that the size of the herd, the hygiene and the presence of the dogs on the farm are risk factors. For *N. caninum* serology, only contact cow-dog has been shown to be a risk factor.

(iii) The third part consisted of a case-control study to investigate the epidemiological link between pathogen exposure and abortions. At the individual level there is no link between SBV or *N. caninum* serology and abortions. At the farm level, out of a total of 28 farms, 19 were controls (68%) and 9 cases (32%). The results showed a very significant association between having at least one seropositive individual for *N. caninum* and having abortions in the herd.

Key words: Schmallenberg virus, N.caninum, seroprevalence, abortion, risk factor, cow, Freha, Ghenima

ملخص

فيروس SBV من عائلة بونيا فيريد ناشئ ومنتشر في أوروبا منذ 2011 يؤثر على المجترات ويسبب العيوب الخلقية موت الجنين داخل الرحم والإجهاض *N. caninum*, طفيلي ابيكو هبليكسا يصيب الماشية و يشكل سببا رئيسيا لحالات الإجهاض.

هذان العاملين يسببان خسائر اقتصادية في المزارع وقد أجريت الدراسة المصلية الوبائي في منطقة فريجة تيزي وزو لتقدير مدى انتشار حالات الإجهاض عند الأبقار و تورط بعض عوامل الخطر بما في ذلك التعرض لكلا العوامل المعدية التي شملتها الدراسة منها 184 للدراسة المصلية

1. دراسة الانتشار : انتشار حالات الإجهاض كانت (26/195) 13% وكان الانتشار المصلي ل SBV بواسطة اليزا 42% (78/184) و 5% (10/184) بالنسبة *N.caninum* و بلغت نسبة انتشار العدوى المشتركة إلى 2% (4/184).

2. خصص الجزء الثاني لدراسة عوامل الخطر التي قد تؤثر على انتشار الفيروس و الإجهاض حسب نتائج التحقيق الوبائي فان : العمر عدد الولادات طريقة الزراعة و الاتصال مع الكلاب عوامل الخطر للإجهاض, بالنسبة للدراسة المصلية SBV تبين أن حجم المزرعة و النظافة و وجود الكلاب من العوامل الخطيرة نفس الدراسة ل *N.caninum* أكدت أن الاتصال بين الأبقار و الكلاب هو الخطر الوحيد .

3. خصص لدراسة الحالات و الشواهد للتحقيق بين التعرض لمسببات الأمراض و الاجهاض على المستوى الفردي

لم يكن هناك علاقة بين الدراسة المصلية ل SBV أو *N.caninum* و الإجهاض على مستوى المزارع من أصل مزرعة 28 , 19 كانت مزارع شواهد (68%) و 9 حالات (32%) مع 25 بقرة أجهضت من أصل 148 مزرعة , النتائج بينت أن هناك علاقة مهمة للغاية بين وجود شخص مصلي موجب على الأقل ل NC في مزرعة و الإجهاض في القطيع .

كلمات البحث، SBV ، *N.caninum* , انتشار الإجهاض , عامل الخطر , بقرة , فريجة , غنيمة.

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE I. Données relatives au virus de Schmallerberg

I. Le virus de Schmallerberg : généralités

I.1 Les circonstances de sa découverte.....3

I.2 Analyse métagénomique.....4

I.2.1. Principe.....4

I.2.2. Résultats et Conclusions d'Hoffman.....5

I.3. Le virus Schmallerberg, un Bunyavirus du genre Orthobunyavirus.....6

I.3.1. Relations phylogéniques.....6

I.3.2. Classification, morphologie et composition du SBV.....7

I.3.3. Propriétés.....9

I.3.3.1. Propriétés physico-chimiques9

I.3.3.2. Propriétés antigéniques.....9

I.3.3.3. Échappement à la réponse immunitaire.....9

I.3.4. Effet cytopathogène.....10

I.3.5. Cycle de réplication.....10

I.3.6. Caractéristiques des virus proches du SBV.....11

I.4. Le SBV, un arbovirus.....11

I.5. La pathogénie.....12

I.5.1. Tropisme cellulaire et dissémination du SBV.....12

I.5.2. Conséquences hypothétiques d'une infection in utero.....13

II. Le vecteur : généralités.....14

II.1. Systématique, répartition géographique.....14

II.2. Description des Culicoïdes.....14

II.3. Biologie et écologie.....15

II.3.1. Cycle de la vie des Culicoïdes.....15

II.3.2. Habitats, Nutrition.....16

II.3.3. Facteurs influençant la biologie des Culicoïdes.....17

II.4. Rôle pathogène et transmission d'agents pathogènes.....18

II.4.1. Les conséquences de la pique.....18

II.4.2. Transmission d'agents pathogènes.....	18
III. Épidémiologie de la maladie induite par ce nouveau virus.....	19
III.1. Les espèces concernées de cette maladie	19
III.1.1. Espèces sensibles.....	19
III.1.2. Espèces réceptives.....	19
III.1.3. Un risque pour l'homme ?	19
III.2. La dissémination de la maladie	20
III.2.1 Les matières virulentes.....	20
III.2.2. Mode de transmission.....	21
III.2.2.1. Transmission horizontale.....	21
III.2.2.2. Transmission verticale.....	21
III.2.2.3. Transmission vénérienne.....	22
III.2.2.4. Transmission vectorielle.....	23
III.3. Morbidité de l'infection par le SBV.....	23
III.4. Données et prévalence de la circulation du virus SBV en Europe.....	24
IV. Système immunitaire et SBV.....	26
IV.1. Immunité innée et Bunyavirus.....	26
IV.1.1. La réponse immunitaire innée face aux Bunyavirus	26
IV.1.2. Modes d'échappements à la réponse immunitaire innée.....	27
IV.1.2.1. Induction limitée de la réponse INF de type 1.....	27
IV.1.2.2. Échappement du virus à la réponse INF de type 1.....	27
IV.2. Réponse immunitaire spécifique.....	28
IV.2.1. Réponse immunitaire à médiation humorale face aux bunyavirus et au SBV.....	28
IV.2.2. Réponse immunitaire à médiation cellulaire face aux bunyavirus et au SBV.....	29
IV.3. Maturité immunitaire du jeune vis à vis du SBV.....	29
IV.3.1. Production fœtale d'INF de type 1.....	30
IV.3.2. Immunité humorale fœtale.....	30
IV.3.3. Immunité colostrale.....	30
V. Expression clinique du SBV.....	31
V.1. La forme inapparente.....	31
V.2. La forme aiguë.....	31
V.3. La forme congénitale.....	32
V.3.1. Description des signes cliniques de la forme congénitale.....	32
V.3.2. Lésions macroscopiques.....	32

V.3.3. Lésions microscopiques.....	34
V.3.4. Autres symptômes	34
VI. Diagnostic.....	35
VI.1. Diagnostic différentiel.....	35
VI.2. Examen lésionnel	36
VI.2.1. Au niveau macroscopique.....	36
VI.2.2. Au niveau histologique.....	38
VI.3. Diagnostic de laboratoire.....	41
VI.3.1. Méthodes directes.....	41
VI.3.1.1. RT-PCR en temps réel.....	41
VI.3.1.2. Isolement viral	41
VI.3.2 Méthodes indirectes	41
VI.3.2.1. Séro-neutralisation.....	42
VI.3.2.2. ELISA.....	42
VI.3.2.3. Immunofluorescence indirecte.....	42
VII. Les moyens de lutte contre le virus.....	42
VII.1 La vaccination.....	42
VII.2 La lutte anti-vectorielle.....	45
VII.2.1. La lutte environnementale.....	45
VII.2.2. La lutte mécanique	46
VII.2.3. La lutte chimique	46
VII.2.4. Autres méthodes.....	46
VII.2.4.1. Le piégeage lumineux	46
VII.2.4.2. L'adaptation des programmes de reproduction.....	47
CHAPITRE II. Données actualisés concernant <i>Neospora caninum</i>	
I. Historique.....	48
II. Biologie de <i>Neospora caninum</i>	49
II.1. Taxonomie et classification.....	49
II.2. Cycle parasitaire.....	49
II.3. Localisation et structure des formes parasitaire.....	51
II.3.1. Tachyzoïtes.....	51
II.3.2. Bradyzoïtes et kystes tissulaires.....	51
II.3.3. Oocystes.....	53

III. Immunité et lésions	53
III.1. Réponse immunitaire des hôtes.....	53
III.1.1. Réponse immunitaire lors de la transmission verticale.....	53
III.1.2. Réponse immunitaire lors de la transmission horizontale.....	55
III.2. Lésions.....	55
IV. Les conséquences cliniques.....	56
IV.1. Espèce bovine.....	56
V. Le diagnostic de la néosporose chez les bovins.....	57
V.1. Clinique et épidémiologique.....	57
V.2. Diagnostic Différentiel.....	57
V.2.1. Etiologie des avortements chez la vache.....	57
V.2.2. Etiologie des troubles nerveux chez le nouveau-né.....	60
V.3. De laboratoire.....	62
V.3.1. Méthodes directes.....	62
V.3.2. Méthodes indirectes.....	63
VI. Mode de transmission.....	64
VI.1. Transmission verticale.....	64
VI.2. Transmission horizontale	65
VII. Moyens de lutte.....	65
VII.1. Prophylaxie	65
VII.1.1. Médicale.....	65
VII.1.2. Sanitaire	66
VII.2. Traitement.....	66

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Problématique et objectifs de l'étude.....	67
II. Matériels et méthodes.....	68
II.1. Description de la région d'étude.....	68
II.1.1. Situation géographique.....	68
II.1.2. Caractère climatiques.....	70
II.1.3. La production animale dans la région d'étude.....	70
II.1.4. Description du mode d'élevage bovin.....	70
II.2. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique.....	71

II.2.1. Mode d'échantillonnage.....	71
II.2.1.1. Échantillonnage.....	71
II.2.1.2. Etude épidémiologique de type cas-témoin.....	72
II.2.2. Enquête épidémiologique descriptive.....	73
II.3. Analyses sérologiques.....	72
II.3.1. Description et principes.....	73
II.3.2. Matériels nécessaire.....	74
II.3.3. Mode opératoire.....	74
II.4. Analyses statistiques.....	76
III. Résultats.....	78
III.1. Séroprévalence de SBV par ELISA.....	78
III.2. Séroprévalence de <i>Neospora caninum</i> par ELISA.....	78
III.3. Prévalence des coinfections par le SBV et <i>Neospora caninum</i>	79
III.4. Résultats de l'enquête épidémiologique sur les avortements.....	80
III.4.1. Prévalence des avortements.....	80
III.5. Etudes des facteurs de risques des avortements, séropositivité au SBV et séropositivité au <i>Neospora caninum</i>	80
III.5.1. La race.....	81
III.5.2. L'âge.....	82
III.5.3. Taille de l'exploitation.....	83
III.5.4. L'hygiène.....	83
III.5.5. Parité.....	84
III.5.6. Mode d'élevage.....	85
III.5.7. Présence des chiens.....	86
III.5.8. Contacts avec les chiens	87
III.6. Etude cas-témoins.....	91
III.6.1. Exposition au SBV.....	91
III.6.1.1. En fonction de statut de la ferme.....	91
III.6.1.2. A l'échelle individuelle.....	92
III.6.2. Etude de l'exposition à <i>N.caninum</i>	93
III.6.2.1. Au niveau de l'exploitation.....	93
III.6.2.2. A l'échelle individuelle	93

IV. Discussion	95
IV.1. Population étudiée et représentativité des résultats.....	95
IV.2. Tests utilisés.....	96
IV.3. Séroprévalence de SBV par ELISA	96
IV.4. Séroprévalence de Neospora caninum.....	98
IV.5. Prévalence des coïnfections.....	99
IV.6. Prévalence d'avortement	99
IV.7. Etudes des facteurs de risque.....	100
IV.8. Etude cas témoins	101
V. Conclusion & Recommandations	103
Annexes	105
Références bibliographiques	113

Liste des abréviations

µl : Microlitre

Ag : Arthrogrypose

An : Année

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

BDV : Border Disease Virus

BHM : Barrière Hémato-Méningée

BHV1 : Virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine

BLA : Bovin Laitier Amélioré

BLM : Bovin Laitier Moderne

BTV : Blue Tongue Virus

BVD : Bovin Virus Dairy

CERVA : Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques

DO : Densité Optique

DOcn : Densité Optique de contrôle négatif

DOcp : Densité Optique de contrôle positif

DSA : Direction des Service Agricole

EAT : Eating Attitudes Test

ECP : Effet CytoPathique

EFSA: European Food and Safety Authority.

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FC : Fixation de complément

FCO : Fièvre Catarrhale Ovine

FNDRA : Fonds National de Régulation et de Développement Agricole

HD : Hôte Définitif

HD : Hôte Définitif

HE : Hydranencéphalie

HI : Hôte Intermédiaire

HI : Hôte intermédiaire

IBR : Rhinotracheite Infectieuse Bovine

IC : Intervalle de confiance

IDvet: Innovative Diagnostics Veterinaria

IF: Immuno fluorescence

IFN: Interféron

IFNAR: Interferon-Alpha- Receptor

IgG: Immunoglobuline G

IM : Intra musculaire

IMT : Institut de Medecine Tropicale

INMV : Institut National de Médecine Vétérinaire

IPI : Infecté Persistant Immunotolérant

Km : Kilomètre

KO: Knock-Out

LCR: Liquide Céphalo-Rachidien

mm: millimètre

N.caninum : Nesopora caninum

NGS: Next-Generation Sequencing

NK : Naturel Killer

nm : Nanomètre

NS : Non Significatif

OAS : Oligo-Adenylate Synthétase

OIE : Office international des épizooties.

OR : Odds Ratio

P : Prévalence

PCR : Polymerase Chain Reaction

PGF2alpha : Prostaglandine Factor 2 alpha

PKR : Protéine Kinase dépendante de l'ARN double brin

RNP: Ribo-Nucleo-Proteine

RT-PCR: Real Time- Polymerase Chain Reaction

RT-qPCR: Real Time- Quantitative Polymerase Chain Reaction

S : Significatif

SAU : Surface Agricole Utile

SBV : Schmallenberg Virus

SC : Sous Cutanée

SNC: Système Nerveux Central

Th1: T-Helper 1

Th2: T-Helper 2

TMB: Tétraméthylebenzidine

TNF: Tumor Necrosis Factor

TS : Très significatif

LISTE DES TABLEAUX

Numéro de tableau	Le titre de tableau	La page
Tableau : I	Analyse des quatre bibliothèques génomiques obtenues à partir des deux échantillons	5
Tableau : II	Tableau récapitulatif des caractéristiques des virus ayant une forte homologie avec le SBV	11
Tableau : III	Période de gestation susceptible d'entraîner des malformations congénitales lors de l'infection des mères par le SBV	22
Tableau : IV	Nombre de suspicions et foyers confirmés de SBV par pays, sur la période allant du 1er août 2011 au 30 octobre 2012	25
Tableau : V	Prévalence « cheptel » du SBV clinique dans les trois pays les plus touchés	25
Tableau : VI	Nombre de suspicions et de foyers confirmés de SBV par espèces sensibles, sur la période allant du 1er août 2011 au 30 octobre 2012	26
Tableau : VII	Malformations congénitales visibles à la naissance causées par le virus Schmallerberg	32
Tableau : VIII	Liste non exhaustive des principales affections responsables de malformations et de troubles comportementaux chez les ruminants, à prendre en compte dans le diagnostic différentiel du SBV congénital	35
Tableau IX	Comparaison entre les signes cliniques du SBV congénital et les signes cliniques des maladies les plus fréquentes considérées dans le diagnostic différentiel du SBV congénital chez les ruminants	36
Tableau : X	Tableau résumant les vaccins disponible pour prévenir le SBV	44
Tableau : XI	Historique des découvertes sur <i>Neospora caninum</i> de 1984 à 1999	48
Tableau : XII	Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : maladies infectieuses à rechercher dans un premier temps	58
Tableau : XIII	Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : maladies infectieuses à rechercher dans un deuxième temps	59
Tableau : XIV	Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : causes non infectieuses	60
Tableau : XV	Diagnostic différentiel des troubles nerveux d'origine infectieuse chez le veau nouveau-né	60
Tableau : XVI	Diagnostic différentiel des troubles nerveux d'origine héréditaire liés à des anomalies métaboliques chez le veau nouveau-né	61
Tableau : XVII	Diagnostic différentiel des troubles nerveux congénitaux et héréditaires liés à des anomalies de développement chez le veau nouveau-né	61
Tableau : XVIII	Répartition des vaches prélevées par fermes et par village	72

Tableau : XIX	La séroprévalence vis-à-vis le SBV chez les 184 vaches analysées	78
Tableau : XX	Tableau résumant les résultats sérologique de <i>N. caninum</i>	78
Tableau : XXI	Séroprévalence de la coïnfection NC & SBV	79
Tableau : XXII	Taux de prévalence des avortements chez les vaches dans les fermes exploitées	80
Tableau : XXIII	Association entre la race, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i> .	81
Tableau : XXIV	Association entre l'âge (an), les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i> .	82
Tableau : XXV	Associations entre la taille de l'exploitation, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i> .	83
Tableau : XXVI	Associations entre le statut hygiénique de l'exploitation, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i>	84
Tableau : XXVII	Associations entre la parité des vaches analysées, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i>	85
Tableau : XXVIII	Associations entre la parité des vaches analysées, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i>	86
Tableau : XXIX	Associations entre la présence des chiens dans les étables étudiées, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i>	87
Tableau : XXX	Associations entre le contact entre chien-bovins, les avortements et la sérologie SBV et <i>N. caninum</i>	88
Tableau : XXXI	Tableau résumant les facteurs du risque qui influence l'avortement, séroprévalence SBV et <i>N. caninum</i> .	89
Tableau : XXXII	Résumé de l'association entre les facteurs de risque, les avortements, la sérologie SBV et la sérologie <i>N. caninum</i>	90
Tableau : XXXIII	Caractéristique des fermes prélevées	91
Tableau : XXXIV	Séroprévalence du SBV en fonction de statut des fermes	91
Tableau : XXXV	Calcul de l'Odds ratio des fermes cas et témoins par rapport à l'exposition au SBV	92
Tableau : XXXVI	Séroprévalence du SBV chez les animaux par type de ferme	92
Tableau : XXXVII	calcul de l'Odds ratio du lien entre exposition au SBV et avortement	92
Tableau : XXXVIII	Séroprévalence de <i>N. caninum</i> en fonction du statut de la ferme	93
Tableau : XXXIX	Calcul de l'odds ratio du lien entre l'exposition à <i>N. caninum</i> et le statut de la ferme	93
Tableau : XL	Séroprévalence du <i>N.caninum</i> chez les animaux par type de fermes	93
Tableau : XLI	Odds ratio du lien entre la séropositivité des vaches et le risque d'avortement	94

LISTE DES FIGURES

Numéro de la figure	Le titre de la figure	La page
Figure 01	Relations phylogénétiques entre le SBV et les autres Orthobunyavirus des sérogroupes Simbu, Bunyamwera et California	6
Figure 02	Génome des virus de la famille des Bunyaviridae	8
Figure 03	Structure des virus de la famille des Bunyaviridae	9
Figure 04	Schéma récapitulatif de cycle de réplication des Bunyavirus au sein de la cellule hôte	10
Figure 05	Conséquences hypothétiques d'une infection <i>in utero</i> par le SBV, pour les bovins (A) et les petits ruminants (B)	14
Figure 06	Comparaison entre la taille d'un Culicoïdes (<i>Culicoïdes scoticus</i>) (à gauche) et d'un moustique (<i>Culex spp</i>) (à droite), toutes deux femelles	15
Figure 07	schéma résumant le cycle biologique des culicoïdes	15
Figure 08	Culicoïdes en pleine repas sanguin	17
Figure 09	Mode de dissémination du SBV par l'intermédiaire d'un moucheron vecteur	23
Figure 10	Schéma bilan, évolution de la sensibilité fœtale à l'infection par le SBV et défenses immunitaires	31
Figure 11	Arthrogrypose chez un agneau (a) et un veau (b)	33
Figure 12	Brachygnathisme inférieure chez un veau infecté par le SBV	33
Figure 13	Arthrogrypose et torticolis chez un veau atteint de SBV congénital	33
Figure 14	Porencéphalie chez un agneau infecté par le SBV	34
Figure 15	Conséquences lésionnelles d'une infection par le SBV	38
Figure 16	Infiltration lymphohistiocytaire perivasculaire modérée dans un cerveau d'agneau infecté par le SBV	39
Figure 17	infiltration lymphohistiocytaire multifocale de la moelle épinière d'un agneau infecté par le SBV	39
Figure 18	Moelle épinière cervicale d'un veau infecté par le SBV. Micromyélie avec réduction importante de la substance grise	40
Figure 19	Fibres musculaires d'un agneau infecté par le SBV. Fibres musculaires normales (astérisque). La plupart des fibres présentent une myofibrille hypoplasique.	40
Figure 20	Piège utilisé pour la surveillance des culicoïdes	46

Figure 21	Taxonomie simplifiée de <i>Neospora caninum</i>	49
Figure 22	Cycle de développement et de transmission de <i>N. caninum</i>	50
Figure 23	Tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i> dans les fibroblastes infectés	51
Figure 24	Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien	52
Figure 25	Comparaison électro-microscopique de tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> (A) et de bradyzoïtes (B) cultivés in vitro	52
Figure 26	Oocyste sporulé contenant deux sporozoïtes	53
Figure 27	Coupe histologique d'un encéphale de fœtus bovin : lésion inflammatoire avec un centre nécrotique	56
Figure 28	Carte représentative de la wilaya de Tizi-Ouzou et ses principales limites administratives	69
Figure 29	Photo des races de vaches prélevées	71
Figure 30	histogramme représentatif des résultats sérologiques SBV	78
Figure 31	histogramme de la prévalence <i>Neospora</i>	79
Figure 32	Histogramme de la séroprévalence de la coinfection SBV et NC	79
Figure 33	Taux de prévalence des avortements chez les vaches dans les fermes exploitées.	80
Figure 34	Répartition des bovins par race	81
Figure 35	Répartition des vaches en fonction de l'âge (an).	82
Figure 36	Répartition des vaches en fonction de statut hygiénique de fermes étudiées.	84
Figure 37	Répartition des vaches en fonction de la parité	85
Figure 38	Répartition des vaches en fonction mode d'élevage.	86
Figure 39	Répartition des vaches en fonction de présence de chiens dans les étables	87
Figure 40	Répartition des vaches en fonction de contact avec les chiens	88

INTRODUCTION

L'Algérie comme tout pays, importe tout ce qu'elle ne peut pas produire. Cependant, mais en raison de la crise économique, la politique du pays vise à se détacher des hydrocarbures, ce qui a motivé l'état à investir dans les productions locales notamment en matière d'élevage tout en réduisant les importations.

Néanmoins la production locale en matière d'élevage ne couvre qu'un pourcentage minime des besoins de la population notamment en viande et lait si on s'intéresse à la filière animale.

Cette incapacité à couvrir les besoins résulte de problèmes propres à cette filière animale. Parmi lesquels on cite les troubles de la reproduction : avortements, les mortinatalités et les cas d'infertilité. Chez le bovin ces problèmes sont dus à des causes infectieuses et non infectieuses. Parmi les causes infectieuses, il y'a *Neospora caninum* qui cause la néosporose un apicomplexe, à l'origine de répercussions économiques particulièrement importantes chez la vache, principalement au cours de ces dernières années. Il est d'ailleurs considéré comme un agent majeur d'avortement en Algérie (**Dubey et al., 2007; Ghalmi et al., 2011**). Il y'a aussi le virus de Schmallenberg, il s'agit d'un pathogène récemment identifié en Europe. En Algérie, aucune donnée n'existe au sujet de ce virus.

En 2011, le virus de Schmallenberg (SBV) a été détecté pour la première fois en Allemagne, sur des vaches laitières malades. Une analyse méta-génomique vise à identifier cet agent, il s'agit d'un *Orthobunyavirus* émergent qui touche le bétail. Ce virus qui circule actuellement en Europe provoque des symptômes cliniques plus au moins important chez les sujets adultes, des signes généraux et parfois avortement. La forme la plus dangereuse et la plus sévère de cette maladie touche les nouveaux nés avec des malformations congénitales et des mortinatalités. La principale voie de transmission se fait par des vecteurs arthropodes (*Culicoides spp*) (**Laloy, 2015**). Depuis la découverte de ce virus, de nombreuses études ont été menées, et le sont encore aujourd'hui, afin d'apporter des connaissances complètes sur la physio pathogénie du SBV.

Neospora caninum est un protozoaire découvert chez le chien au cours des années 1980. Au début des années 1990, on a constaté que Neospora était une cause importante d'avortement chez les bovins. La néosporose est maintenant diagnostiquée sur tous les continents ; on lui attribue de 10 à 25 % des avortements chez les bovins. Dans plusieurs pays, Ce parasite est la cause la plus fréquemment diagnostiquée d'avortement chez les bovins, devant les virus tels le BVD et l'IBR ainsi que les bactéries comme *Leptospira*.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude était d'évaluer **la séroprévalence des infections à *Neospora caninum* et par le virus Schmallerberg chez la vache dans la région de Freha, Tizi-Ouzou (Kabylie).**

Ce présent travail est constitué de deux parties :

Une étude bibliographique, articulée sur deux chapitres portants successivement sur des données relatives au virus de Schmallerberg et des données actualisées concernant *Neospora caninum*,

Une étude expérimentale est présentée dans la deuxième partie du mémoire. L'objectif et la méthodologie du travail sont détaillés en premiers, puis les principaux résultats obtenus sont présentés et discutés, à la fin une conclusion générale, une mise au point des idées acquises et une présentation des perspectives envisageables sont élaborées

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

CHAPITRE I. Données relatives au virus de Schmallenberg

I. Le virus de Schmallenberg : généralités

I.1. Les circonstances de sa découverte

C'est pendant l'été 2011, plus exactement en mois d'août, qu'une nouvelle maladie a été déclarée par les éleveurs et les vétérinaires en Allemagne et aux Pays-Bas dans des élevages de bovins laitiers. Une pathologie qui se caractérise par un syndrome fébrile non spécifique qui ne dure que quelques jours, parfois des cas d'avortement ont été constatés, la guérison est survenue rapidement quelques jours après l'apparition des signes cliniques (Martinelle *et al.*, 2012).

Au cours du mois de novembre 2011, l'Institut Friedrich-Loeffler (FLI) en Allemagne a mis en évidence un supposé nouveau virus, à partir de l'analyse métagénomique de trois prélèvements sanguins, qui ont été réalisés sur trois vaches laitières adultes présentant les symptômes de cette nouvelle maladie dans une ferme près de la ville de Schmallenberg. Ce virus a été nommé virus de Schmallenberg (SBV) en référence à la ville allemande d'où provenaient les échantillons (Herzog, 2016). Il s'agissait d'un virus émergent ayant des séquences génomiques présentant une homologie avec le genre *Orthobunyavirus* de la famille des *Bunyaviridae* (Brugère-Picoux, 2012).

En décembre 2011, l'Institut Vétérinaire Central des Pays-Bas (CVI) a signalé l'effet tératogène du SBV chez des ovins. En effet, des agneaux naissaient avec d'importantes malformations qui sont regroupées sous le terme de « syndrome arthrogrypose hydranencéphalie ». Durant les mois suivants, d'autres pays européens confirment des foyers de SBV sur leur territoire, témoignant d'une progression importante du virus (Dominguez, 2011).

En mars 2012, le CERVA (Bruxelles, Belgique) a identifié la présence du virus SBV par RT-qPCR sur des *culicoides* piégés en septembre-octobre, 2011 en Belgique. Ceci conforte l'hypothèse d'un rôle des *culicoides* dans la transmission du SBV (Dominguez, 2011).

Le 02 avril 2012, Une enquête sérologique SBV réalisée par l'Institut Robert Koch (Allemagne) n'a pas permis la mise en évidence d'anticorps anti-SBV chez une soixantaine d'éleveurs ovins et bovins dans les zones atteintes. Aucun cas d'infection ou de maladies associées au virus SBV n'a été rapporté chez l'homme depuis la première identification de ce virus (Dominguez, 2011).

I.2. Analyse métagénomique

La métagénomique : est une discipline récente basée sur la technologie de séquençage à haut débit (NGS) à l'aide de séquenceurs de nouvelle génération. Elle vise à séquencer les ADN ou les ARN des microorganismes présents dans un échantillon ce qui permet une description génomique du contenu de ce dernier, mais aussi un aperçu du potentiel fonctionnel d'un environnement. L'avantage de la métagénomique est la mise en évidence de l'ensemble des génomes car elle est réalisée directement sur l'échantillon sans passer par une étape de culture **(Planchon, 2015)**.

I.2.1. Principe

Après avoir récolté l'échantillon, le matériel génétique est isolé et amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction). L'étape qui suit consiste au séquençage des génomes amplifiés et de comparer les séquences obtenues aux séquences présentes dans les bases de données de séquences génomiques spécifiques de tous les organismes et microorganismes identifiés. Si ce type d'analyse ne permet pas d'identifier clairement l'ensemble des espèces présentes dans l'échantillon analysé, il permet au moins de préciser le type de microorganismes (virus, bactérie, levure, etc), leur famille voire leur genre. La métagénomique permet également d'identifier des séquences spécifiques lors de la recherche des agents pathogènes nouveaux, donnant ainsi un premier aperçu de leur génome **(Deffontaines, 2013)**.

Dans le cas du SBV, en octobre 2011, des prélèvements sanguins ont été réalisés à partir de trois vaches laitières présentant des signes cliniques suspects. Ces prélèvements, ont été mélangés dans un seul tube. Le sang d'une vache non malade dans une ferme voisine a également été prélevé représentant ainsi l'échantillon témoin. Pour l'analyse métagénomique, deux bases de données génomiques, l'une correspondant à l'ADN et l'autre à l'ARN, ont alors été obtenues et cela pour chacun des deux échantillons (le pool de sang des trois vaches atteintes (BH80/11) d'une part et le sang de la vache indemne (BH81/11) d'autre part. Chacune de ces quatre bases de données obtenues a été séquencée (technologie Roche 454) puis confrontée aux bases de données existantes **(Hoffmann et al., 2012)**.

I.2.2. Résultats et Conclusions d'Hoffman

Les résultats de l'analyse métagénomique réalisée par Hoffmann et ses collègues obtenus sont décrite dans le tableau I ci-dessous.

Tableau I : Analyse des quatre bibliothèques génomiques obtenues à partir des deux échantillons analysés (Hoffmann *et al.*, 2012)

Echantillon	Nombre de lectures	Eucaryotes	Archées	Bactéries	Virus	Non classés
BH 80/11 ARN (pool de sang des vaches atteintes)	27 413	12 296	4	13 363	55 (<i>Myoviridae</i> , <i>Siphoviridae</i> , <i>Podoviridae</i> , <i>Bunyaviridae</i> , <i>Retroviridae</i> , <i>Papillomaviridae</i>)	1 695
BH 81/11 ARN (sang de la vache indemne)	16 125	10 220	2	4 821	57 (<i>Myoviridae</i> , <i>Siphoviridae</i> , <i>Podoviridae</i> , <i>Retroviridae</i>)	1 025
BH 80/11 ADN (pool de sang des vaches atteintes)	77 929	59 308	3	95	3 (<i>Herpesviridae</i> , <i>Mimiviridae</i> , virus non classé)	18 520
BH 81/11 ADN (sang de la vache indemne)	89 728	79 742	9	44	1 (<i>Retroviridae</i>)	9 932

En analysant ce tableau, on constate la présence d'Archea bactéries, de virus et d'eucaryotes. Cependant, ce n'est que sur les séquences d'ARN obtenues à partir de l'échantillon de sang des trois vaches atteintes que les séquences génomiques caractéristiques d'*Orthobunyavirus* ont été identifiées. Ces séquences sont comprises dans trois segments d'ARN de tailles différentes : segment S (Small), segment M (Medium) et le segment L (Large) de 830, 4415 et 6865 nucléotides respectivement (Hoffmann *et al.*, 2012).

Afin d'identifier plus précisément ce bunyavirus, les trois segments ont été confrontés aux séquences d'ARN de la base de données utilisée, Ainsi, ils ont pu observer que chaque segment présentait une homologie avec les souches virales du séro groupe *Simbu*. Ces dernières sont connus pour leur tératogénicité chez les ruminants, avec une homologie de 97% de segment S avec le virus Shamonda; le segment M, 71% avec le virus Aino et 69% avec le virus Akabane pour le segment L (Hoffmann *et al.*, 2012).

Seul le segment S a été utilisé pour l'analyse phylogénétique du SBV, en raison de manque de travaux concernant les segments L et M de virus Shamonda. Les Séquences du segment S codant pour la nucléocapside (702 nucléotides) ont été alignées avec les séquences des sérogroupes *Simbu*, *Bunyamwera* et *California* ce qui a permis d'obtenir un arbre phylogénétique (Hoffmann *et al.*, 2012).

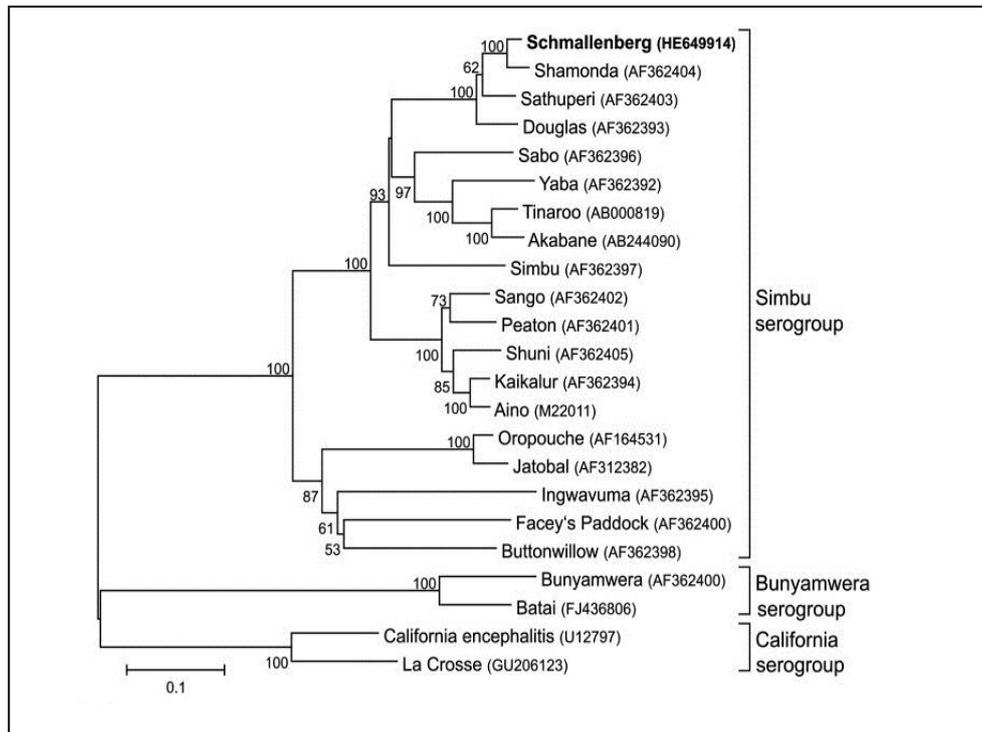


Figure 1 : Relations phylogénétiques entre le SBV et les autres *Orthobunyavirus* des sérogroupes *Simbu*, *Bunyamwera* et *California* (Hoffmann *et al.*, 2012)

Les résultats de l'arbre phylogénique (Figure 1) montrent que le segment S est distinct mais proche de celui des virus Shamonda du séro groupe *Simbu*. D'après Hoffman, le SBV est un virus Shamonda-like du genre *Orthobunyavirus* (Hoffmann *et al.*, 2012).

I.3. Le virus Schmallenberg, un *Bunyavirus* du genre *Orthobunyavirus*

I.3.1. Relations phylogéniques

Quelques mois plus tard après qu'Hoffmann ait présenté ces conclusions sur l'origine de SBV, des travaux de Yanase et ses collaborateurs (2012), ont confirmé cette parenté entre le SBV et le virus Shamonda. Le SBV pourrait être le résultat d'un réassortiment entre le segment M du virus Sathuperi et les segments S, L de Shamonda. Cette hypothèse est rendue crédible grâce au génome tri-segmenté des *Bunyaviridae*, qui permet ce genre de mécanisme (Yanase *et al.*, 2012). Néanmoins, peu de temps après cette l'hypothèse a été remise en question par les travaux de Goller et ses collaborateurs (2012) ; ces derniers ont conclu que le SBV est à classer dans le groupe des virus Sathuperi au sein du séro groupe *Simbu*, et surtout, qu'il n'est pas un réassortiment », mais probablement un ancêtre du virus Shamonda. C'est la conclusion des travaux basés sur la phylogénie et les réactions de séroneutralisation croisées du SBV vis-à-vis de 9 autres virus du séro groupe *Simbu* (Goller *et al.*, 2012).

Définir l'origine exacte de ce virus SBV est vraiment difficile ce qui a été souligné par les résultats et les conclusions divergents des études qui ont été faites dans ce contexte (**Herzog, 2016**).

I.3.2. Classification, morphologie et composition du SBV

- Classification :

Les différentes analyses des séquences virales du **SBV** ont permis de le classer dans la famille des *Bunyaviridae* et plus précisément dans le genre *Orthobunyavirus*, séro groupe *Simbu* (**Zientara et al., 2012**).

La famille des *Bunyaviridae* regroupe plus de 300 espèces virales réparties en cinq genres : *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Orthobunyavirus* qui infectent des hôtes vertébrés et les deux autres genres : *Phlebovirus* et *Tospovirus* qui touchent uniquement les plantes. Les *Orthobunyavirus* sont des arbovirus (terme dérivant de: arthropod-borne viruses) c'est-à-dire sont des virus transmis par différentes espèces d'arthropodes hématophages (**Pasquier et al., 2013**). Les virus de la famille des *Bunyaviridae* sont très ubiquitaires, ils sont retrouvés sur tous les continents et plus particulièrement dans les zones tropicales. Leur répartition géographique varie en fonction de leur réservoir ou de leur vecteur (**Mammette, 2002**).

- morphologie et composition

Les *Bunyavirus* sont des virus enveloppés de petite taille de 100 à 120 nm, de forme sphérique ou pléiomorphe. L'enveloppe virale est constituée d'une double couche lipidique qui porte des spicules formées de glycoprotéines (Gn et Gc) (**Mammette, 2002**).

Le génome de ces virus est composé de trois segments d'ARN simple brin de taille variable et à polarité négative codant chacun pour une ou plusieurs protéines (figure 2). Les trois segments d'ARN adoptent une configuration circulaire en association avec la protéine N de la nucléocapside. Le génome du SBV code pour quatre protéines structurales et deux protéines non structurales (**Elliot et al., 2012**).

- Le segment S (Small) code pour la nucléoprotéine N, il code également pour la protéine non structurale NSs, qui intervient dans l'encapsidation du génome viral, joue un rôle dans le cycle viral, participe à la fixation du complément et à la médiation de la réponse antivirale des cellules infectées (**Pépin et al., 2012**) (**Saeed et al., 2001**).
- Le segment M (Medium) code pour les glycoprotéines d'enveloppe Gn et Gc . Celles-ci permettent la fixation et la fusion du virus aux cellules cibles et elles sont des

déterminants antigéniques majeurs qui induisent la production d'anticorps neutralisants chez l'hôte (Goller *et al.*, 2012). Ce segment aussi code pour une protéine non structurale NSm, impliquée dans la morphogénèse virale (ANSES, 2014).

- Le segment L (Large) code pour l'ARN polymérase L, ARN dépendante, à l'origine de mécanismes complexes indispensables au bon déroulement du cycle viral (Walter et Barr, 2011).

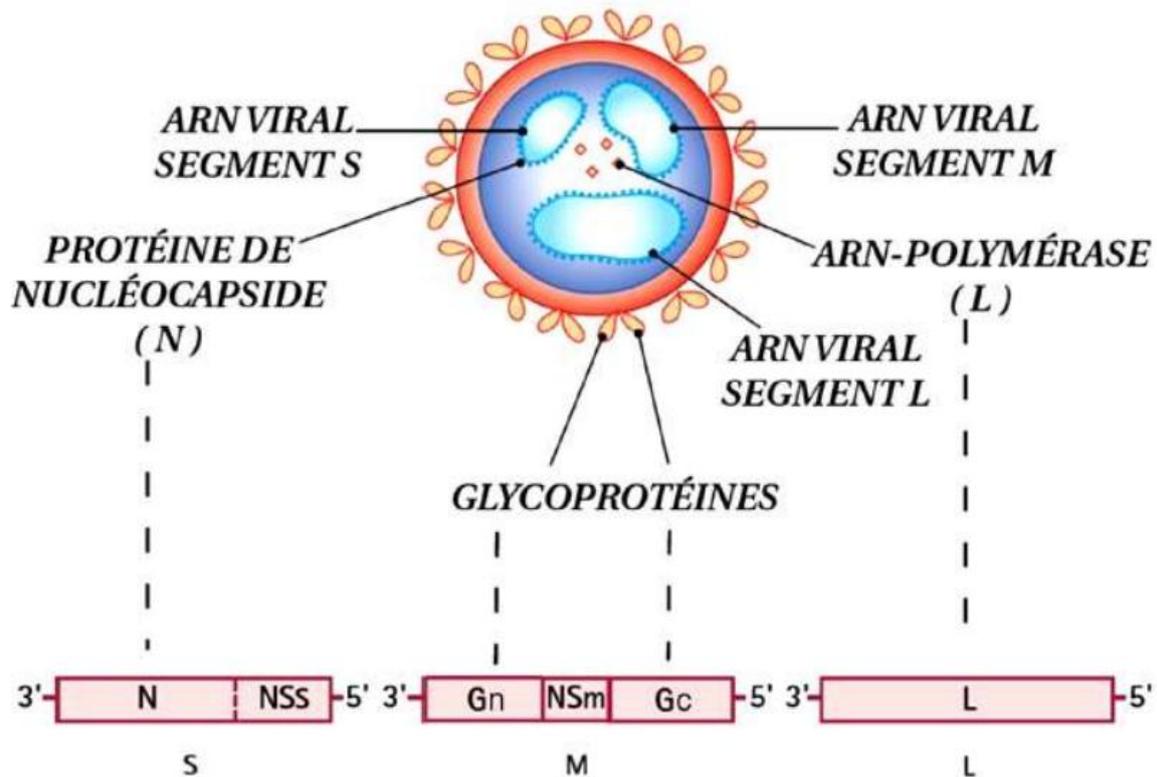


Figure 2 : Génome des virus de la famille des *Bunyaviridae* (ANSES, 2014)

Les segments génomiques d'ARN adoptent une conformation circulaire à l'intérieur de la particule virale, cette conformation est assurée par des liaisons non-covalentes des séquences terminales de chaque molécule d'ARN qui sont complémentaires l'un de l'autre, en association avec les protéines N de la nucléocapside. Les complexes formés sont des ribonucléoprotéines (RNP), on trouve aussi quelques copies de la polymérase L dans le virion (Hebert, 2014).

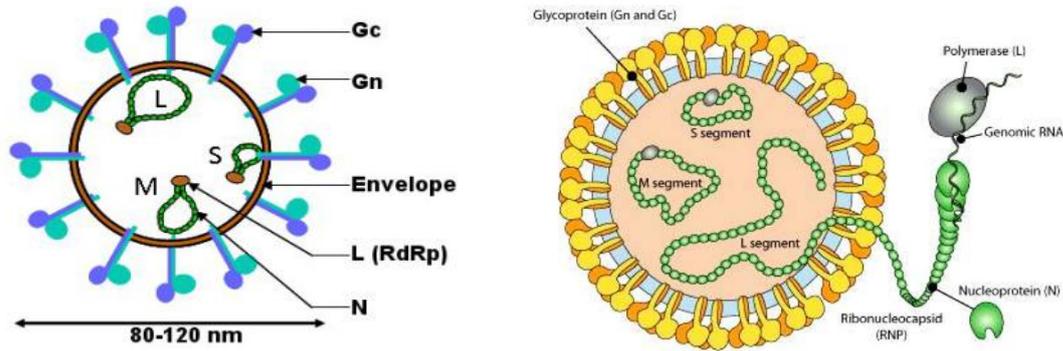


Figure 3 : Structure des virus de la famille des *Bunyaviridae* (ANSES, 2014) (SIB, 2015)

I.3.3. Propriétés

I.3.3.1. Propriétés physico-chimiques

Les informations suivantes sur le SBV ont été extrapolées à partir des résultats obtenus avec les *Orthobunyavirus* du séro groupe *California* ; le pouvoir infectieux du SBV serait fortement réduit par chauffage à 50-60°C pendant au moins 30 minutes. Il serait sensible aux désinfectants usuels (l'eau de javel 1%, le glutaraldéhyde à 2%, l'éthanol à 70% et le formaldéhyde. Sa survie dans le milieu extérieur, en dehors du vecteur ou d'un hôte, serait très limitée dans le temps (OIE, 2013).

I.3.3.2. Propriétés antigéniques

Une production d'anticorps neutralisants chez l'individu hôte est assurée par contact avec des glycoprotéines GC et GN présentes sur la surface de chaque particule virale.

En ce qui concerne le génome, notons que, parmi les trois segments, c'est le segment d'ARN M qui présente le plus de variabilité chez les *Orthobunyavirus*. Ce qui suggère l'hypothèse que ce segment a subi une forte pression de la part de système immunitaire des différents hôtes de ces virus au cours du temps (Elliot et Blakqori., 2011).

I.3.3.3. Échappement à la réponse immunitaire

Chez l'homme et l'animal, les *Bunyavirus* ont développé des stratégies efficaces d'échappement à la réponse immunitaire innée. Les différents mécanismes d'échappement reposent sur l'action de la protéine NSs. Une protéine synthétisée à partir du segment S qui est capable d'inhiber les réponses antivirales de l'hôte infecté, en particulier celles induites par le système des interférons de classe I (Bouloy *et al.*, 2001; Elliot et Weber., 2009).

I.3.4. Effet cytopathogène

Le virus SBV peut se multiplier dans des lignées cellulaires de différentes espèces animales (mouton, bovin, chien, hamster et d'insectes) et de l'espèce humaine. L'effet cytopathique sur toutes ces cellules a été remarqué par culture cellulaire de SBV, quarante-huit heures après l'infection, le titre viral est de 10^6 unités formant plaques par mm^2 . Le SBV semble se répliquer le plus efficacement sur la lignée ovine. En effet, 72 heures après l'inoculation, des plages de lyse aux contours bien nets de 3mm sont observées (Varela *et al.*, 2013).

I.3.5. Cycle de répliation

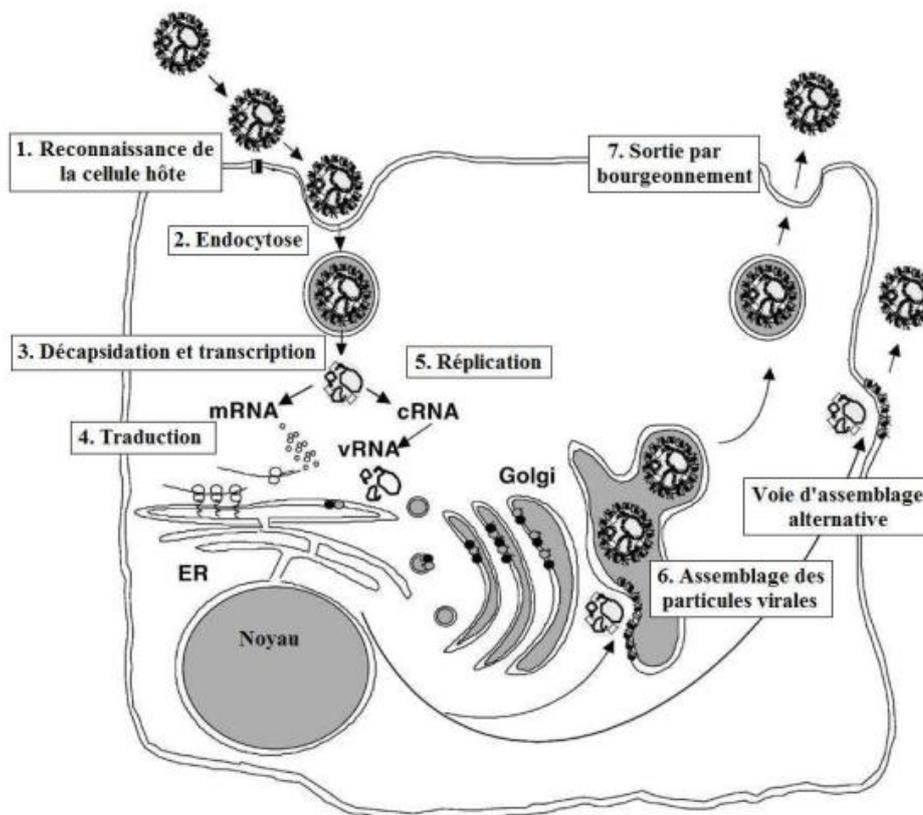


Figure 4 : Schéma récapitulatif de cycle de répliation des Bunyavirus au sein de la cellule hôte (Whitehouse, 2004)

Toutes les étapes de cycle de répliation se déroulent dans le cytoplasme. L'interaction entre les glycoprotéines de surface Gn et Gc des particules virales et les récepteurs cellulaires ce qui permet la pénétration par endocytose du virus dans la cellule hôte. Après la décapsulation et la libération de génome viral dans le cytoplasme de la cellule hôte, commence alors, le cycle de synthèse des protéines du virion puis la reconstitution de nouvelles particules virales au niveau

de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique (**Walter, 2011**). La réplication est régulée par la nucléoprotéine N (**Bouloy, 2002**). Chaque segment génomique est associé à la polymérase et ils sont empaquetés par la nucléocapside pour former le complexe ribonucléoprotéique. Puis, suite à la fusion de la membrane de l'appareil de Golgi avec la membrane cellulaire, les nouvelles particules virales se forment par bourgeonnement et sont libérées (figure 4) (**Walter, 2011**).

I.3.6. Caractéristiques des virus proches du SBV

Différentes études ont montré une importante homologie entre le SBV et les virus Akabane, Aino, Shamonda et Sathuperi. Les principales caractéristiques de ces virus sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau II : Tableau récapitulatif des caractéristiques des virus ayant une forte homologie avec le SBV (**Deffontaine, 2013**)

<i>Orthobunyavirus</i> du séro-groupe <i>Simbu</i>	Akabane	Aino	Shamonda	Sathuperi
Année de découverte	1959 (Japon)	1964 (Japon)	1965 (Nigéria)	1957
Vecteurs	Moustiques et culicoïdes	Moustiques et culicoïdes	Culicoïdes	Moustiques et culicoïdes
Principales espèces affectées	Bovins, ovins, caprins	Bovins	Bovins	Bovins
Répartition géographique	Australie, Israël, Japon, Corée, Malaisie, Inde, Afrique, Turquie	Est et sud-est de l'Asie, Australie	Nigeria, Japon	Inde, Nigeria, Japon
Symptômes	Arthrogrypose, hydranencéphalie	Malformations congénitales, avortements, mortinatalités	Asymptomatique, manque d'études	Asymptomatique, manque d'études
% d'homologie avec le SBV selon HOFFMANN <i>et al</i>, 2012	69% pour le segment L	71% pour le segment M	97% pour le segment S	/
% d'homologie avec le SBV selon GOLLER <i>et al</i>, 2012	/	/	92,9% pour le segment L	82,1% pour le segment M

I.4. Le SBV, un arbovirus

Un arbovirus c'est un terme qui définit les virus ayant pour vecteur les arthropodes suceurs de sang notamment les moustiques, les tiques et phlébotomes, Ainsi, l'amplification de ces virus s'observe à la fois chez les vertébrés et chez le vecteur.

Les virus de genre *Orthobunyavirus*, à l'exception des *Hantavirus* sont tous des arbovirus, transmis par des arthropodes (moustiques, moucheron) (**Walter, 2011**) et puisque le SBV est

un *buynavirus*, l'hypothèse que ce dernier soit aussi un arbovirus a été émise. Les moustiques et des moucheron du genre *Culicoides* ont alors fait l'objet des recherches dans les laboratoires de différents pays. En mars 2012 en Belgique, certaines espèces de *culicoïdes* ont été identifiées en tant que vecteur du virus Schmallenberg suite à des études rétrospectives réalisées par des chercheurs de l'Institut de Médecine Tropicale (IMT, Anvers) et du Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA, Bruxelles). Ils ont utilisé comme échantillons, des *culicoïdes* piégés en septembre et en octobre 2011 en Belgique (avant que les premiers cas de la maladie ne soient déclarés dans le pays). Le virus ne serait pas contagieux d'un animal à un autre mais serait transmis par un moucheron du genre *Culicoides*. Les espèces incriminées sont les suivantes : *Culicoides obsoletus*, *C. scoticus*, *C. dewulfi* et *C. chiopterus* (**De Regge et al., 2012**). Ces résultats ont été confirmés par les travaux qui ont été réalisés dans la même période par l'Institut National Vétérinaire danois, qui a réussi à identifier le SBV dans des échantillons de *culicoïdes* piégés au Danemark en octobre 2011 (**Rasmussen et al., 2012**). Par la suite, l'ARN viral a aussi été détecté sur des lots de *culicoïdes* capturés dans le nord de l'Italie (**Goffredo et al., 2013**) et aux Pays-Bas (**Elbers et al., 2013**).

En revanche, une étude néerlandaise a testé plus de 800 moustiques de différentes espèces prélevés au niveau de sites infectieux a montré des résultats négatifs au portage de virus SBV (**Scholte et al., 2013**). Ce qui donne naissance à l'hypothèse que les moustiques analysés ne jouent donc pas de rôle ou auraient seulement un rôle négligeable dans la transmission de ce virus. Néanmoins, les données actuelles ne permettent d'exclure formellement ni les moustiques ni d'autres arthropodes hématophages comme des vecteurs du SBV (**Herzog, 2016**).

I.5. La pathogénie

I.5.1. Tropisme cellulaire et dissémination du SBV

La pathogénie du SBV repose donc sur sa capacité à échapper au système immunitaire de l'individu infecté mais aussi sur sa capacité à provoquer l'apoptose des cellules infectées.

L'infection de l'hôte débute par une piqûre d'un moucheron infestant et qui transmet le virus SBV dans sa salive. Le virus va se répliquer à proximité du point d'inoculation, puis dans les ganglions lymphatiques qui drainent la zone correspondante. Ensuite, le virus va se disséminer dans l'organisme jusqu'aux organes cibles : c'est la phase de virémie qui dure de 2 à 5 jours pour le SBV (**Hoffmann, 2012**). Cependant, une étude de terrain récente laisse supposer que

cette phase de virémie, dans les conditions naturelles, pourrait être supérieure à 15 jours (**Claine, 2013**).

Le virus présente une affinité particulière pour le système nerveux central et les cellules musculaires (**Varela et al., 2013**), et il est capable de se disséminer dans d'autres organes et fluides (**Bilk et al., 2012**). Ce tropisme pour le système nerveux central explique les malformations musculo-squelettiques observées chez les agneaux et les veaux infectés par le SBV (**Varela et al., 2013**).

L'infection entraîne une réponse immunitaire innée basée sur la production d'interférons (IFN) de type 1 et une réponse immunitaire adaptative basée sur la production d'anticorps. Cependant, la protéine virale NSs du SBV inhibe la production d'IFN de type 1 (**Wernike, 2012**). De plus, cette protéine induit l'apoptose des cellules cibles quand la formation des nouvelles particules virales est achevée (**Walter, 2011**).

I.5.2. Conséquences hypothétiques d'une infection *in utero*

Les conséquences d'une infection par le SBV sont différentes en fonction de l'espèce et du stade de gestation. La physio pathogénie du SBV est comparable à celle du virus Akabane. En effet, les lésions induites sont similaires et de plus il existe une grande proximité génétique entre les deux pathogènes (**Martinelle et al., 2012**).

Les fœtus infectés à un âge précoce (moins de 2 mois pour les bovins) et moins de 1 mois pour les ovins sont protégés contre le SBV (**Kirkland, 2012**).

Pour les ovins, la période située entre le 28^e et le 50^e jour de gestation représente la période critique, le SBV atteint facilement le SNC, ce qui coïncide avec la mise en place du placentome. Ainsi, au 50^e jour le développement de la barrière hémato-méningée (BHM) débute et le virus n'a plus accès au SNC. Cela explique l'absence de lésions nerveuses chez les animaux adultes donc la BHM est intacte (**Varela et al., 2013**).

Pour les bovins, les lésions sont présentées selon la période d'infection. Ainsi, l'infection au cours des six premiers mois semble être critique : une atteinte du fœtus entre le 76^e et le 104^e jour donne généralement lieu à des lésions de type hydronencéphalie et du 103^e au 174^e jour c'est l'arthrogrypose qui prédomine (**Kirkland, 2012**). En ce qui concerne l'avortement, il est observé si le fœtus est infecté au cours de la période située entre les jours 100^e et 260^e de gestation. (**Martinelle et al., 2012**). Des infections plus tardives seront également à l'origine

de mise-bas prématurée ou de veaux mort-nés, présentant éventuellement des lésions d'encéphalomyélite non suppurante (Charles, 1994).

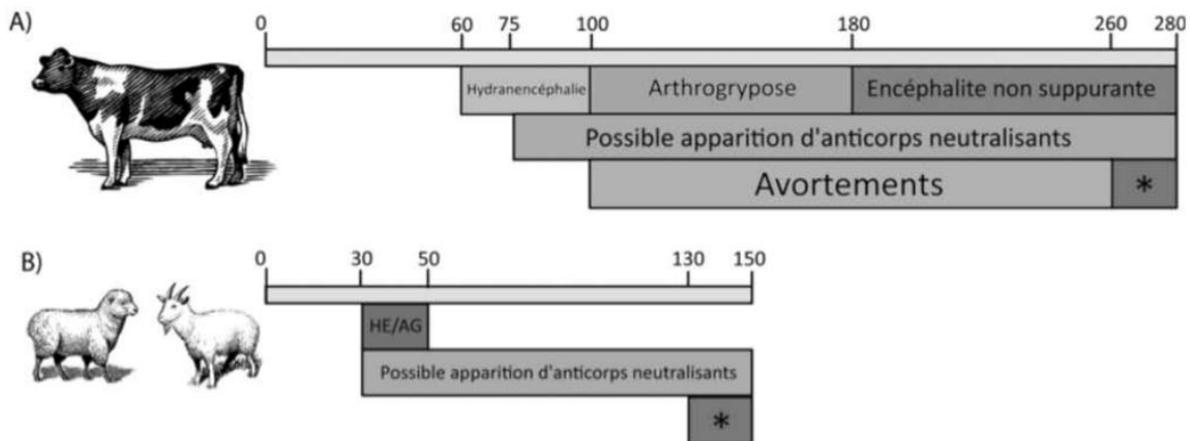


Figure 5. Les différentes fenêtres d'infection *in utero* par le SBV sont présentées, selon l'espèce concernée : bovins (A) ou petits ruminants (B). Les durées de gestation sont indiquées en jours. HE/Ag : hydranencéphalie/arthrogrypose. * : prématurité, mort-nés, jeunes faibles, mortinatalité.

Figure 5 : Conséquences hypothétiques d'une infection *in utero* par le SBV, pour les bovins (A) et les petits ruminants (B) (Martinelle *et al.*, 2012)

II. Le vecteur : généralités

II.1 Systématique, répartition géographique

Les *culicoïdes* sont des Diptères Nématocères hématophages appartenant à la famille des Cératopogonidés, sous-famille des *Ceratopogoninae*, genre *Culicoides* (Balenghien et Delecolle, 2009)

La répartition géographique des *culicoïdes* est quasiment mondiale. Ils sont largement répandus sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique, sur une zone allant d'une latitude de 40° Nord jusqu'à 35° Sud, comprenant l'Afrique, le Proche et Moyen-Orient l'Asie, l'Australie, l'Amérique du Sud et l'Europe.

II.2 Description des *Culicoïdes*

Les *Culicoïdes* présentent les caractères classiques de la famille des Cératopogonidés : un corps élancé, avec des ailes velues, et des antennes longues et filiformes. Les *Culicoïdes* s'identifient facilement grâce à des motifs alaires noirs et blancs constitués de pigments compris dans la membrane de l'aile. De plus, l'aile est parcourue d'une nervure médiane pédiculée et d'une

nervure transverse. Les mâles et les femelles sont différenciés par l'étude attentive des antennes et des pièces buccales (Perie *et al.*, 2005).

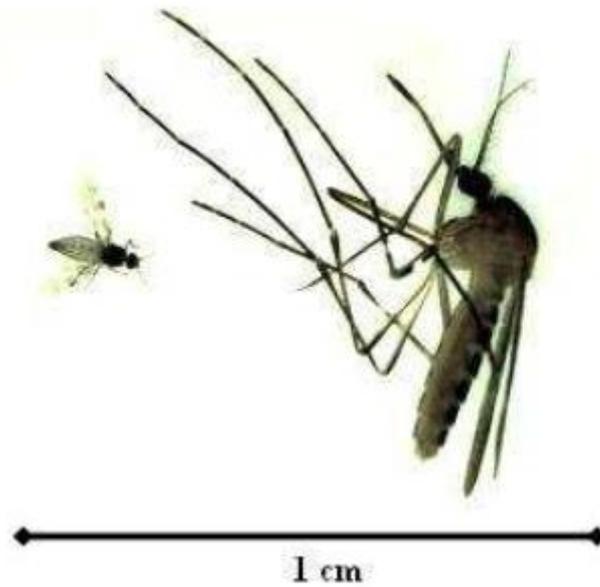


Figure 6 : Comparaison entre la taille d'un *Culicoides* (*Culicoides scoticus*) (à gauche) et d'un moustique (*Culex spp*) (à droite), toutes deux femelles (Zimmer *et al.*, 2008)

II.3. Biologie et écologie

II.3.1. Cycle de la vie des *Culicoides*

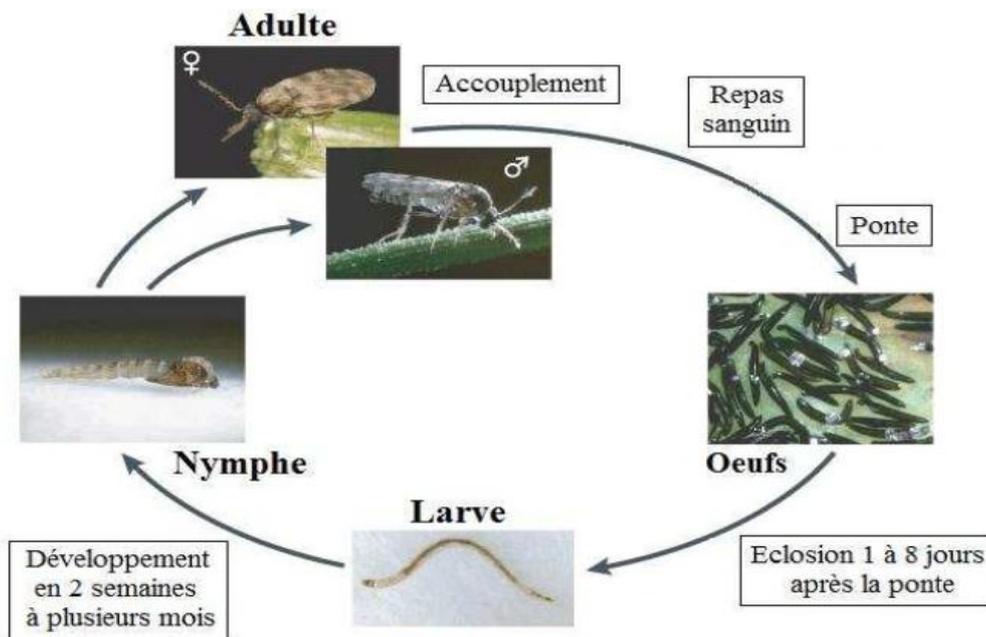


Figure 7 : schéma résumant le cycle biologique des *culicoides* (Purse *et al.*, 2005)

La reproduction des *Culicoïdes* se déroule dans de grands espaces et est précédée d'un vol nuptial rassemblant de nombreux mâles et femelles. Une fois l'accouplement effectué, un repas sanguin est obligatoire pour les femelles afin qu'elles puissent réaliser leur cycle trophogonique (**Perie et al., 2005**). La majorité des espèces de *Culicoïdes* présentent un rythme nocturne, ils piquent rarement en plein jour et en plein soleil, mais plutôt, à l'ombre, ou le soir au coucher du soleil. Durant la journée, ils sont au repos. Chaque ponte est précédée d'un repas sanguin 2 jours avant environ. Le nombre des œufs par ponte est varié en fonction de l'espèce et des conditions de vie. La ponte se fait en milieu humide, l'éclosion aura lieu 1 à 8 jours après, les larves subissent un développement qui dure entre 2 semaines à plusieurs mois selon les conditions climatiques. Les insectes se transforment alors en nymphes, puis en adultes au bout de 2 à 10 jours. En général, la durée de vie des adultes est courte (10 à 20 jours), mais ils peuvent vivre pendant des périodes plus longues (entre 1,5 et 3 mois) surtout en cas de températures basses, et peuvent ainsi prendre de multiples repas sanguins (**Walzer, 2009**).

La densité des populations de *Culicoïdes* adultes varie avec les saisons. Certaines espèces sont présentes au cours de toute l'année tandis que d'autres ne sont présentes que peu de temps (**Service, 1971**). Deux générations sont observées chaque année : une au printemps et une en été mais de moindre importance (**Rieb, 1982**).

II.3.2. Habitats, Nutrition

Les espèces incriminées dans la transmission du virus Schmallenberg sont associées à des biotopes humides et riches en matières organiques. Les œufs sont pondus dans des milieux très variés, mais généralement humides, le développement larvaire est optimal en milieux semi-aquatiques, où une teneur élevée en débris organiques divers y est présente (**Zimmer et al., 2014**). Concernant les gîtes de repos sont les endroits où les adultes se trouvent en dehors de leur période d'activité, ils sont généralement localisés dans des zones ombragées et humides, au niveau des feuillages de la végétation, non loin des sites de repas et de ponte (**Balenghien et Delecolle, 2009**).

La nutrition des *culicoïdes* est différente selon le sexe, en effet les mâles sont dits floricoles. Ils se contentent de jus sucrés d'origine végétale utilisés comme source d'énergie pour leur vol. Tandis que les femelles sont hématophages, la maturation des œufs se fait grâce au repas sanguins à partir de l'hôte (**Dusom, 2012**).

Les piqûres de *culicoïdes* se réalisent par telmophagie. Cette telmophagie est expliquée par le fait que le sang n'est pas directement pris à partir des vaisseaux sanguins de l'hôte à la

différence des moustiques qui sont solénophages. La piqûre des moucherons de genre *culicoïdes* provoque une microhémorragie cutanée qui est induite du fait de pièces buccales plus grossières que celles des moustiques. Au moment de la piqûre, la femelle lacère, grâce à ses mandibules et maxilles denticulées, les tissus de l'hôte jusqu'à atteindre les capillaires sous-jacents. Il se forme alors dans le derme une poche sanguine que la femelle aspire (Ninio, 2011 ; Perie *et al.*, 2005)



Figure 8 : *Culicoïdes* en plein repas sanguin (Wilson *et al.*, 2008)

II.3.3. Facteurs influençant la biologie des *Culicoïdes*

Le climat et les facteurs environnementaux influencent la bio-écologie des *culicoïdes*. Ce sont des insectes avec un dynamisme saisonnier qui impliquent les paramètres suivantes (Dusmom, 2012) :

- la température : le nombre de repas sanguins, la fréquence des pontes et la taille de la population augmente avec les hautes températures ;
- Le vent : il augmente la mortalité des adultes et diminue leur activité. En revanche, il favorise leur dispersion ;
- la pluie : les précipitations détruisent certaines larves et empêchent le vol des adultes. Mais un taux trop faible de précipitations diminue le nombre d'habitats disponibles aussi bien pour les imagos que pour les stades immatures ;
- le taux d'humidité : une forte hygrométrie prolonge la longévité des *culicoïdes*. Au contraire, un taux faible induit leur déshydratation et ainsi la diminution de leur taux de survie.

Les conditions optimales de développement des *culicoïdes* sont soumises aux facteurs météorologiques, ce qui explique qu'en zone tempérée, ces vecteurs deviennent abondants au printemps, vers la fin de l'été et au début de l'automne (**Herzog, 2016**).

II.4. Rôle pathogène et transmission d'agents pathogènes

Depuis longtemps, en médecine vétérinaire, les *culicoïdes* sont connus pour leur rôle dans la transmission de maladies virales et parasitaires ;

II.4.1. Les conséquences de la piqûre :

Les piqûres de *culicoïdes* causent de nuisances considérables et entraînent également des effets pathologiques secondaires chez l'Homme et chez les animaux. Les piqûres des femelles hématophages sont souvent douloureuses, suivies de réactions érythémateuses locales intenses, œdémateuses et très prurigineuses qui peuvent persister parfois plusieurs jours. Une réaction allergisante et des réactions d'hypersensibilités sont induites par leur salive (**Rodhain et Perez, 1985**).

II.4.2. Transmission d'agents pathogènes

Pour qu'un vecteur transmette une maladie, il doit être en mesure de réunir certaines conditions qui dépendent de deux critères indispensables : la compétence et la capacité vectorielles. (**Walzer, 2009**).

La compétence vectorielle d'un vecteur désigne sa faculté à l'échelle individuelle de pouvoir être infecté par le virus, de pouvoir le multiplier et de pouvoir le transmettre (en dit que le vecteur est compétent). Bien que compétent, la population de vecteurs doit avoir la possibilité de disséminer l'agent pathogène : c'est la capacité vectorielle, ce critère est un paramètre écologique qui dépend de plusieurs paramètres on peut citer : la longévité, le nombre de repas sanguins moyen effectuait sur un individu hôte par jour, la compétence vectorielle et le temps d'incubation de l'agent infectieux etc. (**Wittmann, 2002 ; Mullens, 2004**). Donc, pour transmettre une maladie, le vecteur doit donc être à la fois compétent et capable (**Deffontaines, 2013**).

L'identification du SBV chez des moucheron du genre *Culicoïdes* ainsi que la probable réplication du virus chez ces insectes (**Rasmussen, 2012**) montrent la compétence de ce vecteur dans le cadre de la maladie de Schmollenberg.

La capacité vectorielle de ces moucheron fut démontrée par l'expansion de la maladie entre fin 2011 et l'été 2013 (**Herzog, 2016**).

III. Épidémiologie de la maladie induite par ce nouveau virus

III.1. Les espèces concernées de cette maladie

III.1.1. Espèces sensibles

La sensibilité se traduit par l'aptitude à exprimer cliniquement l'action d'un agent pathogène (**Pasquier et al., 2013**).

Les ruminants domestiques : les espèces bovines, caprines et ovines, sont sensibles à l'infection par le SBV (**Pasquier et al., 2013**). Ceci a été confirmé par l'OIE qui a déclaré entre fin 2011 et mai 2013, 5 636 foyers bovins officiellement confirmés en Europe, ainsi 2 931 foyers ovins et 136 foyers caprins (**OIE, 2013**).

Des études montrent qu'en plus des espèces de ruminants, il existe d'autres espèces sensibles. Ainsi, une étude en Suède, a mis en évidence des anticorps anti-SBV chez un chien (**Wensman et al., 2013**). Le génome du SBV a été également identifié en France dans le cervelet d'un chiot d'une portée qui présentait des troubles neurologiques (**Sailleau et al., 2013**).

L'espèce canine serait-elle la seule espèce autre que les ruminants à être sensible au SBV ? Une hypothèse qui reste à confirmer par d'autres travaux scientifiques.

III.1.2. Espèces réceptives

La réceptivité d'une espèce désigne la capacité à multiplier un agent pathogène sans qu'aucun signe clinique ne soit mis en évidence, ce qui les rend des réservoirs épidémiologiques du virus (**Pasquier et al., 2013**).

Plusieurs espèces réceptives au SBV ont été identifiées soit par identification directe du SBV soit par séroconversion : Bison, Alpaga, Buffle, Chevreuil, Cerf, Mouflon. Le chien est la seule espèce non ruminante à présenter à ce jour une réceptivité au SBV aucun signe clinique n'a été rapporté, pour toutes ces espèces (**Linden et al., 2012**). La faune sauvage, et tout particulièrement les ruminants sauvages, jouerait donc un rôle important de réservoir pour le SBV et participerait à sa transmission.

III.1.3. Un risque pour l'homme ?

De nombreux virus appartenant au genre *Orthobunyavirus* et avec lesquels le virus Schmallerberg présente une très grande similitude génétique, ne sont pas considérés comme des agents zoonotiques. En Europe, l'éventuel risque pour l'être humain a été recherché dès le

début de l'épizootie. L'Institut Fédéral Allemand pour l'évaluation des Risques (BfR) estime que le virus SBV n'est pas transmissible à l'homme par contact direct, par la viande ou par le lait (**BFR, 2012**).

En Allemagne et en avril 2012, l'Institut Robert Koch a réalisé une enquête sérologique sur le SBV chez une population humaine susceptible d'avoir été exposée afin d'évaluer le potentiel zoonotique du SBV. Aucun cas d'infection ou de maladie associée au virus SBV n'a été rapporté, depuis la première identification de ce virus (**Dominguez, 2012a**).

Une seconde étude a été menée aux Pays-Bas chez 301 personnes ayant pu être exposées au SBV. Il s'agissait d'individus travaillant ou résidant dans des fermes atteintes et des vétérinaires en contact avec des ruminants infectés. La majorité avait également déclaré une exposition à piqûres d'insecte (**Reusken et al., 2012**), cette enquête a révélé des résultats négatifs, aucune séroconversion n'a été décelée.

L'institut fédéral allemand pour l'évaluation des risques (BfR) a par ailleurs affirmé que la consommation de viande ou de lait provenant d'un animal contaminé par le SBV ne constituait pas un danger pour la santé humaine (**BFR, 2012**).

A ce jour, il n'existe donc aucune preuve d'infection de l'Homme par le SBV, même en cas d'exposition élevée. Bien qu'il ne puisse être définitivement exclu, le risque zoonotique présenté par le SBV est extrêmement faible.

III.2. La dissémination de la maladie

III.2.1. Les matières virulentes

Le SBV a été isolé dans les tissus encéphaliques des fœtus infectés *in utero*. Il est ainsi retrouvé dans le cerveau et la moelle épinière (**Bilk, 2012 ; Varela, 2013**). Le SBV semble régulièrement retrouvé par PCR dans les organes et le sang des fœtus infectés, les liquides amniotiques, le placenta, le méconium et le cordon ombilical (**Bilk, 2012**).

Chez les animaux vivants infectés par le SBV, le virus peut être retrouvé dans le sang. (**Garigliany, 2012a**). Il est important de noter que lors de mises bas ou d'avortements de nouveau-nés infectés, il y a libération d'une quantité importante de virus dans le milieu extérieur. Cependant, cela ne représente pas une menace directe pour les opérateurs ou pour les autres animaux puisque le SBV ne semble pas directement contagieux (**Bilk, 2012**).

III.2.2. Mode de transmission

Trois modes de transmission ont été étudiés : la transmission horizontale, la transmission verticale et la transmission vectorielle

III.2.2.1 Transmission horizontale

La transmission horizontale, c'est la transmission du virus d'un individu à un autre par contact direct qui nécessite un contact physique étroit entre un hôte contagieux et un sujet susceptible ou indirect qui se fait à l'aide d'intermédiaire d'un véhicule qui regroupe l'ensemble des matières ou objets non-vivants : eau, alimentation, fèces et autres. (**Mammette, 2002**)

Ce mode de transmission semble peu probable. En effet, une étude a montré que la survie très limitée du SBV dans le milieu extérieur, ne sont pas en faveur d'une transmission horizontale par contact direct ou indirecte, la possibilité d'une contamination par voie orale a été également écartée (**Wernike, et al., 2013**). L'infection expérimentale de 2 bovins par voie orale n'a pas entraîné de virémie transitoire détectable par PCR. De plus, le contact entre 3 bovins témoins et des bovins infectés expérimentalement a révélé une absence de SBV dans le lot témoin (PCR négative), alors que le SBV était bien présent dans le lot infecté (PCR positive) (**Wernike et al., 2013**) Enfin, la survie dans le milieu extérieur du SBV est très limitée dans le temps. Ces arguments ne sont donc ni en faveur d'une transmission horizontale directe ni en faveur d'une transmission horizontale indirecte (**Wernike et al., 2013**).

III.2.2.2 Transmission verticale

C'est la contamination du fœtus ou du nouveau-né par l'intermédiaire de sa mère. Le virus a été identifié sur des prélèvements de cerveaux d'agneaux malformés. Des avortements et des cas de malformations chez des nouveau-nés dans des élevages de ruminants (bovins, ovins et caprins) ont été rapportés dans plusieurs pays européens (**Dominguez, 2012**). Les malformations associées au SBV sont similaires à celles observées lors d'infections par les virus teratogènes Akabane et Aino. Comme pour d'autres *Orthobunyavirus* du séro groupe *Simbu*, la transmission verticale du SBV ne fait aucun doute et a été démontrée de nombreuses fois (**Varela, 2013**). De ce fait, les données sur la transmission verticale des virus Akabane et Aino sont utilisées comme modèles pour le virus Schmallerberg.

Une étude réalisée en Belgique s'est intéressée à la transmission verticale du SBV chez les bovins. Elle a démontré la transmission verticale du SBV et sa capacité à franchir la barrière trans-placentaire chez les bovins. L'étude montre également que des infections *in utero* peuvent se produire sans séquelles visibles à la naissance si l'infection survient lorsque le système immunitaire du fœtus est suffisamment mature pour contrôler la propagation du virus (**Garigliany et al., 2012a**). La transmission du SBV de la mère au fœtus par voie trans-placentaire a aussi été démontrée dans l'espèce caprine (**Hebert, 2014**).

L'infection expérimentale de brebis par le virus Akabane a entraîné la naissance d'agneaux malformés. Si l'infection a lieu avant la gestation, cette gestation se passe normalement.

Les malformations congénitales sont observées sur les fœtus quand l'infection des mères a lieu pendant une période sensible de la gestation, (Tableau III).

Tableau III : Période de gestation susceptible d'entraîner des malformations congénitales lors de l'infection des mères par le SBV

Espèces sensibles au SBV	Période de gestation critique hypothétique
Bovins	Entre 62 et 173 jours
Ovins	Entre 28 et 50 jours
Caprins	Entre 30 et 50 jours

III.2.2.3. Transmission vénérienne

Malgré que la virémie très courte, l'ARN du SBV a pu être détecté dans des lots de semences provenant de taureaux infectés par le SBV (**ProMed-mail, 2012b ; ProMed-mail, 2012c**), de plus l'inoculation expérimentale a démontré la présence de virus de Schmallerberg infectieux dans certains échantillons de semences de bovins positifs à la PCR (**ProMed-mail, 2013**). Ces résultats indiquent que la semence de taureaux infectés naturellement par le SBV peut être infectieuse.

III.2.2.4 Transmission vectorielle

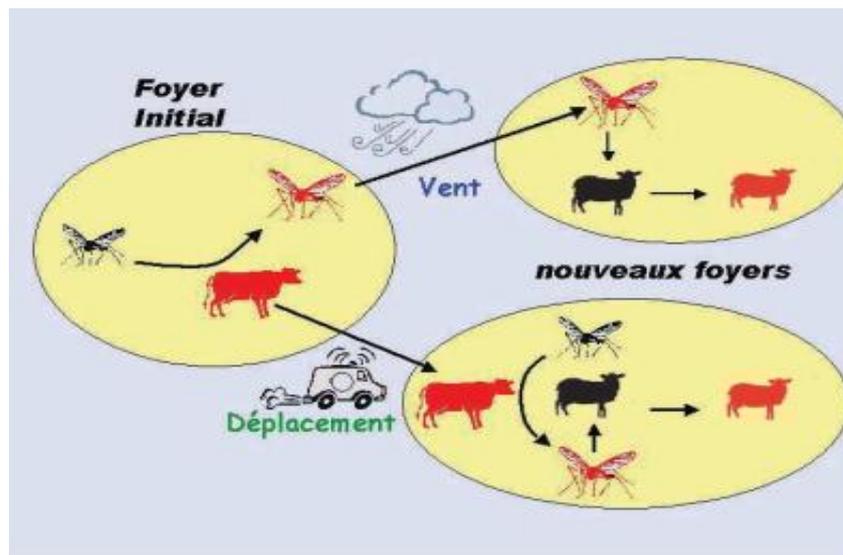


Figure 9 : Mode de dissémination du SBV par l'intermédiaire d'un moucheron vecteur (Zientara, 2013)

Comme les autres *Orthobunyavirus*, le SBV est un arbovirus transmis par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages, des moucheron de genre *Culicoides*. La transmission vectorielle est le mécanisme principal de contamination des ruminants par le SBV. Des études ont mis en évidence la présence d'ARN du SBV chez plusieurs espèces de *culicoïdes* dans différents pays européens (De Regge *et al.*, 2012; Rasmussen *et al.*, 2012; Elbers *et al.*, 2013 ;Goffredo *et al.*, 2013). Même si la transmission vectorielle est soumise aux conditions climatiques et environnementales, c'est ce mode de transmission qui a permis la dispersion rapide du SBV à l'échelle continentale à partir de fin 2011 (Gubbins *et al.*, 2014).

III.3. Morbidité de l'infection au SBV

La morbidité est définie comme étant le nombre d'individus infectés par le SBV au sein d'une population donnée. L'incidence ou la prévalence sont deux façons d'exprimer la morbidité d'une maladie. L'incidence ne prend en compte que le nombre de nouveaux cas par unité de temps alors que la prévalence correspond à une proportion de cas sur une période donnée.

Dans certains cheptels, le virus peut avoir circulé sans infecter les fœtus. Par exemple, c'est le cas des élevages où il n'y avait pas de femelles gestantes au moment du passage du virus. C'est également le cas des élevages où la gestation des femelles était trop avancée au moment du

passage viral, ce qui n'a pas autorisé la transmission verticale du virus. Seule une étude de séroprévalence permet d'avoir une estimation fiable de l'exposition au SBV.

III.4. Données et prévalence de la circulation du virus SBV en Europe

Depuis son apparition en Allemagne en 2011, le SBV a progressé d'année en année dans une grande partie de l'Europe. Vingt-cinq pays étaient ainsi officiellement atteints au 30 avril 2013. La vague de foyers de SBV observée au cours la saison 2011/2012 a été la plus forte. Elle correspond à l'émergence du virus. Ce dernier a infecté durant l'automne 2011 un nombre important de ruminants adultes, dont des femelles gestantes réceptives, principalement en Allemagne, aux Pays-Bas, en France, en Belgique et au Royaume-Uni. Ceci s'est traduit par la naissance de petits ruminants malformés durant l'hiver 2011/2012 et de veaux malformés au printemps 2012 (la période à risque et la durée de gestation différentes entre les bovins et les petits ruminants expliquent cet écart). La deuxième vague de foyers observée au cours de la saison 2012/2013 a été moins conséquente que la première. Le SBV a eu en effet un impact moindre dans les pays où il avait déjà beaucoup circulé lors de la première saison. En revanche, de nombreux foyers sont apparus dans les pays jusqu'ici peu impactés ou nouvellement infectés par le virus (Autriche, Suède et Slovénie par exemple). Les chiffres pour les deux saisons suivantes (2013/2014 et 2014/2015) ne sont pas disponibles, mais toute laisse à penser qu'ils auraient confirmé la tendance amorcée lors de la deuxième saison, à savoir une diminution du nombre de foyers dans les pays déjà touchés par le virus. Cette baisse du nombre de foyers de SBV d'année en année s'explique principalement par le fait que les animaux développent une immunité à l'encontre du virus suite à une première infection. Le virus aura donc un gros impact dans les troupeaux naïfs, alors qu'il aura un impact beaucoup plus restreint dans ceux où il a déjà circulé. Mais la baisse du nombre de foyers de SBV d'année en année peut aussi partiellement s'expliquer par une moindre déclaration des cas au fil du temps. Cette dernière est due à une habitude tant de la part des éleveurs que des vétérinaires, mais surtout au fait que la maladie n'est pas réglementée (en raison de ses conséquences limitées) et donc non indemnisée (Maitia, 2014).

A l'heure actuelle, il n'est pas possible de dire avec certitude si le SBV va disparaître dans un futur proche lorsque tout le troupeau européen sera immunisé, ou s'il va gagner d'autres pays et devenir enzootique, c'est-à-dire qu'il frappera régulièrement le continent (Deffontaines, 2013).

Tableau IV : Nombre de suspicions et foyers confirmés de SBV par pays, sur la période allant du 1er août 2011 au 30 octobre 2012 (EFSA, 2012b)

Pays	Nombre de suspicions	Nombre de foyers confirmés de SBV
France	5 585	3 196
Allemagne	1 502	1 502
Pays-Bas	1 690	351
Royaume-Uni	499	310
Suisse	301	301
Belgique	231	231
Luxembourg	47	28
Espagne	17	5
Italie	9	4
Pologne	2	2
Danemark	42	1
Finlande	12	1
Suède	57	1
Irlande	56	0
Norvège	9	0
Total	10 059	5 933

La prévalence « cheptel » du SBV congénital est alors calculée. Elle correspond au pourcentage d'exploitations agricoles où il y a eu au moins un cas de SBV congénital

Tableau V : Prévalence « cheptel » du SBV clinique dans les trois pays les plus touchés (Eurostat, données de 2010)

Pays	Nombre d'exploitations	Prévalence cheptel
France	309 370	1,03 %
Pays-Bas	50 440	0,70 %
Allemagne	216 100	0,70 %

Tableau VI : Nombre de suspicions et de foyers confirmés de SBV par espèces sensibles, sur la période allant du 1er août 2011 au 30 octobre 2012 (EFSA, 2012b)

Espèce	Nombre de suspicions	Nombre de foyers confirmés de SBV
Bovin	6 429 (64%)	3 562 (60%)
Ovin	3 422 (34%)	2 278 (38,5%)
Caprin	208 (2%)	93 (1,5%)
Total	10 059 (100%)	5 933 (100%)

La France est donc bien le pays le plus touché par le SBV en octobre 2012, devant les Pays-Bas et l'Allemagne. Les bovins apparaissent comme l'espèce présentant le plus grand nombre de cas, devant les ovins et les caprins

En France, Un bilan de la surveillance de l'infection congénitale par le SBV chez les bovins a été réalisé sur la période janvier-août 2012 (Dominguez, 2013). Au total au 31 août 2012, 3639 élevages bovins avaient fait l'objet d'une « suspicion clinique de SBV congénital ». L'infection par le virus SBV a été biologiquement confirmée pour 2 018 élevages de bovins et un élevage de bisons. Ces 2 019 élevages sont comptabilisés comme des « foyers bovins ».

La prévalence cheptel du SBV congénital bovin est estimée à 0,92 % en août 2012, à la fin de la campagne de surveillance du SBV en France. L'étude de ce taux par département permet de montrer que le virus a diffusé dans la plus grande partie du territoire, plus ou moins intensément. Seuls le sud et la région parisienne, régions où le nombre d'exploitations agricoles bovines est limité, apparaissent peu atteints. La prévalence par cheptel du SBV congénital est globalement plus élevée dans la moitié nord du territoire.

IV. Système immunitaire et SBV

Le système immunitaire d'un organisme animal, un système de protection complexe qui élimine /neutralise les substances étrangères qui peuvent y'introduire, en particulier les agents infectieux ; distingue le soi du non-soi. Cette fonction est assurée par un ensemble de mécanismes qui constituent l'immunité. Deux types d'immunité sont schématiquement distingués : l'immunité innée (naturelle) et l'immunité acquise.

IV.1. Immunité innée et *Bunyavirus*

IV.1.1. La réponse immunitaire innée face aux *Bunyavirus*

Puisque les cellules infectées sont détruites par le virus lui-même, lors de la libération de nouvelles particules virales, les cellules NK ne jouent qu'un rôle mineur dans la protection contre ces virus. (**Pavlovic, 2000**).

Les interférons de type 1 semblent, par contre, jouer un rôle majeur dans la protection naturelle contre les *Bunyavirus* (**Elliott, 2009**). En effet, expérimentalement, les interférons inhibent l'infection par les *Bunyavirus*. Ainsi, des souris rendues « knock-out » (KO) pour les gènes de récepteurs d'INF de type 1 sont très sensibles à l'infection par ce genre de virus (**Elliott, 2009**). C'est également ce qui a été montré chez ces mêmes souris IFNAR^{-/-} pour le SBV (**Wernike, 2012**).

Parmi les *Bunyavirus* certains genres possèdent des génomes à extrémités 5' triphosphatées alors que d'autres possèdent des extrémités 5' monophosphatées. L'extrémité 5' triphosphate que possèdent les orthobunyavirus, révèle de solides déclencheurs de l'induction de la réponse IFN par rapport à celle permise par l'extrémité 5' monophosphate des nairo- et hantavirus (**Elliott, 2009**). Parmi les protéines effectrices de cette protection, il n'y a pas d'étude sur le SBV (**Deffontaine, 2013**). Des études ont montré qu'*in vivo*, la PKR avait une action délétère sur l'*orthobunyavirus* alors que la 2-5 OAS n'avaient aucun effet (**Elliott, 2009**).

IV.1.2. Modes d'échappements à la réponse immunitaire innée

IV.1.2.1. Induction limitée de la réponse IFN de type 1

Le système des interférons est un système très efficace pour lutter contre l'infection virale, les virus pathogènes évoluent de façon à contourner ou à inactiver le système des IFN. Néanmoins, différentes études semblent montrer que la réponse de type IFN après infection par un *bunyavirus* n'est pas aussi forte que ce à quoi il était possible de s'attendre (**Deffontaine, 2013**).

Par quel mécanisme les *bunyavirus* empêchent-ils une réponse IFN « normale » suite à l'infection ?

IV.1.2.2. Échappement du virus à la réponse IFN de type 1

Le génome des *Orthobunyavirus* est naturellement segmenté et il a été prouvé qu'il y a trois extrémités 5' triphosphate par particule virale et qui activent la RIG-I. Pour contre balancer le fait qu'ils sont de bons inducteurs naturels de la réponse IFN, ces virus produisent des particules antagonistes aux IFN qui interfèrent avec la phase d'induction, de signalisation, d'activation des protéines effectrices ou une combinaison des trois, ces antagonistes très actifs sont la protéine

NSs **(Elliott, 2009)**. En effet, une étude sur des souris montre que la protéine NSs du SBV joue ce rôle et que lorsque le gène de la protéine NSs ne s'exprime pas, le virus est moins virulent **(Varela, 2013)**.

La concentration en IFN est moins importante dans les cellules où le gène NSs s'exprime normalement que dans celles où il ne peut pas s'exprimer. Ce manque d'IFN ne permet pas une bonne protection de la cellule alors que dans l'autre cas, la protection est assurée.

(Défontaine, 2013).

Ainsi, malgré des différences de séquence, de taille et de mode d'expression, la protéine NSs agit en bloquant l'ARN polymérase II. La conséquence est une diminution importante de toutes les transcriptions chez la cellule hôte **(Elliott, 2009)**.

La recherche d'ARNm-IFN-bêta dans les cellules infectées par du SBV délité pour le gène NSs indique que la transcription des gènes IFN-bêta a bien lieu. Ce n'est pas le cas pour les cellules infectées par une particule virale de SBV pouvant exprimer la protéine NSs. Cela suggère que la protéine NSs du SBV interfère avec la transcription des gènes des IFN bêta lors de l'infection. La protéine NSs jouerait donc un rôle de modulateur, direct ou indirect, sur la réponse IFN suite à l'infection par le SBV **(Varela, 2013)**

IV.2. Réponse immunitaire spécifique

IV.2.1. Réponse immunitaire à médiation humorale face aux bunyavirus et au SBV

Une production d'anticorps a été détectée suite à l'infection expérimentale des bovins par le SBV, la détection de ces anticorps par séroneutralisation, a été possible dès 18^e jours avec des titres très élevés au-delà de 40^e jours **(Hoffmann, 2012)**.

Une étude portant sur l'inoculation du virus Akabane sur des brebis gestantes montre que les anticorps neutralisants sont présents dès cinq jours après l'inoculation. Autour de la mise bas, la concentration en anticorps diminue ponctuellement. Aucune différence au niveau de la réponse anticorps n'est observée entre les brebis donnant naissance à des agneaux malformés et les brebis donnant naissance à des agneaux « normaux ». Le stade de gestation au moment de l'infection n'influence pas non plus cette réponse **(Parsonson, 1977)**.

Les anticorps produits suite à l'infection par le virus Akabane préviennent l'infection transplacentaire **(World Organisation for Animal Health, 2008)**. Ainsi, si l'animal infecté est capable de supporter les conséquences de l'infection, le système immunitaire spécifique est capable de produire des anticorps neutralisants spécifiques. Ils sont efficaces contre la

circulation virale sanguine et ils protègent contre les infections à venir (**Charles, 1994 ; Weber, 2002**).

IV.2.2. Réponse immunitaire à médiation cellulaire face aux bunyavirus et au SBV

Les lymphocytes T cytotoxiques semblent jouer un rôle mineur dans la protection contre ces virus. En effet, comme pour les cellules NK, ils interviennent dans la lyse des cellules infectées. Or, le cycle de réplication virale entraîne, au moment de la sortie des nouvelles particules virales par bourgeonnement, l'apoptose de la cellule infectée. Les cellules cibles des lymphocytes T cytotoxiques sont rapidement détruites par le virus lui-même, lors de la libération de nouvelles particules virales (**Pavlovic, 2000**).

IV.3. Maturité immunitaire du jeune vis à vis du SBV

La sensibilité aux *bunyavirus* dépend de l'âge aussi bien chez l'homme, chez les bétails que chez l'animal de laboratoire (**Elliott, 2009**).

- Rappel sur l'immunité fœtale

Chez les ruminants, le type de placentation empêche le passage des cellules de l'immunité et des anticorps de la mère vers le fœtus, donc toute réponse immunitaire du fœtus dépend du niveau de développement et de maturation de son système immunitaire.

La réponse immunitaire chez un fœtus de ruminant infecté par le SBV, dépend donc du stade de gestation au moment de l'infection. Chez les bovins, le développement du système immunitaire commence au 41^{ème} jour de gestation et se poursuit jusqu'au 175^{ème} jour. Chez les ovins, il commence à se développer à partir du 19^{ème} jour et se termine vers le 115^{ème} jour de gestation (**Deffontaines, 2013**). Ainsi, il commence à lutter efficacement à partir de 90 jours de gestations chez les bovins et de 65 à 70 jours chez les petits ruminants (**Parsonson, 1977 ; 1981 ; Steukers, 2012**).

Ainsi, dès que le système immunitaire du fœtus est suffisamment développé pour pouvoir identifier les antigènes du SBV, cela va entraîner une réponse de type inflammatoire qui donnera lieu à des encéphalites par exemple. Une infection du fœtus plus précoce pourrait entraîner une immunotolérance, comme c'est le cas pour le BVD, et l'absence d'inflammation (**Bréard, 2013**).

IV.3.1. Production fœtale d'IFN de type 1

La résistance naturelle de l'hôte au SBV se fait par l'intermédiaire du système interféron de type 1. Or, que chez le fœtus, ce système de défense n'est pas encore mature. Ce qui explique la très forte sensibilité des fœtus, dont le système immunitaire ne peut encore produire une réponse interféron de type 1 « mature » (**Elliott, 2009**).

IV.3.2. Immunité humorale fœtale

Une étude sérologique menée sur des vaches séropositives pour le SBV et sur leurs produits a montré que sur 471 nouveaux nés sans signes cliniques de SBV congénital, 116 (24,6%) étaient séropositifs pour le SBV avant même la prise colostrale. Ainsi, l'infection d'une femelle en gestation entraîne souvent une transmission du virus au fœtus (après 30 jours de gestation) mais cela n'entraîne pas systématiquement des avortements, des malformations congénitales ou des troubles nerveux. (**Garigliany, 2012b**).

Un nouveau-né en bonne santé peut naître lorsque l'infection du fœtus par le SBV se fait quand son système immunitaire est capable de produire des anticorps neutralisants. D'après certains travaux, le fœtus bovin pourrait produire des anticorps contre le SBV à partir de 150 jours de gestation mais cette date reste à démontrer (**Garigliany, 2012b**).

IV.3.3. Immunité colostrale

La quantité et la qualité du colostrum, la durée et la précocité de la prise colostrale, et l'absorption des anticorps à travers la barrière intestinale sont les principaux facteurs influençant la durée de vie des anticorps d'origine colostrale chez le nouveau-né. La concentration du colostrum en anticorps varie avec l'exposition des mères au virus, plus ou moins importante suivant le type de bovin, laitier ou allaitant. Les anticorps persistent plus longtemps chez les veaux allaitants que chez les veaux laitiers. Ceci serait dû à une meilleure qualité des colostrums de vaches allaitantes mais aussi au fait que les veaux allaitants sont laissés avec leur mère, augmentant ainsi la qualité du transfert de l'immunité passive (**Tsutsui et al., 2009**). Au-delà de 36 heures, les anticorps présents dans le lait ne sont plus absorbés au niveau de l'intestin. Cependant, dans le cas des veaux allaitants, chaque buvée au cours des 36 premières heures va apporter des anticorps, alors que ce ne sera pas le cas pour les veaux laitiers puisque ces derniers sont souvent nourris avec du lait en poudre reconstitué (**Deffontaines, 2013**).

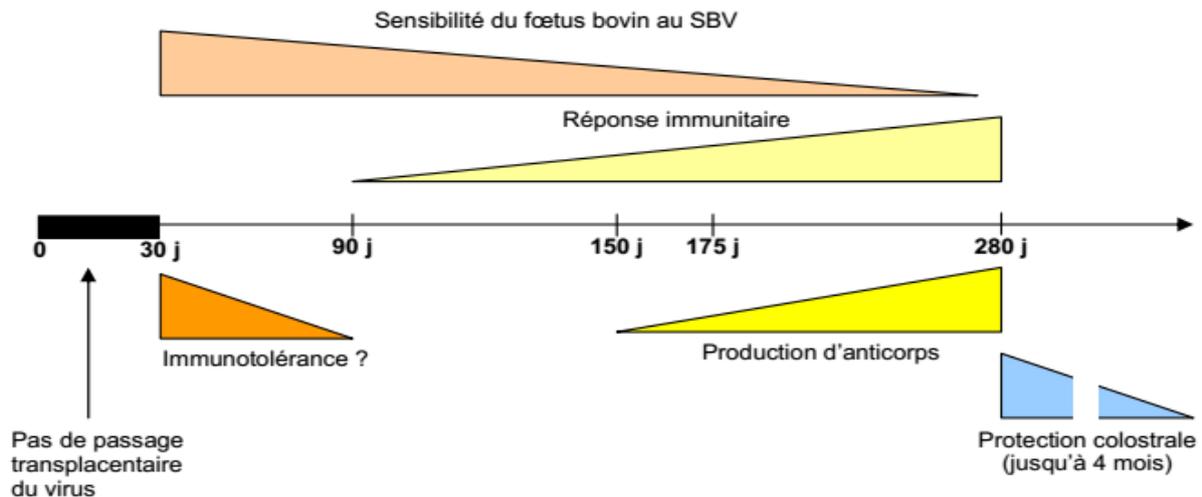


Figure 10 : Schéma bilan, évolution de la sensibilité fœtale à l'infection par le SBV et défenses immunitaires (Deffontaines, 2013)

V. Expression clinique du SBV

La maladie de Schmallenberg s'exprime cliniquement sous trois formes chez les ruminants domestiques : une forme inapparente et une forme aiguë concernant essentiellement les animaux adultes, alors qu'une forme congénitale affecte la descendance.

V.1. La forme inapparente

Dans la plupart des cas, l'infection par le SBV est asymptomatique. En effet, d'après des enquêtes sérologiques, la proportion d'animaux séropositifs au SBV est beaucoup plus importante que la proportion d'animaux ayant montré des signes cliniques de la maladie de Schmallenberg (Deffontaines, 2013)

V.2. La forme aiguë

Les premières descriptions de l'infection aiguë par le SBV en Europe ont été rapportées en août 2011 aux Pays-Bas et en Allemagne, au niveau de la zone frontalière entre les deux pays. Elle semble concerner uniquement les bovins. Les animaux qui en souffrent présentent le tableau clinique non spécifique suivant : hyperthermie ($> 40^{\circ}\text{C}$) transitoire, chute significative de la production laitière, perte d'appétit, diarrhées plus ou moins abondantes et parfois avortements (ANSES, 2014), du fait que la barrière hémato-méningée est développée chez les adultes elle ne permet pas le passage du SBV dans le SNC, expliquant ainsi l'absence de troubles nerveux rapportés lors d'infections aiguës par le SBV (Varela, 2013)

Chez tous les ruminants domestiques, la virémie engendrée par le SBV est de courte durée (quelques jours) et la séroconversion aura lieu en moyenne deux semaines après l'infection. En revanche, les signes cliniques pouvant être associés à l'infection aiguë par le SBV n'ont pas été décrits chez les petits ruminants. En effet, les ovins et les caprins ne semblent pas exprimer cliniquement cette forme de la maladie ni souffrir de ses symptômes (**Herzog, 2015**).

V.3. La forme congénitale

Les malformations congénitales engendrées par le SBV sont regroupées sous le terme de « syndrome arthrogrypose-hydranencéphalie ». Cette forme congénitale du SBV affecte les bovins, les ovins et les caprins. Elle touche aussi bien les mâles que les femelles. Cela se traduit soit par des nouveau-nés malformés soit par des nouveau-nés bien formés mais présentant des troubles divers (**Garigliany, 2012a**).

V.3.1. Description des signes cliniques de la forme congénitale

V.3.2. Lésions macroscopiques

Tableau VII : Malformations congénitales visibles à la naissance causées par le virus Schmallenberg (**Garigliany, 2012a**)

Organe touché	Malformation	Définition
Colonne vertébrale	Torticolis	Raideur du cou. La tête est souvent basculée sur le dos de l'animal.
	Scoliose	Déviations de la colonne vertébrale
Membres	Arthrogrypose	Raideur des membres associée à des atteintes neurologiques avec raccourcissement des tendons
Muscles	Hypoplasie musculaire	Sous développement musculaire
Crâne	Hydrocéphalie	Accumulation excessive de liquide céphalo-rachidien à l'intérieur des cavités du cerveau. Cela se traduit fréquemment par une augmentation de la taille du crâne.
Mâchoire	Brachygnatisme	Différence de longueur entre la mâchoire inférieure et la mâchoire supérieure. La mâchoire inférieure est généralement plus courte.



Figure 11 : Arthrogyrpose chez un agneau (a) et un veau (b) (Conraths, Peters et Beer, 2012)



Figure 12: Brachygnathisme inférieure chez un veau infecté par le SBV (Bayrou, Garigliany, Sarlet *et al.*, 2014)



Figure 13 : Arthrogyrpose et torticolis chez un veau atteint de SBV congénital (Deffontaines, décembre 2013, Côte d'Or)



Figure 14 : Porencéphalie chez un agneau infecté par le SBV (**Wernike et al., 2014**)

V.3.3. Lésions microscopiques

Une réduction sévère du nombre de myofibrilles est constatée au sein des muscles squelettiques. Seules quelques fibres musculaires matures sont présentes dans les muscles hypoplasiques (**Herder et al., 2012**).

Les lésions nerveuses sont de type inflammatoire et/ou dégénératif. Des inflammations non suppurées du système nerveux (encéphalite, myélite ou méningite, souvent associées en encéphalomyélite voire en méningo-encéphalomyélite), caractérisées par des infiltrats lympho-histiocytaires périvasculaires, ont été observées dans de nombreux cas mais ne sont pas systématiques (**Herder et al., 2012**). Les lésions dégénératives régulièrement constatées sont la nécrose du parenchyme neuronal ainsi que la présence d'œdèmes et de multiples pores. L'examen microscopique de la moelle épinière de veaux malformés a ainsi révélé une diminution significative du nombre de neurones, proportionnelle au degré de sévérité des malformations (**Bayrou et al., 2014**). Cette perte neuronale s'explique notamment par une démyélinisation importante et une perte de densité axonale (**Herder et al., 2012**).

V.3.4. Autres symptômes

Outre les malformations décrites précédemment, des nouveau-nés paraissant « normaux » à la naissance peuvent cependant présenter différents types de désordres, parmi eux des troubles moteurs peuvent être observés, comme de l'incapacité à se tenir debout, de la paralysie flasque, des mouvements exagérés, de l'ataxie et des difficultés à téter ou encore des troubles visuels (cécité). Ces symptômes rappellent le « syndrome du veau mou » ou « idiot » (« *dummy calf syndrome* ») qui a sévi durant l'épizootie de fièvre catarrhale ovine (**Doceuil et al., 2013**)

(Germanique, 2010). Enfin, certains veaux ayant à la naissance un habitus normal meurent dans la semaine qui a suivi la naissance (parfois dès 12 heures après la naissance), sans raisons apparentes. Ces veaux peuvent présenter des signes neurologiques (opisthotonos), sans autre signe clinique. (Garigliany, 2012a ; Plateforme ESA, 2012a)

VI. Diagnostic

VI.1. Diagnostic différentiel

Tableau VIII : Liste non exhaustive des principales affections responsables de malformations et de troubles comportementaux chez les ruminants, à prendre en compte dans le diagnostic différentiel du SBV congénital (Deffontaines, 2013) (Hebert, 2014)

	Origine infectieuse	Origine non infectieuse
Syndrome arthrogrypose hydranencéphalie et troubles du comportement à la naissance	<p><u>Infections virales :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ Virus Akabane, Aino et autres bunyavirus du séro groupe <i>Simbu</i> ♦ BTV (<i>Bluetongue</i> virus responsable de la fièvre catarrhale ovine) ♦ BVDV (virus de la diarrhée virale bovine), BDV (virus de la <i>border disease</i>) et autres pestivirus ♦ BHV-1 (virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine) et autres herpèsvirus ♦ Virus de la fièvre de la vallée du Rift (phlébovirus) <p><u>Infections parasitaires :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ Néosporose ♦ Toxoplasmose 	<p><u>Carences maternelles :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ En vitamine A, sélénium, cuivre, manganèse <p><u>Intoxications :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ Plantes à effet tératogène (Lupin, grande ciguë, sorgho) <p><u>Iatrogénie :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ Benzimidazoles <p><u>Héréditaires :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ Encéphalopathie héréditaire ♦ Prédispositions raciales

La FCO, la BVD, la BDV et la maladie d' Akabane sont les maladies à retenir en priorité dans le diagnostic différentiel du SBV congénital

Tableau IX : Comparaison entre les signes cliniques du SBV congénital et les signes cliniques des maladies les plus fréquentes considérées dans le diagnostic différentiel du SBV congénital chez les ruminants (Défontaine , 2013)

	SBV	FCO	BVD (bovin)	BDV (ovin)	Maladie d' Akabane
Crâne	Hydrocéphalie		Déformations du crâne	Front bombé	Hydrocéphalie
Membres	Arthrogrypose Hypoplasie musculaire	Déformations	Retard de croissance Anomalies osseuses	Courts et fins avec arthrogrypose des genoux et des jarrets ou trop longs et faiblesse paturons	Arthrogrypose Hypoplasie musculaire
Colonne vertébrale	Torticolis Scoliose Cyphose			Dos arqué	Torticolis Scoliose Cyphose
Machoire inférieure	Brachygnatie		Brachygnatie	Brachygnatie	Brachygnatie
Peau et phanères			Hypotrichose Alopécie	Coloration anormale (agneaux hirsutes) Dermatite	
Troubles du comportement		Hypoactivité Démarche non contrôlée	Syndrome du veau faible	Tremblements	
Autre		Atteinte oculaire (amaurose)	Atteinte oculaire (Atrophie et dysplasie rétinienne, névrite optique, cataracte, ...)	Atteinte oculaire (amaurose, nystagmus)	Erosions du museau et interdigitées Cataracte

VI.2. Examen lésionnel

VI.2.1. Au niveau macroscopique

D'après différents rapports, les lésions macroscopiques les plus rencontrées dans les cas de SBV congénitaux se trouvent au niveau de l'appareil musculo-squelettique et au niveau du système nerveux (Herder, 2012 ; Garigliany, 2012 ; Hahn, 2013).

- Lésions musculo-squelettiques

A l'autopsie, ces lésions sont les plus rencontrées. Les déformations de la colonne vertébrale sont souvent associées à une atrophie musculaire spinale unilatérale ou à une décoloration musculaire. La rigidité articulaire qui, selon les cas, touche un ou plusieurs membres et une ou plusieurs articulations par membre, maintient ce dernier en flexion. Cette rigidité provient plus d'une contraction musculaire et d'un raccourcissement des tendons que d'une altération de l'articulation. Sur les muscles des membres, il est régulièrement noté une atrophie, une décoloration ainsi que des pétéchies (**Garigliany, 2012**).

- Lésions des grandes cavités

Concernant les cavités abdominale et thoracique, aucune lésion spécifique n'est constatée. Une hypoplasie pulmonaire et des malformations cardiaques sont parfois observées. Chez les agneaux, l'œdème et des pétéchies au niveau du thymus sont parfois observés (**Herder, 2012**).

- Lésions du système nerveux

Le système nerveux montre souvent de sévères anomalies morphologiques (**Herder, 2012 ; van den Brom, 2012**).

* **Hydrocéphalie** : une accumulation excessive de liquide céphalo-rachidien dans les ventricules, associée à un élargissement de la boîte crânienne, un rétrécissement de l'aqueduc méésentérique et une hypoplasie du cervelet

* **Hydranencéphalie** : Elle se caractérise par une absence des hémisphères cérébraux qui sont remplacés par une cavité délimitée par les leptoméniges et contenant du LCR. La nécrose des hémisphères cérébraux est totale.

* **Hypoplasie du cervelet** : diminution de la taille du cervelet avec raréfaction des cellules de la couche granuleuse, perte des cellules de Purkinje et amincissement de la couche moléculaire

* **Porencéphalie** : Elle se caractérise par la présence de kystes ou de cavités dans un ou plusieurs hémisphères cérébraux. La perte de substance observée est due à la destruction des neuroblastes immatures.

* **Macrocéphalie** : toute forme d'hypertrophie de la tête.

* **Hypoplasie du tronc cérébral** : Le tronc cérébral présente une taille anormalement petite

* **Micromyélie** : Cela correspond à un diamètre anormalement petit de la moelle épinière.

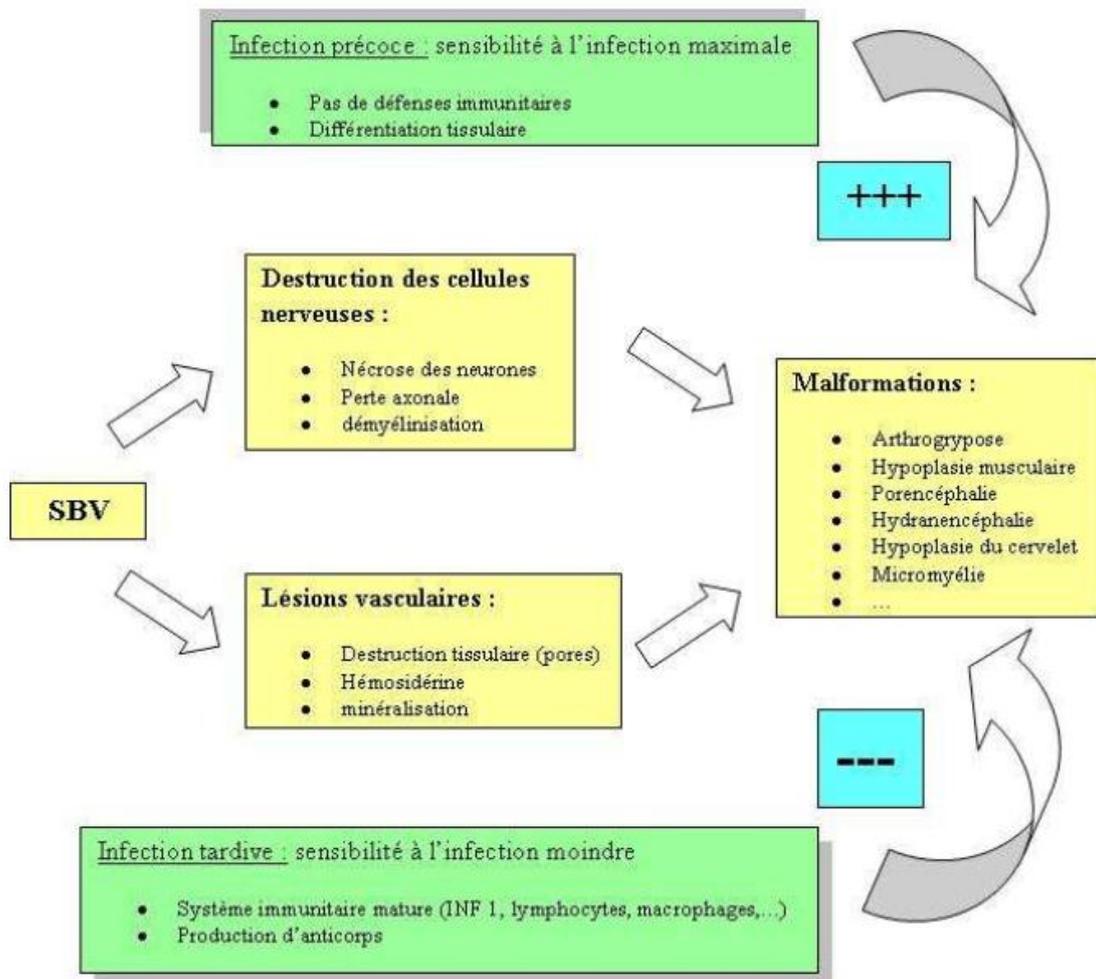


Figure 15 : Conséquences lésionnelles d'une infection par le SBV (Deffontaines, 2013)

VI.2.2. Au niveau histologique

D'un point de vue histologique, c'est dans les tissus nerveux que les lésions histologiques causées par le SBV sont retrouvées. Ce sont des lésions de type inflammatoires et dégénératives. Également les tissus musculo-squelettiques présentent des modifications histologiques qui sont probablement secondaires aux lésions nerveuses. Les organes et les autres tissus ne montrent pas de lésions histologiques significatives (Herder, 2012).

En ce qui concerne les organes du système lymphoïde peuvent être atteints. On peut remarquer une diminution de la quantité de cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Cette atteinte du système lymphoïde peut être visible sur la rate, les nodules lymphatiques, ou le thymus (Herder, 2012).

L'encéphalite est caractérisée par une infiltration lymphohistiocytaire périvasculaire de la matière blanche et de la matière grise du cerveau et de la moelle épinière. Une infiltration qui peut être diffuse. Les cellules identifiées sont des lymphocytes T (type CD3 positif), des lymphocytes B (type CD 79 alpha positif) et des macrophages (**Herder, 2013**).

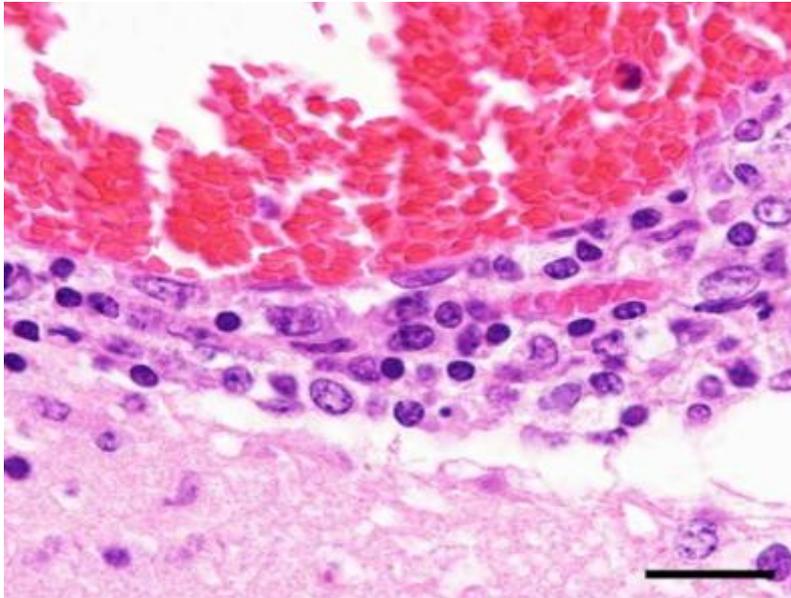


Figure 16 : Infiltration lymphohistiocytaire périvasculaire modérée dans **un cerveau** d'agneau infecté par le SBV (barre d'échelle : 20 μm) (**Herder, 2013**)

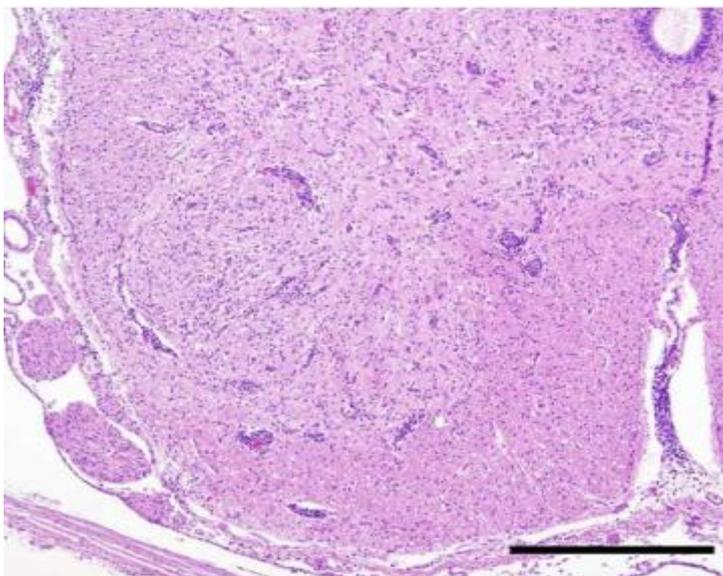


Figure 17 : Infiltration lymphohistiocytaire multifocale **de la moelle épinière** d'un agneau infecté par le SBV (barre d'échelle : 1 000 μm) (**Herder, 2013**)

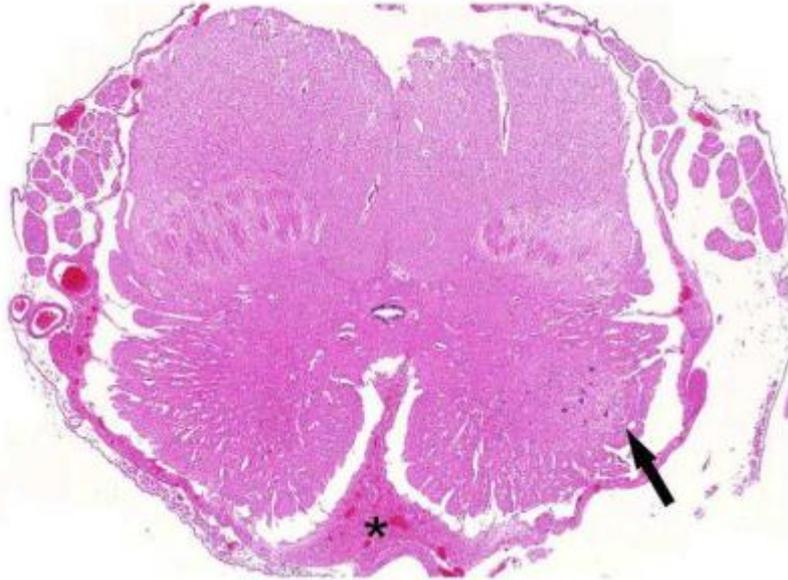


Figure 18 : Moelle épinière cervicale d'un veau infecté par le SBV. Micromyélie avec réduction importante de la substance grise. (La flèche montre des neurones et l'astérisque une fibrose importante au niveau du sillon ventral) (Herder, 2012)

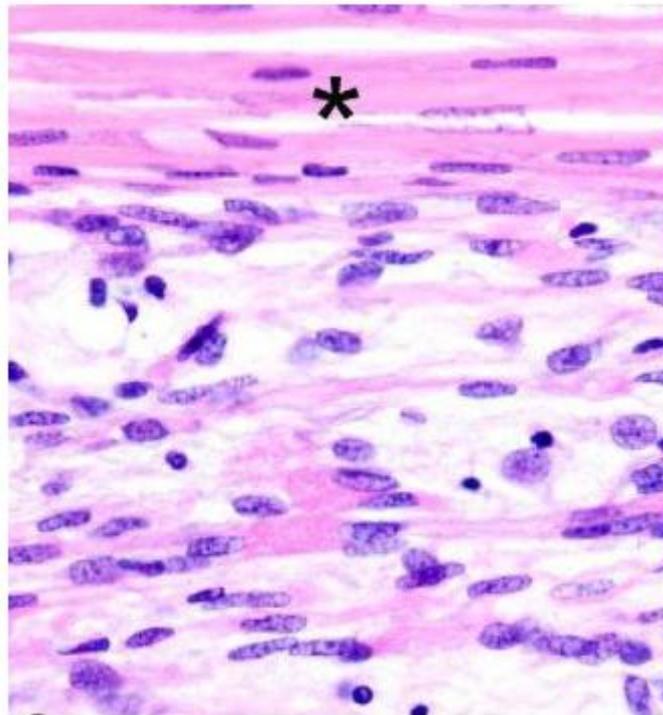


Figure 19 : Fibres musculaires d'un agneau infecté par le SBV. Fibres musculaires normales (astérisque). La plupart des fibres présentent une myofibrille hypoplasique (Herder, 2012)

VI.3. Diagnostic de laboratoire

Afin de confirmer d'atteinte des animaux par le SBV et puisque les signes cliniques engendrés par le SBV ne sont pas pathognomoniques, que ce soit pour l'atteinte congénitale ou pour l'atteinte aiguë, le recours à des examens de laboratoire est indispensable.

VI.3.1. Méthodes directes

VI.3.1.1. RT-PCR en temps réel

Au départ, la première génération de RT-PCR en temps réel (ou RT-qPCR) ciblait le segment L du génome viral. Mais une seconde génération, ciblant le segment S, a fait preuve d'une meilleure sensibilité (**Van der Poel, 2012**).

En France, deux kits ont été validés par le laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort : le kit *Adiavet™ Schmallenberg virus realtime* du fournisseur Adia-gène et le kit *TaqVet™ Schmallenberg Virus – S Gene* du fournisseur LSI. Ils sont tous deux utilisés dans les laboratoires agréés pour le diagnostic du SBV par RT-PCR (**Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, 2015**). Dans le cadre du diagnostic par RT-PCR en temps réel, les échantillons les plus souvent testés sont le sang (chez les adultes lors d'infections aiguës) et le cerveau (chez les nouveau-nés malformés). Une étude a montré que le cordon ombilical, le liquide amniotique et le méconium, échantillons faciles à prélever, pouvaient également être utilisés et donner de bons résultats (**Bilk et al., 2012**).

VI.3.1.2 Isolement viral

Le SBV peut être isolé sur culture cellulaire. L'isolement se fait à partir de tissus infectés après inoculation à différentes lignées cellulaires, telles que des cellules larvaires de *Culicoides variipennis* (KC), des cellules rénales de hamsters (BHK-21) ou de singes (VERO) (**Doceuil et al., 2013**). Le FLI a ainsi isolé le SBV à partir d'un échantillon de sang d'une vache malade. L'effet cytopathique (ECP) du virus, non décrit, a été observé au bout de 5 jours (**Hoffmann et al., 2012**).

VI.3.2 Méthodes indirectes

Chez les nouveau-nés, la recherche d'anticorps anti-SBV n'est significative qu'avant l'ingestion du colostrum et donc des anticorps maternels. En effet, la prise de colostrum est susceptible d'induire un résultat faussement positif par détection des anticorps maternels (**ANSES, 2014**).

VI.3.2.1 Séro-neutralisation

Un test de séroneutralisation, réalisé à partir d'un isolat de SBV provenant du tissu cérébral d'un agneau malformé puis cultivé cinq jours sur des cellules VERO, a permis de mettre en évidence les anticorps anti-SBV avec une sensibilité proche de 100% et une spécificité supérieure à 99% (**Loeffen et al., 2012**). Un test de séroneutralisation par réduction des plages de lyse a également été mis au point (**Mansfield et al., 2013**). Bien qu'hautelement sensibles et spécifiques, ces méthodes présentent cependant quelques inconvénients : l'automatisation est impossible, les résultats ne sont interprétables qu'au bout de quatre à six jours et elles nécessitent de surcroît des cultures cellulaires (**Doceul et al., 2013**).

VI.3.2.2 ELISA

Actuellement, deux trousse sont disponibles pour les échantillons de sérum et de plasma (*ID Screen® Schmallerberg virus Indirect Multi-species* et *ID Screen® Schmallerberg virus Competition Multi-species*). Le même laboratoire fournit aussi un kit ELISA permettant la détection des anticorps anti-SBV dans le lait (*ID Screen® Schmallerberg virus Milk Indirect*), doté d'une excellente corrélation avec le test sérique (**ID-VET, 2013**). Un test ELISA basé sur le SBV entier a aussi été mis au point (**Van Der Heijden et al., 2013**).

VI.3.2.3 Immunofluorescence indirecte

Le sérum à tester est mis en contact avec l'antigène viral immobilisé sur un support solide. Après une étape de lavage, des anticorps (appelés « conjugués ») dirigés contre les anticorps recherchés sont ajoutés. Ces anticorps conjugués sont couplés à des fluorochromes. La lecture est effectuée en microscopie optique à fluorescence (**Mammette, 2002**).

VII. Les moyens de lutte contre le virus

A l'heure actuelle, aucun traitement médical n'existe contre le SBV. Les moyens de lutte contre cette maladie, comme pour la plupart des maladies virales, sont uniquement préventifs

VII.1 La vaccination

La vaccination contre le SBV n'a jamais été rendue obligatoire : chaque éleveur demeure libre de décider de vacciner ou non et de choisir les animaux à vacciner (**ANSES, 2014**)

La vaccination contre le SBV concerne principalement les femelles reproductrices afin de prévenir l'infection transplacentaire des fœtus. Il est recommandé de vacciner suffisamment tôt les femelles futures gestantes avant la mise à la reproduction (au moins 1 mois) afin de permettre la production d'anticorps neutralisants (**MERIAL, 2014**)

Il est également envisageable de distinguer les troupeaux à vacciner de ceux qui ne le sont pas. En effet, lorsque le SBV circule dans un troupeau, il entraîne la séroconversion de la quasi-totalité des animaux composant ce dernier. La vaccination ne semble alors pas indispensable dans les cheptels où la séroprévalence du SBV est déjà élevée (**Harzog, 2015**)

Les trois vaccins sont des vaccins inactivés disponibles sous la forme de suspension injectable. Ils ne sont délivrés que sur ordonnance vétérinaire. Ci-après sont présentés pour chacun d'eux leurs indications, le protocole de primo-vaccination, le début ainsi que la durée de l'immunité (Tableau X).

Tableau X : Tableau résumant les vaccins disponible pour prévenir le SBV.

références	(MSD ANIMAL HEALTH, 2013).	(MERIAL, 2014).
Durée & rappel	Non établie	Non établie
Début immunité	*Trois semaines après la seconde administration pour les bovins et les ovins vaccinés avec deux doses *Trois semaines après l'administration pour les ovins vaccinés avec une dose.	*Trois semaines après la seconde injection de primo vaccination chez les bovins. *Trois semaines après la primo-vaccination chez les ovins
Protocole	*Bovins à partir de 2mois, injection deux doses de 2mL à 4 semaine d'intervalle en IM *Ovins à partir de 4 mois, injection d'une dose de 2mL (SC) ou deux doses de 1mL à 4 semaines d'intervalle (SC)	*Chez les ovins à partir de l'âge de 2,5 mois : une injection SC de 1mL *Chez les bovins à partir de l'âge de 2,5 mois : deux injections SC de 1mL à trois semaines d'intervalle
Indications	*Une dose de 2mL pour réduire la virémie chez les ovins. *Immunisation active pour prévenir la virémie avec deux doses de 2mL chez les bovins, et deux doses de 1mL pour les ovins	Immunisation active afin de prévenir la virémie causée par une infection par le SBV
Vaccin	Bovilis®SBV	SBVvax®

<p><u>Durée de l'immunité</u></p> <p>*Chez les bovins : 12 mois après la fin du protocole de primo-vaccination</p> <p>*Chez les ovins : 6 mois après la fin du protocole de primo-vaccination</p>
<p>*Chez les bovins : 14 jours après la fin du protocole de primo-vaccination</p> <p>*Chez les ovins : 21 jours après la fin du protocole de primo-vaccination</p>
<p>* Les bovins à partir de l'âge de 3,5 mois : deux injections IM de 2mL à trois semaines d'intervalle</p> <p>* Les ovins à partir de l'âge de 3,5 mois : une dose SC de 1mL</p> <p>* Les brebis en âge de se reproduire : une dose SC de 1mL au moins 14 jours avant la mise à la reproduction</p>
<p>Immunisation active des bovins et des ovins à partir de 3,5 mois afin de réduire la virémie associée à une infection par le SBV</p>
<p>Zulvac® SBV</p>

VII.2 La lutte anti-vectorielle

Lutter contre le vecteur permet de limiter le nombre de piqûres et par conséquent le risque d'infection des animaux par le SBV

VII.2.1 La lutte environnementale

Elle consiste à limiter la croissance des populations de vecteurs en agissant directement sur leur écosystème et en perturbant ainsi leur cycle biologique. L'objectif principal va donc être de détruire ces gîtes larvaires afin de rendre l'environnement durablement hostile au développement des *culicoides* (Balenghien et Delecolle, 2009). Ceci passe par différentes mesures, telles que le drainage et l'assèchement des points d'eau (abreuvoirs temporaires, mares

entre autres), l'élimination des excréments d'animaux et des végétaux en décomposition ou la gestion adaptée des tas d'ensilage et de fumier (FCO-INFO, 2009)

VII.2.2 La lutte mécanique

Elle consiste à empêcher ou réduire l'exposition des troupeaux aux culicoïdes. Pour cela, les animaux peuvent être maintenus à l'intérieur de bâtiments fermés non accessibles aux insectes ou être rentrés pendant les périodes d'activité maximale de ces-derniers. Les contacts hôte/vecteur sont ainsi grandement diminués. Toutefois, cette méthode de lutte est difficilement envisageable en pratique. (FCO-INFO, 2009)

VII.2.3 La lutte chimique

Il s'agit de l'utilisation de répulsifs naturels, de traitements insecticides dans l'environnement (dirigés contre les larves ou contre les adultes) ou de l'application d'insecticides sur les animaux (FCO-INFO, 2009).

VII.2.4 Autres méthodes

VII.2.4.1 Le piégeage lumineux

Le piégeage lumineux est plus efficace que les insecticides. Il permet la capture et l'élimination des culicoïdes. Cependant, ils existent plusieurs types de pièges qui ont une efficacité variable et dont le coût est relativement élevé (Vanvinckenroye, Losson et Caron, 2014)



Figure 20 : Piège utilisé pour la surveillance des *culicoïdes* (Balenghien et Delecolle, 2009)

VII.2.4.2 L'adaptation des programmes de reproduction

Afin de minimiser les risques de contamination fœtale, il faut éviter que la période de gestation à risque des femelles (entre 60 et 180 jours de gestation chez les bovins et entre 30 et 50 jours chez les petits ruminants) ne coïncide avec les pics d'activité des (en automne et au printemps).

Deux options sont alors envisageables ; décaler la période de mise à la reproduction des femelles ; répartir dans le temps les inséminations afin qu'un nombre limité de femelles ne se trouve au stade critique de gestation durant la période d'activité vectorielle (**Deffontaines, 2013**). Cependant, ces options sont complexes en pratique et non viables économiquement.

CHAPITRE II

I. Historique

Tableau XI : Historique des découvertes sur *Neospora caninum* de 1984 à 1999 (d'après Dubey, 1999)

Année	Évènement
1984	La maladie est identifiée pour la première fois chez le chien en Norvège
1988	Proposition de dénomination : <i>Neospora caninum</i>
1988	Isolement de <i>Neospora caninum</i> en culture cellulaire et vérification des postulats de Koch
1988	Développement de l'immunofluorescence indirecte pour le diagnostic sérologique de la néosporose
1989	Développement de l'immunohistochimie pour détecter le parasite dans les tissus
1989	Identification de <i>Neospora caninum</i> comme une cause majeure d'avortements en élevage bovin laitier
1989	Essais de transmission transplacentaire chez le chien, le chat, le mouton et le bovin.
1990	Étude expérimentale de la néosporose sur des modèles murins
1990	Essais thérapeutiques
1991	Confirmation de la présence de <i>Neospora caninum</i> chez les chiens Norvégiens (1984), et elle reconnue comme une cause majeure d'avortements chez les bovins en Californie
1993	Isolement de <i>Neospora caninum</i> à partir d'avortons bovins
1994	La néosporose semble être une maladie asymptomatique fréquente en élevage laitier bovin
1995	Développement d'un test ELISA pour le diagnostic sérologique de la néosporose chez les bovins et le chien
1996	Production des premières protéines recombinantes utilisées dans le diagnostic de la néosporose
1998	Développement d'un test de séroagglutination
1998	<i>Neospora caninum</i> isolé chez le chien et les bovins est identique Description d'une nouvelle espèce chez le cheval : <i>Neospora hughesi</i>
1998	Le chien est reconnu comme hôte définitif

II. Biologie de *Neospora caninum*

II.1. Taxonomie et classification

Taxonomie simplifiée de *Neospora caninum*•**Protozoaire**

Protiste (unicellulaire eucaryote), paroi non cellulosique, souvent mobile, hétérotrophe.

•**Apicomplexa** (*Sporozoaires*)

Présence d'un appareil apical visible dans certains stades de développement intervenant dans la pénétration du parasite.

•**Coccidea**

« Coccidies » au sens large ; production de spores, complexe apical complet

•**Eimeriida**

Le microgamonte donne de nombreux microgamètes

•**Sarcocystidés**

Cycle avec hôte intermédiaire (HI) (différent des Eimeriidés avec *Eimeria* et *Isospora* ; des Cryptosporidés avec *Cryptosporidium*).

•**Toxoplasmatinés**

Chez l'hôte définitif (HD), reproduction asexuée suivie d'une reproduction sexuée ; sporogonie dans le milieu extérieur ; reproduction asexuée chez l'HI ; passage possible entre HI ; HI facultatif (*Toxoplasma*, *Neospora*) ou obligatoire (*Hammondia*)

Figure 21 : Taxonomie simplifiée de *Neospora caninum* (Chermette et Marquer, 2000).

II.2. Cycle parasitaire

Le cycle de *Neospora* est de type coccidien caractérisé par un cycle de vie hétéroxène facultatif comprend trois grandes étapes : 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).

- Chez l'hôte définitif le parasite se reproduit de façon sexuée dans le tube digestif et les oocystes coccidiens non sporulés sont rejetés dans le milieu extérieur, par l'intermédiaire des fèces. Le chien représente le principal hôte définitif mais le renard et d'autres canidés sauvages comme le loup et le dingo sont suspectés, des anticorps anti *Neospora caninum* ayant été retrouvés chez ces espèces (Chermette et Marquer, 2000).

- Chez les hôtes intermédiaires la contamination se fait en ingérant des oocystes infectants (sporulés) présents dans le milieu extérieur à travers l'alimentation et l'eau (Dubey, 1999 ; Dijkstra *et al.*, 2002). Après l'ingestion de ces derniers, la reproduction de *Neospora caninum* se fait de façon asexuée, les oocystes sporulés libèrent des sporozoïtes qui pénètrent les cellules du tractus digestif et se transforment dans un premier temps très rapidement en tachyzoïtes, qui se multiplient rapidement par endodyogénie et que l'on retrouve dans de nombreuses cellules de l'organisme et qui est susceptible d'être transmise à travers le placenta pendant la gestation. Puis face à la réponse immunitaire, les tachyzoïtes se différencient en bradyzoïtes qui s'enkystent dans le système nerveux de l'hôte et qui se multiplient plus lentement (Ghalmi *et al.*, 2007, Hemphill, 1999; Wouda, 2000). Cette forme peut persister plusieurs années chez l'hôte infecté constituant la forme latente (Lindsay *et al.*, 1992). Celle-ci est le réservoir pour l'infection de l'hôte définitif (chien) via la consommation de tissus infectés (Ghalmi *et al.*, 2007). Le chien, avant d'être reconnu comme hôte définitif, a d'abord été étudié en tant qu'hôte intermédiaire (Bjerkas *et al.*, 1984).

- Une phase dans le milieu extérieur qui concerne les oocystes qui après avoir été excrétés vont devoir sporuler pour devenir infectants. L'excrétion commence cinq à dix jours après l'ingestion de kystes à bradyzoïtes et dure environ dix jours (McAllister *et al.*, 1998 ; Lindsay *et al.*, 1999). La sporulation se produit dans les 24 heures suivant l'émission des oocystes (Lindsay *et al.*, 1999).

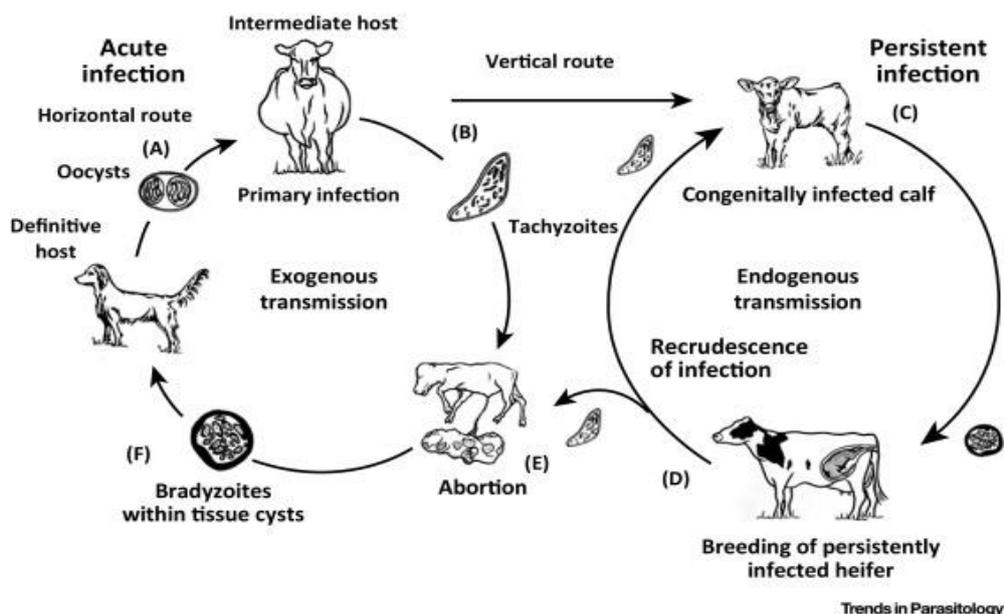


Figure 22 : Cycle de développement et de transmission de *N. caninum*

II.3. Localisation et structure des formes parasitaire

N. caninum est morphologiquement très proche des autres genres de la famille des *Sarcocystida*. Le parasite 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.

II.3.1. Tachyzoïtes

Ils représentent la forme pathogène de *Neospora caninum*, ils apparaissent sous plusieurs formes, et de différentes mesures en fonction du stade de division (**Dubey et Lindsay, 1996**). 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 pseudokyste 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 (cellules nerveuses, les macrophages, etc...) (**Dubey et Lindsay, 1996**).

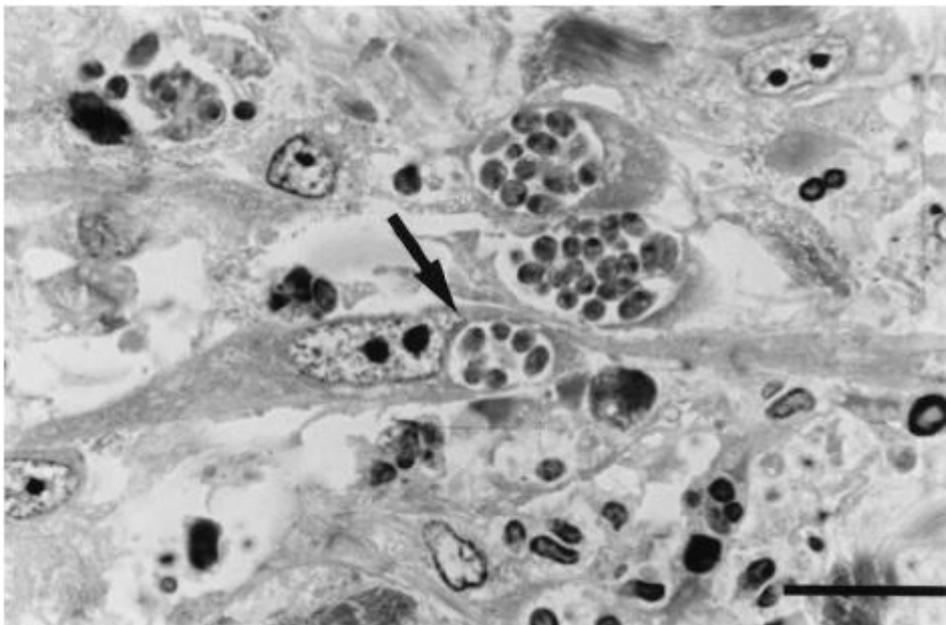


Figure 23 : Tachyzoïtes de *Neospora caninum* dans les fibroblastes infectés (**Alessandro et al., 1998**)

II.3.2. Bradyzoïtes et kystes tissulaires

Les bradyzoïtes constituent la forme quiescente de la phase asexuée (**Dubey et Lindsay, 1996**). Les bradyzoïtes se divisent de manière lente par endodyogénie créant ainsi des kystes tissulaires (**Speer et al., 1999**). La localisation des kystes de bradyzoïtes est limitée au tissu nerveux : encéphale, moelle épinière, nerfs et rétine (**Dubey et Lindsay, 1996**).

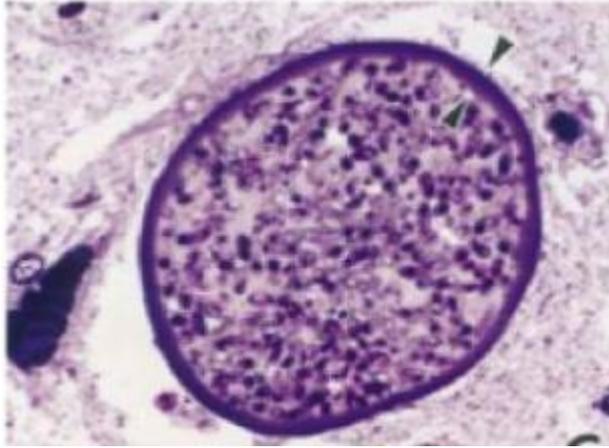


Figure 24 : Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien (**Dubey et al., 2002**)

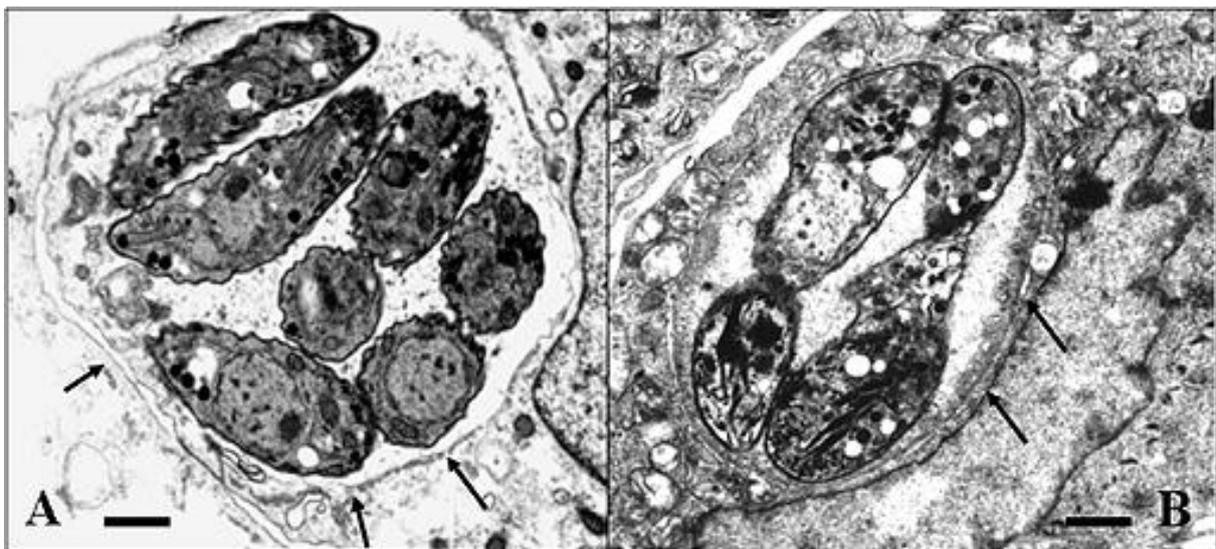


Figure 25 : Comparaison électro-microscopique de tachyzoïtes de *N. caninum* (A) et de bradyzoïtes (B) cultivés in vitro (**Hemphill et Vonlaufen., 2003**)

II.3.3. Oocystes

Les oocystes sont de forme sphérique, Quand ils 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**). Les oocystes qui n'ont pas sporulé n'ont aucun pouvoir infectant (**Chermette et Marquer, 2000**)



Figure 26 : Oocyste sporulé contenant deux sporozoïtes (**Lindsay et al., 1999b**).

III. Immunité et lésions

III.1. Réponse immunitaire des hôtes

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

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

III.1.1. Réponse immunitaire lors de la transmission verticale

La gestation représente une situation particulière dans laquelle le système immunitaire est obligé de tolérer le fœtus qui représente un greffon étranger à l'organisme. La réponse de type Th1, est indispensable pour réduire la multiplication de *Neospora caninum*. Or la réponse

de type Th1 est atténuée lors d'une gestation sinon elle provoquerait le rejet du fœtus (**Buxton et al., 2002 ; Innes et al., 2002**).

Les anticorps interviendraient au moment de l'invasion cellulaire par les tachyzoïtes ainsi qu'au moment de leur passage intercellulaire. Dans une étude expérimentale une augmentation du titre en anticorps est observée 15 jours après l'inoculation de vaches naïves à un stade précoce de leur gestation (36 jours) avec des tachyzoïtes (**Macaldowie et al., 2004**)

La réponse de type Th2 n'intervient qu'en milieu de gestation et le devenir du fœtus dépend étroitement du stade de gestation auquel se transmet l'infection :

Si l'infection a lieu dans le premier tiers de gestation, cela induit soit un avortement, soit la naissance d'un veau infecté avec des symptômes. A ce stade, la réponse de type Th1 prédomine sur la réponse de type Th2. De plus, le système immunitaire du fœtus est immature.

Si l'infection a lieu dans le deuxième tiers de gestation, le système immunitaire du fœtus bien que rudimentaire, est compétent mais ne permet pas de le sauver (**Buxton et al., 2002**). C'est à ce stade (5 mois environ) que surviennent la majorité des avortements (**Dubey, 1999**).

Si l'infection a lieu dans le dernier tiers de la gestation, le veau qui naît est apparemment sain mais séropositif (**Buxton et al., 2002**). En effet, à ce stade de gestation, le système immunitaire est parfaitement compétent.

Les vaches infectées avant leur gestation sont des porteuses asymptomatiques du parasite. Ce dernier se retrouve généralement sous forme de kystes à bradyzoïtes dans leur système nerveux (**Marquer et Chermette, 2000**).

L'étiologie d'une réactivation est mal connue. On suppose que lorsqu'une gestation débute, les kystes à bradyzoïtes se réactivent libérant des bradyzoïtes puis des tachyzoïtes (**Innes et al., 2000**). Les risques d'avorter semblent être plus élevés dans le deuxième tiers de la gestation (à ce stade il y a une corrélation entre l'avortement et l'augmentation du taux d'anticorps chez la mère), alors que cette élévation du taux d'anticorps à la fin de la gestation conduit à la naissance de veaux infectés chroniques (**Paré et al., 1997**). Les bovins infectés transmettent très fréquemment et de manière efficace le parasite à leur descendance ce qui suggère que l'immunité développée suite à la primo-infection n'est pas suffisante pour protéger le fœtus (**Anderson et al., 2000**).

En ce qui concerne les facteurs qui interviennent dans la réactivation des kystes à bradyzoïtes, Certains auteurs pensent que la modification de la réponse immunitaire avec la prédominance

d'une réponse immunitaire de type Th2 qui active le réveil de ce parasite et l'aide à se multiplier (**Innes et al., 2000**).

III.1.2. Réponse immunitaire lors de la transmission horizontale (par les oocystes)

D'après une étude expérimentale sur sept veaux âgés de 2,5 mois sont nourris avec des oocystes de chiens, de nombreux lymphocytes apparaissent dans le sang une semaine après l'infection. Ils persistent dans le sang, la rate et dans les ganglions lymphatiques mésentériques, inguinaux et bronchiques pendant plus de deux mois. Les chercheurs ont remarqué que la proportion de lymphocytes T (CD3+) est plus faible chez les veaux infectés que chez les non-infectés. Par contre le pourcentage de lymphocytes T-helper (CD4+), de lymphocytes T cytotoxiques (CD8+), de récepteurs à l'interleukine 2, de lymphocytes B, de monocytes et de macrophages est similaire entre les infectés et les non-infectés (**De Marez et al., 1999**).

Les anticorps IgG1 et IgG2 apparaissent entre 2 et 4 semaines respectivement alors qu'ils apparaissent entre 3 et 5 semaines chez des veaux infectés par voie orale ou par voie sous-cutanée avec des formes tachyzoïtes. Les IgM sont détectés 2 semaines après l'infection et diminuent au bout d'un mois. Toutefois, certains veaux présentent une réponse en anticorps faible (**De Marez et al., 1999**).

III.2. Lésions

La multiplication des tachyzoïtes à l'intérieur des cellules cibles provoque des lésions du fœtus et du placenta, caractérisées par une inflammation non-suppurée associée à des foyers de nécrose (**Dubey, 1999**).

Les lésions provoquées par les kystes tissulaires sont plus rares. Ce sont les kystes rompus qui entraînent souvent une réaction granulomateuse, alors que les kystes intacts ne sont pas pathogènes. Les fœtus expulsés à un stade précoce sont dans la plupart des cas momifiés ou autolysés. Les lésions macroscopiques sont peu nombreuses (**Anderson et al., 1994**).

Sur le plan microscopique, les lésions cérébrales sont caractérisées par une infiltration leucocytaire multifocale ou diffuse (encéphalomyélite non-suppurée), parfois associée à des foyers de nécrose ou encore à des foyers de gliose. Ces derniers sont souvent adjacents des capillaires dont l'endothélium est hypertrophié et entouré d'un manchon de cellules mononuclées. Une infiltration leucocytaire mononuclée des méninges, et des kystes parasitaires sont visibles dans certains cas. Enfin une calcification précoce des foyers nécrotiques a été décrite (**Dubey et Lindsay, 1996**) (figure 27).

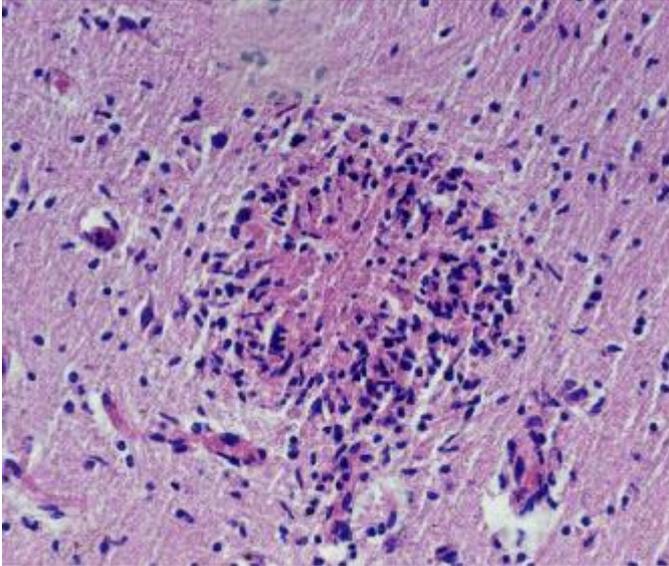


Figure 27 : Coupe histologique d'un encéphale de fœtus bovin : lésion inflammatoire avec un centre nécrotique (**Wouda, 1998**)

IV. Les conséquences cliniques

IV.1. Espèce bovine

- Bovins adultes

L'infection par *Neospora caninum* est asymptomatique chez les bovins adultes en dehors des périodes de gestation. L'infection exogène en période de gestation est susceptible de provoquer des avortements apyrétiques, sans rétention placentaire ni complication infectieuse avec un retour en chaleur rapide (**Björkman et al., 1996**). Ainsi, la fertilité pour le cycle qui suit n'est pas modifiée et le taux de réussite à l'insémination suivante est bon. Des glaires translucides, liées à un œstrus, peuvent être observées dans certains cas le jour de l'expulsion du fœtus (**Journel et Pitel, 2001**).

L'avortement survient à partir du troisième mois de gestation jusqu'au terme (**Dubey and Lindsay, 1996**). Cependant deux pics d'avortements sont fréquemment rapportés à 5,5 mois et à 7 mois. Par ailleurs, une mortalité embryonnaire ou fœtale précoce peut passer inaperçue avec un retour en œstrus de l'animal (**Losson et Bourdoiseau, 2000**)

- Nouveau-né

Le veau peut naître mort-né, malade ou le plus souvent infecté chroniquement et sans symptôme. Il faut savoir qu'entre 80 et 90% des veaux nés de mères contaminés sont eux-mêmes infectés et sont séropositifs avant la prise colostrale (**Paré et al., 1996 ; Schares et al., 1998**).

Les troubles sont principalement nerveux, ils se traduisent par une incapacité à se lever. L'examen neurologique met en évidence une ataxie, une diminution des réflexes patellaires et une perte des réflexes de proprioception. Un retard de croissance est possible. Les articulations, en particulier distales des membres antérieurs et/ou postérieurs peuvent être fléchies ou hypertendues (**Parish *et al.*, 1987**).

D'autres signes comme une exophtalmie, une déviation du globe oculaire (strabisme), de l'hydrocéphalie, des déformations des membres associées à une myosite ou encore une déviation de la colonne vertébrale ont été rapportés (**Bryan *et al.*, 1994 ; Dubey *et al.*, 1990**).

V. Le diagnostic de la néosporose chez les bovins

V.1. Clinique et épidémiologique

Le signe d'appel le plus fréquent est l'avortement. Il a lieu en milieu ou en fin de gestation (entre le troisième et le neuvième mois), est apyrétique et sans prodrome. Aucune rétention placentaire ni infection utérine ou retour en œstrus décalé n'est observé (**Journel et Pitel, 2001a**).

Le nombre d'avortements ne constitue pas un élément de suspicion, les avortements, les affections nerveuses néonatales et la mortalité sont des éléments essentiels pour la suspicion de la néosporose dans un élevage, mais ne sont en aucun cas pathognomoniques. (**Journel et Pitel, 2001a**).

V.2. Diagnostic différentiel

V.2.1. Étiologie des avortements chez la vache

Les tableaux suivants sont des récapitulatifs des maladies infectieuses et non infectieuses desquels il faut différencier la néosporose.

Tableau XII : Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : maladies infectieuses à rechercher dans un premier temps (d'après Tainturier *et al.*, 1997a ; Tainturier *et al.*, 1997b).

Étiologie	Épidémiologie	Période de l'avortement	Signes cliniques	Prélèvements	Diagnostic
Brucellose <i>Brucella abortus</i>	Epizootique à enzootique	Entre le 6° et le 9° mois (dernier trimestre)	- Mortinatalité et veaux chétifs - Placentite - Non délivrance - Infertilité	Fœtus, placenta, lait, sécrétions génitales et sang	- Bactérioscopie : calques et coloration - Bactériologie : culture (milieu de Farre) - Sérologie : EAT et FC ou ELISA
Salmonellose <i>Salmonella dublin</i> > <i>S. Typhimurium</i> > <i>S. Enteritidis</i>	Sporadique, parfois enzootique	6°, 7°, 8° mois de gestation (génisses surtout)	- Crise d'entérite avec hyperthermie et tufos (qlq jrs avant) - Hépatite avec ictère et fièvre - Veaux mort-nés - Non-délivrance	Fœtus, placenta, sang	- Bactérioscopie : calques et coloration - Bactériologie : culture - Sérologie : séroagglutination
Chlamydie <i>Chlamydia abortus</i>	Sporadique	Dernier tiers de gestation	- Métrites, mammites, troubles de la reproduction - Non-délivrance - Entérites, affections pulmonaires, encéphalomyélite sporadique	Fœtus, placenta, sang	- Bactérioscopie : calque et coloration de Machiavello - PCR - Sérologie : FC ou ELISA
Fièvre Q <i>Coxiella burnetii</i>	Enzootique	Tous les stades (surtout dernier tiers)	- Vêlages prématurés - Non-délivrance - Métrites	Fœtus, placenta, sang	- Bactérioscopie : calque et coloration - PCR - Sérologie : FC ou ELISA
Listériose <i>Listeria monocytogenes</i>	Sporadique	Entre le 4° et 8° mois	- Hyperthermie, diarrhée profuse - Métrites aiguës - Non-délivrance - Vêlages prématurés - Veaux chétifs, mortinatalité	Fœtus, placenta	- Bactériologie : culture directe ou après enrichissement
Mycoses <i>Aspergillus</i> +++	Sporadique à épizootique	Entre le 3° et 8° mois	- Vêlage prématuré - Mortinatalité	Fœtus (caillette), placenta	- Culture - Histologie

<i>Candida,</i> <i>Mucor,</i> <i>Rhizopus,</i> <i>Absidium</i>			- Rétention placentaire		
---	--	--	----------------------------	--	--

Tableau XIII : Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : maladies infectieuses à rechercher dans un deuxième temps (d'après **Tainturier et al., 1997a ; Tainturier et al., 1997b**)

Étiologie	Épidémiologie	Période de l'avortement	Signes cliniques	Prélèvements	Diagnostic
Leptospirose <i>Leptospira interrogans, L. icterohaemorrhagiae, L. Grippotyphosa</i>	Sporadique, parfois enzootique	Dernier tiers de gestation	- Veaux malades - Non-délivrance, endométrites, stérilité - Lésions cutanées, entérites, ictère, mammites, lait rosé, agalaxie - Hyperthermie, anémie	Urines, lait, fœtus, placenta et sang	- Microscopie sur fond noir, coloration - Bactériologie difficile - Sérologie : microagglutination ou FC
Campylobactériose <i>Campylobacter fetus venerealis, C fetus fetus</i>	Sporadique	Entre le 30 et 45 jours	- Stérilité temporaire - Vaginite, endométrite - Mortalité embryonnaire précoce	Fœtus, placenta, mucus	- Bactérioscopie coloration et calques - Bactériologie : culture sur milieux spécifiques
Rhinotracheite infectieuse (IBR) Herpesvirus bovin 1	Sporadique à épizootique	Après 150 jours (5 mois)	- Vulvo-vaginite et métrites, balanoposthite - Mortinatalité, veaux chétifs - Rhinotracheite	Fœtus, sang	- IF directe (foie, reins) - Virologie : culture sur milieux cellulaires - Sérologie : ELISA
BVD/MD Pestivirus	Sporadique à épizootique	Avant 5 mois	- Mortinatalité, IPI, veaux chétifs - Maladie des muqueuses - Infertilité	Fœtus, sang	- Histologie - Culture sur milieux cellulaires ou recherche du virus - Sérologie : ELISA
Trichomonose <i>Trichomonas</i>	Sporadique	Avant 3 mois	- Vaginite, endométrite,	Fœtus, mucus	- Histologie - Culture sur

<i>foetus</i>			pyomètre - Stérilité chez le taureau	(préputial ou vaginal), placenta	milieux spécifiques
Sarcosporidiose <i>Sarcocystis cruzii</i>	Sporadique	Variable	- Fièvre, anorexie, sialorrhée, ulcères buccaux, alopecie - Hémorragie, pétéchies et anémie - Troubles nerveux	Placenta, sang	- Examen anatomopathologique - Sérologie : peu fiable

Tableau XIV : Diagnostic différentiel des avortements chez les bovins : causes non infectieuses

(d'après Tainturier *et al.*, 1997a ; Tainturier *et al.*, 1997b).

Étiologie	Épidémiologie	Période de l'avortement	Signes cliniques	Prélèvements
Facteurs génétiques	Sporadique	Précoce (souvent foetale)	Absence	Aucun
Facteurs mécaniques	Sporadique	Tous les stades	- Hyperthermie - Traumatismes - Interventions chirurgicales - Palpation transrectale et énucléation du corps jaune	Aucun
Facteurs toxiques	Sporadique à épizootique	Dépend du produitingéré	- Phyto-oestrogènes : infertilité et prolapsus génitaux - Nitrates : anoxie foetale - Pin	- Anamnèse - Analyse du contenu ruminal.
Facteurs iatrogènes	Sporadique	- Oestrogènes : en début - PGF2 α : entre 4 et 150 jours - Corticoïdes : en fin.	Dépend du produit	- Anamnèse

V.2.2. Étiologie des troubles nerveux chez le nouveau-né

Tableau XV : Diagnostic différentiel des troubles nerveux d'origine infectieuse chez le veau nouveau-né (Guinot, 2015)

Affection	Agent infectieux	Clinique	Diagnostic
Méningites et méningo encéphalite	Le plus souvent bactériennes : colibacilles (<i>E.coli</i>), salmonelles, streptocoques, pasteurelles...	- Hyperthermie, hyperesthésie, rigidité cervicale, ataxie, cécité, parésie ou paralysie, amaurose, convulsions, opisthotonos, coma - Troubles digestifs, omphalite, polyarthrite ou lésions oculaires	- Analyses biochimiques : leucocytose, neutrophilie et lymphopénie - Cytologie et bactériologie sur LCR.
Listériose	<i>Listeria monocytogenes</i>	- Hyperthermie, ataxie, marche en cercle, paralysie isolée,	- Cytologie et bactériologie sur LCR

		mortinatalité.	- Anatomopathologie : microabcès au niveau de tronc cérébral
Infections virales congénitales	- BVD/MD (infection foetale) - Bunyavirus	- Hypoplasie cérébelleuse ou hydrocéphalie - Hydrocéphalie	- Virologie, sérologie ou histologie

Tableau XVI : Diagnostic différentiel des troubles nerveux d'origine héréditaire liés à des anomalies métaboliques chez le veau nouveau-né. (Guinot, 2015)

Affection	Étiologie	Clinique	Diagnostic
Gangliosidose	Déficit de l'activité β -galactosidase	Vacillement du train postérieur, rigidité des membres	Anatomopathologie : vacuolisation des neurones et démyélinisation
Citrullinémie	Déficit enzymatique et accumulation de citrulline dans le plasma (veaux de race Holstein et Frisonne)	Abattement, cécité, opisthotonos, convulsions, décubitus permanent	Anatomopathologie : oedème cérébro-cortical diffus, congestion, dégénérescence neuronale et oedème astroglial
Mannosidose	Déficit de l'activité α -mannosidase (Holstein, Angus et Simmental) ou β -mannosidase (Salers)	Ataxie, tremblements, mortinatalité	Anatomopathologie : vacuolisation des neurones, des macrophages et des cellules réticuloendothéliales des noeuds lymphatiques et des cellules du pancréas exocrine

Tableau XVII : Diagnostic différentiel des troubles nerveux congénitaux et héréditaires liés à des anomalies de développement chez le veau nouveau-né (Guinot, 2015)

Affection	Étiologie	Clinique	Diagnostic
Aplasia, hypoplasie, dégénérescence cérébelleuse	Congénitale (infections prénatales par le virus du BVD/MD)	Ataxie, mouvements musculaires violents, tremblements, opisthotonos	Anatomopathologie : hypoplasie ou dégénérescence du cortex cérébelleux et perte de la couche des cellules de Purkinje
Hydrocéphalie	Congénitale et héréditaire	Mortinatalité, anomalies oculaires	Anatomopathologie : accumulation de liquide dans le système ventriculaire
Atrophie du cortex cérébelleux	Congénitale et génétique (veaux Holstein et Angus)	Ataxie et convulsions isolées ou répétées	Anatomopathologie : atrophie généralisée de toutes les couches du cortex cérébelleux
Oedème cérébral congénital	Congénitale et génétique (veaux Hereford)	Décubitus permanent, ataxie, hyperesthésie	Anatomopathologie : aspect vacuolaire spongieux du tissu cérébral
Hydroanencéphalie	Congénitale (infections prénatales)	Cécité, ataxie, mortinatalité	Anatomopathologie : absence complète ou presque d'hémisphères cérébraux
Myélodysplasie	Congénitale (anomalie de	Parésie, ataxie des	Anatomopathologie : défaut

	développement de la moelle épinière)	postérieurs, démarche en « saut de lapin »	de développement de la moelle épinière
--	--------------------------------------	--	--

V.3. Diagnostic de laboratoire

V.3.1. Méthodes directes

- Histologie

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 pas en faveur de ce type de test. 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 and 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'immuno-histochimie est indispensable pour confirmer la présence de *Neospora caninum*.

- Immunohistochimie

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 néosporose, 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**).

- Isolement sur culture cellulaire et inoculation

Cette technique ne fait pas partie des examens de laboratoire couramment utilisés dans le diagnostic de la néosporose (**Marquer et Chermette, 2000**).

L'isolement de *Neospora caninum* est réalisé à partir du tissu nerveux des bovins (**Dubey and 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 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.

- Amplification génique (PCR)

La PCR semble être une méthode très sensible et très spécifique (**Jenkins et al., 2002**). Beaucoup de tests PCR classiques et en temps réel ont été développés (**Ghalmi et al., 2008**). Certaines trousse commerciales sont maintenant disponibles « VetPCR N. caninum detection kit » de la firme BioIngentech ; Nesopora caninum PCR kit de Mybiosource.com, etc.

Il est cependant préférable d'associer la PCR à d'autres techniques directes ou indirectes pour confirmer le diagnostic.

V.3.2. Méthodes indirectes

- Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI a été le premier test sérologique utilisé en 1988 pour détecter les anticorps de *Neospora caninum* chez le chien, 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.

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 Ugglä, 1999 ; Dubey et Lindsay, 1996**).

- Agglutination directe

Une technique simple, et rapide et de ses qualités intrinsèques, la technique d'agglutination directe représente un outil de diagnostic intéressant qui pourrait être utilisé dans beaucoup d'espèces. Le test existe sous forme de kits commerciaux (Vétoquinol) (**Björkman et Ugglä, 1999**).

- 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.

« 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 test (**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.

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.

VI. Mode de transmission

VI.1. Transmission verticale (transplacentaire)

La transmission verticale est décrite naturellement et expérimentalement chez plusieurs espèces (**Dubey, 1999**),

Un mode de transmission qui semble être important car plusieurs études ont révélé que plus de 80% des mères séropositives transmettent leur infection à leur progéniture (**PARÉ et al., 1996**). La persistance de l'infection chez des génisses cliniquement normales (contaminées congénitalement) et la transmission à leur progéniture ont été étudiées entre 1992 et 1995 (**Anderson et al., 1997**).

Les résultats de cette étude ont montré que :

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

D'autre part, une seconde étude, réalisée entre 1992 et 1994, a démontré qu'un fort taux d'anticorps chez la mère est associé avec une sérologie pré-colostrale positive chez le veau. En effet, le risque d'infection congénitale est plus élevé chez un veau dont la mère présente un fort taux d'anticorps, ou une élévation du taux d'anticorps entre le troisième et le huitième

mois de gestation, que chez un veau dont la mère présente un taux d'anticorps faible ou en diminution (**Paré et al., 1996**).

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

VI.2. Transmission horizontale

- Contamination de l'hôte définitif

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

- 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., 1999**). La sporulation, indispensable à l'acquisition des propriétés infectantes, nécessite 24 heures dans de bonnes conditions. Ils seraient émis pendant cinq à huit jours après l'infection de chiens par ingestion de kystes tissulaires, la durée d'excrétion pouvant atteindre une dizaine de jours (**Mac Allister et al., 1998; Lindsay et al., 1999**).

VII. Moyens de lutte

VII.1. Prophylaxie

VII.1.1. Médicale

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Le coût du traitement ainsi que la faculté des protozoaires à développer des résistances aux molécules thérapeutiques ont incité les chercheurs à proposer des protocoles vaccinaux (**Innes et Vermeulen., 2006 ; Dubey et al., 2007**).

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

Un vaccin commercial à base de tachyzoïtes tués (Neoguard®, Intervet) a été évalué sur des vaches laitières au Costa Rica (**Romero et al., 2005**). Les résultats indiquaient une diminution de moitié d'avortement dans le groupe vacciné (11%) par rapport au groupe contrôle (21%). Un vaccin recombinant à base de peptides purifiés peut être utilisé. Des peptides issus de l'antigène de surface NcSRS2 semblent induire une réponse de type T cytotoxique et Th1 chez la vache Holstein (**Staska et al., 2005**).

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

VII.1.2. Mesures sanitaires

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

VII.2. Traitement

Beaucoup de traitements antiparasitaires ont été testés avec une efficacité *in vitro* contre les tachyzoïtes de *N. caninum* mais pas contre les bradyzoïtes enkystés *in vivo* (**Wouda, 2000**). Par ailleurs, le traitement de vaches en lactation sur une longue période n'étant pas réalisable, ce traitement a été évalué sur des génisses afin de prévenir les avortements et l'infection des veaux (**Wouda, 2000**). Mais aucun traitement n'est efficace sur les formes bradyzoïtes et donc sur la prévention d'une transmission verticale.

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

I. Problématique et objectifs de l'étude

Dans la filière élevage, on observe un rythme constant de croissance depuis quelques années. En 2014, le cheptel national, tout type de ruminant confondu, dépassait 34 millions de têtes, selon les statistiques des services spécialisés du ministère de l'Agriculture et du développement rural (**Anonyme, 2017**). La filière bovine trouve des difficultés, avec moins de 2 millions de têtes, ce qui représente moins de 6% de l'ensemble du cheptel national des ruminants. Son effectif est ainsi quasiment au même niveau qu'en 2010, ce qui a provoqué l'importation d'animaux. Selon la direction des Services Vétérinaires du ministère de l'Agriculture, depuis le début de l'année en cours, les importations de bovins vivants ont atteint 25 625 têtes jusqu'à fin mars dernier, dont respectivement, 10 669 têtes de bovins reproducteurs (génisses et vaches laitières), 14 506 têtes de bovins d'engraissement (petits broutards) et 450 bovins d'abattage (**Anonyme, 2017**).

La croissance des élevages bovins en Algérie est très faible et c'est la résultante de plusieurs causes avec notamment des problèmes de reproduction qui conduisent les éleveurs à prendre la décision de réformer des animaux et aux abattages forcés. On peut citer à titre d'exemple les avortements induits par des maladies infectieuses ce qui engendrent des pertes économiques importantes qui touche le produit et aussi le coût de traitement (**Han and al., 2005**).

L'avortement chez la vache peut avoir des origines diverses, infectieuses (virus, bactérie, parasite, champignons) ou non infectieuses (facteurs nutritionnels, endocriniens, génétiques, immunologiques...). Parmi les agents pathogènes associés aux problèmes d'avortement, de mortinatalité et de malformations congénitales chez les bovins, le virus de Schmollenberg, un agent pathogène émergent en Europe et qui induit des atteintes congénitales de types arthrogrypose/hydranencéphalie et parfois avortement (**Martinelle et al., 2012**) ; *Neospora caninum*. Un protozoaire fréquemment diagnostiqué chez les bovins à travers le monde, et qui est à l'origine d'avortement chez les vaches gestantes (**Thilsted et Dubey, 1989**).

Ce travail a pour objectifs :

- L'estimation de la séroprévalence des infections au virus de Schmallenberg (SBV) et à *Neospora caninum* chez les vaches de la région de Freha (Tizi-Ouzou) ;
- L'estimation du taux d'avortement bovin dans les élevages situés dans la région de Freha (Tizi-Ouzou) ;
- La détermination des facteurs de risque liés aux avortements dans les élevages étudiés.
- La détermination des facteurs de risques liés à la séropositivité vis-à-vis du SBV ou de *N. caninum* ;
- L'évaluation de l'implication des pathogènes SBV et *N. caninum* dans les avortements chez la vache dans la région étudiée.

II. Matériels et méthodes

Notre étude a été menée dans la région de Freha (Wilaya de Tizi-Ouzou). Le choix de cette zone est justifié par l'importance de l'élevage bovin et des surfaces agricoles utilisées pour produire les fourrages.

II.1. Description de la région d'études

II.1.1. Situation géographique

Freha (36° 45' 43" nord, 4° 18' 59" est), est une commune de la wilaya de Tizi-Ouzou en Kabylie (Algérie), située à 31 km à l'est de la wilaya, à 7km à l'ouest d'Azazga et à 32km au sud-ouest d'Azeffoun, Son chef-lieu c'est la ville du même nom.

La commune de Freha est située au centre, elle est délimitée :

- au nord, par la commune d'[Aghribs](#) ;
- à l'est, par la commune d'[Azazga](#) ;
- au sud, par les communes de [Mekla](#) et de [Tizi Rached](#) ;
- à l'ouest, par les communes de [Tizi Ouzou](#) et [Ouaguenoun](#) ;
- au nord-ouest, par la commune de [Timizart](#).

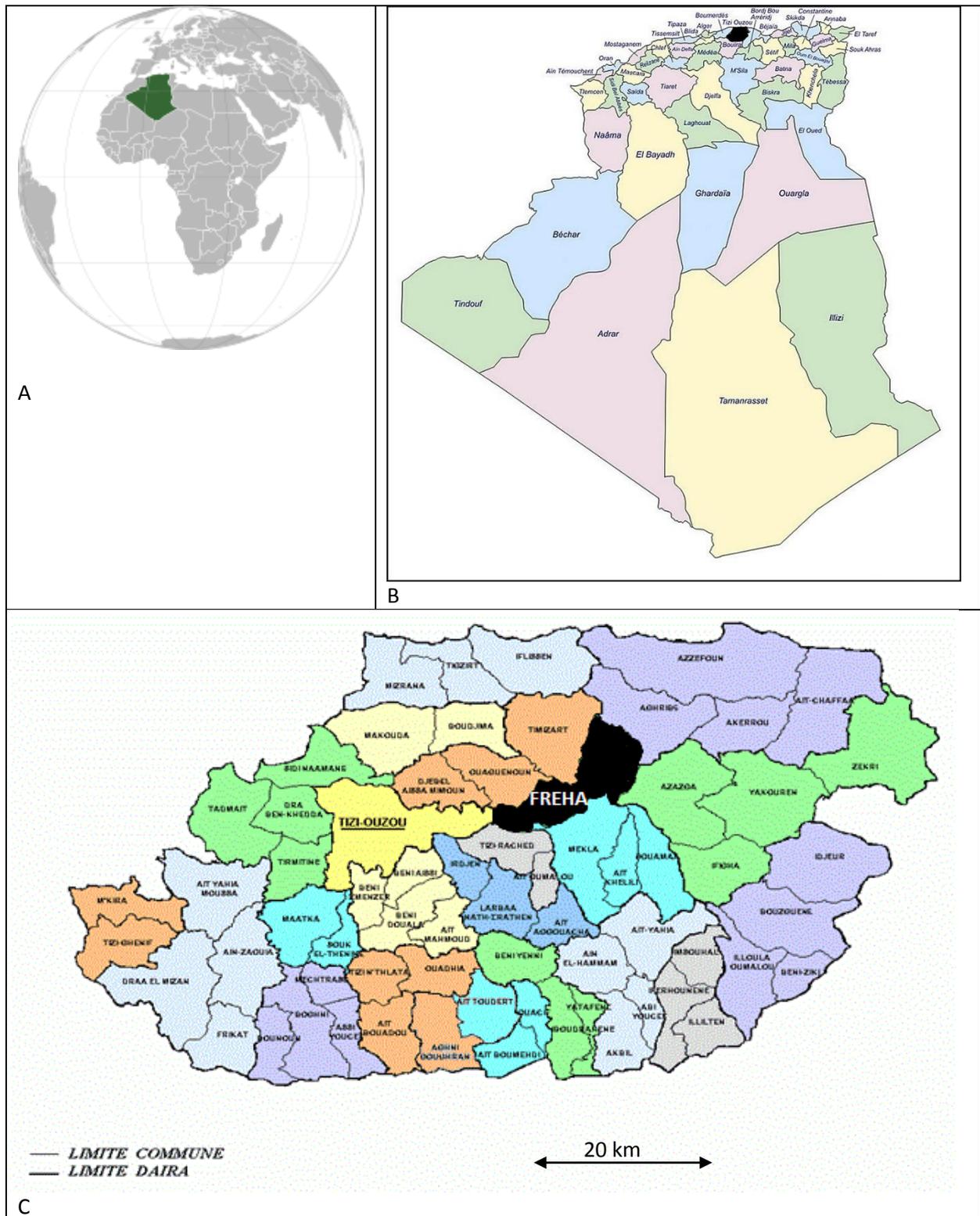


Figure 28 : A :En vert, l’Algérie au Nord du continent africain. B. En noir la wilaya de Tizi-ouizou parmi les autres Wilayas. C. les communes et daïras de la wilaya de Tizi-Ouzou avec en noir, la commune de Freha. (DSA, 2014)

II.1.2. Caractères climatiques

Le climat de Tizi-Ouzou est de type méditerranéen, caractérisé par deux saisons bien distinctes : un hiver humide et froid et un été sec et chaud. Les précipitations atteignent en moyenne 762 mm/an. La population est fortement rurale (63%, soit 791 031 habitants répartis sur 1400 villages) (**Si-Tayebet *et al.*, 2015**)

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

La zone d'étude de Freha dispose d'une SAU (surfaces agricoles utiles) de 6 788 ha qui représente 7% de la SAU de la wilaya de Tizi-Ouzou. La région de Tizi-Ouzou, notamment, la localité de Freha est connue principalement pour la production de viande (**Djellal *et al.*, 2007**). Mais à partir de 2000, avec l'avènement du programme FNDRA (Fonds National de Régulation et de Développement Agricole), l'élevage bovin laitier a pris un essor pour devenir une activité génératrice de revenu, particulièrement pour les petits agriculteurs (**Ghozlane *et al.*, 2006**).

Dans les exploitations de Freha, la production laitière est passée de 82 millions de litres en 2009 à 145 millions de litres en 2014, soit une évolution de plus de 76% (**DSA, 2014**).

II.1.4. Description du mode d'élevage bovin

La région de Freha possède approximativement 8769 têtes de bovins dont 4678 vaches laitières, avec 609 exploitations identifiées. (**DSA, 2016**)

Les deux catégories qui existent dans la région étudiée sont :

- Le BLM (bovins laitier moderne) et qui est représenté par les races européennes importées telle que la Montbéliarde, la Holstein, la Normande, la Fleckvieh...
- Le BLA (bovins laitier amélioré) qui correspond aux vaches issues des croisements entre les races importées entre elle et avec la population bovine locale (BLL).

Le mode d'élevage est de types semi intensif d'une façon majoritaire avec la présence d'un parc à côté de l'étable où les animaux restent toute la journée. L'élevage intensif est pratiqué pour les taureaux d'engraissement et pour les élevages où la superficie ne permet pas d'exercer un mode semi-intensif. On trouve aussi le mode extensif très répandu dans les zones montagneuses où les animaux sont laissés *ad-libitum* avec une liberté totale.



Figure 29 : photo des races de vaches prélevées (Photo personnelles)

II.2. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique

II.2.1. Mode d'échantillonnage

II.2.1.1. Échantillonnage

Cette étude a eu lieu durant la période allant d'Octobre 2016 jusqu'à Mars 2017 ; Ainsi, cent quatre-vingt-quinze vaches ($n=195$) issues de vingt-huit fermes bovines ($n=28$) et sélectionnées au hasard ont été prélevées.

Les différentes exploitations étudiées se trouvent dans 19 villages de la commune de Freha dont 28 fermes ont été sélectionnées au hasard. Les différentes exploitations étudiées sont illustrés dans le tableau ci-dessous

Le nombre des vaches à prélever dans chaque ferme était déterminé en fonction du nombre total des vaches présentent dans chaque exploitation : soit la ferme comprenait moins de 10 vaches et, dans ce cas toutes les vaches étaient prélevées, soit la ferme contenait plus de 10 vaches et, dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. Cette méthode d'échantillonnage vise à avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présents dans les fermes étudiées (**Ghalmi *et al.*, 2012 ; Dias *et al.*, 2013**)

Tableau XVIII: Répartition des vaches prélevées par fermes et par village

Localisation de la ferme	Nombre de fermes prélevés	Nombre des Bovins présents	Nombre de Femelles Présentes	Nombre de vaches Prélevées	%
EL-HAMRI	3	57	23	20	87
IMALOUCEN	1	18	14	10	71
BAGOU	1	8	7	7	100
IMZIZOU	3	43	25	22	88
GUNDOUL	2	20	12	12	100
BOUBZARA	1	9	8	8	100
ADJERRAR	1	7	5	5	100
TALATAGUANA	1	8	6	6	100
EL-MADJENE	1	10	9	9	100
TAGUARCIFT	1	11	9	9	100
NEZELA	1	15	9	9	100
ATH-BOULI	1	20	15	10	67
KAHRA	1	14	9	9	100
ATH-MHAND	1	7	6	6	100
ISOULAME	1	7	5	5	100
EL-MADJENE	1	8	6	6	100
IKHARVANE	1	7	6	6	100
THIKHARVINE	1	6	6	6	100
FREHA	5	48	35	30	86
TOTAL	28	323	215	195	91

II.2.1.2. Etude épidémiologique de type cas-témoin

Une étude épidémiologique de type cas témoin a été réalisée. Pour ce faire, les fermes sont réparties en fermes cas quand les fermes ont eu des cas d'avortement dans les cinq dernières années et en fermes témoins sont indemnes d'avortements dans les 5 dernières années. Lors de cette étude, nous avons procédé à l'analyse de 28 fermes dont 19 fermes témoins et 9 fermes cas, et qui correspond au rapport de 9 cas/19 témoins.

Les vaches prélevées sont aussi partagées en deux groupes : 25 vaches ayant avortées et 159 n'ayant pas avortées.

Cette étude cas témoin a pour objectif de vérifier un éventuel lien entre l'infection aux agents étudiés chez les vaches prélevées et l'avortement.

II.2.2. Enquête épidémiologique descriptive

Ce type d'enquête a été réalisé au moyen d'un questionnaire auquel les éleveurs de chaque ferme prélevée ont répondu. Ce formulaire, permet de relever les facteurs de risque susceptibles d'être associés à l'infection par le virus de Schmallerberg et *Neospora caninum* (voir annexe)

Ce questionnaire comporte plusieurs parties :

- L'adresse de la ferme, les coordonnées de l'éleveur et le vétérinaire traitant
- Données concernant l'exploitation et les animaux
- Données concernant l'avortement à l'échelle collectives
- Données qui concernent la vache prélevée

II.3. Analyses sérologiques

184 sérums parmi les 195 sérums collectés ont été analysés à l'Institut National de Médecine Vétérinaire de El-Harrach (INMV).

La recherche d'anticorps dirigé contre le virus Schmallerberg et *Neospora caninum* a été effectuée par la technique ELISA indirect. Cette technique est basée sur l'utilisation d'une nucléoprotéine recombinante du virus Schmallerberg (SBV) et un extrait antigénique spécifique de *Neospora*.

Le kit ELISA est commercialisé par la firme IDVet (Innovative Diagnostics), pour la mise en évidence d'anticorps spécifiques de ces deux agents dans les sérums et plasmas de bovins, caprins, canins et le lait des ruminants.

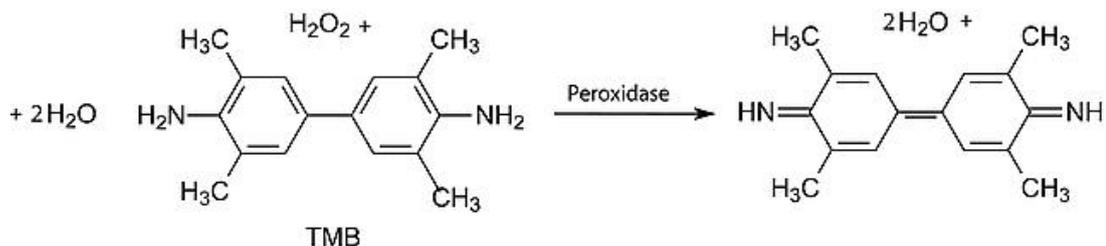
Pour SBV: ID Screen® *Schmallerberg virus Indirect Multi-species* (IDVET, Grabels, France).

Pour *N. caninum*: ID Screen® *Neospora caninum Indirect Multi-Species* (IDVET, Grabels, France).

II.3.1. Description et principes

- Les cupules sont sensibilisées avec des antigènes spécifiques du pathogène
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués, les anticorps spécifiques s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.
- Un anticorps reconnaissant les anticorps de bovins et marqué à la peroxydase se fixe aux éventuels anticorps, formant ainsi un complexe antigène-anticorps-conjugué-

La solution de révélation contient du TMB (tétraméthylbenzidine) et le l'eau oxygénée qui réagissent avec la peroxydase pour donner un composé coloré (bleu).



-En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage (ajout d'une solution acide).

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

La lecture est réalisée au spectrophotomètre à 450 nm.

II.3.2. Matériels nécessaires

Composants de kit :

- Microplaque ELISA 96 puits
- Conjugué Concentré (10X)
- Contrôle positif et négatif
- Tampons de dilution
- Solution de lavage (20X)
- Solution de révélation
- Solution d'arrêt (0,5)

Le matériel nécessaire mais non fourni

- Pipette mono ou multi-canaux capable de délivrer des volumes de 10µl, 100µl, 200µl.
- Embouts de pipette à usage unique
- Lecteur de microplaque ELISA 96 puits
- Eau distillée
- Système de lavage manuel ou automatique.

II.3.3. Mode opératoire

- Tous les constituants ont été ramenés à température ambiante (21°C±5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex, ainsi les échantillons à analyser
- La solution de lavage concentré à 20X, a été ramenée après avoir assuré la dissolution des cristaux, on a procédé à la préparation d'une dilution à 1/20é à raison de 30ml de la solution de lavage dans 570ml de l'eau distillée.

- On a préparé une microplaque de 96 puits et qui continents les échantillons à tester et les contrôle + et -, afin de réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, durant cette étape on a distribué :

- *90 µl de tampons de dilution dans chaque puits
- *10 µl de contrôle négatif dans les cupules A1 et B1
- *10µl de contrôle positif dans les cupules C1 et D1
- *10µl de chaque échantillon dans les cupules restantes

Puis les transféré avec une pipette multicanaux dans la plaque ELISA sensibilisé, et homogénéiser cette dernière manuellement ou à l'aide d'agitateur de microplaque.

La plaque a été incubée pendant 45 min à 21°C

- Après que le temps d'incubation est achevé on a procéder au lavage 3 fois (pour le SBV jusqu'à 5 fois), avec 300µl de solution de lavage préparée préalablement
- Ensuite on a distribué 100µl de conjugué dans chaque cupule après avoir effectué une dilution a 1/10 (2ml de conjugué dans 18ml de tampon de dilution), ensuite la plaque a été incubé 30min à 21°C.
- Après la fin d'incubation les cupules ont été vidé et laver 3 fois avec environ 300µl de solution de lavage
- 100µl de la solution de révélation a été distribué par la suite, puis incubation pendant 15min à l'obscurité.
- A la fin, on a distribué 100µl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
- Après avoir stoppé la réaction, on a procédé à la lecture et enregistrement des densités optique à 450 nm.
- Après la mesure de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) et contrôle négatif(DO_{CN}), ainsi que celle de l'échantillon $DO_{\text{échantillon}}$, la validation de teste a été vérifier selon les conditions de fabricant :
 - La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs est supérieure à 0,350.
 - Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs et la moyenne des contrôles négatifs est supérieure à 3.
- Ensuite on a calculé le pourcentage S/P (S/P%)

$$S/P\% = [(DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}) / (DO_{CP} - DO_{CN})] * 100$$

Les échantillons présentant un S/P % :

- $S/P\% \leq 40\%$: c'est négatif
- $40\% < S/P\% < 50\%$: c'est un douteux
- $S/P\% \geq 50\%$: c'est un positif

II.4. Analyses statistiques

Toutes les données récoltées grâce au questionnaire et les tests sérologiques ont été saisies dans une base informatique classique (Excel 2013), Les résultats sont soumis à une analyse statistique à l'aide du logiciel SPSS version 19 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

Afin d'effectuer l'exploitation statistique, les variables dépendantes (les résultats de l'analyse sérologiques vis-à-vis aux deux agents) ont été codées 0 pour un échantillon négatif et 1 pour un échantillon positif. Concernant les variables explicatives, indépendantes ont été codées, selon les réponses, 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 3 ou 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) = $P \pm 1.96 * \text{racine}[p(1-p)/N]$, avec p = prévalence observée dans l'échantillon.

2.4. Statistiques

Les prévalences d'avortements et l'analyse des facteurs de risques potentiellement associés à la séropositivité vis-à-vis des deux agents étudiés ont été effectuées par le biais du test d'indépendance basé sur le calcul du Khi-carré de Pearson (χ^2) avec le calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC).

Ce test permet de vérifier l'absence de lien statistique entre deux variables X et Y. X et Y sont dits indépendants lorsqu'il n'existe aucun lien statistique entre elles, dit autrement, la connaissance de X ne permet en aucune manière de se prononcer sur Y (ici les avortements).

L'hypothèse nulle (H_0) de ce test est la suivante : les deux variables X et Y sont indépendantes. En termes de valeur-p, l'hypothèse nulle est généralement rejetée lorsque $p \leq 0.05$.

Le test d'hypothèse est basé sur une hypothèse nulle d'indépendance entre le facteur et les avortements observés. Le seuil de signification était de 5%.

Concernant l'étude cas-témoin on calcule la force d'association entre la séropositivité aux virus Schmallenberg et *Neospora caninum* et les avortements a été mesurée par le biais du calcul de l'Odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). Le test d'hypothèse est basé sur le fait que l'OR soit significativement différent de 1. Le seuil de signification était de 5%.

Les calculs ont été effectués en ligne :

Calcule OR : https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php

Calcule d'IC (95%) : <http://www.mediametrie.fr/calculettes-mediometrie.php?id=intervalle>

Calcule de khi carré : http://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre.html

La variable est considérée comme facteur de risque lorsque la valeur de χ^2 sont significatifs ($OR > 1$ et valeur de $p < 0,05$). (Toma *et al.*, 2001)

RESULTATS

I. Résultats

III.1. Séroprévalence de SBV par ELISA

Parmi les 195 vaches prélevées, 184 sérums ont été analysés, les résultats par la technique ELISA montre une séroprévalence positive de 42% qui correspond à 78 vaches avec un IC (95%) de [34.9% et 49.1%] (tableau XIX, et figure 30), un résultat significatif avec une valeur de $p < 0,05$ (0,03).

Tableau XIX : La séroprévalence vis-à-vis le SBV chez les 184 vaches analysées

	SBV +	SBV-	Total
Nbr.vaches	78	106	184
Prévalence (IC 95%)	42% (34,9% - 49,1%)	58%	100%

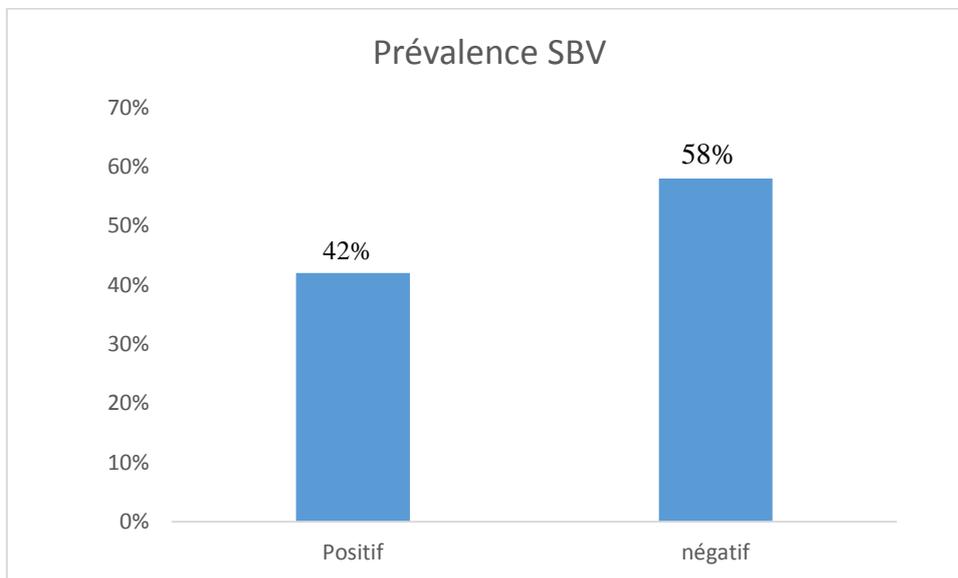


Figure 30 : histogramme représentatif des résultats sérologiques SBV

III.2. Séroprévalence de *Neospora caninum* par ELISA

L'analyse sérologique de 184 vaches montre un taux de 5% de séropositivité au *N. caninum* soit 10 individus positifs à l'ELISA.

Tableau XX : tableau résumant les résultats sérologique pour *N. caninum*

	NC +	NC-	Total
Nbr.vaches	10	174	184
Prévalence (IC 95%)	5% [1.9% et 8.1%]	95%	100%

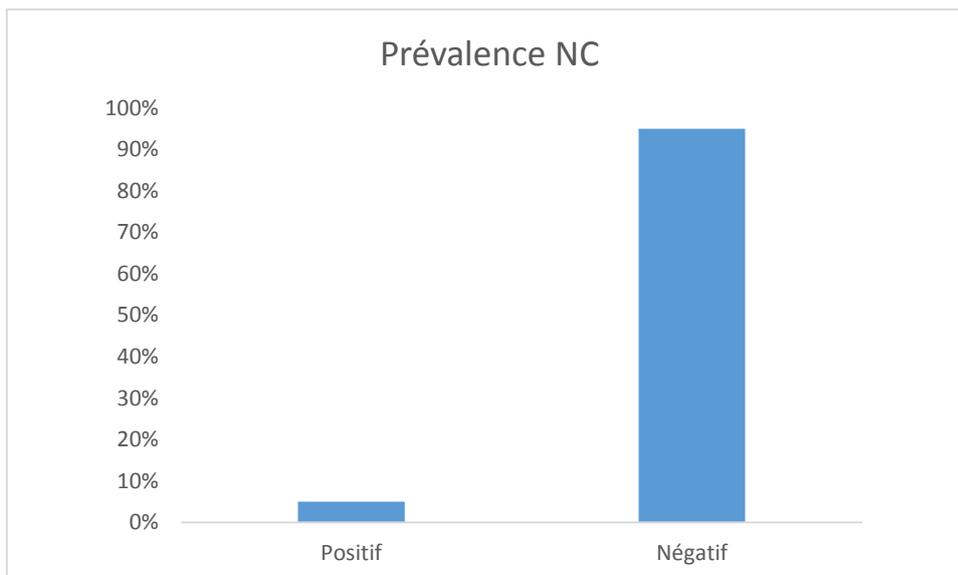


Figure 31 : histogramme de la prévalence Neospora

III.3. Prévalence des coinfections par le SBV et *Neospora caninum*

4 vaches sur 184 sont révélées séropositives aux deux agents le virus de Schmallenberg et *N. caninum*, ce qui donne un taux de 2% avec un intervalle de confiance de 0% au 4%.

Tableau XXI : Séroprévalence de la coinfection NC & SBV

	SBV+ & NC +	SBV- & NC-	Total
Nbr.vaches	4	180	184
Prévalence (IC 95%)	2% [0% et 4%]	98%	100%

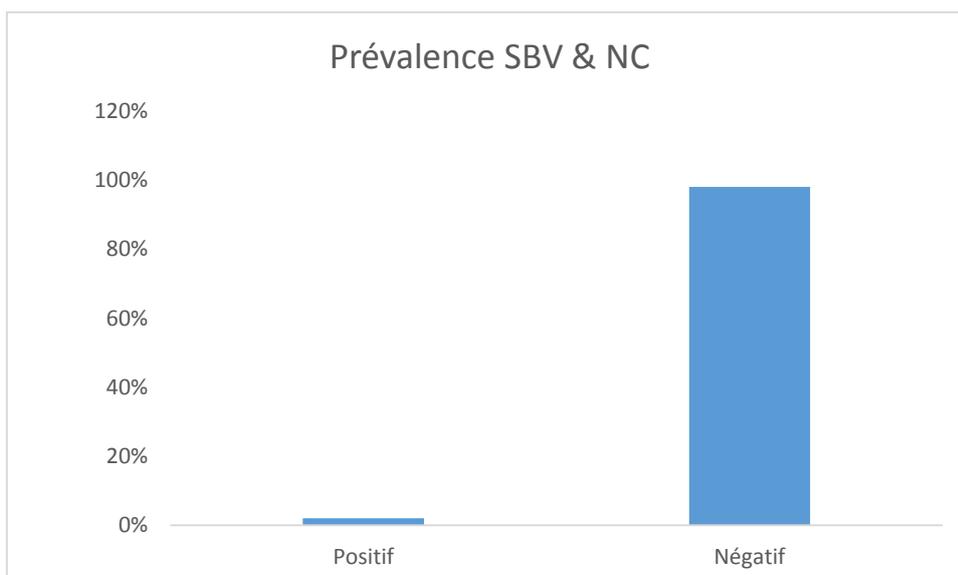


Figure 32 : Histogramme de la séroprévalence de la coinfection SBV et NC.

III.4. Résultats de l'enquête épidémiologique sur les avortements

III.4.1. Prévalence des avortements

Une enquête épidémiologique a été effectuée au moyen d'un questionnaire qui concerne 28 exploitations dans la région de Freha (Tizi-Ouzou) avec un nombre de 195 vaches prélevées.

Sur les 195 vaches prélevées, on a constaté un nombre faible d'avortement qui est de 26 vaches et qui correspond à un taux de 13% avec un intervalle de confiance à 95% de [8,3% - 17,7%]. Concernant les vaches non avortées elles sont au nombre de 169 vaches qui correspond à 87%.

Tableau XXII : Taux de prévalence des avortements chez les vaches dans les fermes exploitées

Vache	Nombre	Taux (%)
Avortée	26	13%
Non avortée	169	87%
Total	195	100%

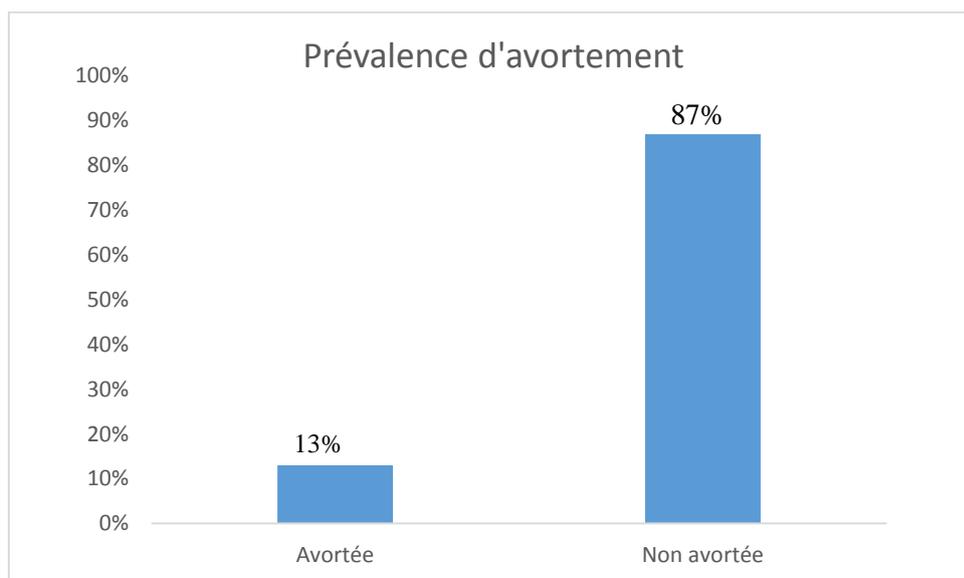


Figure 33 : Taux de prévalence des avortements chez les vaches dans les fermes exploitées.

III.5. Etudes des facteurs de risques des avortements, séropositivité au SBV et séropositivité au *Neospora caninum*

III.5.1. La race

III.5.1.1. Répartition

Sur les 184 vaches testées, 3 races étaient représentées : Montbéliarde (100/184 soit 54,3%), Normande (18/184 soit 9,8%) et Prim'Holstein (66/184 soit 35,9%). Il s'agit donc de vaches importées (BLM).

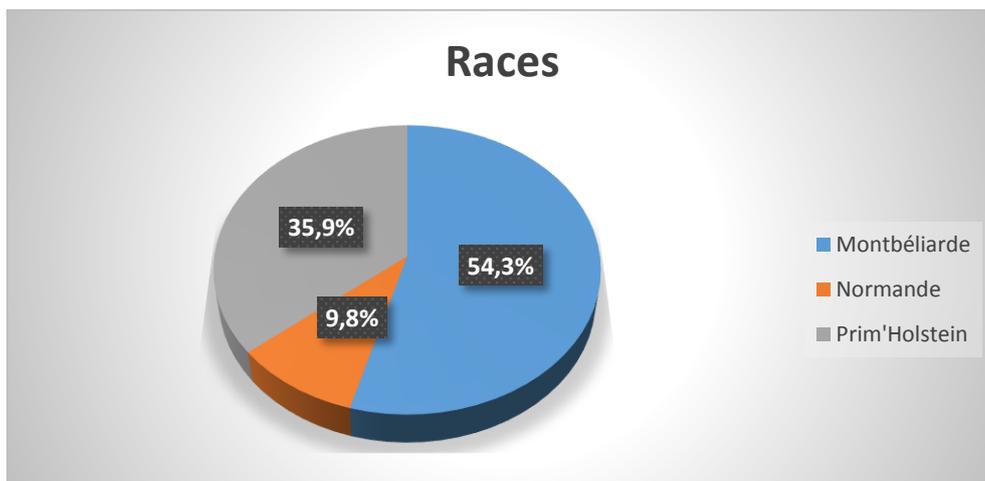


Figure 34. Répartition des bovins par race.

II.5.1.2. Associations

L'analyse statistique (Chi carré) montre qu'il n'y a pas d'association significative ($p > 0.05$) entre la race et les avortements, la race et la sérologie SBV, la race et la sérologie *N. caninum* (Tableau XXIII).

Tableau XXIII. Association entre la race, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

race	N	Avortement		SBV		<i>N. caninum</i>	
		+	-	+	-	+	-
montbéliarde	100	10	90	42	48	8	92
normande	18	4	14	10	4	1	17
prim'hilstein	66	11	55	26	29	1	65
Total	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré		2,8		1,5		3,3	
P value		0,25		0,47		0,20	

III.5.2. L'âge

III.5.2.1. Répartition

Sur les 184 vaches analysées, 26 été âgées de 2 ans soit 14,1%, 37 de 3 et 4 ans soit 20,1%, 48 âgée de 5 ans soit 26,1%, 52 de 6 ans soit 28,3% et 21 vaches soit 11,4% avaient plus de 6 ans (Figure 35).

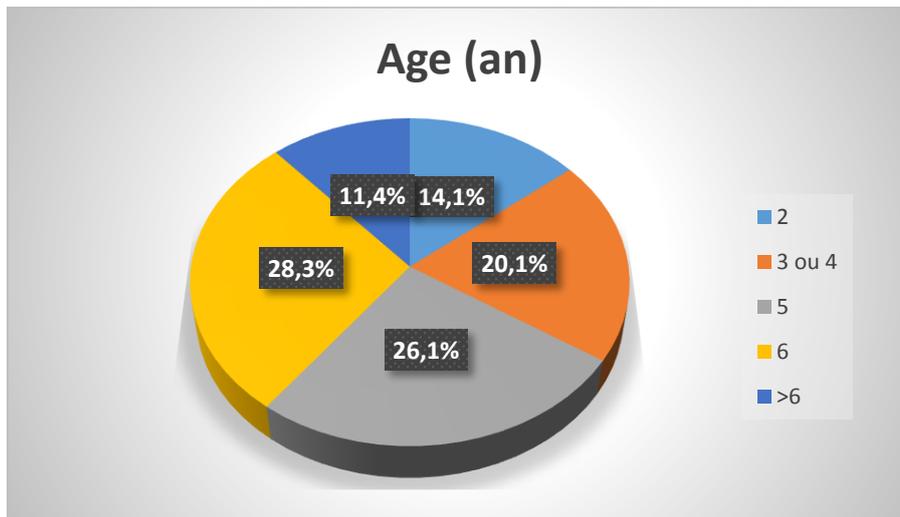


Figure 35. Répartition des vaches en fonction de l'âge (an).

III.5.2.2. Associations

Il existe une association significative ($p < 0,01$) entre l'âge des vaches et les avortements. Par contre, il n'y a pas d'association significative ($p > 0,05$) entre l'âge et la sérologie SBV ou *N. caninum* (Tableau XXIV).

Tableau XXIV. Association entre l'âge (an), les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

Age (an)	N	Avortements		SBV		<i>N. caninum</i>	
		+	-	+	-	+	-
2	26	0	26	11	15	4	22
3-4	37	2	35	11	26	0	37
5	48	5	43	17	31	4	44
6	52	13	39	26	26	1	51
>6	21	5	16	13	8	1	20
total	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré		14,2		7,9		9,2	
P value		<0,01		0,09		0,06	

III.5.3. Taille de l'exploitation

III.5.3.1. Répartition

Les 184 vaches testées sont issues de 28 fermes différentes dont 10 soit 35,7% ont strictement plus de 10 bovins et 18 soit 64,3% ont moins de 10 bovins.

Parmi les 184 vaches testées, 79 appartiennent à des exploitations avec un nombre de bovins strictement supérieur à 10 soit 42,9% et 105 soit 57,1% viennent de fermes avec 10 ou moins de 10 vaches.

III.5.3.2. Associations

Il n'y a pas d'association significative entre la taille de l'exploitation et les avortements ($p > 0,05$). Par contre, il y a une association significative ($p < 0,01$) entre la taille de l'exploitation et la sérologie SBV alors que l'association entre la taille de l'exploitation et la sérologie *N. caninum* n'est pas significative ($p > 0,05$) (tableau XXV).

Tableau XXV. Associations entre la taille de l'exploitation, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

taille	N de fermes	N bovins testés	Avortements		SBV		<i>N. caninum</i>	
			+	-	+	-	+	-
>10	10	79	10	69	44	35	7	72
≤10	18	105	15	90	34	71	3	102
total	28	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré			0.1		10.03		3.2	
P value			0.75		<0,01		0.07	

III.5.4. Hygiène

III.5.4.1. Répartition

D'après l'enquête effectuée et parmi les 184 bovins analysés, 137 vaches (74,5%) ont été issues de fermes qui ne respectaient pas les conditions d'hygiène (très mauvaise) *a contrario* 47 bovins (25,5%) ont été issus d'étables pratiquant des règles d'hygiène suivant les normes exigées

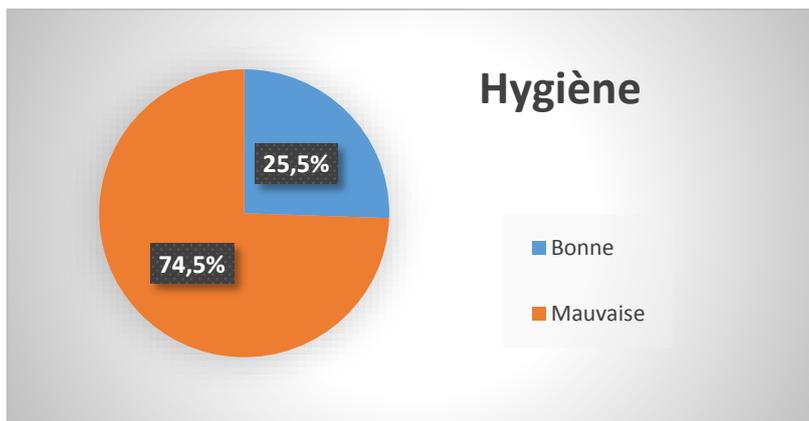


Figure 36 : Répartition des vaches en fonction de statut hygiénique de fermes étudiées.

III.3.4.2. Associations

L'analyse statistique montre qu'il n'y a pas d'association significative entre l'hygiène de l'étable et les avortements (p value de 0,49), du même pour la sérologie vis-à-vis *N. caninum* avec un P= 0,68, néanmoins une très forte association a été signalée entre l'hygiène de la ferme et la sérologie SBV ($p < 0,01$).

Tableau XXVI : Associations entre le statut hygiénique de l'exploitation, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*

Hygiène	N. de fermes	N.bovins testés	Avortement		SBV		<i>N. caninum</i>	
			+	-	+	-	+	-
Bonne	6	47	5	42	30	17	2	45
Mauvaise	22	137	20	117	48	89	8	129
Total	28	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré			0,47		11,88		0,17	
P value			0,49		< 0,01		0,68	

III.3.5. Parité

III.3.5.1. Répartition

Dans cette étude, 66% des vaches analysées étaient des multipares avec un nombre de 121 individus, le reste est réparti entre des nullipares et des primipares avec une prévalence de 17% chacun.

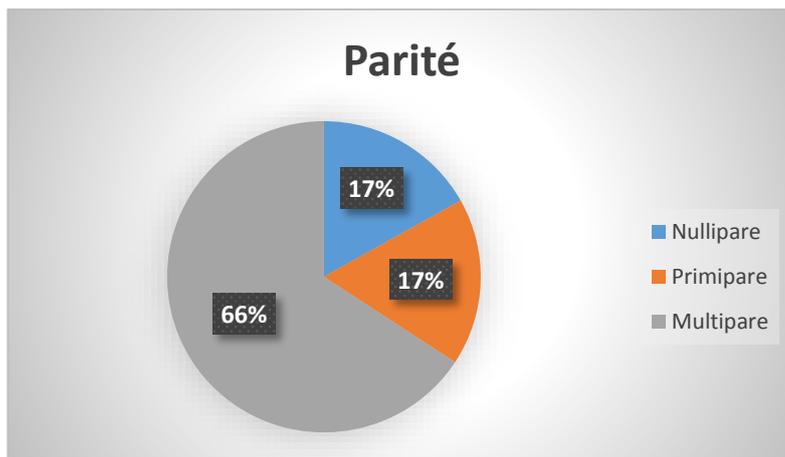


Figure 37 : Répartition des vaches en fonction de la parité.

III.5.5.2. Associations

Il y a une association significative ($p < 0,05$) entre les avortements et la parité des vaches analysées, par contre aucune association significative ($p \geq 0,05$) entre le degré d'hygiène et la sérologie vis-à-vis des deux agents n'a été trouvée.

Tableau XXVII : Associations entre la parité des vaches analysées, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

Parité	N. bovins testés	Avortement		SBV		N. caninum	
		+	-	+	-	+	-
Nullipare	31	0	31	10	21	4	27
Primipare	32	3	29	11	21	0	32
Multipare	121	22	99	57	64	6	115
Total	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré		7,53		3,25		5,26	
P value		<0,05		0,20		0,07	

III.5.6. Mode d'élevage

III.5.6.1. Répartition

Un total de 22 (78.6%) fermes pratiquait l'élevage semi-intensif, le nombre des bovins analysés à partir de ces fermes était de 123 soit un taux de 66,8%. D'autre part, un total de 54 bovins (32,8%) été issus de fermes (6 ; 21,4%) pratiquant un élevage intensif

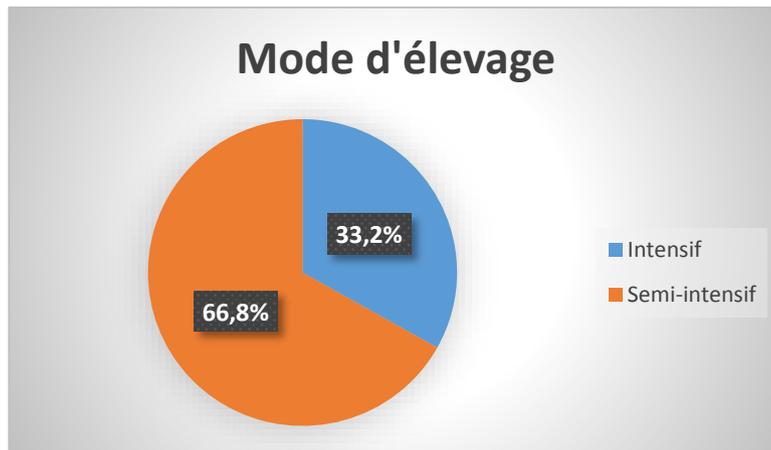


Figure 38 : Répartition des vaches en fonction mode d'élevage.

III.5.6.2. Associations

Il existe une association significative ($p < 0,05$) entre le mode d'élevage et l'occurrence des avortements chez les vaches. Alors qu'aucune association significative ($p \geq 0,05$) n'a été trouvée entre le mode d'élevage pratiqué, la sérologie SBV ou la sérologie *N. caninum*.

Tableau XXVIII : Associations entre la parité des vaches analysées, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

Mode d'élevage	N.fermes	N.bovins testés	Avortement		SBV		<i>N. caninum</i>	
			+	-	+	-	+	-
Intensif	6	61	3	58	25	36	2	59
Semi-intensif	22	123	22	101	53	70	8	115
Total	28	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré			5,84		0,074		0,826	
P value			<0,05		0,8		0,36	

III.5.7. Présence de chiens

Le chien étant l'hôte définitif du parasite *N. caninum*, il était pertinent de l'étudier comme facteur de risque.

III.5.7.1. Répartition

Sur les 28 fermes analysées des chiens étaient présent dans 19 d'entre elles soit 67,9% alors que 9 fermes (32,1%) ne présentaient pas de chien. Au niveau individuel, sur les 184 vaches analysées, 146 (soit 79,3%) appartenaient à des fermes à chiens et 38 (soit 20,7%) à des fermes sans chien.

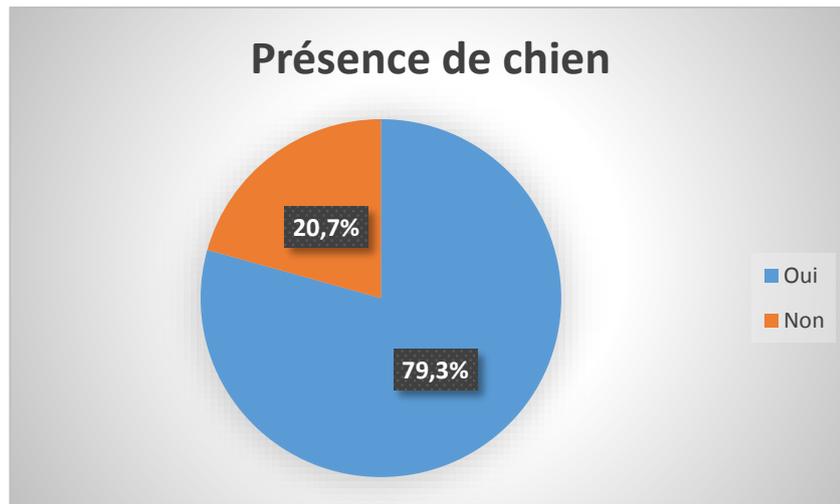


Figure 39 : Répartition des vaches en fonction de présence de chiens dans les étables.

III.5.7.2. Associations

Il n'y a pas d'association significative ($p \geq 0,05$) entre la présence de chiens et la présence d'avortements. Par contre, la sérologie SBV est fortement associée ($p < 0,01$) à la présence des chiens. De façon surprenante, aucune association significative ($p \geq 0,05$) n'a été observée entre la présence de chiens et la sérologie vis-à-vis *N.caninum*.

Tableau XXIX : Associations entre la présence des chiens dans les étables étudiées, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

Présence de chien	N.fermes	N.bovins testés	Avortement		SBV		<i>N.caninum</i>	
			+	-	+	-	+	-
Oui	19	146	20	126	50	96	8	138
Non	9	38	5	33	28	10	2	36
total	28	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré			0,007		19,20		0,003	
P value			0,93		< 0,01		0,96	

III.5.8. Contact avec les chiens

Outre la présence, de chiens, certains éleveurs interdisent les contacts entre les chiens et le bétail. Par conséquent, les contacts avec les chiens ont été analysés séparément.

III.5.8.1. Répartition

Sur les 184 vaches analysées, 118 soit 64,1% n'ont aucun contact avec les chiens, tandis que 66 vaches soit 35,9% sont en contact avec les chiens.

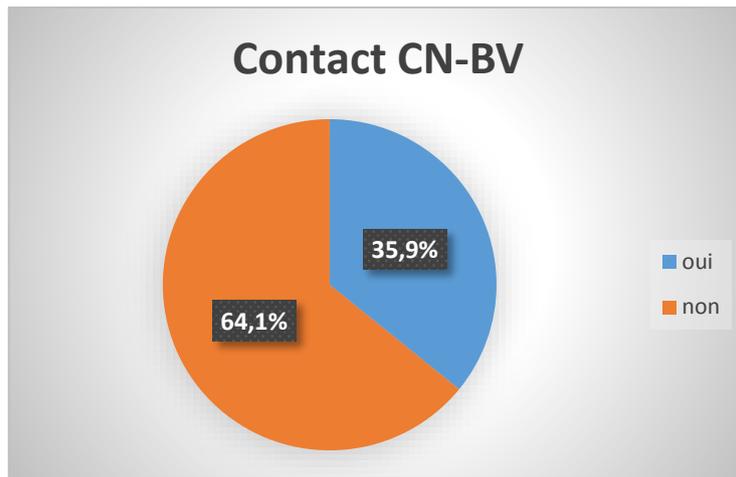


Figure 40 : Répartition des vaches en fonction de contact avec les chiens.

III.5.8.2. Associations

L'association entre les avortements et le contact avec les chiens est très significative ($p < 0,01$) de même pour la sérologie *N. caninum* ($p < 0,05$), par contre aucune association significative ($p \geq 0,05$) n'a été observée entre la sérologie SBV et le contact chien-bovins.

Tableau XXX : Associations entre le contact entre chien-bovins, les avortements et la sérologie SBV et *N. caninum*.

Contact canin	N.fermes	N. bovins testés	Avortement		SBV		<i>N.caninum</i>	
			+	-	+	-	+	-
Oui	11	66	16	50	30	36	7	59
Non	17	118	9	109	48	70	3	115
total	28	184	25	159	78	106	10	174
Chi carré			10,00		0,40		5,36	
P value			<0,01		0,53		<0,05	

Tableau XXXI : tableau résumant les facteurs de risque sur l'avortement, la séroprévalence SBV et la séroprévalence *N. caninum*.

variable (N)	Avortement		SBV		<i>N. caninum</i>	
	S% (N)	IC 95%	S% (N)	IC 95%	S% (N)	IC 95%
Race						
Montbéliarde (100)	10 (10)	[4.1% et 15.9%]	42 (42)	[32.3% et 51.7%]	8 (8)	[2.7% et 13.3%]
Normande (18)	22 (4)	[2.9% et 41.1%]	56 (10)	[33.1% et 78.9%]	6 (1)	[-5% et 17%]
Prim'hilstein (66)	17 (11)	[7.9% et 26.1%]	39 (26)	[27.2% et 50.8%]	2(1)	[-1.4% et 5.4%]
P value	0,25 (NS)		0,47 (NS)		0,2 (NS)	
Age (an)						
2 (26)	0 (0)	/	42 (11)	[23% et 61%]	15 (4)	[1.3% et 28.7%]
3-4 (37)	5 (2)	[-2% et 12%]	30(11)	[15.2% et 44.8%]	0 (0)	/
5 (48)	10 (5)	[1.5% et 18.5%]	35(17)	[21.5% et 48.5%]	8 (4)	[0.3% et 15.7%]
6 (52)	25 (13)	[13.2% et 36.8%]	50 (26)	[36.4% et 63.6%]	2 (1)	[-1.8% et 5.8%]
>6 (21)	24 (5)	[5.7% et 42.3%]	62 (13)	[41.2% et 82.8%]	5 (1)	[-4.3% et 14.3%]
P value	<0,01 (TS)		0,09 (NS)		0,06 (NS)	
Taille troupeau						
sup à 11 (79)	13 (10)	[5.6% et 20.4%]	58(46)	[47.1% et 68.9%]	9(7)	[1.4% et 12.6%]
inf à 10 (105)	14 (15)	[7.4% et 20.6%]	30 (32)	[21.2% et 38.8%]	3(3)	[-0.3% et 6.3%]
P value	0,75 (NS)		<0,01 (TS)		0,07 (NS)	
Hygiène						
Bonne (47)	11(5)	[2.1% et 19.9%]	64(30)	[50.3% et 77.7%]	4(2)	[-1.6% et 9.6%]
Mauvaise (137)	15(20)	[9% et 21%]	35(48)	[27% et 43%]	6(8)	[2% et 10%]
P value	0,49 (NS)		<0,001 (TS)		0,68(NS)	
Parité						
Nullipare (31)	0 (0)	/	32(10)	[15.6% et 48.4%]	13(4)	[1.2% et 24.8%]
Primipare (32)	9(3)	[-0.9% et 18.9%]	34(11)	[17.6% et 50.4%]	0(0)	/
Multipare (121)	18(22)	[11.2% et 24.8%]	47(57)	[38.1% et 55.9%]	5(6)	[1.1% et 8.9%]
P value	0,023 (NS)		0,2 (NS)		0,7 (NS)	
Mode d'élevage						
Intensif (61)	5 (3)	[-0.5% et 10.5%]	41(25)	[28.7% et 53.3%]	3(2)	[-1.3% et 7.3%]

Semi-intensif (123)	18(22)	[11.2% et 24.8%]	43(53)	[34.3% et 51.7%]	7(8)	[2.5% et 11.5%]
P value	0,02 S		0,8 (NS)		0,36 (NS)	
Présence de chien						
Oui (146)	14(20)	[8.4% et 19.6%]	34(50)	[26.3% et 41.7%]	5(8)	[1.5% et 8.5%]
Non (38)	13(5)	[2.3% et 23.7%]	74(28)	[60.1% et 87.9%]	5(2)	[-1.9% et 11.9%]
P value	0,93 (NS)		<0,001 (TS)		0,96 (NS)	
Contact CN-BV						
oui (66)	24(16)	[13.7% et 34.3%]	45(30)	[33% et 57%]	11(7)	[3.5% et 18.5%]
non (118)	8(9)	[3.1% et 12.9%]	41(48)	[32.1% et 49.9%]	3(3)	[-0.1% et 6.1%]
P value	0,002 (TS)		0,53 (NS)		0,02 (S)	
Avortement						
Oui (25)	/	/	44(11)	[24.5% et 63.5%]	8(2)	-2.6% et 18.6%
non (159)	/	/	42(67)	[34.3% et 49.7%]	5(8)	[1.6% et 8.4%]
P value	/		0,86 (NS)		0,54(NS)	

Tableau XXXII : Résumé de l'association entre les facteurs de risque, les avortements, la sérologie SBV et la sérologie *N. caninum*.

Facteur	Avortements	Sérologie SBV	Sérologie <i>N. caninum</i>
race	Non significatif	Non significatif	Non significatif
Age	Très Significatif	Non significatif	Non significatif
Taille de l'exploitation	Non significatif	Très Significatif	Non significatif
Hygiène	Non significatif	Très Significatif	Non significatif
Parité	Significatif	Non significatif	Non significatif
Mode d'élevage	Significatif	Non significatif	Non significatif
Présence de chiens	Non significatif	Très Significatif	Non significatif
Contact avec les chiens	Très significatif	Non significatif	Significatif

Non Significatif : $p \geq 0,05$ / Significatif : $p < 0,05$ / Très significatif : $p < 0,01$

III.6. Etude cas-témoins

L'étude cas-témoins vise à étudier le lien possible entre les avortements constatés et la sérologie vis-à-vis du SBV et de *N. caninum*.

Un total de 28 fermes a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique les fermes ont été séparées en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient survenus récemment, elles sont au nombre de 9 fermes, alors que les fermes témoins sont celle qui n'ont pas connu ces cinq dernières années de problèmes d'avortement (19 fermes). Pour la sérologie au niveau des exploitations, une ferme était considérée comme positive si au moins un animal y était séropositif.

A l'échelle individuelle, 25 vaches proviennent de fermes cas tandis que 159 vaches sont issues de fermes témoins.

Tableau XXXIII : Caractéristique des fermes prélevées.

Statut de la ferme	N. de fermes étudiées	N. de vaches prélevées
Cas	9 (32%)	25 (14%)
Témoins	19 (68%)	159 (86%)
Total	28 (100%)	184 (100%)

III.6.1. Exposition au SBV

III.6.1.1. En fonction de statut de la ferme

Parmi les 28 fermes étudiées, 24 exploitations se sont montrés positives au virus de Schmallenberg en ELISA correspondant à une séroprévalence globale de 86% (IC 95% 73.1% -98.9%). Parmi les 24 fermes positives au SBV, 8 fermes soit 89 % étaient des fermes cas et 16 fermes soit 84% (67,5%-100 %) étaient des fermes témoins.

Tableau XXXIV : Séroprévalence du SBV en fonction de statut des fermes

Statut de la ferme	Nombre	SBV		Séroprévalence (IC 95%)
		Exposé	Non exposé	
Témoin	19	16	3	84% [67.5% et 100.5%]
Cas	9	8	1	89% [68.6% et 109.4%]
Total	28	24	4	86% [73.1% et 98.9%]

Tableau XXXV : Calcul de l'Odds ratio des fermes cas et témoins par rapport à l'exposition au SBV

Fermes	Cas	Témoin	Total
Séropositives	8	16	24
Séronégatives	1	3	4
Total	9	19	28
Odds	8	5,3	
Odds ratio	1,5		
Odds Ratio (IC 95%)	(0,13-16,8)		
P	0,74		

On constate que l'Odds ratio calculé (tableau 30) n'est pas significativement différent de 1 ($p > 0.05$) et que donc, il n'y a pas d'association significative entre l'exposition au SBV et la présence d'avortement dans les fermes.

III.6.1.2. A l'échelle individuelle

Au niveau individuel, 159 vaches (86%) analysées étaient issues de fermes témoins et 25 (14%) de fermes cas. Parmi les 159 vaches témoins, 67 étaient séropositives au SBV. Parmi les 25 vaches issues de fermes cas, 11 étaient séropositives au SBV (tableau XXXVI).

Tableau XXXVI : Séroprévalence du SBV chez les animaux par type de ferme

SBV				
Statut de la ferme	Nombre	Nombre des vaches prélevées (%)	Nombre des vaches positives	Séroprévalences (IC 95%)
Témoin	19	159 (86%)	67	42 % [34.3% et 49.7%]
Cas	9	25 (14%)	11	44 % [24.5% et 63.5%]
Total	28	184 (100%)	78	42 % [34.9% et 49.1%]

L'étude cas-témoins au niveau des individus (tableau 32) révèle que l'exposition ou non des animaux au SBV n'est pas liée aux avortements chez la vache ($p \geq 0.05$).

Tableau XXXVII : calcul de l'Odds ratio du lien entre exposition au SBV et avortement.

Fermes	Cas	Témoin	Total
Séropositives	11	67	78
Séronégatives	14	92	106
Total	25	159	184
Odds	0.79	0.73	
Odds ratio	1.08		
IC à 95%	0.46 -2.52		
P	0.86		

III.6.2. Etude de l'exposition à *N.caninum*

III.6.2.1. Au niveau de l'exploitation

Parmi les 19 fermes témoins étudiées, 3 ont présenté des vaches séropositives à *N. caninum* alors que pour les 9 fermes cas, 6 ont présentée au moins une vache séropositive à *N. caninum* (tableau XXXVIII).

Tableau XXXVIII : Séroprévalence de *N. caninum* en fonction du statut de la ferme.

<i>N.caninum</i>				
	Nombre	Exposé	Non exposé	Séroprévalence (IC 95%)
Témoin	19	3	16	16% [-0.5% et 32.5%]
Cas	9	6	3	67% [36.3% et 97.7%]
Total	28	9	19	32% [14.7% et 49.3%]

L'analyse du lien entre la présence d'individus séropositifs et d'avortement dans les fermes indique que l'Odds ratio est significativement ($p < 0,01$) supérieur à 1 et que par conséquent, il existe bien une relation entre l'exposition des fermes à *N. caninum* et la présence d'avortement dans ces fermes.

Tableau XXXIX : calcul de l'Odds ratio du lien entre l'exposition à *N. caninum* et le statut de la ferme

Fermes	Cas	Témoin	Total
Séropositives	6	3	9
Séronégatives	3	16	19
Total	9	19	28
Odds	2	0.19	
Odds Ratio	10.66		
IC à 95%	1.66 - 68.18		
P	<0.01		

III.6.2.2. A l'échelle individuelle

Parmi les 184 vaches analysées, seuls 10 vaches étaient séropositives à *N. caninum*, 8 provenant de fermes témoins et 2 issues de fermes cas (tableau ci-dessous).

Tableau XL : Séroprévalence de *N.caninum* chez les animaux par type de fermes

<i>N.caninum</i>				
Statut de la ferme	Nombre	Nombre des vaches prélevées (%)	Nombre des vaches positives	Séroprévalences (IC 95%)
Témoin	19	159 (86%)	8	5% [1.6% et 8.4%]
Cas	9	25 (14%)	2	8% [-2.6% et 18.6%]
Total	28	184 (100%)	10	5% [1.9% et 8.1%]

L'analyse du lien entre la séropositivité des vaches vis-à-vis de *N.caninum* et les avortements a montré un Odds ratio qui n'était pas significativement différent de 1 ($P \geq 0.05$). Au niveau individuel, il ne semble pas y avoir de lien entre le fait d'être exposé à *N.caninum* et le fait d'avorter.

Tableau XLI : Odds ratio du lien entre la séropositivité des vaches et le risque d'avortement

Fermes	Cas	Témoin	Total
Séropositives	2	8	10
Séronégatives	23	151	174
Total	25	159	184
Odds	0.087	0.053	
Odds ratio	1.64		
IC à 95%	0.32 - 8.21		
P	0.54		

DISCUSSION

IV. Discussion

Parmi les grands problèmes posés au secteur agricole en Algérie, on peut citer les pertes zootechniques et économiques directes (perte d'animaux, infertilité voire stérilité des vaches, diminution de la production laitière et de rendement) ou indirectes (soucis des industries liés aux matières d'élevage ; lait, viande, etc...).

Ces pertes zootechniques qui touchent les élevages sont causées majoritairement par des problèmes liés à la reproduction comme les avortements, les mortinatalités et les malformations congénitales.

Le virus Schmallenberg est un bunyvirus émergent qui touche les bétails en provoquant des malformations, des mortinatalités et des avortements (**Martinelle et al., 2012**)

Neospora caninum est un parasite Apicomplexa cosmopolite et responsable d'avortements chez les bovins. En Algérie, des travaux antérieurs ont montré qu'il était une cause d'avortement et de la morbidité néonatale chez la vache. L'impact n'était pas de la même intensité selon le type de Bétail (BLM, BLA, ou la race locale) (**Ghalmi et al., 2011**).

Dans la présente étude, nous avons étudié la séroprévalence des infections au SBV et à *N.caninum* ainsi que la coïnfection des deux agents infectieux chez 184 vaches et le taux d'avortement chez 195 vaches prélevées dans la région de Freha, Wilaya de Tizi-Ouzou. Nous avons étudié les facteurs de risque susceptible d'influencer ces séroprévalences ainsi que l'occurrence des avortements. Enfin, une étude cas témoin visant à étudier l'éventuel lien entre les prévalences et l'avortement a été menée.

IV.1. Population étudiée et représentativité des résultats

La population de bovins étudiés a été sélectionnée au hasard au sein des élevages de la région de Freha (Tizi-Ouzou). L'échantillonnage réalisé a été d'environ 4,59% pour les exploitations (28 fermes étudiés sur 609 recensées), 195 vaches ont été prélevées sur 4678, soit 4,16% des vaches présentes dans la région. Les sérums de 94,35% des vaches prélevées ont été analysés par la technique ELISA indirect. Les résultats sont représentatifs de la zone d'étude mais on ne peut pas les généraliser sur tout le territoire national du fait de la faiblesse de l'effectif étudié et de la présence de seulement des vaches de races importées (BLM) dans l'échantillon.

IV.2. Tests utilisés

Afin d'évaluer le statut sérologique des vaches prélevées, un test ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) indirect commercial qui a été validé par l'ANSES a été utilisé (**Breard, 2013**). C'est une méthode de diagnostic rapide (résultats obtenus en 90 minutes), simple, hautement répétable et reproductible, son excellente spécificité et sa très bonne sensibilité et la capacité à tester un grand nombre d'échantillons simultanément en font un outil de choix pour déterminer la séroprévalence des cheptels.

Pour le SBV, *ID Screen® Schmallenberg virus Indirect Multi-species*, un test basé sur la détection et l'identification d'anticorps spécifiques dirigés contre la nucléoprotéine N du SBV, dans des échantillons de sérum et de plasma a été utilisé (**Bréard, 2013**). La sérologie dans le cas de SBV est un test de confirmation même après un RT-PCR négative ou positive en raison de la brièveté de la virémie. Même chez le nouveau-né, le recours à un examen sérologique est obligatoire afin d'écartier définitivement le SBV, parce que chez un fœtus immunocompétent, le virus peut être éliminé et devient donc indétectable par RT-PCR (**ANSES, 2014**).

En ce qui concerne *N.caninum*, c'est l'immunofluorescence indirect (IFAT) qui est le test de référence pour la détection des anticorps (**Dubey et al., 1988**). Néanmoins le test sérologique ELISA est également utilisé, sa spécificité dépend du type d'antigène parasitaire utilisé ; on observe des réactions croisées quand les antigènes totaux sont utilisés pour la fabrication des kits (**Gaturaga et al., 2005**). Pour notre kit *ID Screen® Neospora caninum Indirect Multi-Species*, la plaque est sensibilisée par l'antigène spécifique SRS2 et donc on peut éliminer le problème des réactions croisées.

IV.3. Séroprévalence de SBV par ELISA

Le SBV est un virus qui a émergé en 2011, en Allemagne, plusieurs chercheurs européens et américains se sont intéressés à ce virus et on retrouve cela dans les nombreuses publications de cette époque qui touchent presque tous les domaines (la découverte, biologie moléculaire, l'épidémiologie, la physiologie, et l'immunologie du SBV) (**Afonso et al., 2014**) (**Veldhuis et al., 2013**). En ce qui concerne l'Algérie, aucun travail n'a été fait sur ce virus à ce jour, bien qu'on importe de nombreux animaux de pays européens et c'est ce qui nous a poussés à chercher la séroprévalence du SBV ici en Algérie plus exactement dans la région de Freha, Tizi-Ouzou.

Selon les résultats publiés par l'EFSA en 2012, l'espèce bovine représente l'espèce qui présentait le plus grand nombre de cas, en comparaison avec les petits ruminants (les ovins et les caprins). Sur la période allant d'août 2011 à Octobre 2012, 3562 cas de SBV confirmé chez les bovins sur 6429 suspects soit 60%. Le SBV un virus avec des conséquences très sévères chez les nouveaux nés. Toutes ces données sur le SBV nous a orienté à déterminer une éventuelle séroprévalence chez les vaches dans la région de Freha, Tizi-Ouzou.

Sur 184 vaches analysées par ELISA 72 étaient positives soit 42%. Si on compare nos données à celles de la littérature, on constate que ce taux est inférieur à celui retrouvé par différentes études qui montrent qu'au sein d'un cheptel bovins, la séroprévalence peut atteindre de 70 à 100 % (**Elbers *et al.*, 2012; Méroc, 2013a ; 2013b**). En 2012 en Belgique, dans une étude qui a consisté à chercher l'éventuel lien entre la séropositivité des vaches et leurs veaux juste avant la prise colostrale, une sérologie réalisée sur 519 vaches des vaches au cours de l'épidémie révéla une séropositivité de 90% (**Garigliany *et al.*, 2012**). Ainsi, toujours en Belgique, la séroprévalence chez les bovins était de 86,3 % en mars 2012 (Méroc, 2013). Un taux très élevé de 63,4% a été révélé aussi en France en 2013 (**Veldhuis *et al.*, 2013**) et aux Pays-Bas, elle était de 72,5 % en février 2012 (**Elbers *et al.*, 2012**). Si on s'intéresse aux génisses, dans notre étude la séroprévalence était de 5% pour les femelles de moins de 24 mois un résultat très faible par rapport au 98,5% de génisses laitières trouvées positives au SBV en France en 2013 (**Veldhuis *et al.*, 2013**). De même, aux Pays-Bas, des séroprévalences chez les bovins laitiers de 57,6% (<18 mois) et 71,6% (20-24 mois) ont été trouvées (**Elbers *et al.*, 2012**).

Mais ces séroprévalences élevées viennent d'études européennes lors de l'épidémie observée en 2011 e 2013. Or, aucune épidémie n'a été décrite en Algérie et certainement pas dans la région de Freha.

On peut rajouter que ce virus n'est pas un sujet de recherche en Algérie, son existence est ignorée par les praticiens par manque d'actualisation des connaissances, vu qu'il est de découverte récente. De plus, l'effectif touché par notre étude est très petit, il n'a concerné que les femelles dans une petite commune de willaya de Tizi-Ouzou.

D'après le questionnaire de l'enquête épidémiologique, aucun éleveur n'a déclaré un cas de malformations congénitales ou de mortinatalité, la présence des mouchérons était retrouvée dans toutes les fermes étudiés.

A noter que cette étude est la première en Algérie, et on a trouvé que le taux est élevé avec 42% de cas séropositifs, sans aucun cas de malformation ou de mortinatalité. On peut expliquer cela

par le fait que notre étude a touché des populations spécialement de BLA et de BLM importés. On peut donc supposer que ces bovins étaient séropositifs en arrivant en Algérie et qu'ils ont diffusés le virus. Mais ceci reste à confirmer par une étude plus large.

IV.4. Séroprévalence à *Neospora caninum*

La néosporose bovine est considérée comme l'une des principales causes d'avortement chez les bovins laitiers à travers le monde (**Dubey et al., 2006; Ortega-mora et al., 2006**). Les bovins sont les plus importants hôtes intermédiaires de *N. caninum* (**Dubey et Lindsay, 1996**). Ce protozoaire a intéressé de nombreux chercheurs et c'est ainsi que de nombreuses études sur la séroprévalence vis-à-vis de *N. caninum* ont été décrites chez les bovins dans différentes régions du monde. Cette séroprévalence varie en fonction du pays, de la région, de la taille des échantillons, des populations animales, et du type de test sérologique utilisé (**Dubey et al., 2007 ; Ghalmi et al., 2007**).

Bien que l'IFAT soit le test de référence, plusieurs autres tests sérologiques sont utilisés pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* chez les différentes espèces animales (**Dubey et Lindsay, 1996 ; Shaapan et al., 2008**). Ces tests alternatifs comme l'ELISA pourraient être utiles pour des études de prévalences au niveau d'un troupeau ou d'une population (**Mainar-Jaime et Barberan, 2007**).

En ce qui concerne notre étude, la séroprévalence a été recherchée chez des vaches importées et chez leurs descendances dans une région de wilaya de Tizi-Ouzou, sur les 184 vaches analysées par ELISA, 10 vaches (5%) se sont révélées positives. Ce taux est nettement inférieur à celui de Ghalmi et ses collaborateurs (2012) qui ont obtenu une séroprévalence par IFAT de 19,64% sur un effectif de 799 bovines toutes populations confondues (**Ghalmi et al., 2012**). Concernant les races importées la séroprévalence à *N. caninum* était de 16,04% pour les BLM et 18,64% pour BLA contrairement à un pourcentage de 34,28% pour la population locale (**Ghalmi et al., 2012**). Cependant, une autre étude a montré que l'ELISA détectait moins de positifs que l'IFAT (**Ghalmi et al., 2009**).

Si on compare nos résultats avec ceux réalisés à travers le monde, on constate que nos séroprévalences se sont montrées inférieures à ceux rapportés au Brésil (34,8%) (**Locatelli-Dittrich et al., 2001**), en Nouvelle Zélande (33,6%) (**Reichel et Pfeiffer, 2002**), Paraguay (35,6%) (**Osawa et al., 2002**).

En Algérie, une étude qui a porté sur la séroprévalence vis-à-vis *N.caninum* sur le cheptel bovins importé, une prévalence de 15,8% et qui reste supérieurs à notre résultat a été démontré (**Ghalmi et al., 2009**). Néanmoins une étude similaire sur les bovins importés en Turquie à rapporter une prévalence de 8,2% (IC 95% : 2 %-14,5%) comparable à celle trouvée dans notre étude (**Akca et al., 2005**).

On peut expliquer nos résultats par le faible nombre de l'effectif (184 vaches) et que seules des femelles ont été prélevées. De plus, il est a noté que dans la région de Freha les éleveurs utilisent des antiparasitaires par voie digestive et même en intraveineuse ce qui inhibe le développement de *N.caninum* chez l'hôte.

IV.5. Prévalence des co-infections

Le taux de coinfection par ces deux agents a été estimé à 2% (4/184), une prévalence très faible. Le virus SBV et *N.caninum* sont deux agents infectieux qui provoquent des symptômes similaire ; tels qu'une atteinte nerveuse considérée comme symptôme principale pour le SBV et un avortement comme primordiale de *N.caninum*. Il est a noté qu'aucune étude antérieure n'a révélé une coinfection par ces deux agents infectieux

IV.6. Prévalence d'avortement

Parmi les objectifs cités plus haut, une enquête épidémiologique a été réalisée aussi afin de recueillir les informations relatives à la prévalence des épisodes d'avortements remarqués par éleveurs dans les fermes étudiées.

L'enquête sur les avortements à révéler 9 fermes cas (avortement +) et 19 fermes témoins (avortement -), sur un total de 195 vaches étudiées, 28 vaches ont connu au moins un épisode d'avortement durant leur vie, ce qui correspond à un taux d'avortement de 13% (IC 95% 8,3% -17,7%). Un taux d'avortement situé entre 5% et 8% est jugé inacceptable par certains (**Holler, 2012**).

Lorsque nous comparons notre étude aux études réalisées en Algérie, on constate que notre taux est nettement inférieur à celui retrouvé par Menadi, 2016 sur 300 vaches analysées dans la willaya de Sétif (88 avortées qui représente une prévalence de 29,33%) (**Menadi, 2016**). Le résultat de Dramchini à la wilaya d'Alger est légèrement supérieur il était de 17,14% (**Dramchini, 2007**). Par contre **Kaouche et ses collaborateurs en 2011** ont relevé un taux de 10% à Média, **Ghalmi et al, 2012** ont trouvé dans une étude à Sétif, Bejaia et Alger un taux de 7,46% ; à Tiaret, **Abdelhadi et al., en 2015**, ont rapporté un taux de 5,61%.

Dans les autres régions du monde, un taux similaire au notre (13,79%) a été publié en Espagne (**Mainar-Jaime et al., 1999**), inférieur au taux des travaux réalisés au Mexique (25%) en 2005 (**Garcia-Vazquez et al., 2005**), supérieur à la prévalence retrouvée au Maroc (10,4%) (**Lucchese et al., 2016**), Ethiopie (8%) (**Geresu et al., 2016**), en Belgique (0,7) (**Czaplicki et Thiry, 1998**) et en Italie (1,2%) (**Cavirani et al., 2001**).

Cette différence de prévalence on peut l'expliquer par les nuances des prévalences marquées par les maladies abortives compte tenu du grand nombre d'agents abortifs décrits. Il faut aussi tenir compte des conditions locales (races, conditions d'élevage, hygiène...) qui sont différentes d'une étude à l'autre.

IV.7. Etudes des facteurs de risque

On s'est intéressé à un autre volet dans ce travail et qui a consisté en l'étude des facteurs de risque qui influencent la prévalence des avortements chez les vaches, la séropositivité vis-à-vis SBV et aussi *N.caninum*. Pour ce faire, une enquête séro-épidémiologique a été réalisée sur la base d'un questionnaire rempli dans les 28 fermes étudiées et pour chaque vache prélevée.

Les facteurs de risque avortement, âge, mode d'élevage, parité et contacte chien-vache se sont avérés comme étant des facteurs potentiels et associés aux épisodes d'avortement rencontrés dans les fermes étudiées avec des P value significatif <0,05 voir très significatif < 0,01, alors que la race, la taille de l'exploitation, l'hygiène et la présence des chiens dans les fermes ne sont pas des facteurs de risques influant. Concernant l'âge et la parité, les résultats obtenus peuvent être expliqués par : la physiologie perturbée de l'appareil reproducteur des vaches et son vieillissement ainsi que le risque accru des maladies qui touchent la fertilité des vaches. Nous avons donc observé dans notre étude que l'augmentation de la probabilité d'avorter chez les vaches adultes multipares est plus élevée par rapport aux jeunes et au primipare. Ceci contredit le fait que la résistance des animaux et l'acquisition d'une immunité protectrice s'observent chez les sujets âgés et adultes. L'action du facteur mode d'élevage ne peut que favoriser le contact des animaux entre eux et la transmission facilitée et rapide des agents pathogènes d'un individu à un autre. Pour le contact avec les chiens cela confirme le fait que le chien est porteur de *N. caninum* et que le contact avec le bovin augmente le risque de contracter le parasite et donc d'avorter. Par ailleurs, le chien peut aussi être porteur d'autres agents abortifs comme peut être le SBV.

La séroprévalence au virus SBV a pour facteur de risque (selon notre étude) : la taille du troupeau, l'hygiène et la présence de chien dans les fermes étudiées. Ceci est expliqué par la forte contagiosité qui coïncide avec l'augmentation du nombre de vaches dans le troupeau.

En raison du manque de données bibliographiques concernant la séroprévalences associées aux facteurs de risque, nous avons trouvé qu'un seul article qui a porté sur une étude réalisée en Belgique sur les veaux a trouvé que l'âge est un facteur de risque pour SBV avec une différence significative de séroprévalence entre les différentes classes d'âges (**Elbers, 2012 ; Méroc, 2013**). Le taux de positivité augmenterait avec l'âge.

Ces observations pourraient provenir du fait que les animaux jeunes restent plus souvent à l'intérieur et que, de ce fait, ils sont moins exposés aux moucheron. L'état d'hygiène influence significativement la séropositivité au SBV, les fermes où les conditions d'hygiène sont mauvaises présentaient plus de séropositifs. Il est cohérent de penser qu'un degré d'hygiène plus important va éliminer la présence des vecteurs et la dissémination du virus dans le troupeau.

L'exploration des différents facteurs de risque d'infection à *N. caninum* a été également effectuée. Le contact chien-bovins est le seul facteur de risque significatif dans notre étude. Plusieurs travaux ont démontré que la présence des chiens dans les élevages constitue un facteur de risque (**Schaes *et al.*, 2004**) ; tandis que la nôtre indique que c'est le contact qui est significatif alors que la présence de l'espèce canine dans la ferme ne présente aucun risque. C'est quand même plus précis, et ceci est expliqué par le fait que dans les fermes étudiées les éleveurs interdisent tout contact entre les chiens et les animaux, même si on les trouve dans l'exploitation ils sont toujours attachés, et ils ne circulent pas avec les animaux. Alors que dans d'autres élevages, on trouve les chiens en contact étroit avec les animaux dans les étables et même dans les pâturages. Les autres facteurs étudiés se sont avérés non significatifs.

IV.8. Etude cas témoins

La corrélation entre la présence d'anticorps dirigés contre *N. caninum* ou le SBV et les avortements chez les vaches prélevées dans la région de Freha ont été estimées. D'abord au niveau des exploitations étudiées puis au niveau individuel afin de vérifier si le SBV, *N. caninum* étaient impliquées dans la survenue des épisodes d'avortement chez les vaches analysées.

Un total de 28 fermes de la région Freha, Tizi-Ouzou a été étudié. Sur la base d'un questionnaire, les fermes étaient réparties en fermes témoins (19) et en fermes cas (9). Les sérums d'un total de 184 vaches ont été prélevés et analysés.

L'analyse cas-témoin à l'échelle de l'exploitation et à l'échelle individuelle quand on prend en compte le facteur d'exposition le SBV, ne montre aucune association significative entre le fait d'être exposé au SBV et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci est probablement dû au petit nombre des fermes étudiées, aussi bien que par le fait que l'avortement n'est pas un symptôme majeur de l'infection au SBV.

L'étude de l'association entre l'exposition des vaches à *N. caninum* et les avortements rencontrés a été également réalisée, l'analyse n'a indiqué aucune association à l'échelle individuelle entre les deux paramètres. Des résultats comparables sur des vaches laitières importées, n'ont pas révélés de différences significatives dans la séropositivité vis-à-vis de *N. caninum* entre les vaches ayant avortées et celles n'ayant pas avortées (**Sabrebazzaz et al., 2004**). Une absence d'association entre *N. caninum* et les avortements a aussi été montrée dans une autre étude (**Yildiz et al., 2009**). A contrario, d'autres travaux ont montré une association très significative entre la séropositivité des vaches vis-à-vis de *N. caninum* et les avortements (**Atkinson et al., 2001 ; De Meerschman et al., 2002**). Il est à noter que dans notre étude le nombre de positifs était faible et donc il est plus difficile de mettre en évidence des différences significatives en raison de la loi des petits nombres. D'autre part, il n'est pas exclu que des facteurs génétiques de sensibilité existent.

À l'échelle de l'exploitation, le calcul de l'Odds ratio a montré une valeur de 10,66, qui est significativement différente de 1 (P valeur très significatif < 0,01) ce qui est en faveur d'une association positive entre le fait d'avoir de anticorps anti-NC et le statut de la ferme. Ceci est encore appuyé par le taux d'exposition qui est plus élevé (67%) pour les fermes cas comparativement à un taux de 16% pour les fermes témoins, cette différence peut être expliqué par la présence de parasite dans les fermes et son maintenance par les réservoirs. Cette association entre la séropositivité à *N. caninum* et la présence d'avortement dans les fermes était en accord avec de nombreux travaux précédents réalisés dans le monde y compris en Algérie, qui montrent que des vaches séropositives sont probablement plus à risque d'avorter que les vaches séronégatives (**Ghalmi, 2009**). Cependant, nos résultats sont différents avec ceux de **Ghalmi et collaborateurs (2012)** qui n'ont pas montré d'association statistiquement significative entre la séropositivité à *N. caninum* et les avortements chez la race bovine locale. Ceci pointe de nouveau les facteurs génétiques.

**CONCLUSION &
RECOMMENDATION**

En automne 2011, en Allemagne, est apparu un nouveau virus nommé virus de Schmallerberg en référence à son lieu de découverte, il a alors été classé dans la famille des *Bunyaviridae*, genre *Orthobunyavirus*, séro groupe *Simbu*. Ce virus s'est rapidement disséminé dans de nombreux pays européens notamment grâce à une population vectorielle très active. Une maladie asymptomatique dans chez la plupart des individus mais qui cause des malformations chez les nouveaux nés en cas d'infection des femelles gestantes.

Une infection claire en Europe alors que l'Algérie avait un statut inconnu vis-à-vis de cette maladie, on voulait par le présent travail déterminer la séroprévalence de ce virus en Algérie plus exactement dans la région de Freha, Tizi-Ouzou. Et de fait, une prévalence de 42% a été retrouvée sur 184 vaches analysées, l'évaluation des facteurs de risque liée à ce virus a été déterminé grâce à une enquête épidémiologique, la taille de l'exploitation, l'état d'hygiène et la présence des chiens dans les élevages s'est révélé très significatif avec une valeur de $P < 0,01$, selon nos résultats il existe aucun lien entre l'exposition des fermes au virus SBV et la présence d'avortement dans ces dernières.

A l'heure actuelle, *N. caninum*, est reconnue comme étant une cause majeure d'avortements chez les bovins partout dans le monde, Notre étude a porté sur l'analyse sérologique et épidémiologique sur 184 vaches, une séroprévalence de 5% a été rapporté, avec un seul facteur de risque avéré qui est le contact avec les chiens ($p < 0,05$), et une association significatif entre la séropositivité vis-à-vis *N. caninum* et la présence d'avortement dans les fermes a également été démontrée.

Avec notre étude on a pu déterminer aussi une prévalence des avortements dans les fermes étudiées, sur 195 vaches prélevées, 26 vaches ont subis au moins un avortement durant sa vie, un nombre qui représente 13% avec un intervalle de confiance de (8,3% - 17,7%).

Le pourcentage de coinfection des deux agents pathogènes a été recherché et s'est révélé de 4(2%) vaches parmi les 184 vaches analysées.

Au terme de ce travail, il est ressort les recommandations suivantes :

- La recherche de la séroprévalence de SBV dans tout le territoire algérien, avec un grand nombre d'échantillons afin de déterminer le statut sérologique des vaches vis-à-vis du virus Schmallerberg en Algérie.
- Tester d'autres techniques sérologiques que l'ELISA comme l'IFAT pour *N. caninum*, mais aussi utiliser les outils de la biologie moléculaire.

ANNEXES



Annexe 1 : Eppendorf des sérums récoltés (Photo personnelles)



Annexe 2 : Composition de kit ELISA (photo personnelle)

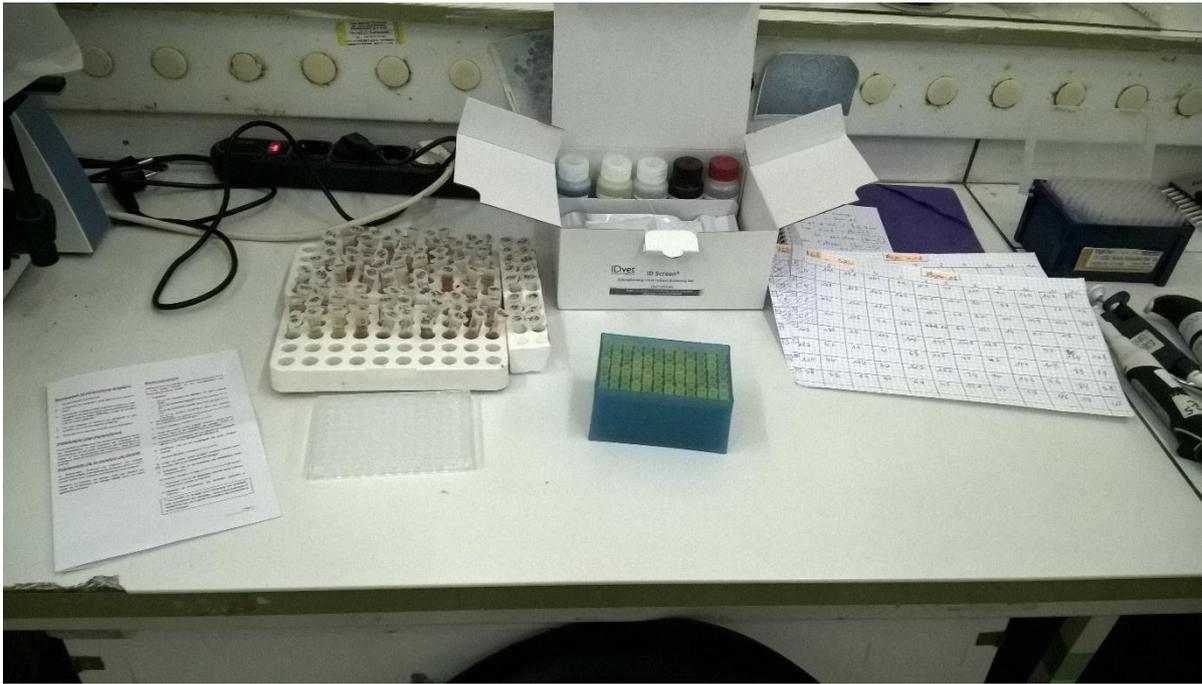


(a)



(b)

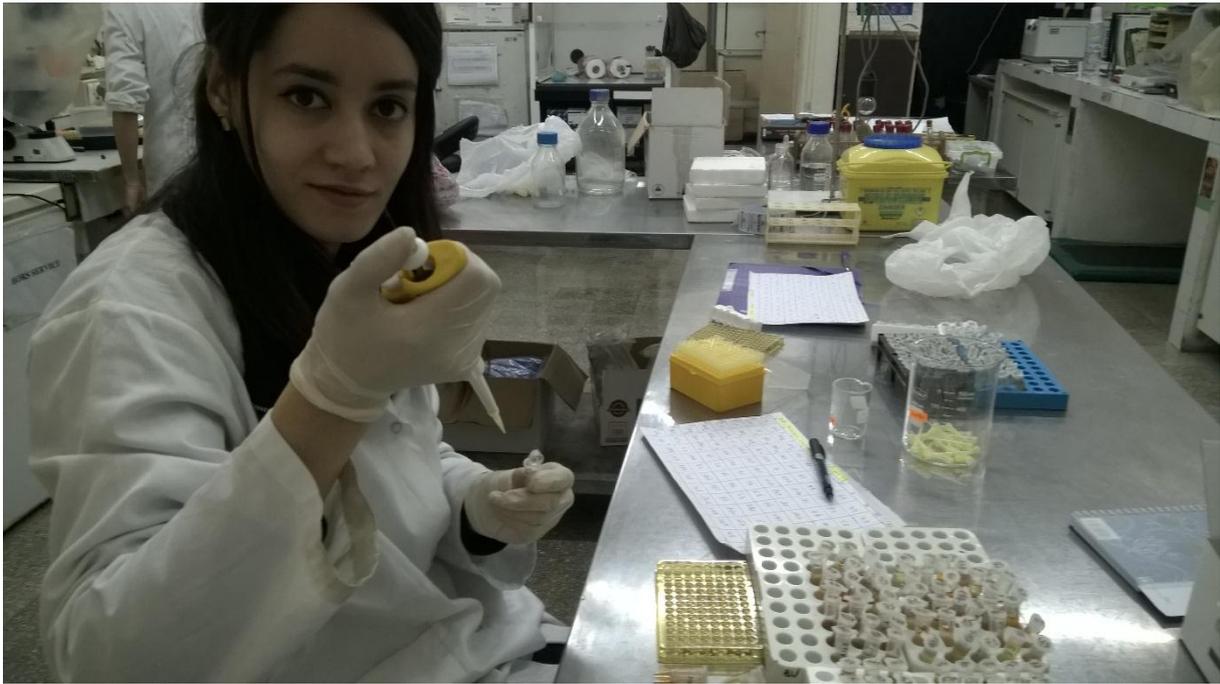
Annexe 3: Matériel nécessaire à la réalisation de test (a) : pipette et des embouts (b) : lecteur ELISA. (Photo personnelle)



Annexe 4 : Préparation des constituants, sérums et composants de kit (photo personnelle)

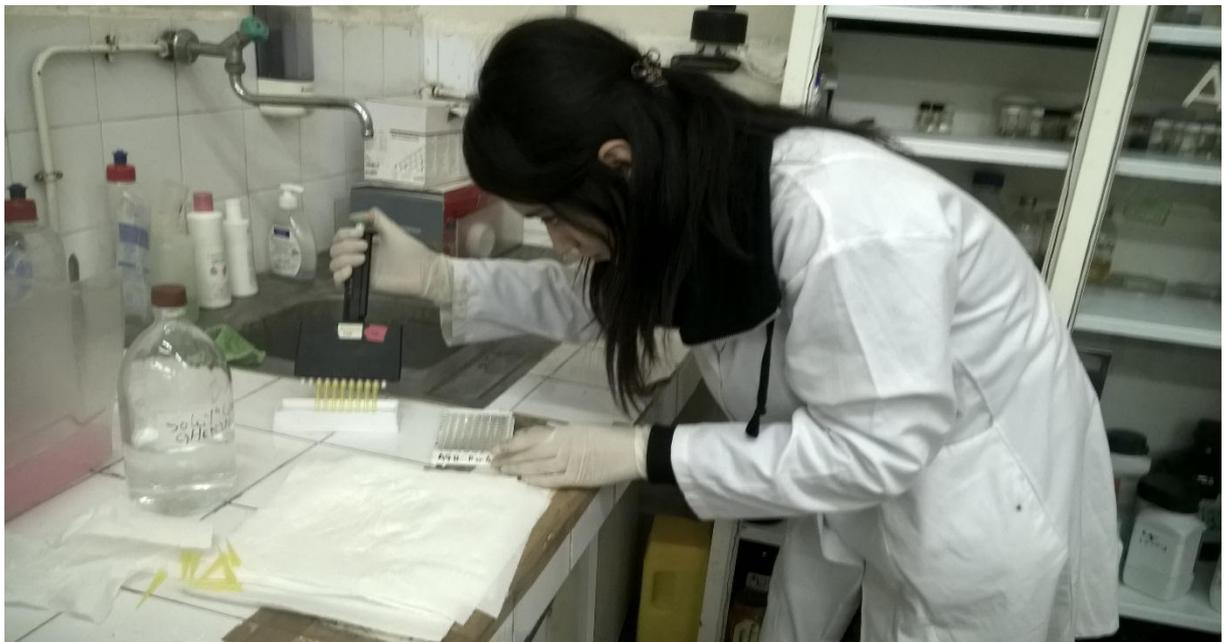


(a)

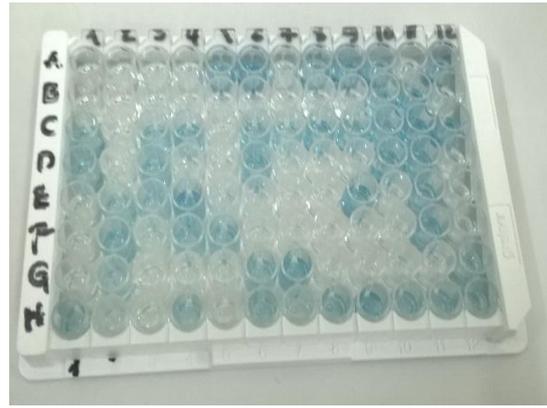
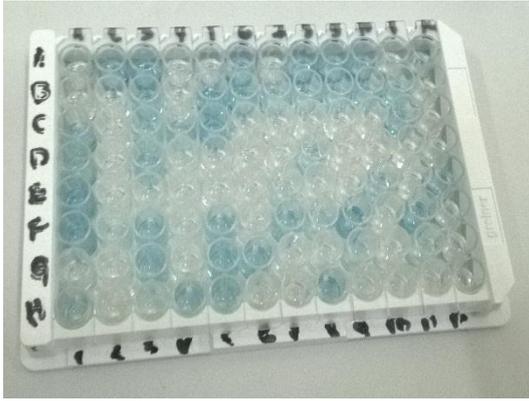


(b)

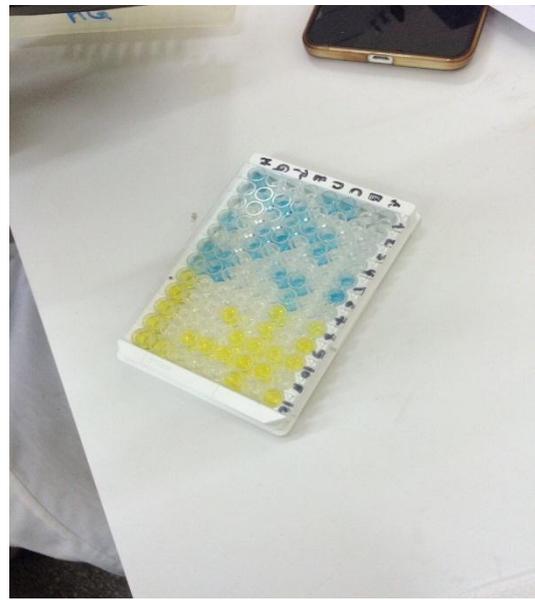
Annexe 5 : (a, b) Préparation de la microplaque (photo personnel)



Annexe 6 : L'étape de lavage avec 300 μ l de la solution de lavage (photo personnelle)



Annexe 7 : Plaque ELISA après la distribution de solution de révélation (Photo personnelle)



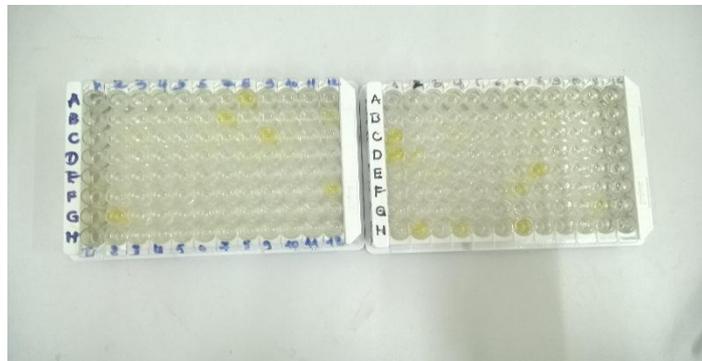
Annexe 8: Distribution de la solution d'arrêt (photo personnelle)



Annexe 9 : Lecture ELISA (Photo personnelle)



(a)



(b)

Annexe 10 : Les plaques ELISA après distribution de la solution d'arrêt (a) plaque virus de Schmallenberg, (b) plaque *Neospora caninum*.

Enquête épidémiologique

Date :

Nom de l'éleveur :

Adresse de la ferme :

Nom de vétérinaire traitant :

Numéro du téléphone du vétérinaire :

Données qui concernent l'exploitation et les animaux

Système d'élevage intensif extensif semi intensif

Nombre total d'animaux :

Nombre de bovins :

Nombre de femelles

Nombre des vaches gestantes.....

Nombre des génisses.....

Nombre de males :

Types d'alimentation.....

Antécédents pathologiques de l'élevage :

.....
Animaux dépistés : Oui Non

Élevage agréé : Oui Non

État d'hygiène : Bon Moyen mauvais

Présences des chiens : Oui Non

Contact des chiens avec bovins : Oui Non

Présence des mouches : Oui Non

Si oui : Printemps été hivers automne

Données qui concernent l'avortement

Mode de reproduction: IA Saillie naturelle

Existence des avortements dans l'élevage Oui Non

Si oui

- Combien :
- Quelle saison :
- Stade d'avortement

- Cause suspecté.....
- Symptômes remarquables sur la vache :
- État de l'avortant
- Avortement répété pour la même vache : Oui Non
- Avortement collectifs : Oui Non

Si non

- Existences des mortinatalités : Oui Non
- Naissance des veaux malformés : Oui Non
- Si oui, type de malformation :

Données qui concernent la vache prélevée

Numéro d'identification :

Race :

Age :

Note corporelle :

Nullipare primipare multipare

Vaccinée : Oui Non

Si oui contre quelle maladie :

Vache déjà avortée : Oui Non

Si oui ;

- Combien de fois
- Cause de l'avortement
- Stade d'avortement.....

Naissance d'un veau malformé : Oui Non

Si oui ;

- Quel type de malformation :
- Symptômes observés sur la vache :

Naissance d'un veau mort-né : Oui Non

Si oui ;

- La cause suspectée :
- Les symptômes observés sur la vache :

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abdelhadi F.Z., Abdelhadi S.A., Niar A., Benallou B., Meliani S., Smail N.L., Mahmoud D., 2015 : Abortions in cattle on the Level of Tiaret Area (Algeria). *Global Veterinaria.*, 2015, 14 (5), 638-645.

ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) ; 2014 : Evaluation de risques liés à la diffusion du virus Schmallenberg en France : bilan et perspectives, 2014. Article mis en ligne :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2013sa0047Ra.pdf> (page consultée le 01 mars 2017).

Afonso A., Abrahantes J.C., Conraths F., Veldhuis A., Elbers A., Roberts H., Van der Stede Y., Méroc E., Gache K., Richardson J., 2014 : The Schmallenberg virus epidemic in Europe-2011-2013, *Preventive Veterinary Medicine*(2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.02.012> (page consultée le 15 fév. 2017).

Alessandro P., Mancianti F., Antonietta Carli M., Cristina Stroschio M., Kramer L., 1998, *Neospora caninum* infection in a Bernese cattle dog from Italy, *Veterinary Parasitology* 78 (1998) 79-85)

Akca A., Gokce H.I., Guy C.S., McGarry J.W., and Williams D.J., 2005: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. *Res. Vet. Sci.*, 2005, 78, 123-126.

Anderson M.L., Andrianarivo A.G., Conrad P.A., 2000: Neosporosis in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 2000, **60-61**, 417-431.

Anderson M.L., Reynolds J.P. Rowe J.D., Sverlow K.W, Packham A.E., Barr B.C., Conrad P.A., 1997: Evidence of vertical transmission of *Neospora sp.* infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997, **210**, 1169–1172

Anderson M.L., Barr B.C., Conrad P., 1994: Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 1994, 10(3), 439-461.

Andrianarivo A.G., Rowe J.D., Barr B.C. , Anderson M.L., Packham A.E., Sverlow K.W., Choromanski L., Loui C., Grace A., Conrad P.A., 2000: A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.*, 2000, 30, 985-990.

Andrianarivo A.G., Choromanski L., McDonough S.P., 1999: Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J. Parasitol.*, 1999, 29, 1613-1625.

Anonyme, 2017, Article mis en ligne, consulté le 28/02/2017

http://www.leconews.com/fr/actualites/nationale/agriculture/le-cheptelnational-depasse-34-millions-tetes-31-05-2015-174536_291.php

Atkinson RA., Ryce C., Miller CM., Balu S., Harper PA., Ellis JT., 2001: Isolation of *Neospora caninum* genes detected during a chronic murine infection. *Int J Parasitol.*, 31(1): 67-71.

Atkinson R.A., Harper P.A.W., Reichel M.P., Ellis J. T., 2000: Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol. Today*, 2000, 16, 110-114.

B

Bayrou C., Garigliany M.M., Sarlet M., Sartelet A., Cassart D., Desmecht D., 2014: Natural Intrauterine Infection with Schmallenberg Virus in Malformed Newborn Calves. *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 20 (8), pp.1327-1330

Balenghien T., Delecolle J.C., 2009 : Les Culicoides mouchérons vecteurs du virus de la fièvre catarrhale ovine. *Insectes*, 2009, 3 (154), pp.25-29.

BFR (*Bundesinstitut für Risikobewertung*), 2012 : Schmallenberg-Virus : Infektion über Lebensmittel unwahrscheinlich, 2012. Disponible sur

<http://www.bfr.bund.de/cm/343/schmallenbergvirus-infektion-ueberlebensmittelunwahrscheinlich.pdf> (page consultée le 04/02/2016)

Bilk S., Schulze C., Fischer M., Beer M., Hlinak A., Hoffmann B., 2012: Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary Microbiology*, 2012, 159 (1-2), pp.236-238

Björkman C., Johansson O., Stenlund S., Holmdahl O.J.M., Ugglå A., 1996: *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1996, **208**, 9, 1441-1444

Björkman C., Ugglå A., 1999: Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, 1999, **29**(10), 1497-1507.

Bjerkas I., Mohn S. F., Presthus J., 1984: Unidentified cyst-forming-sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift für Parasitenkunde.*, 1984, **70**, 271-274.

Bouloy M., 2002. Virus de la famille des Bunyaviridae. EMC Biologie médicale, 2002, Article [90- 55-0140]

Bouloy, M., Janzen, C., Vialat, P., Khun, H., Pavlovic, J., Huerre, M. et Haller, O., 2001. Genetic evidence for an interferon-antagonistic function of Rift Valley fever virus nonstructural protein NSs. *Journal of Virology*, 75, 1371–1377

Bréard, E., 2013. Validation of a Commercially Available Indirect Elisa Using a Nucleocapside Recombinant Protein for Detection of Schmallenberg Virus Antibodies. [En ligne], <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0053446>

Brugère-Picoux J., Angot J.L., 2012. La progression du virus Schmallenberg en Europe: une nouvelle maladie d'élevage des ruminants. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 165, (1)

Bryan L.A., Gajadhar A.A., Dubey J .P., Haines D.M., 1994 : Bovine neonatal encephalomyelitis associated with *Neospora sp* protozoan. *Can Vet. J.*, 1994, **35**, 111-113

Buxton D., Mcallister M.M., Dubey J.P., 2002: The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.*, 2002, **18**, 12, 546-552

C

Cavirani S., Cabassi C.S., Donofrio G., De Laco B., Taddei S., Flamini C.F., 2001 : Association between Chlamydia psittaci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. Preventive Veterinary Medicine., 2001, 145-151

Charles, J.A. 1994: Akabane virus. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, 10, (3), 525-546

Chermette R., Marquer A., 2000 : *Neospora caninum* : un nouveau parasite ? *Le Point vétérinaire*, 2000, **31**, 208, 9-14

Claine, F., Coupeau, D., Wiggers, L., Muylkens, B. et Kirschvink, N. 2013. Schmallenberg virus among female lambs, Belgium, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 19, (7)

Conraths F.J., Peters M., Beer M., 2012: Schmallerberg virus, a novel orthobunyavirus infection in ruminants in Europe: Potential global impact and preventive measures. *New Zealand Veterinary Journal*, 2012, 61 (2), pp.63-67

Czaplicki G., Thiry E., 1998: An association exists between bovine herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows. *Preventive Veterinary Medicine.*, 1998, 33,235-240.

D

Deffontaines M., 2013, Le virus Schmallerberg : conditions d'émergence et de dissémination ; épidémiologie de la maladie induite par ce nouveau virus ; conséquences cliniques, lésionnelles et moyens de lutte, Thèse l'université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie), p 22-23/ 178.

De Marez T., Liddell S., Dubey J.P., Jenkins M.C., Gasbarre L., 1999: Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs : humoral and cellular immune responses. *Int. J. Parasitol.*, 1999, **29**, 1647-1657.

De Meerchman F., Speybroeck N., Berkvens D., Rettigner A.C., Focant C., Leclipteux T., Cassart., Losson B., 2002 :Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology.*, 58, 933-945.

De Regge N., Deblauwe I., De Deken R., Vantiegheem P., Madder M., Geysen., D., Smeets F. et al., 2012: Detection of Schmallerberg virus in different *Culicoides* spp. by realtime RT-PCR. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2012, 59 (6), pp.471-475

Dias J.A., Alfieri A.A., Ferreira-Neto J.S., Goncalves V.S., Muller E.F., 2013. Seroprevalence and risk factors onf bovins herpesvirus 1 infection in cattle herds in the state of Parana, Brazil *Transboundary and Emerging Diseases.*, 2013, 60, 39-47

Dijkstra TH., Barkema H.W., Hesselink J.W., Wouda W., 2002: Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Veterinary Parasitology*, 2002a, 105, 89-98

Direction des services agricoles de Tizi-Ouzou (DSA) 2014 Statistiques agricoles de la Wilaya de Tizi-Ouzou 2014. www.tiziouzou-dz.com

Direction des services agricoles de Tizi-Ouzou (DSA) 2016 Statistiques agricoles de la Wilaya de Tizi-Ouzou 2016.

Djellal F, Kadi S A et Berchiche M 2007 Caractérisation de la conduite alimentaire des bovins à l'engrais dans la région de Tizi-Ouzou, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 19, Article #99 from <http://www.cipav.org.co/lrrd.org/lrrd19/7/djel19099.htm>

Doceul V., Lara E., Sailleau C., Belbis G., Richardson J., Breard E., Viarouge C. et al, 2013: Epidemiology, molecular virology and diagnostics of Schmallenberg virus, an emerging orthobunyavirus in Europe. *Veterinary Research*, 2013, 44 (31), 13 p

Dominguez, M., 2012. Emergence du virus Schmallenbrg - événements marquants, http://www.survepi.org/cerepi_prod/index.php?option=com_content&view=article&id=61:shmallenberg-europe&catid=47 : virus-shmallenberg&Itemid=115

Dominguez M., Hendriks P., Zientara S., Calavas D., 2012 : Bilan de la surveillance de l'infection congénitale par le virus Schmallenberg (SBV) chez les petits ruminants [janvier - mai 2012] [en ligne]. In : Plateforme ESA, 2012. Site disponible sur : <http://www.fnsea76.fr/media/377211/bilan%20surveillance%20clinique%20sbv%20pts%20ruminants%20hiver%202012.pdf>

Dominguez M., 2011. Virus Schmallenberg : événements marquants [en ligne]. In: Plateforme ESA . Site disponible sur : <http://www.plateforme-esa.fr/?q=node/59> (page consultée le 23/12/2016)

Dramchini N., 2007 : Principales causes infectieuses d'avortement chez la vache : étude épidémiologique à base de questionnaire et d'une analyse cas-témoins. Thèse de projet de fin d'étude, Ecole nationale supérieure vétérinaire d'Alger. 70 p

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., Schares G., Ortega-Mora L.M., 2007:** Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 20, 323-367.
- Dubey J.P., Buxton D., Wouda W., 2006:** Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Pathol.*, 2006, **134**, 267–289
- Dubey J. P., Lindsay D. S., 2006:** Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.*, 2006, 22, 645-71
- 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., 2002:** Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *International Journal for Parasitology*, 2002, **32**(8) 929-946.
- Dubey J.P., 1999:** Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *Journal of the American veterinary medical Association*, 1999, 214(8), 1160-1163.
- Dubey J.P., 1999:** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 1999, 84, 349-367
- Dubey J.P., Lindsay D.S., 1996:** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 1996, 67, 1-59.
- Dubey J.P., Lindsay D.S.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 1996, **67**, 1-59.
- Dubey J.P., Hartley W.J., Lindsay D.S.** Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1990, **197**, 8, 1043-1044
- Dubey J.P., Carpenter J.L., Speer C.A., Topper M.J., Uggla A., 1988:** Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1988, **192**, 9, 1269-1285.
- Dubey J. P., Lindsay D. S., 1989:** Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1989, **50**, 1578-1579.

Dusom M.A., 2012 : Identification et écologie des Culicoides (Diptera : Ceratopogonidae) vecteurs de la peste équine et de la fièvre catarrhale ovine au Sénégal. Thèse de doctorat vétérinaire. Dakar : Université Cheikh Anta Diop, 2012, 115 p

E

Elliot, R.M., Blakqori, G., van Knippenberg, I.C., Koudriakova, E., Li, P., McLees, A., Shi, X., Szemiel, A.M; 2012. Establishment of reverse genetics system for Schmallenberg virus, newly emerged orthobunyavirus in Europe. *Journal of General Virology*, april 2012, (94), 851-859

Elliot, R.M., Blakqori, G., 2011. Bunyaviridae: Molecular and Cellular Biology, *Caister Academic Press, Norfolk*, 1-39

Elliott, R.M., Weber, F., 2009. Bunyaviruses and the type I interferon system. *Viruses*, 1, 1003–1021

Elbers A.R.W., Meiswinkel R., Van Weezep E., Sloet Van Oldruitenborghoosterbaan M.M., Kooi E.A., 2013: Schmallenberg Virus in Culicoides spp. Biting Midges, the Netherlands, 2011. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19 (1), pp.106-109

EFSA (European Food Safety Authority), 2012: “Schmallenberg” virus: analysis of the epidemiological data (November 2012). Disponible sur : http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/360e.pdf

Elbers, A.R.W., Loeffen, W.L.A., Quak, S., de Boer-Luijtz, E., van der Spek, A. N., Bouwstra, R., Maas, R., Spierenburg, M.A.H., de Kluijver, E.P., van Schaik, G. et van der Poel, W.H.M., 2012: Seroprevalence of Schmallenberg Virus Antibodies among Dairy Cattle, the Netherlands, winter 2011–2012. *Emerging Infectious Diseases*, 18, (7), 1065-1071

F

FCO-INFO., 2009 ; Lutte chimique contre les Culicoides, 2009. Disponible sur <http://www.fcoinfo.fr/spip.php?article363> (page consultée le 04/03/2016)

G

Garigliany M.M., Bayrou C., Kleijnen D., Cassart D., Desmecht D., 2012: Schmallenberg Virus in Domestic Cattle, Belgium, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18 (9), pp.1512-1514

Geresu M.A., Ameni G., Kassa T., Tulli G., Arenas A., Kassa G.M., 2016 : Seropositivity and risk factors for Brucella in dairy cows in Asella and Bishoftu towns, Oromia Regional State, Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research.*, 2016, 10(7), 203-213.

Germanique L., 2010 :.A. Aspects cliniques de la fièvre catarrhale ovine sérotype 8 chez les bovins. Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de Médecine de Créteil, 2010, 123 p

Garcia-Vazquez Z., Rosario-Cruz, R., Ramos-Aragon, A., Cruzvazquez C., Mapes-Sanchez G., 2005: *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Vet. Parasitol*, 2005, **134**, 61-65.

Gaturaga I., Chahan B., Xuan X., Huang X., Liao M., Fukumoto S., Hirata H., Nishikawa Y., Takashima X., Suzuki H., Fujisaki K., Sugimoto Ch., 2005: Detection of Antibodies to *Neospora caninum* in Cattle by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with Truncated NcSRS2 Expressed in *Escherichia coli*, *American Society of Parasitologists, Journal of Parasitology* 91(1):191-192. 2005.

Ghalmi F., China B., Ghalmi A., Hammitouche D., Losson B., 2012. Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle population. *Research in Veterinary science.*2012, 93,655-661.

Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B., 2011: *Neospora caninum* is associated with abortion in Algerian cattle. *J.Parasitol.*, 2011, 97(6).1121–1124.

Ghalmi F., 2011 : La réponse immunitaire induite par *Neospora caninum*.*Ann. Méd. Vét.*, 2011, **155**, 38-52.

Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B., 2009: Evaluation of a SRS2 sandwich commercial enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of anti-

Neospora caninum antibodies in bovine and canine sera. J. Vet. Diagn. Invest.2009, **21**, 108–111, 2009.

Ghalmi F., China B., Kaidi R., Daube G., Losson B., 2008. Detection of *Neospora caninum* in dog organs using real time PCR systems. Veterinary Parasitology, 155; 161–167

Ghalmi F., China B., Losson B., 2007 : Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum*. Ann. Méd. Vét., 2007, **151**, 123-149

Ghozlane F., Yakhlef H., Allane M., Bouzida S., 2006 Evaluation de la durabilité des exploitations bovines laitières de la wilaya de Tizi-Ouzou (Algérie). New Médit 2006 ; 4/48-52. http://www.iamb.it/share/img_new_medit_articoli/84_48ghozlane.pdf

Goffredo M., Monaco F., Capelli G., Quaglia M., Federici V., Catalani M., Montarsi F. et al., 2013 : Schmallerberg virus in Italy : a retrospective survey in Culicoides stored during the bluetongue Italian surveillance program. Preventive Veterinary Medicine, 2013, 111 (3-4), pp.230-236

Goller K.V., Hoper D., Schirrneier H., Mettenleiter T.C., Beer M., 2012, Schmallerberg Virus as Possible Ancestor of Shamonda Virus. Emerging Infectious Diseases, 2012, 18 (10), pp.1644-1646

Gubbins S., Richardson J., Baylis M., Wilson A.J., Abrahantes J.C., 2014: Modelling the continental-scale spread of Schmallerberg virus in Europe : Approaches and challenges. Preventive Veterinary Medicine, 2014, 116 (4), pp.404-411

Guinot P., 2015 : Etude séro-épidémiologique de la neosporose bovine dans 42 élevages des Pyrénées-Atlantiques, Thèse de l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse. 126p

H

Herzog J., 2016. Les virus émergents : présentation du virus de Schmallerberg découvert chez des animaux d'élevage et analyse de sa progression en Europe et en France. Un exemple de réussite émergentielle ?, Thèse pour obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, université de Lorraine- faculté de Pharmacie 2016, p46-138.

Hoffmann B, Scheuch M, Höper D, Jungblut R, Holsteg M, Schirrmeier H, Eschbaumer M, Katja V. Goller, Wernike K, Fischer M, Breithaupt A, T .C. Mettenleiter et Beer M., 2012 ; Novel Orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18 (3), pp.469-472

Hebert.T., 2014, Effet de l'infection par le virus Schmallerberg sur la gestation de la chèvre. Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de Médecine de Créteil, 2014, 104 p.

Herder V., Wohlsein P., Peters M., Hansmann F., Baumgartner W., 2012: Salient Lesions in Domestic Ruminants Infected With the Emerging So-called Schmallerberg Virus in Germany. *Veterinary Pathology*, 2012, 49 (4), pp.588-591

Hahn K., 2013: Schmallerberg in central nervous system of ruminants. *Emerging Infectious Diseases*, 19, (1), 154-155

Han Y.K., Kim I.H., 2005: Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J. Vet. Sci.* (2005), 6(1), 53–59

Hemphill A., 1999: The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv. Parasitol*, 1999, **43**, 47-104

Hemphill A, Vonlaufen ., 2003, Generation of parasite cysts in cultured cells instead of living animals at the Institute of Parasitology, University of Bern, Switzerland, 2003), Institute of Parasitology University of Bern, Peter Maier, Scientific Adviser of the 3R Research Foundation

Holler L.D., 2006: Ruminant abortion diagnostics. *Veterinary Clinics America: Food Animal Practice.*, 2012, 28, 407-418.

I

ID-VET. ID Screen® Schmallenberg virus Milk Indirect, 2013. Disponible sur : <http://www.idvet.com/fr/produit/id-screen-schmallenberg-virus-milk-indirect/> (page consultée le 28/01/2016)

Innes E. A., Vermeulen A.N., 2006: Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*; *Toxoplasma* and *Neospora*. *Parasitol.*, 2006, **133** suppl:1, 45-68.

Innes E.A., Andrianarivo A.G., Bjorman C., Williams D.J.L., CONRAD P.A., 2002: Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends in Parasitol*, 2002, **18** (11), 497-404.

Innes E.A., Buxton D., Maley S., Wright S., Marks J., Esteban I., Rae A., Schock A., Wastling J., 2000: Neosporosis : Aspects of epidemiology and host immune response *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2000, **916**, 93-101.

J

Jenkins M., Baszler T., Björkman C., Schares G., William D., 2002: Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int. J. Parasitol.*, 2002, **32**(5), 631-636.

Journel C., Pitel P.H., 2001 : Diagnostic de la néosporose en élevage bovin. *Le Point Vétérinaire*, 2001, **213**, 42-43.

K

Kaouche S., Bououdina M., Ghezali S., 2011: Diagnosis of constraints for the development of dairy cattle breeding in Algeria: The case of Medea. 6th Research Workshop on Animal Production, by University M.Mammeri, Tizi-Ouzou on 9 and 10 May. Algeria.2011;

Kirkland, P.D., 2012: Akabane virus, Risk Management in Australia. [en ligne], http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/schmallenberg_virus/docs/at_risk_management_aka_bane_en.pdf.

L

Laloy Eve et al., 2015, Schmallenberg virus: experimental infection in goats and bucks / Justas Lazutka Saliva as an alternative specimen for detection of Schmallenberg virus-specific antibodies in bovines.

Linden A., Desmecht D., Volpe R., Wirtgen M., Gregoire F., Pirson J., Paternostre J. et al, 2012: Epizootic Spread of Schmallenberg Virus among Wild Cervids, Belgium, Fall 2011. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18 (12), pp.2006-2008.

Loeffen W., Quak S., De Boer-Luijtz E., Hulst M., Van Der Poel W.H.M., Bouwstra R., Maas R., 2012: Development of a virus neutralisation test to detect antibodies against Schmallenberg virus and serological results in suspect and infected herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2012, 54 (1), p.44-51.

Lindsay D.S., Blagburn B., Dubey J.P., 1992: Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *J. Parasitol.*, 1992, **78**(1), 70-72.

Lindsay D.S., Upton S.J., Dubey J.P., 1999: A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *Int. J. Parasitol*, 1999, **29**(10), 1521-1523.

Lindsay D.S., Dubey J.P., 1989: *Neospora caninum* (Protozoa: apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, 1989, **75**, 772-779.

Locatelli-Dittrich R., Soccol VT., Richartz RR., Gasino-Joineau ME., Vinne R., Pinckney RD., 2001: Detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle by enzyme-linked immunosorbent assay with truncated NcSRS2 expressed in *Escherichia coli*. *J Parasitol.* 87 (6): 1493-4.

Losson B., Bourdoiseau G., 2000 : *Neospora caninum* : un nouvel agent abortif chez les bovins. *Bull. GTV.*, 2000, **7**, 107-114.

Lucches L., Benkirane A., Hakimi I., El-Idrissi A., Natale A., 2016: Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. *Veterinaria Italiana.*, 2016,52 (1), 13-19.

M

Macaldowie C., Maley S.W., Wright S., Bartley P., Esteban-Redondo I., Buxton D., Innes E.A., 2004: 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

Mainard-JAME R.C., Thurmond M.C., Berzal-Herranz B., Hietala S.K., 1999: Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet. Rec.*, 1999, **145**,3, 72-75.

Maïtia F., 2014 : Le virus Schmallerberg : apparition et développement épidémiologique en Europe et analyse des suspicions cliniques réalisées par les vétérinaires praticiens français en 2012. Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de Médecine de Créteil, 2014, 126 p

Mammette A., 2002 ; Virologie médicale. Presses Universitaires de Lyon Ed. Lyon, 2002, 798 p

MANSFIELD K.L., ROCCA S.A.L., KHATRI M., JOHNSON N., STEINBACH F, FOOKS A.R., 2013: Detection of Schmallerberg virus serum neutralising antibodies. *Journal of Virological Methods*, 2013, 188 (1-2), pp.139-144

Martinelle L., Dalpozzo F., Kirschvink N., De LA Grandière M.A., Thiry E., Saegerman C., 2012. Le virus Schmallerberg ou l'émergence du premier Orthobunyavirus du séro groupe Simbu en Europe, *Ann. Méd. Vét.*, 2012, 156, 7- 24

Menadi S.E., 2016 : Approche séro-épidémiologique des avortements d'étiologie virale BHV1, BHV4, BVDV, dans des élevages bovins de l'ouest et du Nord-Ouest de la willaya de Sétif, thèse magistère, Ecole nationale supérieure vétérinaire d'Alger.

MERIAL., 2014 : Résumé des Caractéristiques Produit : SBVVAX suspension injectable pour bovinset ovins, 2014. Disponible sur

http://firrcp.merial.com/SitePages/view_RCP_notice.aspx?NomProduit=SBVVAX

(page consultée le 10/02/2016).

Méroc, E., De Regge, N., Ricoreux, F., Caij, A.B., van den Berg, T. et van der Stede, Y., 2013a. Distribution of Schmallenberg Virus and Seroprevalence in Belgian Sheep and Goats. [en ligne], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23305427>, (page consultée le 12 septembre 2013)

Méroc, E., Poskin, A., Van Loo, H., Quinet, C., Van Driessche, E., Delooz, L., Behaeghel, I., Riocreux, F., Hooyberghs, J., De Regge, N., Caij, A.B., van den Berg, T. et van der Stede, Y., 2013b. Large-Scale Cross-Sectional Serological Survey of Schmallenberg Virus in Belgian Cattle at the End of the First Vector Season. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60 (1), 4-8

Mcallister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W R., Wills R.A., Mcguire A.M., 1998: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 1998, 28, 1473–1478

MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET., 2015 :

Laboratoires agréés et méthodes officielles en santé animale, 2015. Disponible sur : <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale> (page consultée le 21/01/2016)

Mullens, B.A., Gerry, A.C., Lysyk, T.J. Schmidtman, E., 2004. Environmental effects on vector competence and virogenesis of bluetongue virus in Culicoides : interpreting laboratory data in a field context. *Veterinaria Italiana*, 40, (3), 160- 166

N

Ninio C., 2011 : Fièvre catarrhale ovine dans les Ardennes : étude de la biologie des Culicoides et de leur rôle épidémiologique. Thèse de doctorat en parasitologie. Reims : Université de Reims Champagne-Ardenne, 2011, 255 p.

O

OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale), 2013, Fiche technique de l'OIE : Le virus de Schmallenberg, 2013. Disponible sur :

http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/docs/pdf/F_Schmallenberg_virus.pdf (Page consultée le 28/01/2017)

Otter A., Jeffrey M., Scholes S.F.E., Helmick B., Wilesmith J. W., Trees A. J., 1997: Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine neosporosis. *Vet. Record*, 1997, **141**,487- 489.

Ortega-Mora L. M., Fernandez-Garcia A., Gomez-Bautista M., 2006: Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta. Parasitol.*2006, **51**, 1–14.

Osawa T., Wastling J., Acosta L., Ortellado C., Ibarra J., Innes EA., 2003:Seroprevalence of *Neospora caninum* infection un dairy and beef cattle in Paraguay. *Vet Parasitol*, 18; 113(2): 175.

P

Pasquier C., Bertagnoli S., Dunia D., Izopet J ., 2013, Virologie humaine et zoonoses- Cours et fiches de synthèse. Dunod Ed. Paris, 2013, 270p.

Paré J., Thurmond M.C., Hietala S.K., 1996: Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. *Can. J. Vet. Res.*, 1996, **60**, 133-139.

Paré J., Thurmond M.C., Hietala S.K., 1997: “*Neospora caninum* antibodies incows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion.” *Parasitol.*1997, **83**(1),82-87.

Parish S.M., Maag-Miller L., Besser T.E., Weidner J.P., McElwain T., Knowles P., Leathers C.W., 1987: Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1987, **191**, 12, 1599-1600.

Parsonson, I.M., Della-Porta, A.J., Snowdon, W.A. et O'Halloran, M.L., 1981. Experimental infection of bulls with Akabane virus. *Research in Veterinary Science*, 31, (2), 157-160

- Parsonson, I.M., 1977.** Congenital abnormalities in newborn lambs after infection of pregnant sheep with Akabane virus. *Infection and Immunity*, 15, (1), 254-262
- Pavlovic, J., Schultz, J., Hefti, H.P., Schuh, T. et Mölling K., 2000.** DNA Vaccination against La Crosse Virus. *Intervirology*, 43, 312-321
- Pépin, M., Laaberki, M.H., Dupinay, T., Marinneau, P. et Legras-Lachuer, C., 2012.** De l'importance croissante des Bunyaviridae en santé publique et vétérinaire, illustrée avec les hantavirus et les virus de schmallenberg et de la fièvre de la vallée du Rift. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 165, (4) (<http://www.academie-veterinaire-defrance.org/>)
- Perie, P., Chermette, R., Millmann, Y. et Zientara, S., 2005.** Les Culicoides, Diptères hématophages vecteurs de la fièvre catarrhale du mouton. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 158, (3), 213-223
- Planchon Stella., 2015,** La métagénomique au CTCPA : une technique d'analyse innovante CTCPA Avignon, 24 févr. 2015, <http://www.ctcpa.org/la-metagenomique-au-ctcpa-une-technique-d-analyse-innovante> (page consulté le 23/12/2016)
- Plateforme ESA., 2012.** Résultats intermédiaires de l'enquête descriptive réalisée dans les élevages atteints par le virus Schmallenberg (formes congénitales) – Bovins. [*en ligne*], http://www.plateforme-esa.fr/images/documents/12-09-2012-sbv_eqdes_bv_tt3.pdf,
- ProMed-mail., 2012b.** Schmallenberg virus - Europe (76). Virus RNA in bovine semen. [*en ligne*], <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20121220.1460864>,
- ProMed-mail., 2012c.** Schmallenberg virus - Europe (77). (Netherlands, France) virus RNA in bovine semen. [*en ligne*], <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20121221.1462748>
- ProMed-mail., 2013.** Schmallenberg virus - Europe (07). (Germany) virus RNA in bovine semen. [*en ligne*], <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20130123.1511878>
- Purse, B.V., Mellor, P.S., Rogers, D.J., Samuel, A.R., Mertens, P.P.C. et Baylis, M., 2005.** Climate Change and the Recent Emergence of Bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 171-181

R

Rasmussen L.D., Kristensen B., Kirkeby C., Rasmussen T.B., Belsham G.J., Bodker R., Botner A. Culicoids as Vectors of Schmallenberg Virus. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18 (7), pp.1204-1206.

Reichel MP., Pfeiffer DU., 2002: An analysis of the performance characteristics of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. *Vet Parasitol.*, 107 (3): 197-207.

Reusken C., Van Den Wijngaard C., VAN Beek P., Beer M., Bouwstra R., Godeke G.J., Isken L. et al., 2012: Lack of Evidence for Zoonotic Transmission of Schmallenberg Virus. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18 (11), pp.1746-1754

Rieb, J.P., 1982. Contribution à la connaissance de l'écologie et de la biologie des Cératopogonidés (Diptera, Nematocera). *Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Université Louis Pasteur, Strasbourg*, 395 pages

Rodhain F., Perez C., 1985 : Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine Ed. Paris, 1985, 458 p

Romero J. J., Breda S., Vargas B., Dolz G., Frankena K., 2005: Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology.*, 2005, **64**, 1928-1939.

S

Sadrebazzaz A., Haddadzadeh H., Esmailnia K., Habibi G., Vojgani M., Hashmifesharaki R., 2004: Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Vet Parasitol.*124 (3-4): 201-4.

Saeed M.F., Li L., Wang H., Weaver S.C., Barrett A.D.T, 2001, Phylogeny of the Simbu serogroup of the genus Bunyavirus. *Journal of General Virology*, 2001, 82 (9), pp.2173-2181

Sailleau C., Boogaerts C., Meyrueix A., Laloy E., Breard E., Viarouge C., Desprat A. et al, 2013 : Schmallenberg Virus Infection in Dogs, France, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19 (11), pp.1896-1897

Scholte, E.J., Mars, M.H., Braks, M., Den Hartog, W., Koopmans, M., Koenraadt, C.J.M., De Vries, A. et Reusken, C., 2013. No evidence for the persistence of Schmallenberg virus in overwintering mosquitoes. *Medical and Veterinary Entomology* 28 (1), pp.110-115.

Schares G., Barwald A., Staubach C., Ziller M., Kloss D., Schroder R., Labohm R., Drager K., Fasen W., Hess RG., Conraths FJ., 2004: Potentiel risk factor dor bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the under the control of the farmers. *Parasitology*.129:301-9.

Schares G., Peters M., Wurm R., Bärwald A., Conraths F.J., 1998: The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.*, 1998, **80**, 87-98.

Service, M.W., 1971. Adult Flight Activities of some British Culicoides Species. *Journal of Medical Entomology*, 8, (5), 605-609

Shaapan. R.M., El-Nawawi. F.A., Tawfik.M.A.A ., 2008: Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. *Vet. Parasitol.*, 2008, **153**, 359–362.

SIB (Swiss Institute of Bioinformatics), 2015. Bunyaviridae [en ligne]. In : ViralZone. Site disponiblesur : http://viralzone.expasy.org/viralzone/all_by_species/82.html

Si-Tayeb H, Mouhous A et Cherfaoui LM., 2015, Caractérisation de l'élevage bovin laitier en Algérie : cas de la zone de Freha à Tizi-Ouzou, Département des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie, El Harrach.).

Speer C.A., Dubey J.P., McAllister M.M., Blixt J.A., 1999: Comparative ultrastructure of tachyzoïtes, bradyzoïtes, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, 1999, 29, 10, 1509-1519.

Steukers, L., Bertels, G., Cay, B. et Nauwynck, H.J., 2012. Schmallenberg virus: emergence of an Orthobunyavirus among ruminants in Western Europe. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 81, (119)

Staska L. M., Davies C. J., Brown W. C., 2005: Identification of vaccine candidate peptides in the NcSRS2 surface protein of *Neospora caninum* by using CD4+ cytotoxic T lymphocytes and gamma interferon-secreting T lymphocytes of infected holstein cattle. *Infect. Immun.*, 2005, **73**(3), 1321-1329.

T

Tainturier D., Fieni F., Bruyas J.F., Battut I., 1997 : Étiologie des avortements chez la vache. *Le Point Vétérinaire*, 1997a, 28, 183, 13-20.

Tainturier D., Fieni F., Bruyas J.F., Battut I., 1997 : Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin *Le Point Vétérinaire*, 1997b, 28, 183, 21-25.

Thilsted JP., Dubey JP., 1989: Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest.* 1(3) :205-9)

Toma B., Dufour B., Sanaa M., Benet J.J., Shaw A., Moutou F. et Louza A., 2001. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. Alfort, France aeema. 2eme Edit.68p.

Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Akiba, Y., Nishiguchi, A., Kobayashi, S., and Yamakawa, M., 2009: Duration of Maternally Derived Antibodies against Akabane Virus in Calves: Survival Analysis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71, (7), 913-918

V

Van den Brom R., 2012. Epizootic of ovine congenital malformations associated with Schmallenberg virus infection. *Tjdschr Diergeneeskde*, 137, (2), 106-111

Van Der Heijden H.M.J.F., Bouwstra R.J., Mars M.H., Van Der Poel W.H.M., Wellenberg G.J., VAN MAANEN C., 2013. Development and validation of an indirect

Enzymelinked Immunosorbent Assay for the detection of antibodies against Schmallenberg virus in blood samples from ruminants. *Research in Veterinary Science*, 2013, 95 (2), pp.731-735

Van Der Poel W.H.M., 2012: Diagnostics for Schmallenberg Virus. *Veterinary Record*, 2012, 171 (12), pp.294-295

Vanvinckenroye C., Losson B., Caron Y., 2014 : Lutte contre les vecteurs de maladies [en ligne]. In : Association Wallonne de l'Elevage, 2014. Site disponible sur :

<https://www.awenet.be/awe/userfiles/file/we/articles/PDF%20375%2005%202014.pdf> (page consultée le 07/03/2016).

Varela, M. et al., 2013. Schmallenberg Virus Pathogenesis, Tropism and Interaction with the Innate Immune System of the Host. [en ligne],

<http://www.plospathogens.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1003133>

Veldhuis AM, van Schaik G, Vellema P, Elbers AR, Bouwstra R, van der Heijden HM. Mars MH., 2013: Schmallenberg virus epidemic in the Netherlands: spatiotemporal introduction in 2011 and seroprevalence in ruminants. *Prev. Vet. Med.* 2013; 112:35–47.

W

Walter C.T. Barr, J.N., 2011. Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *Journal of General Virology*, 92, 2467–2484

Walzer J.B., 2009. Les insectes du genre Culicoides, vecteurs de maladies animales. *Thèse pour le doctorat vétérinaire, Alfort n° 017*, 215 pages

Weber F., 2002. Antigenic drift, antigenic shift and interferon antagonists: how bunyaviruses counteract the immune system. *Virus Research*, 88, (1-2), 129-136

Wernike K., Breithaupt, A., Keller, M., Hoffmann, B., Beer, M. et Eschbaumer, M. 2012. Schmallenberg Virus Infection of Adult Type I Interferon Receptor Knock-Out Mice. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0040380>.

Wensman J.J., Blomqvist G., Hjort M., Holst B.S. Presence of Antibodies to Schmallenberg Virus in a Dog in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51 (8), p. 2802

Wernike K., Conraths F., Zanella G., Granzow H., Gache K., Schirrneier H., Valas S. et al., 2014: Schmallenberg virus - Two years of experiences. *Preventive Veterinary Medicine*, 2014, 116 (4), pp.423-434

Wernike K., Eschbaumer M., Schirrneier H., Blohm U., Breithaupt A., Hoffmann B., Beer M., 2013: Oral exposure, reinfection and cellular immunity to Schmallenberg virus in cattle. *Veterinary Microbiology*, 2013, 165 (1-2), pp.155-159

Whitehouse C.A., 2004; Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 2004, 64 (3), p.146

Wilson A., Darpel K., Mellor P.S., 2008: Where does bluetongue virus sleep in the winter? *PLOS Biology*, 2008, 6 (8), p.1612

Wittmann, E.J., Mellor, P.S. et Baylis, M., 2002. Effect of temperature on the transmission of arboviruses by biting midge, *Culicoides sonorensis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 16, (2), 147-156

World Organisation for Animal Health., 2008. Bunyaviral diseases of animals. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 6, Paris: The Organisation;* 1166–7

Wouda W., 2000: Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet. Q.*, 2000, 22(2), 71-74.

Wouda W., 1998: Neospora abortion in cattle, aspects of diagnosis and epidemiology. Utrecht, 1998. 176p.

Y

Yanase T., Kato T., Aizawa M., Shuto Y., Shirafuji H., Yamakawa M., Tsuda T., 2012; Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature : implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. *Archives of Virology*, 2012, 157 (8), pp.1611-1616

Yildiz K., Kul O., Babur C. Kilic S., Gazyagci A N. Celebi B. Gurcan B., 2009: Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. *Vet. Parasitol.* 2009, **164**, 306-310.

Z

Zientara, S., 2013. Fièvre Catarrhale du Mouton. [*en ligne*],

http://agriculture.gouv.fr/guide_epizooties/monographies/f-fcm.html

Zientara S., Languille J., Pelzer S., Sailleau C., Viarouge C., Desprat A., Breard E., 2012 ; Un virus émergent dans le nord et l'ouest de l'Europe : le virus Schmallenberg [en ligne]. In : Journée 3R, 2012. Site disponible sur :

http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/Texte_1_sante_S-Zientara.pdf .

Zimmer, J.Y., Haubruge, E., Francis, F., Bortels, J., Simonon, G., Losson, B., Mignon, B., Paternostre, J., De Deken, R., De Deken, G., Deblauwe, I., Fassotte, C., Cors, R. et Defrance, T., 2008b Breeding sites of bluetongue vectors in northern Europe. *Veterinary Record*, 162, (4), 1-31

Zimmer J.Y., Haubruge E., Francis F., 2014 : Synthèse bibliographique : l'écologie larvaire des culicoïdes (Diptera : Ceratopogonidae). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 2014, 18 (2), pp.301-312