

République Algérienne Démocratique et
Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la recherche scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : Immunologie Animale

Thème :

**« Etude séro-épidémiologique des infections à
Herpès virus caprin CpHV1 et *Neospora
caninum* chez les caprins en Algérie »**

Réalisé par : **HADIBI Sabrina**

Thèse soutenue publiquement, le 29 /11/2017,

Devant le jury composé de :

Pr Hamdi T.M, Professeur, ENSV Alger

Pr Ait oudhia K, Professeure, ENSV Alger

Pr Boukhors K, Professeure, ENSV Alger

Dr AZZAG.N, Maitre de conférences A, ENSV Alger

Dr GHALMI.F, Maitre de conférences A, ENSV Alger

Président

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Co-Directeur de thèse

Année Universitaire : 2017 /2018

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu pour m'avoir permis d'aboutir à ce travail.

Je remercie ma grand mère et mes très chers parents, Mourad et Nachida, qui ont toujours été là pour moi, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fière »

Je voudrais également remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et critiques.

- Monsieur le Professeur Hamdi, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, Hommage respectueux.
- Madame la professeure Boukhors, qui a aimablement accepté de participer à notre jury de thèse, Sincères remerciements.
- Madame la professeure Ait Oudhia, qui a accepté de participer à mon jury de thèse, Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

Je remercie aussi Dr AZZAG et Dr Ghalmi pour leur gentillesse, leur soutien et leur présence, Merci d'avoir partagé votre culture.

Merci à vous tous

Résumé :

Cette étude avait pour objectif de déterminer le statut immunitaire d'un cheptel caprin vis-à-vis de l'Herpes virus caprin et *Neospora caninum*, décrire la prévalence, déterminer les facteurs de risques liés à l'infection et mettre en évidence les associations possibles avec *Brucella*.

cette enquête a été menée du mois de février 2017 à Aout 2017. Ainsi, 280 caprins ont été analysés par le kit ELISA ID-VET *Neospora* et 180 caprins par le kit CpHV-1 d' Eradikit

Les resultats des analyses sérologiques ont montré que la prévalence globale du CpHV-1 est estimée à 28,33% et *Neospora caninum* à 1,42%.

Mots-clès : Herpèsvirus caprin 1, *Neospora caninum* , Caprins , alphaherpesvirus, ruminants

Summary

The present study aimed to determine the immune status of a herd of goats against caprine herpes virus and *Neospora caninum*, to describe the prevalence, to determine the risk factors associated with the infection and to demonstrate co-infections with *Brucella*

This survey was conducted during the period of February 2017 to August 2017. For this, 280 goats were analyzed for N. caninum antibodies by ELISA: ID-Vet and 180 for CpHV-1 by ELISA: Eradikit . The serological analyses have shown that the prevalence of CpHV-1 was estimated to be 28,33% and *Neospora caninum* 1,42%.

Keywords : Caprine herpesvirus 1, *Neospora caninum* ,goats, alphaherpesvirus, ruminants

Arabe :

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الوضع المناعي لقطيع من الماعز ضد فيروس *Neospora* و Herpes virus caprin-1 و *caninum* و تقدير الوضع الوبائي مع دراسة عوامل الخطر المرتبطة بالعدوى و تأثير الالتهابات المشتركة مع بكتيريا *Brucella*

أجريت هذه الدراسة من فبراير 2017 إلى أغسطس 2017 إذ تم من خلالها فحص 280 ماعز بواسطة ELISA ID-Vet و *N. caninum* و 180 ماعز بواسطة CpHV-1, Eradikit . و في الأخير ظهرت نتائج التحاليل المصلية أن معدل الانتشار الكلي ل Herpes virus caprin قد قدر ب 33,28% و *Neospora caninum* ب 1,4%

كلمات البحث: *Herpes virus caprin* CpHV-1, *Neospora caninum*, *Alphaherpesvirus*، المجترات

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
BoHV1/BHV-1	Herpes virus bovin type 1
CMH	complexe majeure d'histocompatibilité
CpHV1	Herpes virus caprin type 1
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent assay
gp	Glycoprotéines
HD	Hôte définitif
HI	Hôte intermédiaire
IFAT	Indirect fluorescent antibody technique
IFI	Immunofluorescence Indirecte
INF γ	Interféron gamma
IFN α et β	Interférons alpha et beta
Ig	Immunoglobuline
IGTP	Interferon gamma induced GTPase
IL	Interleukine
LT	Lymphocyte T
LTCD4	Lymphocyte t interagissent avec les molécules de CMH II
LTCD8	Lymphocyte t interagissent avec les molécules de CMH I
MADR	Ministere de l'agriculture et de développement rural
<i>N caninum</i>	<i>Neospora caninum</i>
PCR	Polymerase chain reaction
Réponse TH1	Réponse de lymphocyte TCD4 qui sécrètent principalement de IL-2 et IFN gamma
Réponse TH2	Reponse de lymphocyte TCD4 qui sécretent principalement de IL-4 IL-5 ,IL 6 IL 10
TGF- β	Transforming growth factor veta
TLR	Toll like receptors
TNF	Facteur de nécrose tumorale
Treg	Lymphocytes T regulateurs
PRRs	Pattern Recognition Receptor
PAMP	Pathogen Associated Molecular Patterns

MyD88	Myeloid differentiation primary response 88
TRIF	TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β
NF- κ B	Nuclear factor-kappa B
IRF3	Interferon regulatory factor 3
IRF7	Interferon regulatory factor 7
RIG-I	Retinoic acid-inducible gene 1
MDA5	Melanoma DifferentiationAssociated protein 5
MAVS	Mitochondrial antiviral-signaling protein
NOD/ NLR	NOD-like receptors
HSV	Herpes simplex de type 1
IL- 1 β	interleukine 1 β
TNF α	Tumor Necrosis Factor- α
ICAM 1	InterCellular Adhesion Molecule
PNN	polynucléaires neutrophiles
ADCC	cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
NK	Natural Killer
ICP0	infected cell protein 0
ICP34.5	infected cell protein 34.5
PKR	protein kinase
MDBK	Madin Darby Bovine Kidney Cells
ELISA indirect	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

Liste des tableaux :

Partie bibliographique

Tableau 01 : Taxonomie de l'herpès virus caprin-1.....	05
Tableau 02 : Propriétés des glycoprotéines des alphaherpèsvirus.....	08
Tableau 03 : les différents enzymes codés par le génome des Alphaherpèsvirus.....	09
Tableau 04 : Sensibilité des herpès virus en fonction de la température et du temps.....	10
Tableau 05 : Interprétation des résultats sérologiques basés sur la gB et la gE.....	32
Tableau 06 : les principales dates clés de la découverte de <i>Neospora caninum</i>	36
Tableau 07 : Taxonomie simplifié de <i>Neospora caninum</i>	37
Tableau 08 : Avantages et inconvénients des techniques de mise en évidence directe de <i>Neospora caninum</i>	63
Tableau 08 : Avantages et inconvénients des techniques de mise en évidence indirecte de <i>Neospora caninum</i>	66

Partie pratique

Tableau 01 : Description de l'origine des troupeaux testés <i>herpèsvirus caprin -1</i>	77
Tableau 02 : Description de l'origine des troupeaux testés <i>Neospora caninum</i>	77
Tableau 03 : Répartition des échantillons en fonction du sexe et de la classe d'Age.....	78
Tableau 04 : Répartition de l'antigène, du tampon et du complément.....	88
Tableau 05 : Réalisation des témoins	88
Tableau 06 : Interprétation des résultats de la fixation du complément <i>Brucella</i>	88
Tableau 07 : Résultat en fonction de la mixité d'élevages.....	93
Tableau 08 : Étude des facteurs de risque liés à la séropositivité vis-à-vis le CpHV-1.....	94
Tableau 09 : Résultat des tests ELISA g B compétition (IDEXX) et ELISA indirect (ERADIKIT).....	95
Tableau 10 : Résultat et interprétation de l'étude de réaction croisée avec le BHV-1.....	96
Tableau 11 : Nombre de chèvres séropositives à CpHV-1 et <i>Brucella sp</i> en fonction de l'existence ou non d'antécédents d'avortements.....	97
Tableau 12 : Résultat des analyses de <i>Neospora caninum</i> par commune et par wilayas	99
Tableau 13 : Taux de séroprévalence des chèvres envers BoHV-1.....	104
Tableau 14 : Séroprévalence de <i>N.caninum</i>	110

Liste des figures :

Partie bibliographique

Figure 01 : Représentation schématique d'un herpès virus	06
Figure 02 : Organisation du génome des Alphaherpesvirus des Ruminants.....	07
Figure 03 : Récepteurs cellulaire et leurs ligands viraux participant dans l'entrée du virus.....	12
Figure 04 : Réplication de l'Adn selon le mécanisme de cercle roulant.....	13
Figure 05 : Cycle de multiplication d'un herpesvirus.....	14
Figure 06 : Régulation des cycles infectieux	14
Figure 07 : lésions de l'intestin grêle chez un chevreau.....	19
Figure 08 : Vulvovaginite due au CpHV1.....	20
Figure 09 : Balanoposthite due au CpHV1.....	20
Figure 10 : Aperçu de la reconnaissance du HSV par l'immunité innée.....	28
Figure 11 : Rôle de la protéine ICP34.5 dans l'inhibition de la réponse antivirale.....	27
Figure 12 : Interaction d'UL 49.5 avec la protéine TAP	14
Figure 13 : Immunofluorescence sur des cellules MDBK infecté par le CpHV-1.....	29
Figure 14 : Tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i> et <i>Toxoplasma gondii</i> vues au microscope électronique à transmission.....	39
Figure 15 : Tachyzoïtes regroupés dans l'encéphale d'un chien.....	40
Figure 16 : Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien.....	41
Figure 17 : Montrant des oocystes sporulés de <i>Neospora caninum</i>	41
Figure 18 : Tachyzoïtes et kystes tissulaires de <i>Neospora caninum</i> dans des coupes histologiques.....	42
Figure 19 : Cycle de <i>Neospora caninum</i>	44
Figure 20 : le mécanisme d'invasion de <i>Neospora caninum</i> vu par microscope électronique à balayage.....	47
Figure 21: couplage de l'invasion à la division chez <i>Neospora caninum</i>	48
Figure 22 : Réponses immunitaire contre <i>N. caninum</i>	54
Figure 23 : Réponses cellulaires de l'organisme, lors de l'infection par un protozoaire, au cours de la gestation.....	56
Figure 24 : Évolution de la relation Hôte/parasite lors d'une infection par <i>Neospora caninum</i> Chez l'animal non gestant (i) et en cours de gestation (ii, iii et iv).....	57
Figure 25 : Concentration de l'IFN- γ dans les sérums de chèvres inoculés avec 10^6 tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i>	58

Figure 26 : Taux d'IgG dans le serums de chevres inoculées avec 106 tachyzoïtes de <i>Neospora caninum</i>	59
Figure 27 : Démarche diagnostique en cas de suspicion de néosporose dans un élevage.....	67

Partie pratique

Figure 01 : Zone d'étude.....	74
Figure 02 : Taille des prélèvements en fonction de la taille des troupeaux.....	76
Figure 03 : Pyramide des âges au cours de notre étude.....	78
Figure 04 : Résultat CpHV-1.....	90
Figure 05 : Nombre de troupeaux positifs.....	91
Figure 06 : Nombre d'échantillons positif en fonction du système d'élevage	92
Figure 07 : Résultat en fonction de l'âge.....	93
Figure 08 : Coïnfection CpHV-1 avec <i>Brucella</i>	97
Figure 09 : Répartition des échantillons testés <i>Neospora caninum</i>	98
Figure 10 : Résultat <i>Neospora caninum</i>	100

Sommaire :

Dédicaces.....	I
Remerciements	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des tableaux	V
Liste des figures	VI

Première partie : Synthèse bibliographique

Introduction	01
I. Herpès virus caprin CpHV-1	
1. Importance et historique	04
2. Taxonomie.....	04
3. Caractéristique de la particule virale	06
3.1. Morphologie	06
3.2. Organisation du génome.....	06
3.3. Glycoprotéines et facteur de virulence.....	07
3.4. Propriétés biologiques.....	09
3.5. Propriétés physico –chimiques.....	09
4. Cycle de multiplication.....	11
4.1. Cycle lytique.....	11
4.2. Cycle latent.....	14
4.3. Régulation.....	15
5. Pathogénie.....	16
5.1. Primo –infection.....	16
5.1.1 Pénétration dans l’organisme.....	16
5.1.2 Dissémination.....	17
5.1.2.1 Voie sanguine.....	17
5.1.2.2 Voie nerveuse.....	17
5.1.2.3 Voie intercellulaire.....	17
5.2. Réactivation.....	17
6. Symptômes et lésions.....	18
7. Réponse Immunitaire.....	22
7.1. Réponse Immunitaire innée.....	22
7.2. Réponse immunitaire adaptative.....	25

7.2.1 Réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire.....	25
7.2.2 Réponse immunitaire adaptative à médiation humorale.....	25
7.3. L'immunité envers l'infection du nouveau -né.....	26
7.4. Échappement à la réponse immune.....	26
8. Diagnostic.....	29
9. Traitement et prophylaxie.....	33
II. <i>Neospora caninum</i>	33
1. Historique et importance	35
2. Taxonomie	37
3. Morphologie de <i>Neospora caninum</i>	38
4. Biologie générale et cycle de développement.....	43
4.1. Hôtes intermédiaires et hôtes définitifs de <i>Neospora caninum</i>	43
4.2. Cycle de développement de <i>Neospora caninum</i>	43
5. Modes de transmission	45
5.1. Transmission verticale.....	45
5.2. Transmission horizontale.....	45
6. Pathogénicité	46
7. Manifestations cliniques	49
8. Réponse immunitaire.....	51
8.1. Généralités.....	51
8.2. Réponses immunitaires des animaux non gestants	52
8.3. Réponses immunitaires des animaux gestants	55
8.3.1 Rappels de la réponse immunitaire maternelle et fœtale.....	55
8.3.2 Réponse immunitaire en fonction du stade de gestation chez la chèvre.....	58
9. Diagnostic.....	60
10. Traitement et prophylaxie.....	67

Deuxième partie : Partie expérimentale

I. But et objectif de l'étude.....	71
II. Description de l'étude.....	72
1. Répartition du cheptel caprin en Algérie.....	72
2. Type, zone et période d'étude.....	72
III. Matériel et Méthode.....	75

1. Matériel.....	75
1.1. Matériel de prélèvement et du laboratoire.....	75
1.1.1 Matériel de prélèvement.....	75
1.1.2 Matériel de laboratoire.....	75
1.1.3 Réactifs	75
1.2. fiches d'enquête.....	76
2. Méthode.....	76
2.1. Choix des échantillons.....	76
2.2. Méthode de collecte et de conservation des échantillons.....	78
2.3. Méthode du Laboratoire :	
2.3.1 Normes et référentiels.....	78
2.3.2 Différentes techniques utilisées.....	79
2.3.2.1 ELISA Indirect.....	79
a) Domaine d'application.....	79
b) Principe.....	79
c) Mode Opérateur.....	79
➤ CpHV-1.....	79
➤ <i>Neospora caninum</i>	81
2.3.2.2 ELISA de Compétition.....	82
a) Domaine d'application.....	82
b) Principe.....	82
c) Mode Opérateur.....	83
➤ ELISA ID Screen® IBR gE.....	83
➤ IDEXX IBR gB X3 Ab Test.....	84
2.3.2.3 Test d'Agglutination.....	85
a) Domaine d'application.....	85
b) Principe.....	85
c) Mode Opérateur « test au rose Bengale ».....	86
d) Limite de diagnostic.....	86
2.3.2.4 Test de fixation de complément.....	86
a) Domaine d'application.....	86
b) Principe.....	86
c) Mode Opérateur.....	87

2.4. Analyse des données et Méthodes statistiques.....	89
IV. Résultat.....	90
1. Description du troupeau.....	90
2. Résultat de l'étude de l'herpès virus caprin-1	92
2.1 Séroprévalence de l'herpès virus caprin	92
2.1.1 Séroprévalence globale.....	92
2.1.2 Séroprévalence troupeaux.....	92
2.2 Étude des facteurs de risques.....	93
2.2.1 La région	93
2.2.2 système d'élevage	94
2.2.3 la mixité d'élevage	94
2.2.4 l'âge.....	95
2.3 Étude de réaction croisée avec l'herpès virus Bovin-1.....	97
2.4 Étude de coïnfection avec <i>Brucella</i>	98
2.5 Étude de la relation entre la présence ou non d'avortements et la séroposativité vis à vis CpHV-1 et <i>Brucella</i>	98
3. Résultat de l'étude de <i>Neospora caninum</i>	99
3.1. Étude de la séroprévalence.....	99
3.1.1 La séroprévalence Globale.....	100
3.1.2 La séroprévalence régionale.....	101
3.2. Étude des facteurs de risques associés à l'infection.....	102
V. Discussion.....	103
1. Population étudiée et représentativité des résultats.....	103
2. Forces et limites de l'étude.....	104
3. Méthodes de diagnostic employées et conditions de travail.....	104
4. Limite des tests sérologiques	105
5. Questionnaire épidémiologique.....	106
6. Étude séro épidémiologique de l'herpès virus caprin.....	106
7. Étude des facteurs de risque liés à la séroposativité vis-à-vis le CpHV-1.....	106
8. Étude Séro épidémiologique de <i>N.caninum</i>	110
Conclusion et recommandations.....	113
Références bibliographiques.....	115
Annexes.....	130

Introduction Générale

Introduction

La reproduction est la pierre angulaire de toutes les filières animales. Ceci est d'autant plus vrai chez les races saisonnées où la moindre erreur peut s'avérer fatale.

L'Algérie a mis en œuvre ces dernières années une politique de renouveau agricole et rural dont la reproduction constitue un volet important de ce programme. Ainsi, l'objectif principal était d'accroître la production nationale et d'avoir des élevages rentables avec une reproduction normale et régulière (MADR, 2010).

Face aux défis se trouvent plusieurs contraintes comme les maladies abortives, diverses causes infectieuses et non infectieuses sont à l'origine d'avortements, de mortinatalités et des cas d'infertilités compromettant de ce fait les performances d'élevages et aussi toute tentative d'amélioration génétique (Dubreuil *et al.*, 2003).

Chez les caprins les maladies abortives d'origine infectieuse ont fait l'objet de nombreuses études visant à rechercher principalement des pathogènes de première intention tels que : *Brucella sp*, *Chlamydia sp*, *Coxiella burnetii*, *Salmonella sp* (Bendaoud *et al.*, 2016; Hireche, 2014).

Cependant, l'implication de certains pathogènes chez les caprins n'a jamais été abordé comme l'*herpèsvirus caprin 1* et *Neospora caninum*, pourtant ces deux pathogènes présentent d'importantes conséquences cliniques, épidémiologiques, économiques et commerciales car elles entraînent des avortements et de l'infécondité et surtout capable d'établir une infection latente avec excrétion lors d'une réactivation.

Ce qui permet de les conserver durant toute la vie de l'animal infecté et de les maintenir dans la population hôte (Six *et al.*, 2001; Dubey and Dubey, 2003; Chénier *et al.*, 2004; Dubey *et al.*, 2007; Nasir *et al.*, 2012)

Devant l'impérieuse nécessité d'accroître la productivité des animaux et d'établir des stratégies de lutte contre les maladies abortives. Il est important d'entreprendre d'autres recherches et d'élargir la gamme d'analyses afin d'établir un diagnostic plus sûr et agir plus efficacement.

L'objectif de ce travail est de faire une enquête sérologique visant à évaluer le statut immunitaire d'un cheptel de caprins vis-à-vis de l'*herpèsvirus caprin* et de *Neospora caninum*

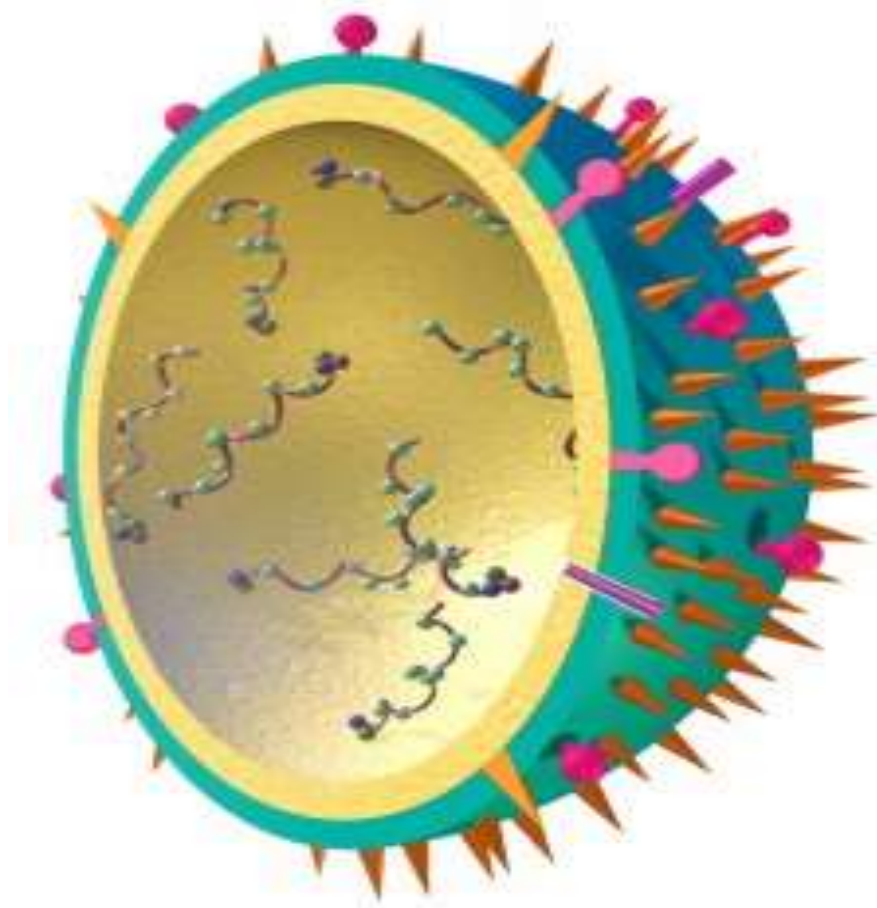
Notre travail est subdivisé en deux parties : nous présenterons dans un premier temps une synthèse bibliographique qui aborde la biologie de l' *herpèsvirus caprin 1* et de *Neospora caninum* : nous rappelons leurs structures, leurs classifications et propriétés, ainsi que la réponse immunitaires vis-à-vis ces deux pathogène.

Dans la deuxième partie, nous décrivons le déroulement de notre enquête séro-épidémiologique sur les infections à *herpèsvirus caprin* et *Neospora Caninum* , menée durant la période s'étalant du mois février à Aout 2017 chez des troupeaux de caprins de différentes Wilayas d'Algérie, , le protocole expérimental sera détaillé et les résultats seront exposés puis discutés , enfin nous terminerons ce mémoire par une conclusion et des perspectives .

Première partie

Synthèse bibliographique

1 *Herpès virus caprin CpHV-1*



1. Importance et Historique

Les *Herpesviridae* ont une importance considérable autant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Ils sont impliqués dans diverses pathologies telles que la rhinotrachéite infectieuse bovine, la maladie d'Aujeszky, la rhinopneumonie équine, l'herpèsvirose canine, la rhinotrachéite féline, l'herpèsvirose caprine...etc.

La famille comporte une centaine de virus affectant l'homme ainsi que plusieurs espèces animales dont les reptiles, les oiseaux, les poissons, les amphibiens, les mollusques et les mammifères (Meurens *et al.*, 2001).

Ils sont classés selon deux systèmes, le premier subdivise la famille en trois sous-familles selon leurs propriétés biologiques : les *Alpha-*, les *Beta-* et les *Gammaherpesvirinae*. Le second, basé sur la structure génomique, scinde la famille en six groupes désignés par les lettres A à F (Meurens *et al.*, 2001; Davison *et al.*, 2009).

Les herpes virus infectant les ruminants appartiennent à deux sous-familles, les *Alpha-* et les *Gammaherpesvirinae* (Engels et Ackermann, 1996; Thiry et Thiry, 2011) (cf. Annexe01).

C'est dans le genre *Varicellovirus* de la sous-famille des *Alphaherpesvirinae*, que l'on retrouve l'*herpès virus caprin de type 1* (King *et al.*, 2011).

Les membres de cette sous famille ont en commun (BLANC, 2002; Cassard, 2003) :

- un large spectre d'hôtes ;
- un cycle de multiplication relativement court ;
- une croissance rapide en culture cellulaire ;
- une destruction efficace des cellules infectées ;
- une capacité à établir une infection latente à vie prioritairement, mais pas uniquement dans les neurones des ganglions sensoriels de la région où a lieu l'infection primaire avec excrétion lors de réactivation. (Jones, 1998)

Historique :

Le CpHV-1 a été isolé pour la première fois en 1972 en Californie, à partir de tissus de chevreaux nouveau-nés présentant une entérite sévère, où il fut classé comme étant un virus appartenant au groupe 6 (BHV-6 Bovid herpesvirus 6)

C'est après une analyse détaillée, qu'il s'est révélé sérologiquement liée à IBR , à une seule différence , c'est qu'il était pathogène pour les caprins mais pas pour les bovins et les ovins , dès lors on l'appelait herpes virus caprin 1 (Engels *et al.*, 1983)

Le même virus a été ensuite isolé (Homer *et al.*, 1982; Tarigan *et al.*, 1987; Cassard, 2003):

- ✓ En suisse, chez des chevreaux atteints d'une infection généralisée ;
- ✓ En Australie et en Nouvelle Zélande chez des adultes présentant une vulvovaginite, une balanoposthite ou chez des chèvres mortes de pneumonie
- ✓ En Norvège, chez un bouc et une chèvre cliniquement sains ;
- ✓ Aux États-Unis, dans des cas d'avortements et chez des chèvres présentant des symptômes respiratoires.

Le CpHV-1 ne doit pas être confondu avec l'*herpès virus caprin 2* (CpHV-2), un virus de la sous famille des *Gammaherpesvirinae*, proche de l'*herpèsvirus ovin 2* et de l'*Alcephaline herpesvirus1*(Gavier-Widen *et al.*, 2012).

2. Taxonomie :

La taxonomie de l'herpèsvirus caprin se résume dans le tableau ci-dessous :

Tableau 01 : Taxonomie de l'herpès virus caprin-1(King *et al.*, 2011; Murphy *et al.*, 2012)

Ordre	<i>Herpesvirales</i>
Famille :	<i>Herpesviridae</i>
Sous famille :	<i>Alphaherpesvirinae</i>
Genre :	<i>Varicellovirus</i>
Espèce :	<i>Herpesvirus Caprin 1</i> (CpHV-1)

3. Caractéristique de la particule virale :

3.1 Morphologie :

Les *Herpesviridae* ont tous la même morphologie. Au microscope électronique la particule virale apparaît sphérique avec un diamètre variable selon l'espèce.

Les virions du CapHV-1 mesurent entre 145-150 nm (Thiry et Thiry, 2011), chaque virion comprend (Galais-Duhamel, 2006; Thiry *et al.*, 2006):

- ✓ Un ADN bicaténaire linéaire ;
- ✓ Une capsid, qui mesure entre 100 et 110 nm de symétrie icosaédrique, entourée d'un tégument de nature protéique (assemblage amorphe de diverses protéines) ;
- ✓ Une enveloppe : constituée d'une double couche lipidique au sein de laquelle les glycoprotéines virales sont ancrées.

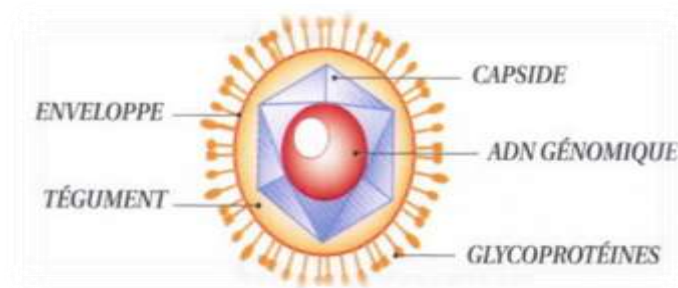


Figure 01 : Représentation schématique d'un herpèsvirus

3.2 Organisation du génome

Le génome des herpèsvirus est classé en fonction de son arrangement génomique terminal et de ses séquences répétées internes en 6 groupes désignés par les lettres A à F (Galais-Duhamel, 2006).

Le CpHV-1 fait partie du groupe D, qui consiste en une molécule d'ADN bicaténaire d'environ 130 à 150 kbp, qui se circularise immédiatement après la décapsidation, dans le noyau (Cassard, 2003).

Ainsi, il contient dans son arrangement deux unités (Thiry *et al.*, 2006) (figure 02):

- Une unité courte (U_S) située entre 2 séquences répétées (Internes IR et terminales TR) ;
- Une unité longue (U_L).

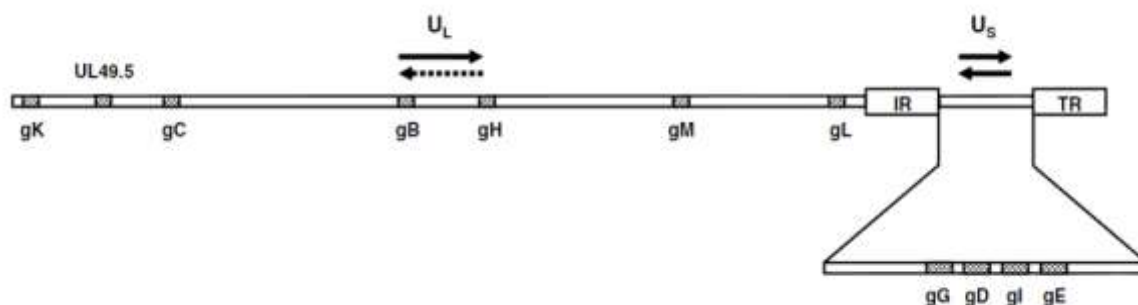


Figure 02 : Organisation du génome des Alphaherpèsvirus des Ruminants

Les principales caractéristiques génomiques du CpHV-1 et des herpèsvirus qui lui sont apparentés sont résumés dans l'annexe 02.

3.3 Glycoprotéines et facteur de virulence (Bolon, 2003; Muylkens *et al.*, 2003; Thiry, Keuser, Muylkens, *et al.*, 2006)

Les glycoprotéines jouent un rôle important dans les interactions entre les virus et les cellules cibles, elles sont impliquées dans les différentes étapes du cycle viral telles que : l'attachement, la fusion, la pénétration, la maturation et l'excrétion.

Elles constituent une cible importante de la réponse immunitaire, certaines d'entre elles sont très immunogènes ce qui explique leur utilisation comme composant de vaccin ou des cibles de test de diagnostic.

Chacune de ces glycoprotéines, est qualifiée comme essentielle ou non essentielle selon qu'elle est indispensable ou non à la multiplication virale en culture cellulaire. En général , les « non-essentielles » ont un rôle plus important dans la pathogénie *in vivo*.

Cependant , une glycoprotéine n'est dite majeure que si elle est présente en grande quantité sur l'enveloppe du virion et mineure si elle l'est en faible quantité , de ce fait le caractère majeur à une relation directe avec le pouvoir immunogène (Bolon, 2003).

Les glycoprotéines gB, gC et gD, sont très immunogènes et sont qualifiées de majeurs alors que gE, gG, gH, gI, gK, gL et gM sont classées dans la catégorie des protéines mineurs (Baranowski *et al.*, 1996).

Les caractéristiques ainsi que les principales glycoprotéines des Alphaherpèsvirus sont représentés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Propriétés des glycoprotéines des Alphaherpèsvirus

gp¹	Gène	Ancien Nom	Caractères	Propriétés
gB	UL27	Gi	Essentielle, conservée - Majeure	Attachement, pénétration, propagation de cellule à cellule, fusion, neurovirulence, immuno-évasion
gC	UL44	gIII	Non essentielle, variable - Majeure	Attachement, interaction avec le système du complément (Récepteurs héparine-like, complément (C3b), Mais sans influence sur la virulence du virus , elle détermine les cellules cibles et donc les espèces cibles
gD	US6	gIV	Essentielle, conservée - Majeure	Attachement, pénétration, passage de cellule à cellule, fusion, immuno-évasion
gE	US8	/	Non essentielle,	Passage de cellule à cellule, dissémination, neuroinvasion, neurovirulence, immuno-évasion Elle forme un complexe avec la glycoprotéine gI qui pourrait être nécessaire au transport interneuronal
gI	US7	/	Non essentielle,	Passage de cellule à cellule, dissémination, neuroinvasion, neurovirulence, immuno-évasion Associée à la gE elle permet la fusion de deux cellules
gH	UL22	gII	Essentielle, hautement conservée,	Pénétration, formation de syncytia .Forme un complexe avec gL qui permet la propre fabrication de gH et son transport intracellulaire ainsi que l'ancrage de gL dans la membrane cellulaire
gL	UL1	/	Essentielle, hautement conservée,	Pénétration, formation de syncytia est associée à gH dans un complexe gH/gL
gG	US4	gX	Non essentielle - Mineure	Passage de cellule à cellule en agissant indépendamment de la glycoprotéine gE, neurovirulence, protéine soluble de liaison à la chimiokine
gK	UL53	/	Essentielle Mineure	Formation de syncytia, passage de cellule à cellule, neurovirulence Elle intervient dans le transport intracellulaire vers la surface de la cellule des composants viraux contrôlant le processus de fusion cellulaire
gM	UL10	/	Non essentielle, conservée Mineure	Non essentielle, sortie du virus, passage de cellule à cellule, neurovirulence Elle influence la fluidité membranaire et donc favorise l'entrée et la sortie

3.4 Propriétés biologiques

Les herpes virus de ruminants partagent des propriétés biologiques communes (Chevanne, 2014):

1. Leur génome code pour plusieurs enzymes impliqués dans le métabolisme des acides nucléiques (exigeant une ADN polymérase virale) et dans la modification de diverses protéines virales (cf. Tableau 03);
2. la synthèse de l'ADN viral et l'assemblage des capsides se réalisent à l'intérieur du noyau de la cellule infectée ;
3. ils sont capables d'établir une infection latente : le génome viral se circularise et persiste sous la forme épisomale dans le noyau de la cellule infectée ;
4. la production de virions s'accompagne toujours de la mort cellulaire.

Tableau 03: les différents enzymes codés par le génome des Alphaherpèsvirus (Muylkens *et al.*, 2003)

Enzymes	Gène	Fonction
Thymidine kinase	UL23	Phosphorylation de la déoxythymidine ,Synthèse d'ADN dans les cellules quiescentes
Ribonucléotide réductase	UL39-40	Réduction des ribonucléotides en désoxyribonucléotides. Synthèse d'ADN de novo
Déoxyuridine triphosphatase (dUTPase)	UL50	Hydrolyse de la forme triphosphate de l'uracyle. Génération d'un pool d'UMP, précurseur du dTTP
Uracyle ADN glycosylase	UL2	Clivage des résidus « uracyle » au niveau de la molécule d'ADN néoformée. Protection contre l'avènement d'une mutation par substitution.
Alcaline nucléase	UL12	Activités endo- et exonucléasique essentielles pour la maturation et l'encapsidation de l'ADN

3.5 Propriétés physico –chimiques (Chiaruzzi, 2000; Callan et Van Metre, 2004; Galais-Duhamel, 2006)

Étant donné que les herpesvirus sont des virus enveloppés, ils sont automatiquement sensibles aux détergents qui détruisent l'enveloppe phospholipidique externe tels que : les dérivés phénoliques, l'éther, le chloroforme, l'ammonium quaternaires et le formol.

Quant à l'inactivation virale, elle dépend de :

- ✓ la température (cf. Tableau 04)
- ✓ du pH : le virus est sensible aux pH inférieurs à 4 et supérieurs à 10
- ✓ de la lumière : le virus est inactivé par le rayonnement UV 10 minutes à 11 cm.

Toutefois le virus reste résistant aux fortes hygrométries, avec une humidité relative proche de 90%.

Tableau 4 : Sensibilité des herpès virus en fonction de la température et du temps (Chiaruzzi, 2000)

Températures	Modification du titre	Durée
-70°C	Aucune	7mois
-60°C	Titre inchangé	9mois
-20°C	Perte de 3 log	7mois
+4°C	Aucune	30 jours
	Perte d'1 log	40 jours
+22°C	Aucune	3 jours
	Perte d'1log	5jours
	Perte de 2 log	19jours
	Inactivation complète	50 jours
+37°C	Perte de 3 log	5 jours
	Inactivation complète	10 jours
+56°C	Inactivation complète	Entre 15 et 45 min
+65°C	Inactivation complète	4 minutes

4. Cycle infectieux (Chiaruzzi, 2000; Bolon, 2003; Cassard, 2003; Muylkens *et al.*, 2003; Costes *et al.*, 2007; Delost, 2011)

La majorité des études consacrées à la compréhension du cycle de multiplication des *Alphaherpesvirinae* ont été menées à partir de l'HSV-1, Ces données sont le plus souvent transposables aux autres espèces d'herpès virus. Le cycle de multiplication du CpHV-1 sera ici décrit dans le cadre général des herpès virus.

Les herpès virus peuvent établir deux types d'interaction avec les cellules hôtes : une infection dite productive ou lytique et une infection latente.

4.1. L'infection lytique :

Le cycle lytique se déroule généralement dans les cellules épithéliales de la porte d'entrée, lors de la primo-infection(Engels and Ackermann, 1996), Au cours de cette phase, le virus est répliqué et les particules virales sont produites selon les étapes suivantes :

a) Fixation du virus sur la cellule cible et pénétration (Muylkens *et al.*, 2003):

La première étape de l'infection productive consiste en l'attachement labile du virus à la surface cellulaire, mettant en jeu les glycoprotéines B et C et des récepteurs cellulaires tels que les sulfates d'héparine ou de chondroïtine.

Un attachement de haute affinité survient ensuite et implique la glycoprotéine D et des récepteurs cellulaires spécifiques Hve (Herpesvirus entry) : ces récepteurs ont été répartis en quatre classes (de Hve A à D) : l'Hve A est un membre de la famille des récepteurs au TNF (Tumor Necrosis Factor) , HveB, C et D sont des protéines appartenant à la superfamille des immunoglobulines .

C'est grâce à trois autres glycoprotéines :gB ,gH et gL, que le virus va pouvoir entrer dans la cellule par fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire , libérant ainsi la nucléocapside et le tégment dans le cytoplasme .

Avec la collaboration de la protéine UL34 virale et les microtubules, la nucléocapside arrivera à atteindre le noyau, le lieu de la réplication virale.

Une fois sorti de la capsid l'ADN virale se circularise, la réplication peut maintenant commencer

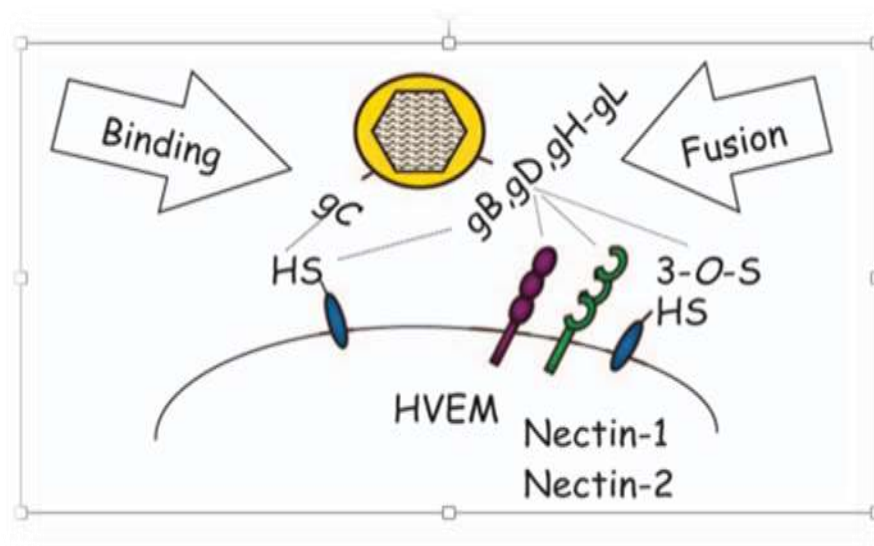


Figure 03 : Récepteurs cellulaire et leurs ligands viraux participant dans l'entrée du virus (Spear, 2004)

b) *Synthèse des composants du virion :*

Lors d'une infection lytique, c'est-à-dire lors d'une infection d'une cellule autre que nerveuses, l'expression des gènes se fait d'une façon séquentielle, ordonnée et différé dans le temps, aboutissant en quelques heures à la production de nouvelles particules infectieuses et à la mort cellulaire (Honess and Roizman, 1975).

On distingue trois types de protéines virales en fonction de leur ordre d'apparition (Jones *et al.*, 2006; Saydam *et al.*, 2004, 2006; Schwyzer and Ackermann, 1996) :

- les protéines précoces immédiate alpha « Immédiate-Early, IE » :

la transcription de ces gènes est initiée grâce à l'interaction de la protéine virale du tégment VP 16 avec la protéine cellulaire transactivatrice oct-1. Cette association va permettre de coder pour des protéines de régulation comme : la BICP0, la BICP4 et la BICP22, permettant ainsi le bon enchaînement des différentes étapes et l'activation de la synthèse des protéines E

- les protéines précoces beta « Early, E » :

Concerne les protéines ayant un rôle dans la synthèse des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN (thymidine kinase, ADN polymérase) et aussi dans l'activation de la transcription des gènes tardive

- les protéines tardives gamma « Late, L » :

Le principal rôle de ces protéines est la synthèse des protéines structurales composant la capsid, le tégment et l'enveloppe

Cependant, il faut bien noter que la transcription et la traduction des gènes IE et E ont lieu avant la réplication de l'ADN, contrairement aux gènes tardifs, qui eux ne sont transcrits et traduits qu'après la synthèse d'ADN (Protéines de structure).

c) *Transcription –réplication de l'ADN :*

L'ADN viral se réplique par un mécanisme de cercle roulant « rolling-circle ». Ceci génère des concatémères, longues molécules d'ADN constituées de plusieurs unités génomiques liées bout à bout de façon covalente. Ces derniers sont clivés par une activité endonucléasique en unités génomiques simples pendant l'encapsidation (Roizman and Sears, 1987).

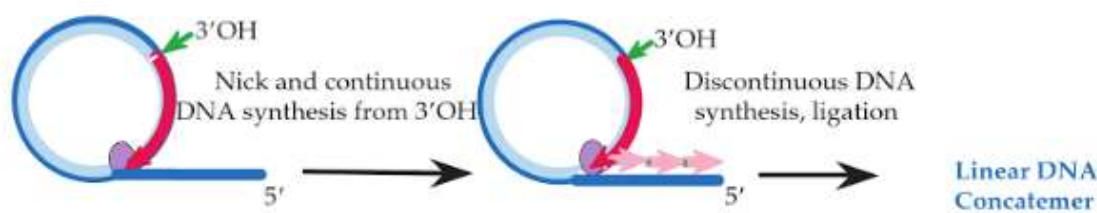


Figure04 : Réplication de l'ADN selon le mécanisme de cercle roulant (Strauss and Strauss, 2007)

d) *Maturation :*

Les protéines de la capside, une fois synthétisées, se dirigent vers le noyau de la cellule pour s'y assembler et encapsider l'ADN génomique néoformé

e) *Libération des virons :*

Le bourgeonnement à travers les deux feuilletts de la membrane nucléaire permet au virion d'acquérir une enveloppe, dans laquelle des protéines virales sont intégrées..

Contrairement à de nombreux autres virus, les virions ne sont pas libérés de manière efficace dans l'espace extra cellulaire aussitôt leur bourgeonnement effectué, ils se fixent et pénètrent dans les cellules voisines (Schaechter *et al.*, 1999).

La durée du cycle des *Alphahepesvirus* est en moyenne moins de 20 heures, à la fin de ce cycle les cellules sont lysées avec de nouvelles particules virales néoformées. Le virus peut être excrété par voie oculaire, nasale et génitale (Donofrio *et al.*, 2013).

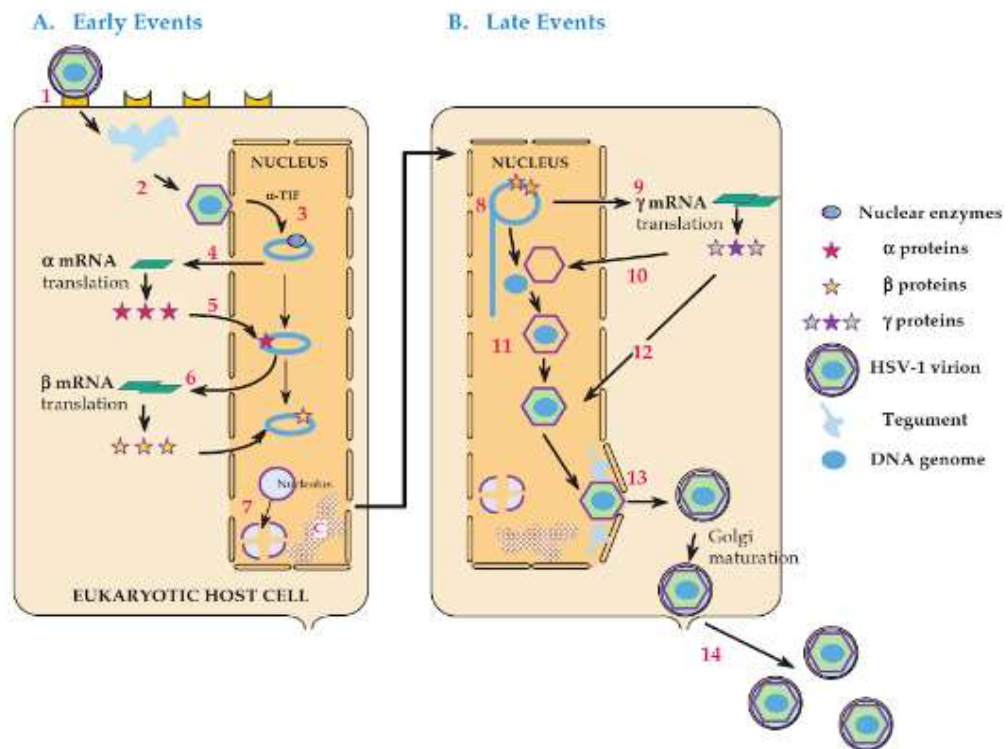


Figure05 : Cycle de multiplication d'un herpèsvirus (Strauss and Strauss, 2007)

4.2. Cycle latent :

Après l'infection primaire le virus rentre en latence , Le génome viral se circularise et reste sous forme d'épisome dans le noyau de la cellule infectée (Le génome s'associe à des protéines histones), un nombre limité de gènes est exprimé (cette diminution d'expression est sous contrôle du gène LAT) ,Les lieux de latence sont les ganglions nerveux, en particulier le ganglion trijumeau , si le site primaire est les muqueuse respiratoire et le ganglion sacré ,si le site d'infection est l'appareil génital.(Tempesta *et al.*, 1999; Thiry, Keuser, Muylken, *et al.*, 2006; Camero *et al.*, 2010a)

La latence permet au virus de s'échapper à la réponse immune de l'hôte et de persister sous une configuration génomique qui autorise sa réactivation et sa dissémination.

Pendant la latence l'animal ne présente aucun signe clinique, seuls les tests sérologiques peuvent mettre en évidence le contact antérieur avec le virus.

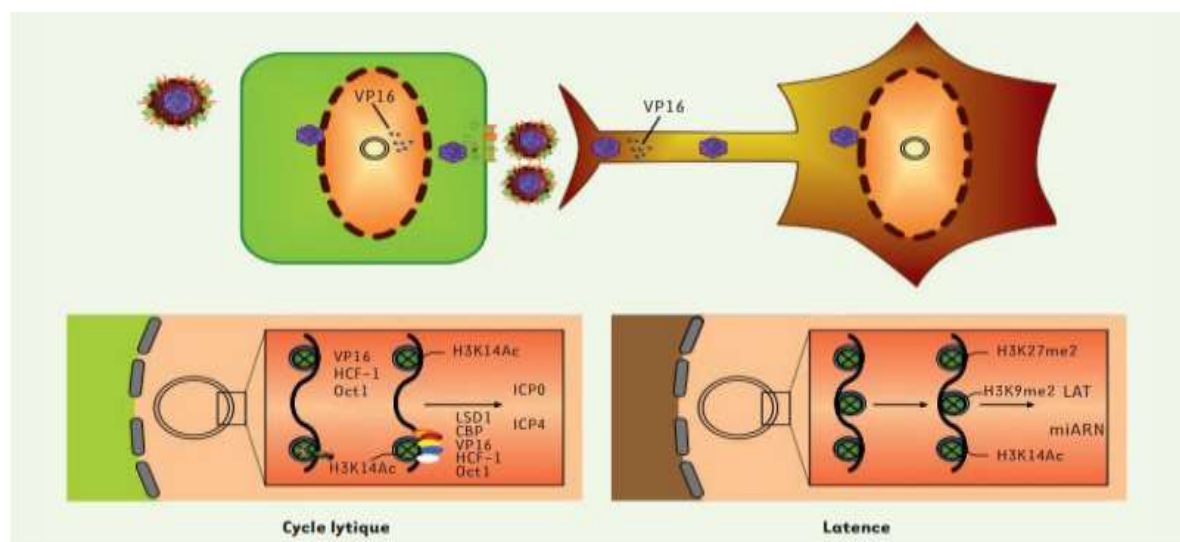
4.3. Régulation des cycles infectieux :

Le contrôle des premières étapes du cycle infectieux est primordial pour l'orientation vers une infection lytique ou latente (Piette *et al.*, 1998)

Deux faits majeurs distinguent l'infection latente de l'infection lytique : l'absence d'expression des gènes lytiques et l'expression du gène LAT.

Durant le cycle lytique, l'expression des gènes viraux se fait en cascade, la première étape consiste en la fixation du complexe ternaire VP16/HCF1/OCT1, associé à des histones acétyltransférases (CBP) et des déméthylases (LSD1), sur les promoteurs des gènes viraux très précoces, ce qui empêche la formation d'hétérochromatine répressive et activant l'expression des protéines très précoces. À ce stade peu de nucléosomes sont associés au génome viral.

En revanche durant le cycle de latence, c'est-à-dire au niveau des neurones sensitifs, le VP16 n'est pas efficacement transportée le long des axones et n'arrive pas aux noyaux, le complexe VP16/HCF1/OCT1 ne peut pas se former, Le génome viral s'associe alors à des nucléosomes ce qui donne lieu à une chromatine compacte, empêchant l'expression des protéines très précoces, dans ce cas seul le gène LAT (latency associated transcripts) est exprimé. (Aranda and Epstein, 2015)



Légende : L'interaction du complexe ternaire VP16/OCT1/HCF1 avec les promoteurs des gènes très précoces favorise l'association de ceux-ci avec des histone acétyltransférases (CBP, et LSD1) celles-ci modifient ces histones, et favorise ainsi la transcription et la synthèse des protéines très précoces **CBP:**CLOCK [circadian locomotor output cycles kaput] ;**LSD1:** lysine specific déméthylases ; **HCF :** host cell factor 1 ; **OCT1** octamer binding protein 1 ; **(ICP0,ICP4)** :protéines précoces virales ;H3K14Ac : euchromatine ;

Figure 06 : Régulation des cycles infectieux (Aranda and Epstein, 2015)

5. Pathogénie :

L'*herpèsvirus* caprin est étroitement apparenté au BHV- et partage le même tropisme pour les cellules épithéliales et nerveuses (Thiry, 2002)

La pathogénie du BHV-1 a été très bien décrite, contrairement à celle du CpHV-1, c'est pourquoi nous adopterons le BHV-1 comme modèle, tout en mentionnant les particularités connues (Cassard, 2003).

5.1. Primo –infection :

Les *Herpesviridae* sont souvent fragiles dans le milieu extérieur, surtout à de fortes températures, on observera alors plus de contaminations lors de la saison froide. Le mode de transmission est souvent par contact étroit entre les animaux (Delost, 2011).

Les caprins se contaminent par voie nasale ou génitale, mais on suggère que la transmission vénérienne peut être la voie principale d'entrée du virus et du maintien de l'infection dans un troupeau (Thiry, 2002; Donofrio *et al.*, 2013).

En effet des travaux ont montré que même si le virus a été inoculé par voie intranasale, l'excrétion virale est beaucoup plus importante par voie génitale que par voie nasale, les résultats de cette étude ont conduit à émettre l'hypothèse que la principale cible du CpHV-1 était le tractus génital. (Tempesta *et al.*, 1999).

5.1.1 Pénétration dans l'organisme

Le CpHV-1 pénètre dans l'organisme à travers la surface des muqueuses respiratoire et/ou génitales, la multiplication primaire du virus se fait au niveau des cellules épithéliales des muqueuses de la porte d'entrée, ce qui entraîne une lyse cellulaire. À ce stade, le virus est excrété à des titres élevés. C'est la réponse immune spécifique de l'hôte qui provoquerait l'arrêt de l'excrétion primaire, en 1 à 2 semaines (Pastoret *et al.*, 1994).

5.1.2 Dissémination dans l'organisme :

La dissémination du virus dans l'organisme se fait suivant 3 voies :

5.1.2.1 La voie sanguine :

Après l'entrée du virus dans l'organisme, l'hôte développe une primo-infection qui donne lieu à la dissémination du virus par une virémie associée aux cellules mononuclées, qui peut mener à une

infection généralisée et l'avortement par passage de la barrière placentaire (Thiry, 2002; Smith and Sherman, 2011).

la dissémination virale semble dépendre de la voie d'entrée: l'infection systémique se produit seulement après infection orale ou nasale et non après une infection génitale (Thiry, 2002; Smith and Sherman, 2011).

5.1.2.2 La voie nerveuse :

En se multipliant au niveau de la muqueuse, les herpes virus atteignent la terminaison des nerfs périphériques du site initiale de l'infection, et remontent par voie axonale rétrograde jusqu'au ganglion nerveux régional où il s'installe à l'état latent (Engels and Ackermann, 1996).

5.1.2.3 La voie intercellulaire :

Le virus peut également se propager par fusion d'une cellule infectée avec une cellule voisine sans passage par le milieu extracellulaire, cette voie de transmission constitue un mécanisme important d'échappement à la réponse immune surtout lors de la réactivation d'un virus latent chez un animal immunisé (Engels and Ackermann, 1996).

5.2. Réactivation :

Le CpHV-1 semble être principalement réactivé pendant les périodes de reproduction. Le stress et les modifications hormonales durant l'œstrus chez la femelles pourraient être à l'origine de la réactivation (Koptopoulos *et al.*, 1988; Tempesta *et al.*, 1998).

Suite à la réactivation, de nouvelles particules virales sont synthétisés et peuvent être réexcréter, le taux de ré-excrétion virale est influencé de manière déterminante par l'immunité spécifique de l'animal.

6. Symptômes et lésions :

6.1. Chez le chevreau (Grewal and Wells, 1986; Bolon, 2003; Cassard, 2003; Thiry and Thiry, 2008a; Camero *et al.*, 2010b):

Les chevreaux expriment la forme la plus sévère de la maladie, il s'agit d'une infection systémique aigue et fatale, caractérisée par la présence de foyer de nécrose dans plusieurs organes et tissus.

La forme généralisée est surtout observé chez les animaux infectés de moins de 3 mois , le plus souvent âgés d'une à 2 semaines , et ce en absence d'anticorps maternelles (Murphy *et al.*, 1999; Radostits *et al.*, 2006).

Les chevreaux atteints sont faibles, anorexiques et présentent de l'hyperthermie associés à des symptômes à prédominance digestive, des signes de coliques sont visibles. Le contenu intestinal est liquide, à la percussion et à la palpation.

Après manipulation, l'animal émet des matières fécales aqueuses, jaunâtres et parfois striées de sang, sans vraie diarrhée.

On peut observer aussi une conjonctivite, des sécrétions nasales séreuses à purulentes, de la dyspnée accompagnée de la tachypnée, de la tachycardie, un œdème du myocarde, une cyanose des muqueuses, des lésions ulcératives buccales, nasales et cutanées.

Les chevreaux meurent 1 à 5 jours après le début de l'infection, précédée d'un état comateux. Le taux de létalité est proche de 100%.

À l'autopsie le myocarde est œdémateux, des lésions inflammatoires et nécrotiques de la muqueuse, parfois hémorragiques, sont réparties sur l'ensemble du tractus gastro intestinal (figure7).

Au niveau de la cage thoracique, une pneumonie interstitielle non purulente peut être observée.



Figure 07 : Lésion de l'intestin grêle chez un chevreau (Thiry and Thiry, 2008a)

6.2. Chez l'adulte

Chez les adultes l'infection est le plus souvent subclinique , mais lorsqu'elle se manifeste, elle se traduit par, des vulvovaginites, des avortements ,des balanoposthites, et parfois de légère détresse respiratoire (Gavier-Widén *et al.*, 2012; McVey *et al.*, 2013).

Trois formes de symptômes peuvent exister :

6.2.1 La forme génitale :

C'est la forme la plus retrouvée, Chez les femelles, les signes cliniques rappellent ceux de la vulvovaginite infectieuse pustuleuse de BHV-1. Les muqueuses vulvaires et vaginales sont érythémateuses et œdématiées.

La réplication virale et la mort cellulaire qui s'ensuit provoquent l'apparition de papules, de vésicules, de pustules ou d'ulcères au niveau du vagin et de la vulve. Elle s'accompagne d'écoulements vulvaires, parfois mucopurulants (figure 08). Chez le bouc, des lésions similaires sont observées au niveau du pénis et de prépuce (figure 09) (Candanosa Aranda *et al.*, 2011) .

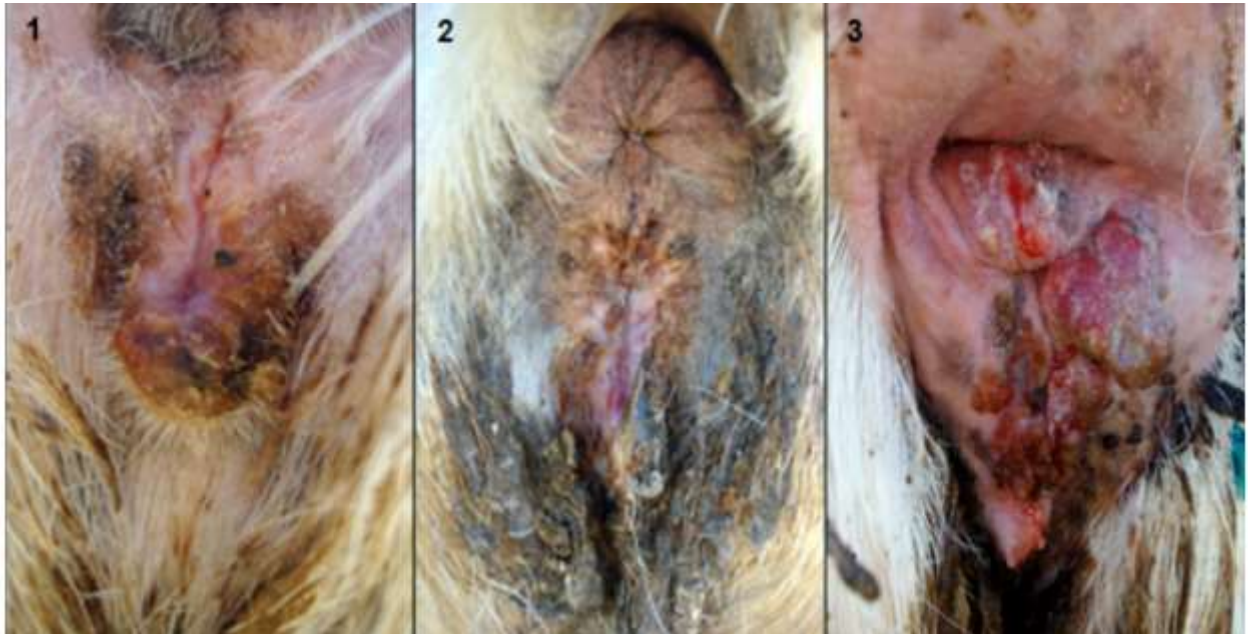


Figure 08 : Vuvlvovaginite due au CpHV1(Candanosa Aranda *et al.*, 2011)

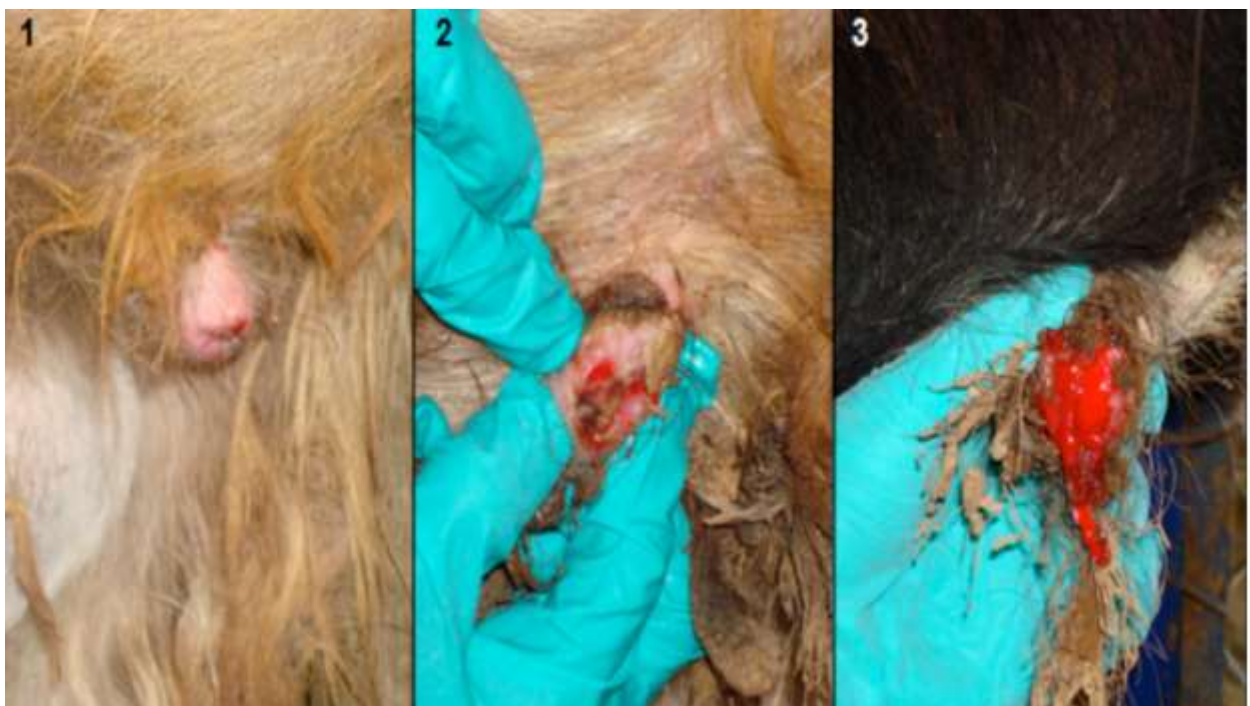


Figure 09: Balanoposthite due au CpHV1 (Candanosa Aranda *et al.*, 2011)

6.2.2 Forme respiratoire :

Une pneumonie aiguë, associée au CpHV-1 et à *Mannheimia haemolytica*, a été décrite chez la chèvre adulte, mais elle est très rarement observée.

L'hépatisation rouge est localisée aux lobes cranio-ventraux du poumon. Elle s'accompagne parfois d'une exsudation pleurale fibrineuse(Thiry and Thiry, 2008a).

6.2.3 Forme abortive,

Même si l'infection est souvent asymptomatique , le CpHV-1 est considéré comme cause principale d'avortements chez les caprins (McVey et al., 2013).

Les avortements provoqués par le CpHV-1 se produisent durant la deuxième moitié de la gestation, la plupart survenant peu avant la parution, sans aucun autre signe clinique. Chez le fœtus les lésions macroscopiques sont absentes, cependant l'examen histopathologique du foie, des poumons et de la rate révèle une nécrose multifocale.

7. Réponse immunitaire :

Comme tous les pathogènes, la première ligne de défense de l'organisme face à une infection par les herpesvirus est la réponse immune non spécifique puis spécifique.

Dans le cas de l'infection à CpHV-1 les défenses de l'hôte vont seulement limiter la durée et la sévérité de l'infection, mais elles ne parviendront jamais à éliminer complètement le virus.

Cependant, les trois réponses immunitaires qui vont permettre à l'animal de surmonter l'infection sont :

- a) la réponse non spécifique, cellulaire, avec l'action des polynucléaires neutrophiles et la production précoce de cytokines ;
- b) la réponse spécifique cellulaire au cours de laquelle interviennent les lymphocytes T ;
- c) la réponse spécifique humorale faisant intervenir les lymphocytes B.

7.1 Réponse Immunitaire non spécifique

7.1.1 Les récepteurs de l'immunité innée, les PRRs

La détection des alphaherpèsvirus par les cellules de l'immunité innée se fait au moyen des récepteurs PRR qui reconnaissent des motifs moléculaires caractéristiques du virus, les PAMP. Parmi ces PRR on retrouve :

- Les PRR membranaires ou PRR endocytiques :

Tels que :

Le TLR 2 : qui peuvent reconnaître et lier les glycoprotéines virales lors de l'attachement, le TLR9 et le TLR 3, situés au niveau des endosomes, reconnaissant les acides nucléiques. (Le TLR 9 reconnaît l'ADN viral double brin et le TLR3, reconnaît l'ARN doubles brins intermédiaires).

L'activation du TLR par son ligand spécifique, permet le recrutement des molécules adaptatrices telles que : MyD88, TRIF, ce qui mène à la formation de complexes protéiques qui activent à leur tour les facteurs de transcription NF- κ B et IRF3-IRF7, dont le rôle est la modulation de gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires, pour les interférons de type 1, ou encore les molécules de co-stimulation indispensables pour activer la réponse adaptative (Ma and He, 2014)

- Les PRR cytoplasmiques :

Tels que le RIG-I et MDA5, impliqués dans la reconnaissance des ARN viraux .

L'activation de RIG par son ligand entraîne une cascade de signalisation médiée par la protéine mitochondriale MAVS aboutissant à l'activation de facteurs de transcription tels que NF- κ B et IRF3 et à la synthèse d'IFN de type 1 et de cytokines inflammatoires.

On retrouve aussi les récepteurs cytoplasmique NLR, qui après la reconnaissance des signaux de danger et des molécules d'ADN viral, activent l'assemblage des constituants de l'inflammasome, , il y a alors un recrutement de la protéine adaptatrice ASC (Apoptosis-associated Speck-like containing a CARD domain) puis la protéine effectrice la caspase-1.

La caspase-1 clive la pro-IL-1 β et la pro-IL-18 en IL-1 β et -IL-18, il en résulte des molécules hautement inflammatoires, qui stimulent la production de TNF, de chimiokines et d'IFN- γ (Ma and He, 2014) (Figure 10).

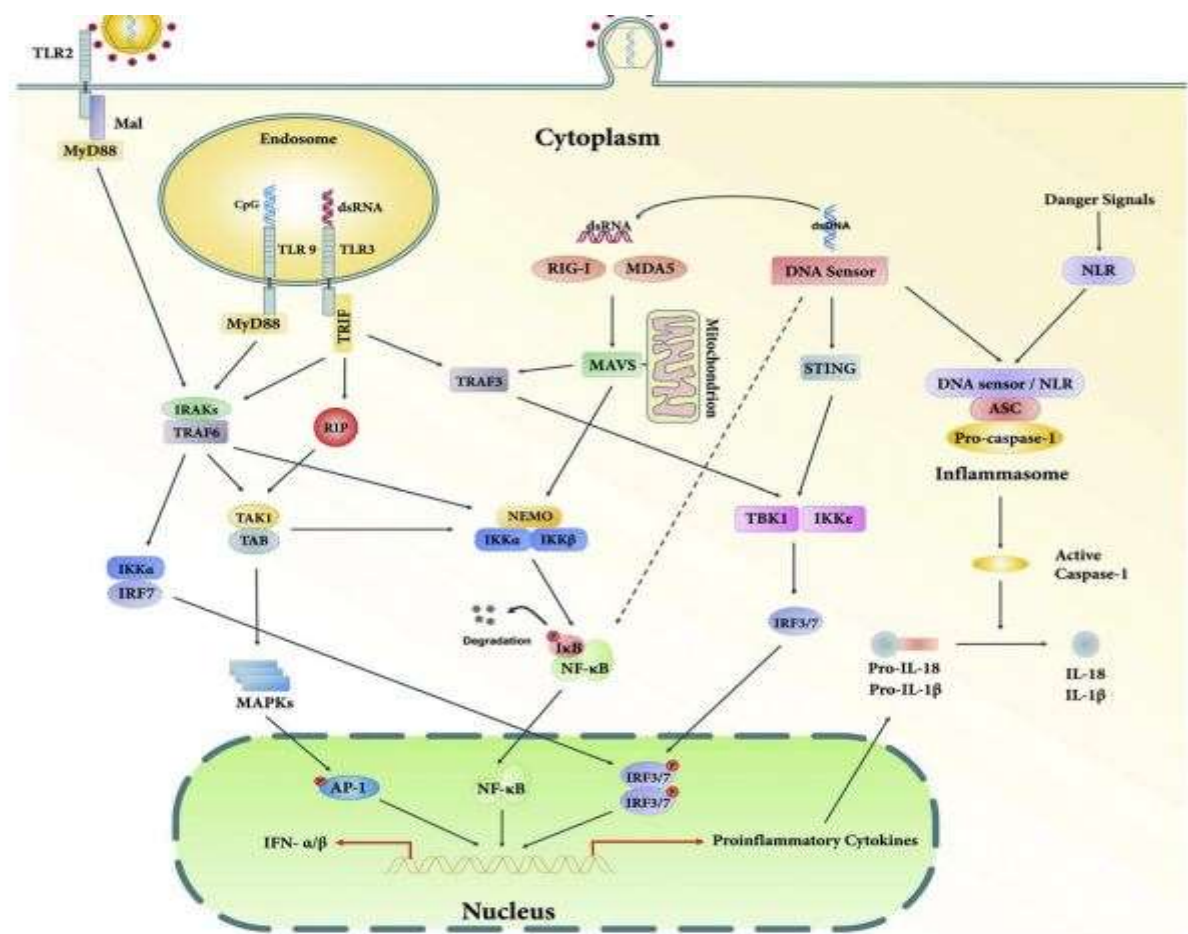


Figure 10: Aperçu de la reconnaissance du HSV par l'immunité innée (Ma and He, 2014)

7.1.2 Déroulement de la réponse immune non spécifique

En général, en réponse à l'infection, une réaction inflammatoire et cellulaire se met en place, il y a sécrétion rapide de cytokines.

Les cytokines ont comme action de recruter et d'activer les leucocytes, de stimuler la phagocytose et l'activité cytotoxique des cellules immunitaires ainsi que la production de radicaux libres.

Les interférons α et β , sont produits par les macrophages et les fibroblastes dès la cinquième heure post infection, leur concentration atteint un pic 36 à 72 heures post infection et reste élevée jusqu'à ce que le virus cesse de se répliquer. Ils sont indispensables à l'initiation de la réponse inflammatoire spécifique. La vitesse et l'amplitude de sécrétion de ces derniers jouent un rôle capital dans la capacité de l'hôte à se défendre contre l'infection virale (Bolon, 2003; Cassard, 2003).

Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine 1β et le TNF α avec l'IFN, sont libérées par les macrophages alvéolaires et les pneumocytes, ils induisent un syndrome fébrile, une réaction inflammatoire ainsi qu'une infiltration parenchymateuse pulmonaire par les polynucléaires neutrophiles. Elles entraînent également l'expression de molécules d'adhésion ICAM 1 par les cellules endothéliales, permettant l'adhésion des neutrophiles (Rivera-Rivas *et al.*, 2009).

Les PNN sont les principaux effecteurs, ils sont rapidement sollicités au niveau pulmonaire après primo infection, leur activité comprend la phagocytose, la synthèse d'interférons et la cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC). (Denis *et al.*, 1994).

Grace aux cytokines précoces Il-1 et Il-6, les cellules du parenchyme pulmonaire et les lymphocytes vont sécréter le GM-CSF : facteur de croissance des granulocytes qui va induire la différenciation des macrophages dès 24h.

Les macrophages alvéolaires interviennent dans la réponse immune par le phénomène de phagocytose, l'ADCC et la présentation de l'antigène au LT.

De plus les LT produisent une cytokine tardive qui provoque un recrutement important des macrophages qui vont participer à limiter la réplication virale avant l'apparition des anticorps. (Delost, 2011).

Les cytokines tardives comme l'interleukine -2 et l'interféron gamma, activent les cellules NK , ces cellules sont capable de reconnaitre et détruire les cellules infectées en ciblant les glycoprotéines gB et gD (Babiuk *et al.*, 1996; Denis *et al.*, 1996).

7.2 Réponse immunitaire adaptative

La réponse immunitaire adaptative est assurée par les deux types de réponses, à médiation cellulaire et humorale.

Les glycoprotéines constituent le support de la réponse immune spécifique, qu'elle soit à médiation cellulaire ou humorale.

7.2.1 Réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire :

La réponse immune cellulaire fait intervenir des macrophages, des cellules NK, des PNN et des lymphocytes LT.

Les LT reconnaissent comme épitopes les glycoprotéines gB, gC, gD et une protéine du tégument VP8, la glycoprotéine gC stimule surtout les lymphocytes T auxiliaire CD4⁺.(Bolon, 2003)

Généralement le taux des T CD4 et des T CD8 atteint le pic 8 à 10 jours après l'infection, ce qui coïncide avec la guérison, ils interviennent donc dans la phase terminale du contrôle de l'infection.

La réponse immune cellulaire est modulée par la sécrétion des cytokines tardives produites par les LT, parmi celles-ci : l'IL-2 et l'IFN γ .En effet IL-2 stimule la prolifération des LT et les cellules cytotoxiques, tandis que IFN γ active les PNN et les NK.

En parallèle, il y'a une destruction des cellules infectées et neutralisation du virus par le complément en association avec les macrophages, les cellules NK et les PNN.

Cependant , il faut noter , qu'au cours d'une réactivation, c'est les PNN qui vont participer à la destruction des cellules infectées via le mécanisme de cytotoxicité dépendante des anticorps ADCC (Bolon, 2003; Cassard, 2003; Delost, 2011).

7.2.2 Réponse immunitaire à médiation humorale :

Les anticorps apparaissent entre 8 et 12 jours. En premier lieu ils sont de type IgM puis IgG, on peut retrouver aussi des IgA au niveau des muqueuses.

Ces derniers vont limiter la propagation du virus dans l'organisme en neutralisant les particules virales extracellulaires, et aussi en jouant un rôle dans le mécanisme des ADCC.

La réponse humorale ne semble pas jouer un rôle prépondérant dans le cas d'une primo infection, cependant lors de la réactivation virale, elle est primordiale (Bolon, 2003; Cassard, 2003; Delost, 2011).

IL faut noter que l'herpès virus caprin et le BHV-1 sont antigéniquement et génétiquement apparentés, ils partagent les mêmes glycoprotéines immunogènes, ce qui explique leur forte réactivité croisée. Cependant cette relation est à sens unique : en effet, les anticorps anti-BoHV1 neutralisent le CpHV1 plus efficacement que les anticorps anti-CpHV1 ne neutralisent le BoHV1 (Ludwig and Gregersen, 1986; Thiry and Thiry, 2011)

7.3 L'immunité envers l'infection du nouveau-né par le CpHV-1, les veaux séronégatifs porteurs latents

Si la mère n'a pas d'anticorps, le chevreau n'a aucune immunité passive, il exprime alors une maladie généralisée, souvent mortelle (Murphy *et al.*, 1999; Radostits *et al.*, 2006).

En parallèle, l'infection d'un animal porteur d'une immunité maternelle spécifique a pour conséquences : le maintien de l'infection dans la population sans expression de la maladie (porteurs latents séronégatifs) avec un phénomène de réactivation et de ré-excrétion (Delost, 2011).

7.4 Échappement à la réponse immune

7.4.1 Échappement à la réponse immune non spécifique

Les Alphaherpèsvirus sont capables de limiter la réponse immunitaire innée et adaptative de l'hôte comme suit :

La première stratégie consiste à contrecarrer les interférons α et β , des études faites par Mossman et Smiley, montrent le rôle des protéines virales ICP0 et ICP34.5 de l'HSV1 dans le blocage des effets antiviraux dépendant des interférons.

En effet, la protéine kinase dépendante des ARN double brin (PKR), est activée en présence des ARN doubles brins viraux. Une fois activée, la PKR phosphoryle la sous-unité alpha du facteur d'initiation de la traduction eIF2 α , bloquant de cette manière la traduction des ARN en protéines dans la cellule hôte. (Muytjens *et al.*, 2003)

La protéine virale ICP34.5 contrecarre l'effet de la PKR en désphosphorylant la sous-unité α du facteur d'élongation de la traduction comme représenté dans la figure 11. (Muylkens *et al.*, 2003)

Aussi la protéine bICP0, réduit l'efficacité de la réponse en interférons de type I, via son action répressive sur les protéines cellulaires **IRF3** et **IRF7** (Jones, 2009)

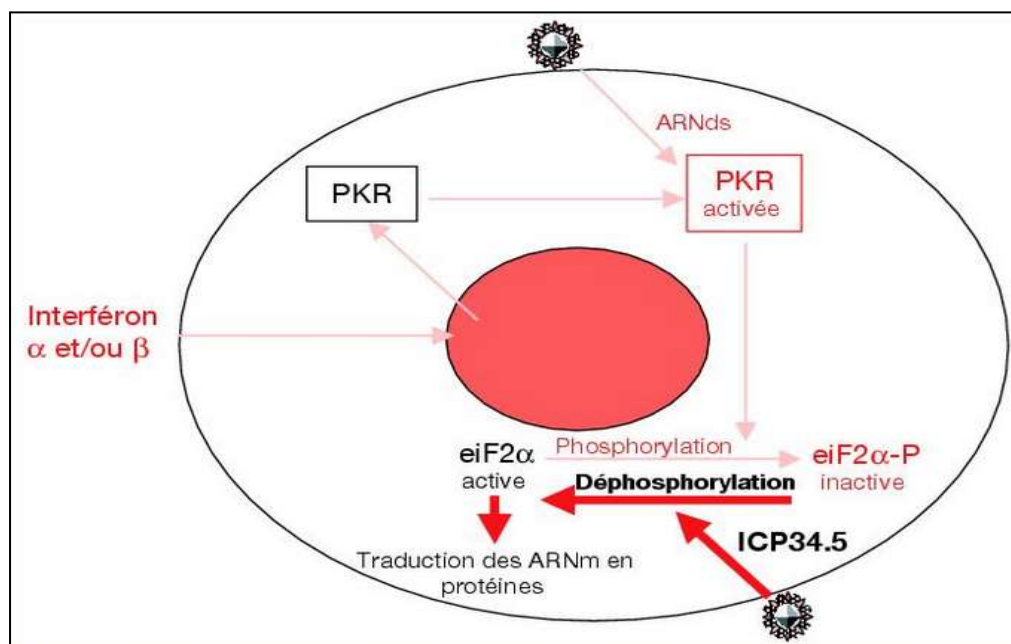


Figure 11 : Rôle de la protéine ICP34.5 dans l'inhibition de la réponse antivirale
Réponse antivirale (flèches rouges).

La deuxième tactique d'échappement au système immunitaire non spécifique se fait grâce à l'interaction de la glycoprotéine C avec le système du complément, ce qui va induire une accélération de la dégradation de la C3 convertase (Muylkens *et al.*, 2003).

7.4.2 Échappement à la réponse immune spécifique

Les autres stratégies utilisées par les alphaherpèsvirus visent à diminuer la reconnaissance des particules virales par le système immunitaire spécifique dans ses composantes humorale et cellulaire :

- Le complexe gE-gI sert de récepteur à la fraction Fc des anticorps circulants. ce qui permet au virus de détourner les opsonines, en effet l'encombrement stérique qui résulte de la capture de ces macromolécules au niveau de l'enveloppe du virus et en surface des cellules infectées joue un rôle protecteur vis-à-vis des cellules immunitaires (Muylkens *et al.*, 2003).

- la protéine UL 49.5 inhibe la fonction de la protéine cellulaire TAP, ceci en bloquant l'assemblage et la présentation des antigènes de classe I par deux mécanismes : le premier est le blocage du transport des peptides par la liaison de l'UL 49.5 sur la région centrale de TAP, le deuxième mécanisme est l'induction la dégradation du TAP par le protéasome (figure 12) (Verweij *et al.*, 2015).

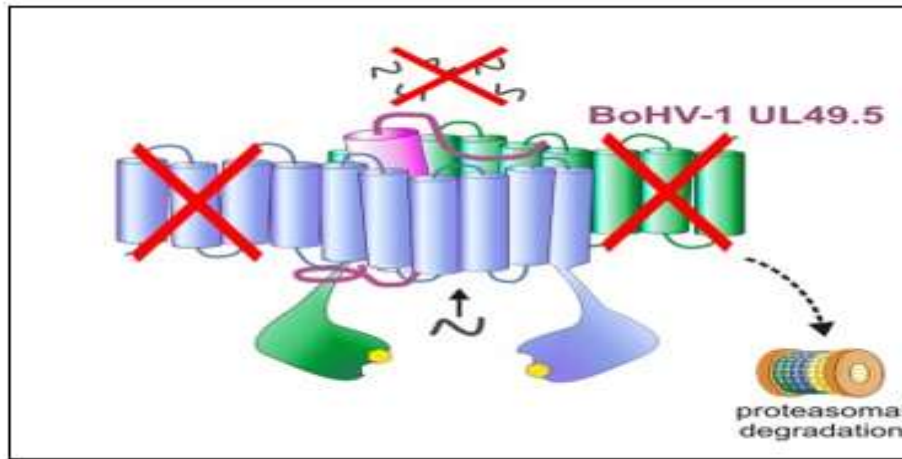


Figure 12:Interaction de UL 49.5 avec la protéine TAP (Verweij *et al.*, 2015)

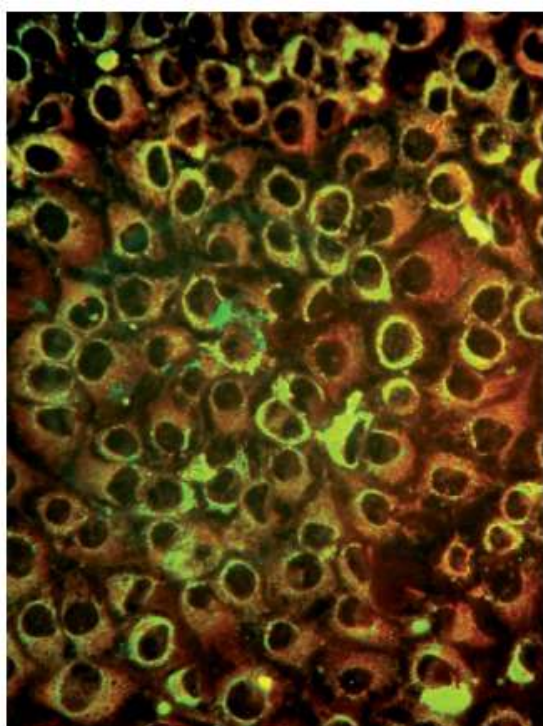
8. Diagnostic :

8.1 Diagnostic virologique :

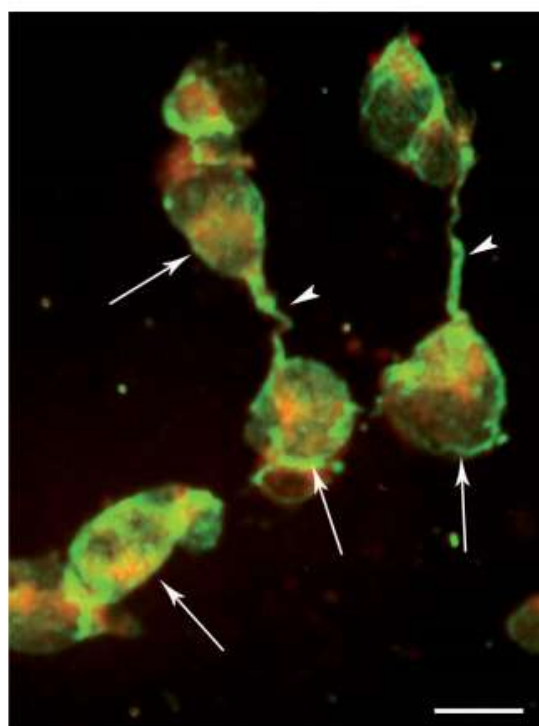
L'isolement de CpHV-1 à partir des prélèvements biologiques, peut se faire après un écouvillonnage profond dans les cavités nasales et l'organe génital. Cependant, l'échantillon doit être conservé dans un milieu contenant des antibiotiques tels que de la pénicilline et de la streptomycine pour prévenir les contaminations bactériennes ultérieures (THIRY and THIRY, 2008).

Par la suite, le virus isolé est identifié et caractérisé grâce à l'analyse de l'ADN viral par des enzymes de restriction.

L'antigène viral peut également être identifié par immunofluorescence utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques au CpHV-1 (figure13).



A



B

Légende : **A.** figure montrant une immunofluorescence directe peri nucléaire et cytoplasmique 02 heures après l'infection **B.** fluorescence nucléaire et cytoplasmique d'un syncytium

Figure 13 :Immunofluorescence sur des cellules MDBK infecté par le CpHV-1(Sirakov *et al.*, 2012)

Cependant, ces techniques sont généralement lourdes à mettre en œuvre au sein du laboratoire de diagnostic. Une analyse par PCR (polymerase chain reaction) est préférable, car plus rapide et plus performante. À l'heure actuelle il existe plusieurs types de PCR, telles que :

la PCR en temps réel fondée sur la détection du gène codant pour la glycoprotéine C, celle-ci permet de détecter et de quantifier l'ADN du CpHV-1 dans les prélèvements biologiques des chèvres infectées. De plus l'emploi de sondes spécifiques fluorescentes permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité de la détection par rapport à une PCR classique. (Thiry et Thiry, 2008a)

Une autre technique PCR utilise des paires d'amorces qui détectent un alphaherpèsvirus de ruminants et le distinguent des virus apparentés à l'aide d'enzymes de restriction.

De nombreuses endonucléases de restriction ont été utilisées pour différencier CpHV-1, BHV-1, BHV-5, CeHV-1 et RanHV-1 .

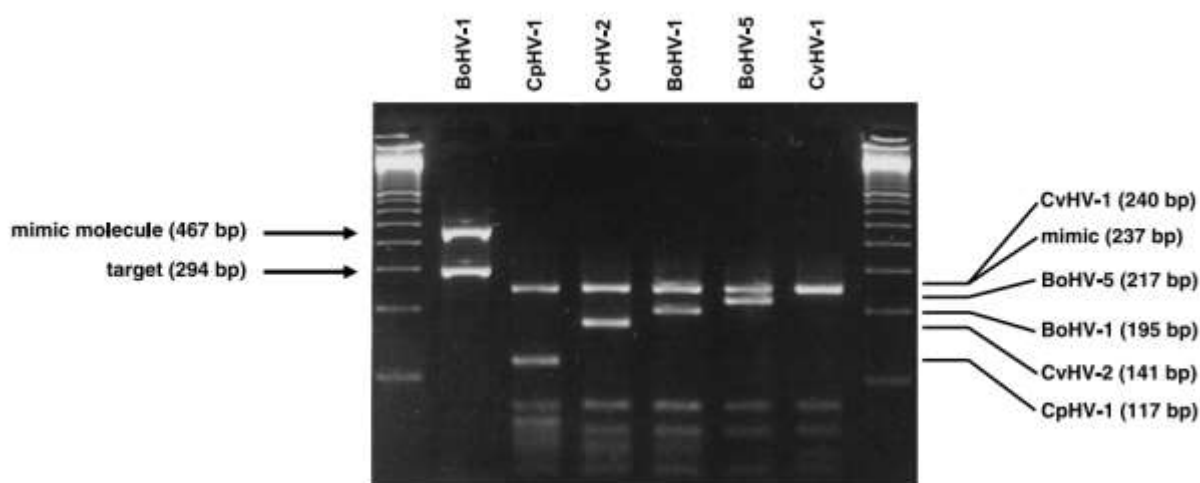


Figure 14 : Amplification de l'ADN des alphaherpèsvirus des ruminants et identification à l'aide d'enzymes de restriction (Thiry, Keuser, Muylkens, *et al.*, 2006)

8.2 Diagnostic sérologique :

L'interprétation des résultats sérologiques repose sur la connaissance de la réponse immune, mais celle-ci elle n'est pas toujours bien comprise pour le CpHV-1.

Jusqu'à présent, le diagnostic sérologique du CpHV-1 était rendu difficile à cause de l'existence de réactions croisées avec les autres alphaherpèsvirus de ruminants, et notamment le BoHV-1, Deux Elisa de compétition mettant en évidence les glycoprotéines B (gB) et E (gE) du BoHV-1, ont été évaluées pour le diagnostic du CpHV-1. Les résultats de cette étude montrent que : le test IBR gB détecte une infection à CpHV-1 chez la chèvre avec une spécificité de 100 % et une sensibilité de 93,5 %. En revanche, seul 22,6 % des sérums détectés gB-positifs se sont révélés gE positifs (Tableau 05).

Suite à ces observations (gB+/gE-) , les chercheurs ont supposé que la glycoprotéine gE pourrait représenter une cible importante pour le diagnostic de CpHV-1(Bertolotti *et al.*, 2013) . Dès lors des Kit de diagnostic Elisa indirect sont mis sur le marché. En effet, le Kit utilisé au cours de notre étude (Eradikit ,CpHV-1) repose sur ce principe .

Cependant, la méthode de choix en cas de doute reste la séroneutralisation, car elle permet d'identifier l'infection , mais celle-ci n'est pas applicable en routine, elle est surtout réservée au diagnostic de confirmation (Thiry et Thiry, 2008).

Tableau 05 : Interprétation des résultats sérologiques basés sur la gB et la gE

Elisa IBR gB	Elisa IBR gE	Interprétation
Négatif	Négatif	- Le chèvre ne possède pas d'anticorps - Elle est donc indemne d'une infection à BoHV-1 ou CpHV-1
Positif	Négatif	La chèvre possède des anticorps contre la glycoprotéine gB , mais pas contre la glycoprotéine gE Deux cas de figure se présentent : - Elle a été en contact avec le CpHV-1 Elle a été immunisée avec un vaccin marqué boHV-1-gE-négatif
Positif	Positif	La chèvre possède des anticorps contre la glycoprotéine gB et la glycoprotéine gE -elle a été en contact avec le BoHV-1 ou CpHV-1 Une séroneutralisation croisée est alors nécessaire pour identifier la nature de l'infection

9. Traitement et prophylaxie

9.1 Vaccination

Un vaccin inactivé contre le CpHV-1 a été développé, il a démontré une bonne immunogénicité, mais celui-ci n'est pas été commercialisé car l'industrie du médicament vétérinaire ne s'intéresse pas au développement d'un vaccin protégeant la chèvre, qualifiée d'espèce mineure.

Il convient alors d'avoir recours à la vaccination hétérologue, comme le vaccin vivant atténué porteur d'une délétion dans le gène codant pour la glycoprotéine gE du BoHV-1. Ce dernier a été évalué chez la chèvre, les résultats montrent une efficacité partielle contre l'infection nasale par le CpHV-1. Ainsi, l'administration intranasale de ce vaccin a induit une protection clinique efficace et une diminution significative de l'excrétion virale par la voie génitale qui est la voie naturelle, mais l'indication majeure de la vaccination reste la prévention de l'infection du fœtus.

Cependant, il faut toujours se rappeler que même si ce vaccin confère à la chèvre une immunité, le caractère gE-négatif de ce dernier n'apporte aucune information sur le statut de la chèvre, contrairement à la différenciation observée entre des bovins vaccinés et infectés par le BoHV-1 (Thiry et Thiry, 2008).

9.2 Prophylaxie sanitaire

En l'absence de vaccination, le contrôle de l'infection par le CpHV-1 est assuré par des mesures exclusivement hygiéniques :

Les animaux séropositifs infectés de manière latente doivent être séparés ou plus efficacement éliminés ; il faut prendre des précautions lors de l'introduction de nouveaux animaux dans l'élevage ; ainsi il convient d'être particulièrement attentif aux chèvres post-parturientes séropositives, susceptibles d'excréter de grandes quantités de virus de manière prolongée dans les exsudats utérins lors de métrite (Thiry et Thiry, 2008).

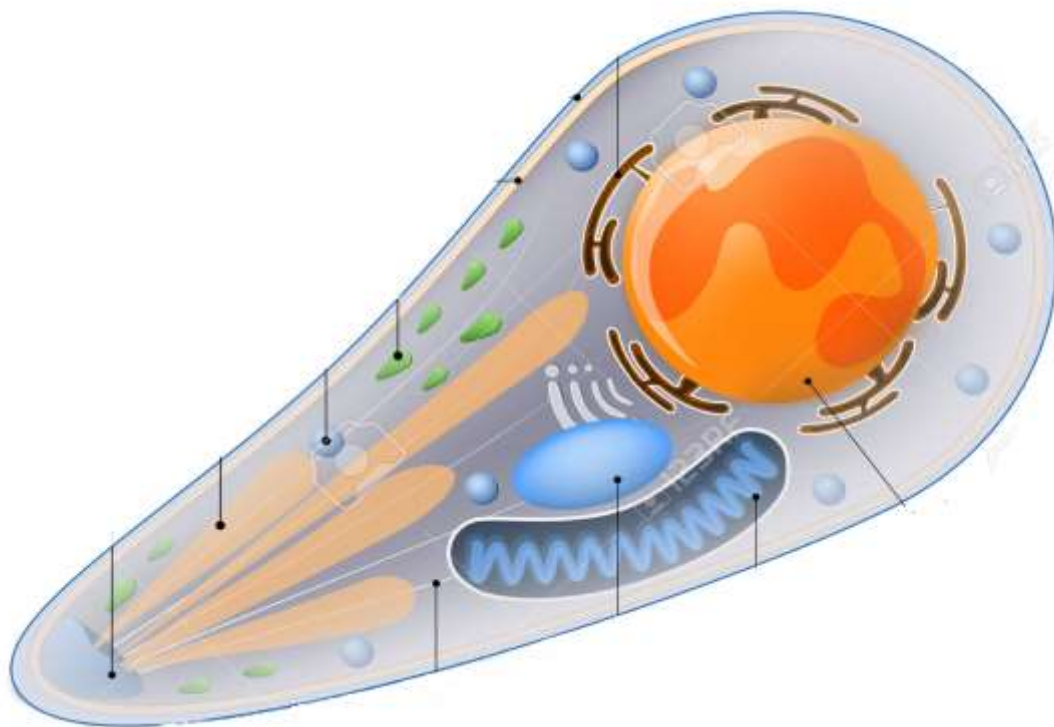
9.3 Traitement antiviral

Chez la chèvre, l'activité d'un composé antiviral, le cidofovir (Gilead Sciences), a été évaluée contre

L'infection génitale par le CpHV-1. L'application vaginale de cette molécule pendant cinq jours consécutifs avant l'infection prévient le développement de signes cliniques et réduit significativement le titre et la durée de l'excrétion virale.

I. Neospora caninum :

Revue de littérature



II. Neospora caninum

1. Historique et importance :

Importance

La néosporose est une protozoose infectieuse , due au développement, à la multiplication et à l'action pathogène d'un parasite intracellulaire obligatoire appartenant au phylum des Apicomplexa : *Neospora caninum* (Allanonto, 2012).

L'importance de la néosporose réside sur le plan économique, médical et hygiénique. Chez les bovins le rôle de la néosporose dans les avortements a été bien élucidé , elle est reconnue responsable d'une grande part d'avortements (Allanonto, 2012) , ainsi le risque d'avorter chez des vaches infectées est de 2 à 7 fois plus que chez les non infectées (Ghalmi *et al*, 2011) .

La neosporose caprine peut, être une cause réelle d'avortement, Cependant, celle-ci est peu étudiée.

À ce jour de rare cas d'infections naturelles sont rapportées, pourtant lors d'inoculation expérimentale de *N.caninum* chez les chèvres, ces derniers expriment des symptômes similaires à ceux observés chez les bovins. L'implication de *Neospora caninum* dans les avortements chez la chèvre nécessite des études plus approfondies (Eleni *et al.*, 2004a).

Enfin, au plan hygiénique, *N.caninum* serait potentiellement zoonotique et pourrait poser des problèmes de santé publique (Allanonto, 2012) .

Historique

Au cours de ces dernières années , la découverte de nouvelle outils de diagnostic a permis de mettre en évidence de nouveaux agents pathogènes , parmi lesquels se trouve *Neospora caninum*. Ce protozoaire cosmopolite a été découvert et isoler en Norvège en 1984, dans des tissus de chiots manifestants des symptômes nerveux, où il fut classé comme étant un protozoaire proche de *Toxoplasma gondii* « Toxoplasma-Like protozoon » (Bjerkas *et al.*, 1984).

Cependant, malgré la présence de parasites dans les lésions du cerveau et des muscles ,aucune séroconversion toxoplasmique n'a pu être détectée dans les sérums de ces chiens (Dubey *et al.*, 1988).

Les différences structurales et antigéniques ont été montrées en 1988 par Dubey et ses collaborateurs , Ils isolent alors le parasite et le nomment *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 1988), le Tableau 6 décrit les principales dates clés de la découverte de *Neospora caninum* (Bouveret, 2004).

Tableau 06 : Principales dates clés de la découverte de *Neospora caninum*

Année	Événement marquant	Publications
1957	La maladie existe déjà mais est confondue avec la toxoplasmose.	Dubey & al., 1990c
1984	1ères observations du parasite.	Bjerkas & al., 1984
1988	-Description de la nouvelle espèce : <i>Neospora caninum</i> . -Induction expérimentale de la maladie chez des chiens et des souris	Dubey & al., 1988a Dubey & al., 1988b
1989	-Découverte du parasite chez des bovins qui ont avorté -Premiers essais de traitement sur culture cellulaire -Développement de l'immunofluorescence indirecte (IFI), de l'immunohistochimie.	Thilsted & Dubey, 1989 Lindsay & Dubey, 1989c Lindsay & Dubey, 1989d
1990	Premiers essais de traitement anti- <i>Neospora</i> sur les souris.	Lindsay & Dubey, 1990a
1991	<i>Neospora caninum</i> est une cause majeure d'avortements dans certains cheptels. Démonstration que les chiots norvégiens (1984) étaient bien infectés par <i>Neospora caninum</i> .	Anderson & al., 1991 Barr & al., 1991 Bjerkas & Dubey, 1991
1992	Démonstration de la transmission verticale chez les bovins.	Dubey & al., 1992
1993	Développement d'une technique ELISA pour le diagnostic de la néosporose (chiens et bovins)	Paré & al., 1995b Björkman et Ugglä, 1999
1995	Séquence nucléotidique identique entre <i>Neospora caninum</i> du chien et celui du bovin	Marsh & al., 1995
1996	Développement d'une technique diagnostique par PCR.	Ellis, 1998
1998	Démonstration expérimentale : le chien est hôte définitif de <i>Neospora caninum</i> . Description d'une nouvelle espèce : <i>Neospora hughesi</i> chez le cheval. Développement d'un test d'agglutination directe pour le diagnostic de la néosporose	Mac Allister & al., 1998 Marsh & al., 1998 Romand & al., 1998
1999	prise de conscience de l'intérêt croissant de la néosporose pour les chercheurs européens.	Hemphill & Gottstein, 2000
2001	Le chien est naturellement hôte définitif. Développement d'une technique PCR pouvant détecter les ookystes dans les fèces de chien	Basso & al., 2001 Slapeta & al., 2002 Jenkins & al., 2002
2003	Développement de tests ELISA permettant de savoir si l'infection est chronique ou récente	Björkman & al., 2003

2. Taxonomie

Neospora caninum est un protozoaire, appartenant au Phylum des **Apicomplexa** . ce phylum est caractérisé par l'absence de flagelles, de cils et de pseudopodes, cependant il possède un complexe apical, ensemble d'organites spécialisés impliqués dans la pénétration de la cellule hôte, la taxonomie simplifiée de *Neospora caninum* est résumée dans le Tableau 07.(Bouveret, 2004; Euzéby, 2008)

Tableau 07: Taxonomie simplifié de *Neospora caninum*

Taxonomie de <i>Neospora caninum</i>		Caractéristiques
Règne	<i>Protozoaires</i>	Protiste (être unicellulaire eucaryote) à paroi non cellulosique, souvent mobile, hétérotrophe.
Embranchement	<i>Apicomplexa</i>	Du latin apex, « pointe », et complexus, »qui réunit plusieurs éléments (Présence d'un appareil apical)
Classe	<i>Sporozoea</i>	
Sous classe	<i>Coccidia</i>	Du grec Kokkos « grain » et eidos « semblable à » .dont les caractéristiques sont les suivantes : Localisation intracellulaire, production de spores, complexe apical complet, mais absence d'apicoplaste , remplacé par un petit plsate génomique
Ordre	<i>Eucoccida</i>	Du grec eu , « régulier », « conforme »,dont les caractéristiques sont :
Famille	<i>Sarcocystidae</i>	Multiplication par bipartition longitudinale ou par schizogonie -reproduction par syngamie (exceptionnellement par sizygie)
Espèces	<i>Neospora caninum</i>	

Plusieurs espèces de protozoaire appartiennent au même groupe parmi lesquels : *Eimeria sp* , *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis neurona* . Les principaux caractères structuraux de *N. caninum* et les éléments différentiels avec d'autres *Sarcocystidés* sont indiqués dans l'Annexe 03.

Neospora caninum était jusqu'en 1998, le seul représentant de son genre. Un autre parasite, très peu différent génétiquement a été décrit chez le cheval : *Neospora hughesi* (Sarrazin, 2009).

3. Morphologie de *Neospora caninum* :

Neospora caninum est une coccidie à développement intracellulaire stricte. Elle existe sous plusieurs formes en fonction de son stade de développement, On distingue : les tachyzoïtes, les kystes à bradyzoïtes et les ookystes.

3.1. Les Tachyzoïtes :

Le tachyzoïte est la forme virulente asexuée invasive , pour l'hôte intermédiaire , son ultrastructure et sa morphologie sont très proches de celles des bradyzoïtes , en effet il est difficile de distinguer une vacuole parasitophore contenant des tachyzoïtes d'un kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes (Foulon, 2002; Hesse, 2002)

Ce sont des structures ovoïdes, en croissants ou globuleuses selon le stade de division. La taille moyenne est de 6 x 2 microns (3-7 x 1-5 microns en fonction du stade de division). Ils se multiplient par endodyogénie ou endogénie, c'est à dire que les deux éléments fils se forment à l'intérieur de la cellule mère avant que celle-ci n'éclate (Buxton, 1998; WALADJO *et al.*, 2008).

L'ultrastructure montre la présence d'un complexe apical impliqué dans la pénétration des cellules .il se compose de deux anneaux apicaux préconoïdes, d'un conoïde, d'un anneau polaire, des rhoptries (dont 8 à 12 antérieures et 4 à 6 postérieures), de plus de 150 micronèmes, de 22 microtubules situés sous la membrane parasitaire interne et de nombreux corps denses.

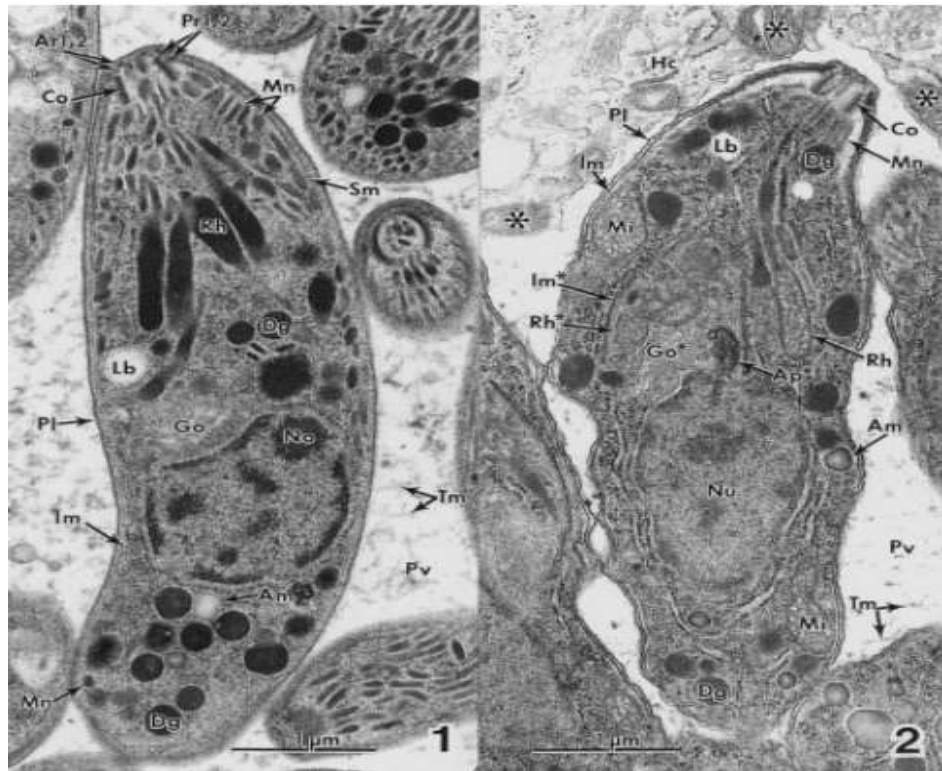
On retrouve aussi un noyau , un nucléole, des centrioles, des ribosomes , des mitochondries, des appareil de Golgi, un réticulum endoplasmique lisse et granuleux, un pore postérieur et de corps lipidique .cependant on note la présence en faible nombre ou l'absence de micropores (Bouveret, 2004) .

Neospora et *Toxoplasma* sont très proches sur le plan structural , mais la plus grande différence se trouve au niveau des rhoptries et des micronèmes (Foulon, 2002) :

-les rhoptries de *Toxoplasma* sont labyrinthiques ou en forme de nid d'abeilles alors que celles de *Neospora* sont plus nombreuses et plus denses aux électrons.

-les micronèmes de *Neospora* sont plus nombreux et parfois perpendiculaires à la membrane parasitaire interne, cette caractéristique est absente chez *Toxoplasma*

La figure 14 montre les principaux constituants du tachyzoïte de *Neospora caninum* et de *Toxoplasma gondii* (Speer *et al.*, 1999).



Legende : 01 :*N.caninum* dans une vacuole parasitophore(PV), Figure 02 : tachyzoite de *T gondii* dans une vacuole parasitophore(PV) **Co**, conoïde; **Go**, appareil de Golgi; **Hc**, cytoplasme de cellules hôtes; **Im**, membranaire interne du plasmalemme ; **Lb**, corps lipidique; **Mi**, mitochondrie;**Mn**, micronèmes ; **No**, nucléoles ; **Nu**, noyau; **Pl**, Plasmalemme ; **Pr 1, 2**, anneaux polaires 1 et 2; **Sm**, Microtubules; (**Dg**) granules denses

Figure 14 : Tachyzoïtes de *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* vues au microscope électronique à transmission MET

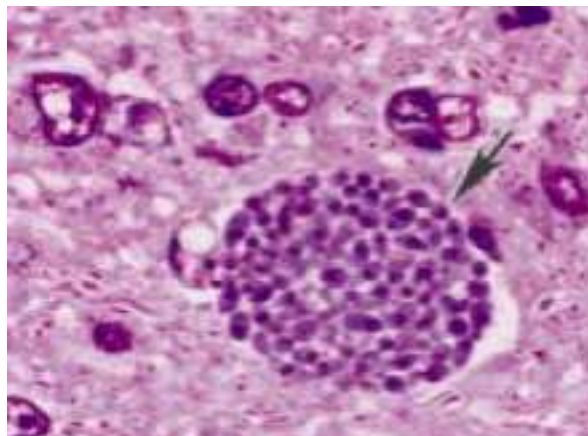


Figure 15 : Tachyzoïtes regroupés dans l'encéphale d'un chien (Dubey *et al.*, 2002).

3.2. Les bradyzoïtes et kystes tissulaires :

Le bradyzoïte désigne la forme latente asexuée du parasite, ils sont effilés (6 -8 X 1-2 μ m). Leur morphologie ressemble beaucoup à celle du tachyzoïte. Toutefois, ils ont moins de rhoptries et plus de granules d'amylopectine colorées par l'acide périodique de Schiff (PAS-positifs) ainsi que de vésicules double membrane.

Leur noyau est subterminal à terminal et les micronèmes sont souvent perpendiculaires au plasmalemm. La substance entre les bradyzoïtes contient des structures vésiculaires tubulaires, des corps denses et des inclusions lipidiques lobulées mais les micropores sont rares.

Les bradyzoïtes se multiplient très lentement par endodyogénie. On les retrouve principalement dans des structures kystiques. Ces kystes sont intracellulaires de forme arrondie à ovale et peuvent mesurer jusqu'à 107 μ m de long, ils sont surtout localisés dans les tissus nerveux (Cerveau, moelle épinière et rétine) (Foulon, 2002; Hesse, 2002; Guinot, 2005).

Chez *Neospora* la paroi de ces kystes est lisse et mesure jusqu'à 4 μ m d'épaisseur, suivant l'ancienneté de l'infection (les petits kystes ont une paroi plus fine que les kystes plus anciens), ce qui constitue un critère de distinction avec les kystes de *Toxoplasma gondii* dont la paroi est plus fine (Dubey et al., 2002).

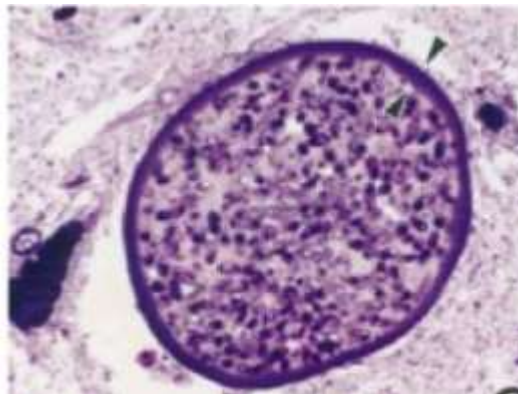


Figure 16 : Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes issu de l'encéphale d'un chien (Dubey et al., 2002)

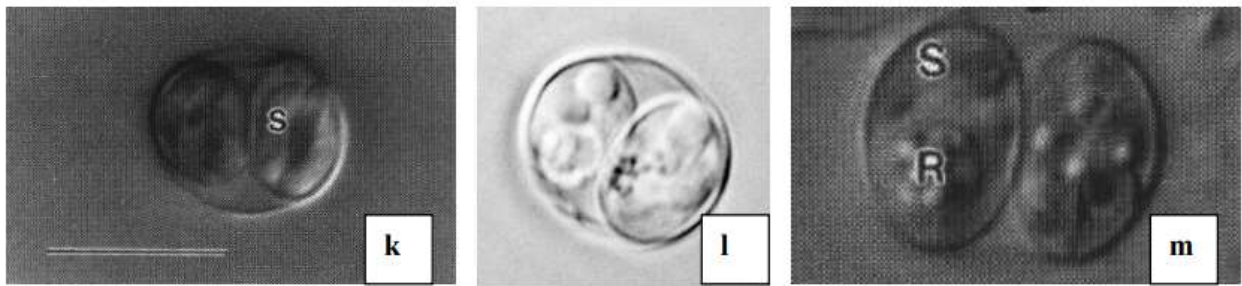
3.3. Les oocystes (ookystes)

C'est la forme de résistance parasitaire dans l'environnement, ils sont excrétés par un hôte définitif après une phase sexuée sous une forme non sporulée

Non sporulée, ils sont de forme sphérique ou subsphérique et mesurent 10 à 11 μ de diamètre, leur paroi est lisse, non colorée et mesure 0.6 à 0.8 μ m d'épaisseur. À ce stade, ils contiennent seulement un sporonte central. La sporulation a lieu ensuite dans le milieu extérieur après 24 à 72 h, elle donnera deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes et un résidu (figure 17) (Dubey *et al.*, 2002).

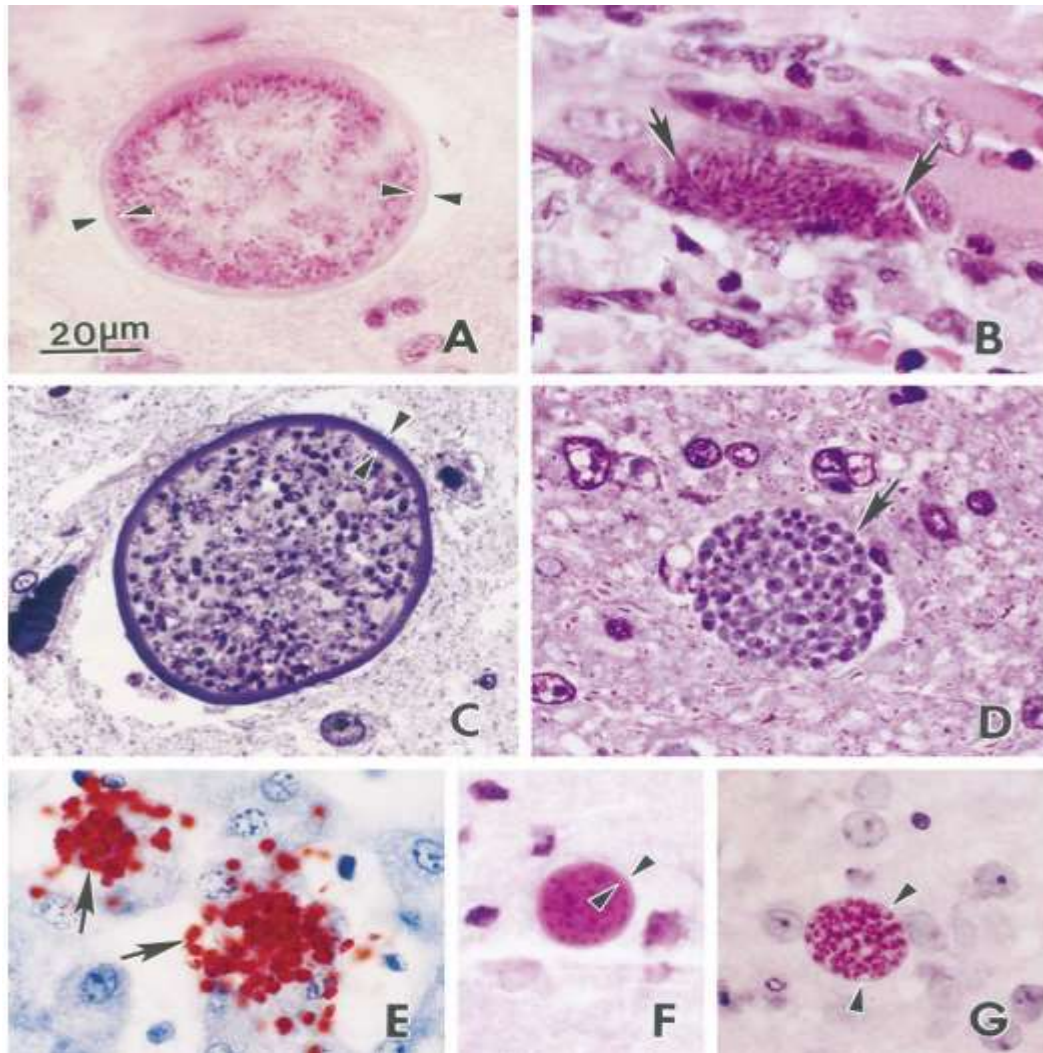
La survie de *N. caninum* dans l'environnement est inconnue jusqu'à présent (Le Corre, 2012; Donahoe *et al.*, 2015).

Cependant, Il faut bien noter qu'il est difficile de différencier par coprologie les oocystes de *Neospora caninum* de ceux de *Hammondia heydorni*, de *Hammondia hammondi* et *Toxoplasma gondii*, car ces derniers sont morphologiquement identiques (Schaes *et al.*, 2005).



Légende : Photographies d'oocystes sporulés de *Neospora caninum* (k, l, m), observés en microscopie optique. Ces oocystes, à paroi lisse, incolore et sans micropyle, contiennent deux sporocystes pourvu chacun de quatre sporozoïtes. Un des sporozoïte (S) est visible sur les clichés x et x. Un résidu de la division des sporozoïtes (R) peut parfois être observé dans les sporocystes.

Figure 17 : Montrant des oocystes sporulés de *Neospora caninum* D'après Dubey *et al*, 2002



Légende : (A-F) Tachyzoïtes et kystes tissulaires de *Neospora caninum* dans des coupes histologiques (G) kystes tissulaires de *Toxoplasma gondii* , L'épaisseur de la paroi du kyste tissulaire est indiquée par des flèche

(A) kyste tissulaire dans le cervelet d'un chien ; (B) tachyzoïtes dans le muscle squelettique avec absence d'un kyste mur ; (C) kyste tissulaire dans le cerveau d'un chien (D) tachyzoïtes (E) Tachyzoïtes dans le foie d'un coloré avec anticorps polyclonaux contre *N. caninum*. (F) kyste tissulaire dans le cerveau d'un chien . (G) Kyste tissulaire de *Toxoplasma gondii* dans le cerveau d'une souris infectée expérimentalement, colorées par l'acide periodique de Schiff (PAS-positifs)

Figure 18 : Tachyzoïtes et kystes tissulaires de *Neospora caninum* dans des coupes histologiques

4. Cycle de développement

4.1. Hôtes intermédiaires et hôtes définitifs de *Neospora caninum* :

La néosporose touche les chiens et plusieurs espèces de mammifères, le parasite ne peut se multiplier de manière sexuée que chez canidés, qui constituent ainsi ses hôtes définitifs.

De nombreuses espèces sont considérées comme hôte intermédiaire qui assure la multiplication asexuée du parasite comme : les ruminants (y compris sauvages), les rongeurs et les oiseaux (Pitel *et al.*, 2010).

En effet, des cas de néosporose naturelle ont été décrits chez le chien, les bovins, et en moindre proportion chez les ovins, les caprins, le cheval, le cerf et l'antilope.

La présence d'anticorps a été décrite aussi dans d'autres espèces telles que le chat, les félidés sauvages, les mammifères marins, les opossums, le buffle d'eau, le chameau, le lama et l'alpaga et les ruminants sauvages. Ce qu'il suggère que ces derniers pourraient jouer le rôle d'hôte intermédiaire (Pitel *et al.*, 2010).

4.2. Cycle de développement de *Neospora caninum* :

Le cycle de *Neospora caninum* est de type coccidien, avec une phase asexuée chez un hôte intermédiaire (chien, bovin, etc.), une phase sexuée chez un hôte définitif (le chien) et une phase dans le milieu extérieur.

4.2.1. Phase sexuée chez l'hôte définitif :

Le chien est à la fois un hôte définitif et peut aussi être un hôte intermédiaire. (Dubey, 2003) , d'autres animaux de la même famille tels que le renard, le coyote et le loup peuvent jouer aussi le rôle d'hôte définitif de *Neospora caninum* (Le Corre, 2012).

L'ingestion de tissus contenant des kystes à bradyzoïtes, entraîne une infection intestinale qui reste bénigne ou subclinique.

Contrairement aux tachyzoïtes, les bradyzoïtes peuvent résister à une digestion gastrique et peptique dans le milieu stomacal. Cette propriété leur permet de survivre dans l'estomac et de libérer les bradyzoïtes dans l'intestin. (Hesse, 2002) en effet chez le chien l'ingestion de tachyzoïtes n'induit jamais la production d'oocystes (Foulon, 2002).

les bradyzoites ainsi libérés vont alors pénétrer dans les cellules épithéliales de l'intestin et commencer à se multiplier activement par schizogonie ensuite on aura une phase de gamétogonie et enfin la fécondation (Foulon, 2002; Hesse, 2002).

4.2.2. Phase asexuée chez l'hôte intermédiaire

Suite à l'ingestion d'ocystes sporulés, les sporozoïtes vont être libérés et vont infecter les entérocytes ainsi que les cellules de l'épithélium intestinal, pour ensuite se différencier en tachyzoïtes, forme virulentes à multiplication rapide, à l'origine de la phase aiguë de la maladie.

Les tachyzoïtes sont les formes de dissémination du parasite à l'intérieur de l'organisme parasité, ils envahissent pratiquement toutes les cellules nucléées, comme ; les cellules nerveuses, fibroblastiques, endothélio-vasculaires, myocytaires, épithéliales, hépatocytaires et macrophagiques.

certaines tachyzoïtes s'enkystent pour donner des kystes intracellulaires à bradyzoïtes , ce qui va permettre à *N.caninum* de se localiser et de rester à l'état latent dans certains tissus , notamment le cerveau (PAYOT, 2002).

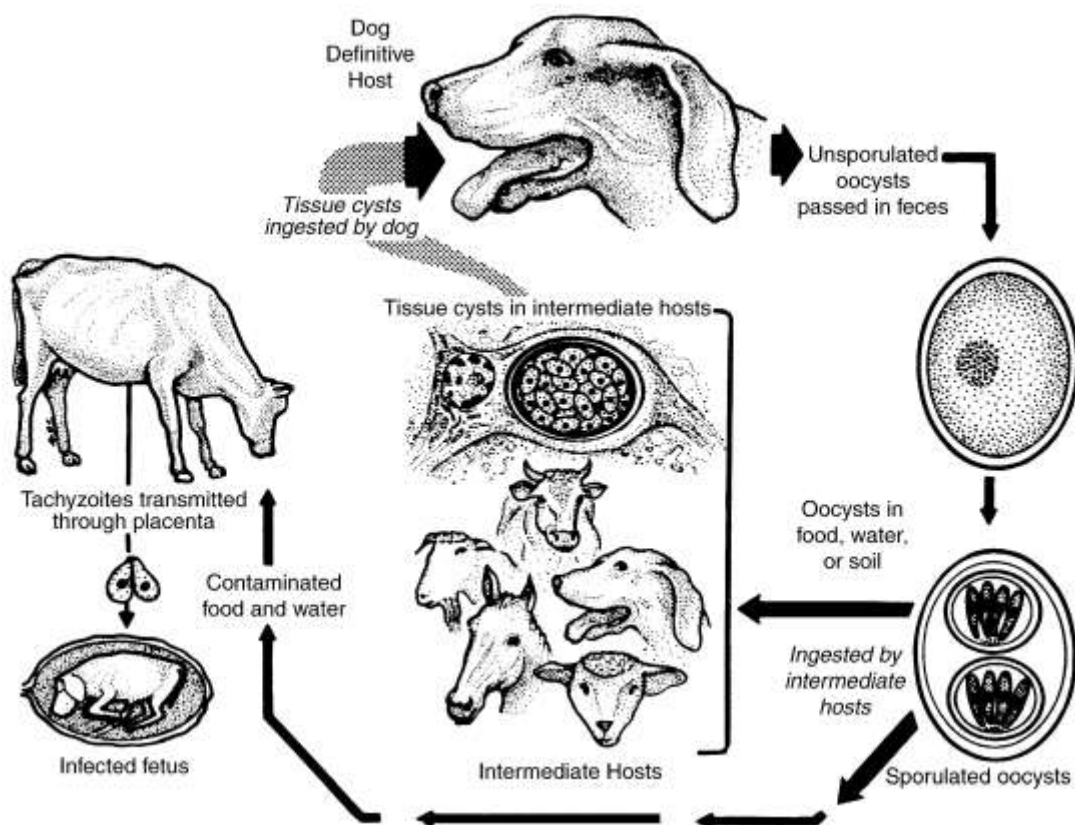


Figure 19: Cycle de *Neospora caninum* (Dubey, 2005)

5. Modes de transmission :

Le mode de transmission du parasite n'est pas entièrement connu, mais généralement la transmission se fait suivant deux voies : une première voie horizontale entre les hôtes intermédiaires et les hôtes définitifs, et une deuxième voie verticale au sein des hôtes intermédiaires (Guinot, 2005).

5.1. Transmission verticale :

C'est le principal mode de transmission chez les ruminants, il permet le maintien de *Neospora caninum* au sein d'un troupeau pendant des générations (Anderson *et al.*, 1997).

La transmission s'effectue de la mère au fœtus pendant la gestation, elle peut être la suite d'une primo-infection de la mère au cours de la gestation ou à la réactivation de l'infection latente chez les animaux infectés de manière chronique. On distingue classiquement les infections verticales endogènes (infection du fœtus lors d'une gestation chez une femelle préalablement infectée par la réactivation des bradyzoïtes) et les infections verticales exogènes (infection du fœtus lors d'une gestation chez une femelle préalablement indemne) (Williams *et al.*, 2009).

Si la mère est infectée, notamment en cas d'infection dans la seconde moitié de gestation ; le fœtus peut être contaminé. Dans ce cas, il n'y a en général pas d'avortement mais ce fœtus sera « porteur à vie du parasite avec possibilité de réactivation de l'infection » (Pitel *et al.*, 2010).

5.2. Transmission horizontale :

L'hôte définitif, le chien ou une autre espèce de la même famille, tel que le renard ou les coyotes, s'infectent généralement en ingérant des tissus contenant des tachyzoïtes ou les kystes à bradyzoïtes comme : les lochies, placenta ou des avortons d'hôte intermédiaire (Paré, 1998).

La chèvre et les autres hôtes intermédiaires s'infectent en ingérant de la nourriture contaminée par les ookystes issus de canidé, l'hôte définitif (Sarrazin, 2009; Rodríguez-Ponce *et al.*, 2017).

Contrairement à la toxoplasmose, l'infection d'un hôte définitif par des oocystes est encore peu étudiée.

Il n'existe pas de transmission entre les hôtes intermédiaires via les tissus contenant des kystes à bradyzoïtes (carnivorisme) (Le Corre, 2012).

6. Pathogénicité :

Neospora caninum est un parasite primaire puisque, lors de néosporose clinique, aucun autre agent n'est généralement mis en évidence (Foulon, 2002).

L'infection du fœtus et ou l'altération du placenta à l'issue d'une parasitémie est à l'origine de l'interruption de la gestation. L'avortement a généralement lieu après un endommagement du placenta et/ou le fœtus. deux hypothèses sont possible : la première est que le parasite affecte directement la survie du fœtus, et la deuxième qu'il est à l'origine du relargage de cytokines induisant la lutéolyse et l'avortement (Sarrazin, 2009).

Invasion de la cellule hôte :

Neospora caninum et *Toxoplasma gondii*, , appartiennent au large groupe des *Apicomplexa* , ce sont des coccidies à développement intracellulaire stricte (Klevar, 2007) ,leur mécanisme d'invasion est globalement conservé (Naguleswaran *et al.*, 2003).

Toxoplasma gondii et *Neospora caninum* ont en commun un processus spécifique d'invasion des cellules hôtes , ils partagent de nombreux aspects du cycle lytique du tachyzoïte (Sohn *et al.*, 2011).

Le parasite entre dans la cellule hôte grâce à la jonction mobile, formée par la libération séquentielle de protéines contenues dans des organelles de sécrétion distincte du parasite : les micronèmes (AMA1), les rhoptries (RON2/4/5/8) et les granules denses.

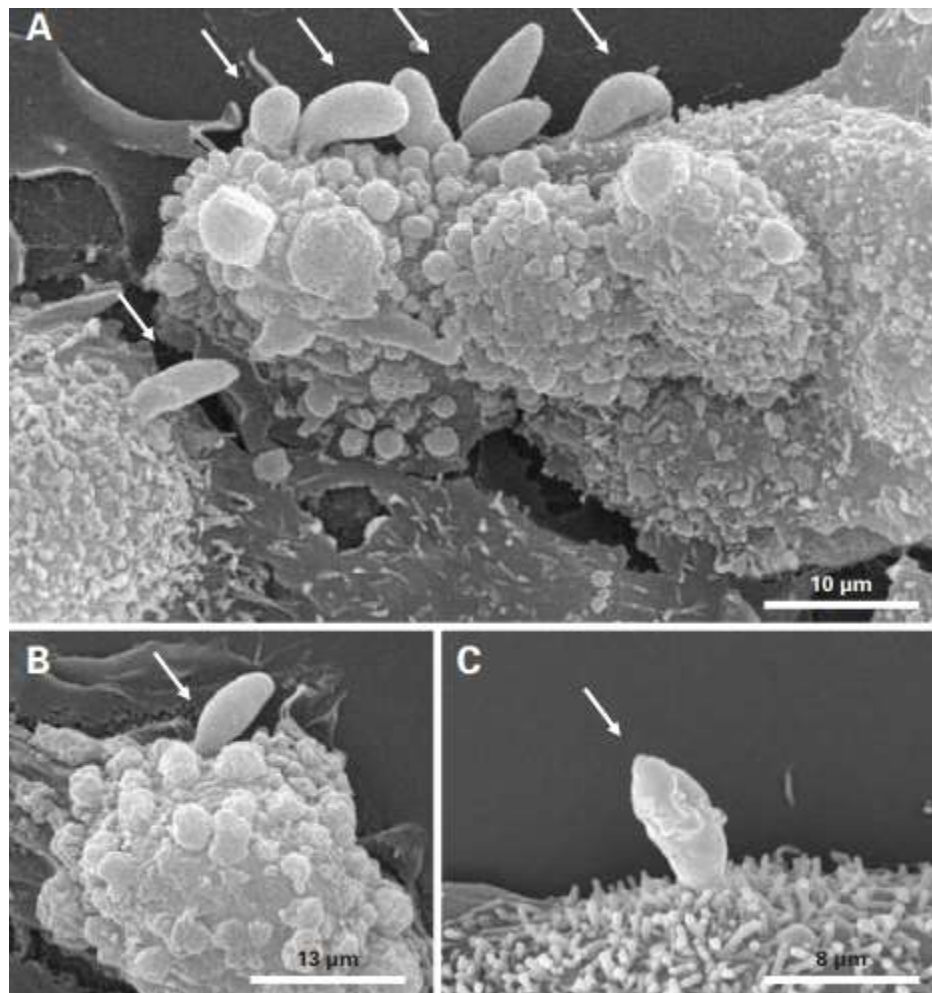
Le cycle lytique du parasite comprend plusieurs étapes :

1. Attachement du parasite à la surface de la cellule hôte

Un premier contact de faible affinité (sans orientation particulière) est initialement établi par les antigènes de surface immunodominants du tachyzoïte : NcSAG1 et NcSRS2, qui se fixent à des chondroïtines sulfatés présent à la surface des cellules hôtes.

Ces deux antigènes jouent un rôle crucial dans l'entrée dans la cellule hôte, en effet la présence d'anticorps dirigés contre celles-ci entraîne une inhibition de l'adhésion et de l'invasion.

le parasite va ensuite se réorienter de manière à présenter son pôle apical contre la membrane cellulaire (se positionne perpendiculairement), provoquant ainsi l'invagination de la membrane plasmique par le conoïde (figure 20). les protéines des micronèmes et du cou des rhoptries sont alors sécrétées (Hemphill, 1999; Haldorson *et al.*, 2005; Hemphill *et al.*, 2006; Fauquenoy, 2010; Pino and Soldati-Favre, 2011; Sohn *et al.*, 2011).



Légende (A) contact du parasite avec la cellule hôte (B) redressement du parasite (perpendiculairement à la surface de la cellule hôte) , (c) Déplacement par le pole apical

Figure 20 : Mécanisme d'invasion de *Neospora caninum* vu par microscope électronique à balayage (Hemphill *et al.*, 2006)

Les protéines des micronèmes (MIC) déchargées à la surface du tachyzoïte vont permettre au parasite de s'attacher plus fortement avec les récepteurs cellulaires, ces liaisons sont essentiels au fonctionnement du glidesome (moteur actine-myosine responsable du mouvement de glissement : *gliding*) et à la formation de la jonction mobile .

2. la formation d'une jonction mobile (Pino and Soldati-Favre, 2011; Lebrun, 2012):

La jonction mobile est un point d'ancrage à la cellule hôte, en effet elle est formée par la libération successive du contenu des micronèmes (AMA1) et rhoptries (RON2/4/5/8).

Le RON2 insérée dans la membrane de la cellule hôte sert de récepteur à la protéine AMA1 (Apical Membrane Antigen 1) et le RON4/5/8, exposé à la face cytosolique de la membrane de la cellule hôte, permet l'ancrage de la JM au cytosquelette de la cellule hôte

L'AMA 1 est clivé par la protéase ROM4, présente dans la membrane plasmique du parasite, libérant ainsi la partie cytosolique carboxy-terminale de la protéine (AMA1-tail) dans le cytoplasme. Ce fragment, produit du clivage, induit directement ou indirectement la réplication du parasite.

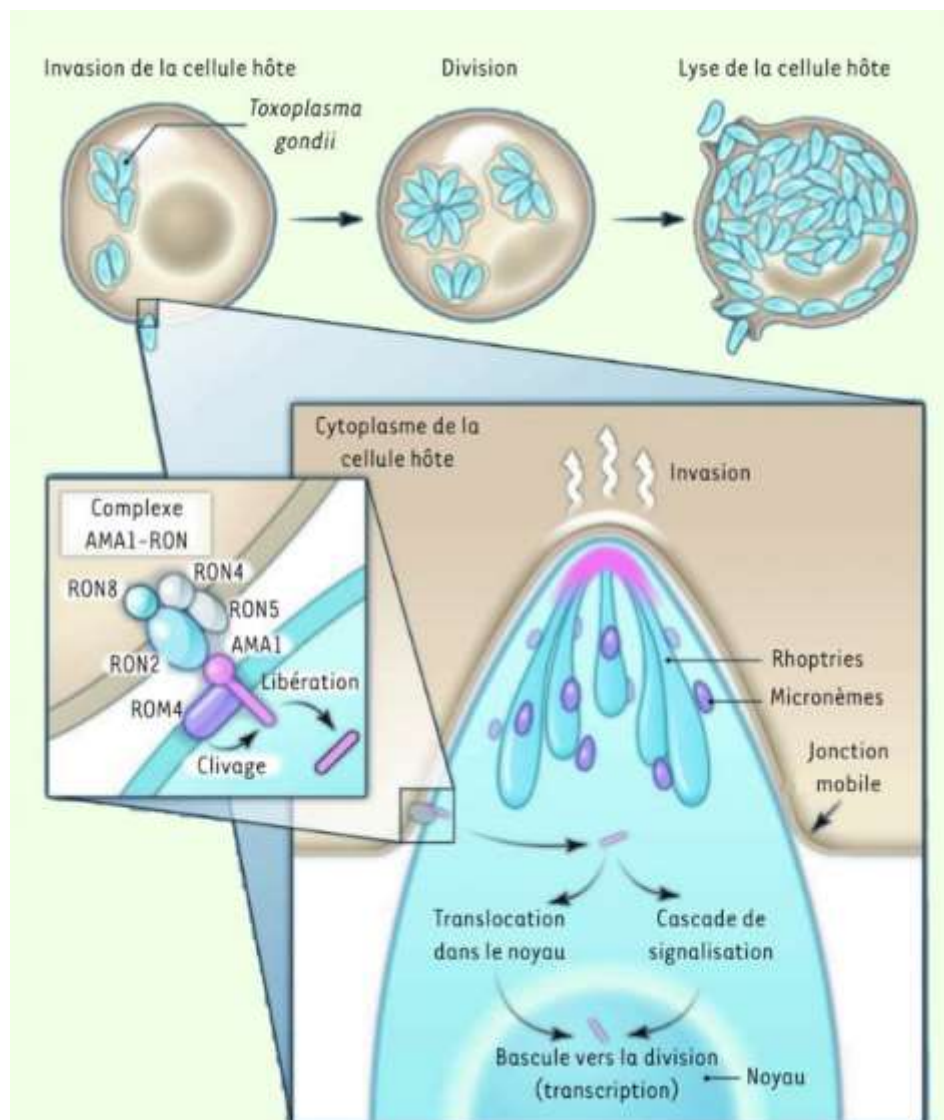


Figure 21 : Couplage de l'invasion à la division chez *Neospora caninum* (Pino and Soldati-Favre, 2011).

3. Pénétration et obturation de la membrane formant la vacuole parasitophore

Grace à la jonction mobile, le parasite rentre progressivement dans la cellule hôte par glissement. En entrant il s'entoure d'une vacuole parasitophore constituée de la membrane plasmique de la cellule hôte. Cependant les protéines transmembranaires de la cellule hôte sont exclues de la vacuole parasitophore, ce qui empêche la fusion avec les lysosomes (Fauquenoy, 2010).

Les protéines des granules denses sont sécrétées après la fermeture de la vacuole parasitophore, induisant alors la maturation de la vacuole et l'établissement d'un réseau membranaire (Fauquenoy, 2010).

7. Manifestations cliniques :

7.1. Chez l'hôte définitif :

Cliniquement, la néosporose canine la plus sévère, se rencontre chez les chiots infectés congénitalement. Elle se caractérise par atteinte neuromusculaire, avec une destruction d'un grand nombre de cellules nerveuses, ce qui affecte en outre la conductivité des cellules lésées. La maladie peut être localisée ou généralisée, et concerner tous les organes, y compris la peau (Barber, 1998; Dubey, 1999; Parzefall *et al.*, 2014).

Les jeunes infectés par *Neospora caninum* développent une parésie progressive ascendante concernant essentiellement les membres postérieurs. Ce déficit se manifeste par une démarche « en saut de lapin » et aboutit à une hyperextension dite « en position du phoque » (LELEU, 2003).

L'atteinte du système nerveux central peut donner lieu à de l'ataxie, un syndrome vestibulaire, un nystagmus, une anisochorie, des crises épileptiformes et des troubles du comportement. D'autres anomalies peuvent apparaître telles qu'une paralysie des muscles masticateurs, une parésie flasque accompagnée d'une fonte musculaire et d'une mort par insuffisance cardiaque, on retrouve plus rarement, une pneumonie, une dermatose nodulaire, ou une inflammation des glandes annexes du tube digestif (Dombou, 2008).

La néosporose a également été associée, chez le chien, à des lésions de nécrose hépatique, nécrose pancréatique, pneumonie et dermatite pyogranulomateuse (Sarrazin, 2009).

7.2. Chez l'hôte intermédiaire

Chez l'hôte intermédiaire, les symptômes apparaissent généralement suite à la multiplication des tachyzoïtes dans les différents tissus de l'organisme, ce qui va entraîner la formation de lésions nécrotiques extensives. La principale manifestation de cette multiplication est la survenue de troubles de la reproduction, et particulièrement l'avortement.

les manifestations cliniques de la néosporose caprine sont en tous points similaires à celles rencontrées lors de néosporose bovine et de toxoplasmose caprine : se traduisant par des avortements entre le 3^{ème} et le 4^{ème} mois de gestation, ou par la naissance de chevreaux mort-nés ou chétifs (Dubey *et al.*, 1992; Corbellini *et al.*, 2001; Eleni *et al.*, 2004b; Barr *et al.*, 1992).

En fait, cela semble lié au moment de l'infection au cours de la gestation. En début de gestation, le fœtus meurt et il y a soit résorption embryonnaire, soit avortement 30 jours plus tard ; en milieu de gestation, les petits peuvent être morts nés ou vivants et sains ; en fin de gestation, ils sont sains (Chartier *et al.*, 2000).

Chez les jeunes chevreaux, on peut observer, des symptômes nerveux tels que l'ataxie et opisthotonos (Porto *et al.*, 2016a).

Plusieurs cas d'avortements dus à *Neospora caninum* ont été décrits dans des élevages caprins en Californie (Barr *et al.*, 1992), en Pennsylvanie, au Costa Rica (Dubey *et al.*, 1996) et au Brésil (Fujii *et al.*, 2001). Les lésions mises en évidence sont localisées au système nerveux central : des kystes tissulaires, une inflammation périvasculaire, de la nécrose, des minéralisations ainsi que des lésions d'encéphalites ou de méningo-encéphalites sont observés chez le fœtus (Bouveret, 2004).

8. Réponse immunitaire

8.1. Généralité :

La présence d'une réponse immunitaire à médiation humorale et cellulaire a été démontrée , mais compte tenu de la localisation intracellulaire du parasite , la réponse immune à médiation cellulaire est la plus importante dans cette parasitose .

Le système immunitaire est dirigé contre les tachyzoïtes seulement, cette forme induit une forte réponse innée très rapide permettant de contrôler l'infection aiguë et de limiter la propagation du parasite. Les kystes de bradyzoïtes ne sont pas immunogènes et ils sont « tolérés » (PAYOT, 2002).

La néosporose se manifeste spécialement chez les animaux en gestation et provoque de la mortinatalité, des avortements ou de l'infertilité.

Le système immunitaire immature du fœtus est particulièrement vulnérable. Au contraire, l'adulte immunocompétent semble être capable de se défendre contre le parasite (Hesse, 2002).

En revanche, la réaction de l'hôte est en partie à l'origine de l'apparition des symptômes neurologiques, suggérant une pathogénie immuno-induite .La présence de sévères infiltrations mononuclées dans les nerfs spinaux et le système nerveux central a été observé , alors qu'il existe peu de parasite (Grisard, 2008).

L'issue de l'infection dépend en grande partie de :

- la période de la gestation au cours de laquelle survient la parasitémie ;
- la quantité du parasite et la durée de la parasitémie ;
- l'efficacité de la réponse immune maternelle ;
- la capacité du fœtus à établir une réponse immunitaire

8.2. Réponses immunitaires des animaux non gestants :

8.2.1. Les modèles murins pour l'étude de l'immunologie de l'infection par *Neospora*

Plusieurs expérimentations ont été menées chez les souris pour tenter de mieux comprendre la biologie, l'immunologie et la pathogénicité de *Neospora caninum* (Baker *et al.*, 1999). Ainsi les facteurs qui influencent l'issue de l'infection sont : la lignée murine ; la souche et le stade du parasite ; la dose, la voie d'incoculation et les traitements immunosuppresseurs (Hesse, 2002).

Les résultats de ces recherches ont permis de conclure que la réponse immunitaire chez la souris non gestante est surtout de type Th1, faisant intervenir l'interleukine 12, l'interféron gamma : et le facteur TNF alpha (Guinot, 2005; Hesse, 2002).

IL-12, produite au niveau de la rate, dans les 24 heures post-infection, est une cytokine initiateur de la réponse cellulaire, sécrétée par les cellules présentatrices d'antigène, elle entraîne une diminution de la sévérité de la maladie en stimulant la production de l'IFN γ par les cellules NK et les TH1 (Bouveret, 2004).

L'interféron- γ , produit par les lymphocytes T(CD4+) , est une cytokine majeure de résistance à l'infection : elle stimule à son tour l'activité microbicide des macrophages ainsi que l'activité cytotoxique des lymphocytes CD8⁺ et des cellules NK (Bouveret, 2004; Guinot, 2005).

L'activation des macrophages par l'IFN γ , stimule de plus en plus la production IL-12, hors la production de cette dernière entraîne une toxicité.

Face à cette toxicité, l'organisme va lutter en synthétisant son inhibiteur : IL-10. L'IL-10 va exercer un effet rétro-contrôle négatif sur la production de l'IL-12 et sur ses effets biologiques, en inhibant la production d'IFN- γ par les cellules Th1, ce qui oriente les réponses immunitaires vers un type Th2 (Avice, 2002; Ghalmi, 2011).

Le facteur TNF alpha et le système de reconnaissance du CMH1 interviennent également dans la résistance à l'infection et sont indispensables pour réduire la multiplication du parasite (Guinot, 2005).

8.2.2. La réponse immunitaire chez les chèvres non gestantes :

Il existe peu de données concernant le déroulement de la réponse immune chez la chèvre, mais celle-ci semble être identique à la réponse observée chez la souris ou la vache. En effet, l'infection à *Neospora caninum* est suivie d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire initiée par l'interféron γ (figure 24 (i)) , suffisante pour que l'animal ne développe pas de symptômes cliniques.

Ainsi la production d'interféron gamma par les cellules T_{CD4}^{+} , joue un rôle majeur dans les mécanismes de résistance au parasite (Innes *et al.*, 2002; Bouveret, 2004; Mallah and Alrodhan, 2013).

Au début de l'infection, les macrophages et les cellules dendritiques sont la première ligne de défense non spécifique contre *Neospora caninum* , il ont pour fonction de phagocyter le parasite et de présenter ces antigènes aux lymphocytes initiant ainsi une réponse plus au moins spécifique.

La reconnaissance des motifs moléculaires de *Neospora caninum* par les TLR, est encore peu décrite. Des études antérieures montrent l'implication des TLR 2, TLR3 , TLR11 et le récepteur de chemokines CCR5, qui est également un acteur clé de la réponse immunitaire contre *N. caninum*, ce dernier interagit avec la cyclophiline du parasite, ce qui va induire la migration et l'activation des cellules de l'immunité innée.

Après l'interaction des PAMPs du parasites avec les PRRs , les macrophages synthétisent l'IL-12 , principale cytokine activatrice des cellules T $CD4$ et $TCD8$ effectrices, qui, après stimulation, produisent l'IFN- γ (Nishikawa, 2017).

En général, les principales étapes du déroulement de la réponse immune contre *Neospora* sont les suivantes (figure 22) :

- La première étape fait intervenir les cellules présentatrices d'antigène, qui vont présenter l'antigène aux lymphocytes ;
- Puis, une réponse immunitaire spécifique Th1 se met progressivement en place, initiée par l'IL-12 et par les lymphocytes T $CD4$ et $TCD8$ qui sécrètent de l'IFN- γ et contribuent à l'activation des macrophages et à la destruction du parasite ;
- Enfin, la destruction du parasite par les macrophages se fait suite à un mécanisme dépendant de l'oxyde nitrique (NO), dont la synthèse est induite par IFN γ .

On note en parallèle , une réponse humorale où des IgG 1 et surtout des IgG 2 se met en place (Mesquita *et al.*, 2013).

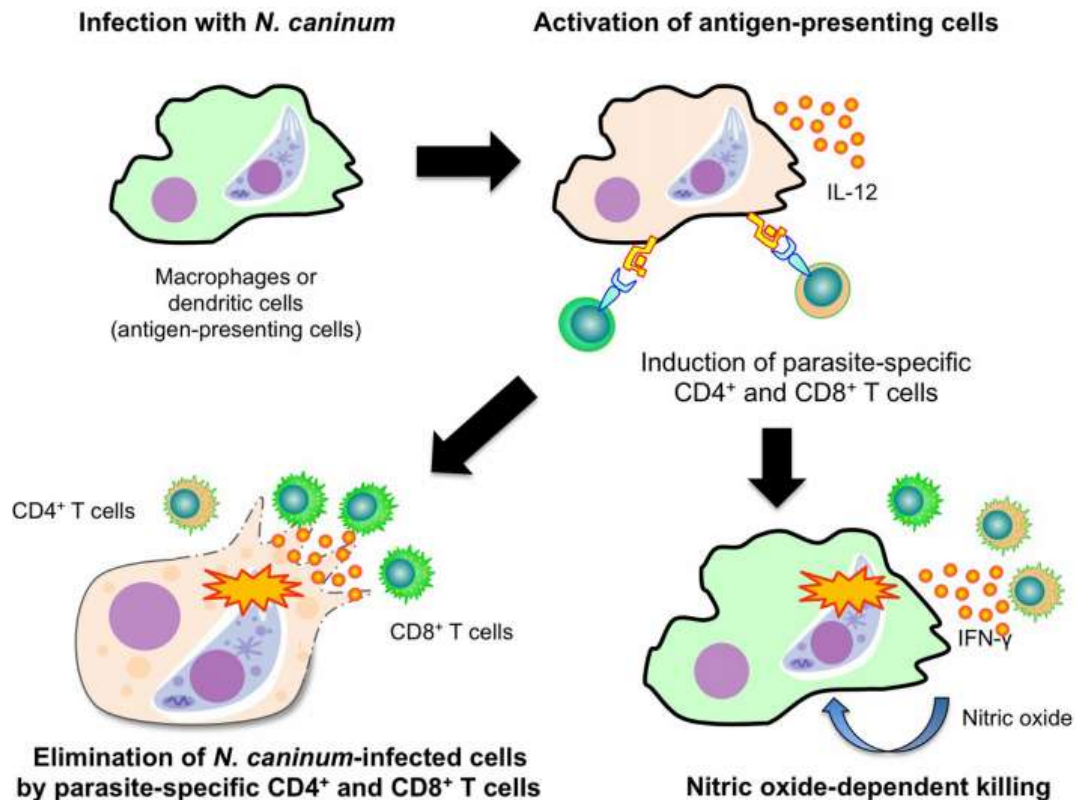


Figure 22 : Réponse immunitaire contre *N. caninum*(Nishikawa, 2017)

8.3. Réponse immunitaire chez les animaux gestants :

Les résultats d'une étude nouvellement publiée montrent que les conséquences cliniques de l'infection par *Neospora caninum* au cours de gestation chez les chèvres, suit le même modèle que celui observés chez les bovins et les ovins, ils dépendent du stade de gestation. Cependant il est intéressant de noter que de nombreux aspects concernant la réponse immunitaire maternelle et fœtale ne sont pas encore établis et nécessite des recherches plus approfondies (Almería *et al.*, 2017).

8.3.1. Rappels : Réponse immunitaire maternelles et fœtale au cours de la gestation

Au cours de la gestation chez les mammifères, des mécanismes complexes sont mis en place pour permettre à la mère de tolérer le fœtus, qui représente immunologiquement un véritable « corps étranger ». Ainsi, le placenta intervient en formant une barrière immunologique et en sécrétant des substances immunosuppressives.

➤ **Immunité maternelle** (Hesse, 2002; Guinot, 2005; Sarrazin, 2009) :

Chez la femelle gestante, les cytokines ont un rôle important dans le maintien de la gestation. Certaines sont bénéfiques, tandis que d'autres sont néfastes. Les cytokines pro-inflammatoires produites par les lymphocytes T-helper de type 1, comme : le Tumor Necrosis Factor (TNF)- α , l'interféron (INF)- γ et l'interleukine (IL)-2 sont indispensables pour réduire la multiplication de *N.caninum*, mais elles sont aussi toxique pour le fœtus et peuvent provoquer son rejet. Ainsi, la réponse immunitaire cellulaire pourrait être à l'origine d'une production accrue de cytokines délétères pour la gestation.

la période de gestation s'accompagne de la mise en place d'un microenvironnement immunitaire particulier au niveau de l'interface fœto-placentaire dominé par des cytokines dites « bénéfique à la gestation », telles que les cytokines régulatrices des lymphocytes TH-2, comme IL-10, le (TGF)- β , l'IL-4, et l'IL-5. Celles-ci vont limiter l'action des cytokines pro-inflammatoire et ne vont provoquer l'avortement, mais l'organisme ne pourra jamais contrôler efficacement l'infection, il y a alors transmission verticale.

Ces cytokines sont produites sous l'influence des hormones telles que : la progestérone et la prostaglandine, qui jouent un véritable rôle immunomodulateurs.

Il semblerait qu'il existe une relation entre le niveau hormonal et le type de réponse immunitaire, ainsi on constate que la réponse immunitaire à médiation cellulaire est plus importante en début qu'en milieu de gestation. En revanche à la fin de gestation, le taux de progestérone est plus élevé et induit la production de cytokines Th2 en majorité. La figure 23 reprend les deux types de réponse en fonction du moment de gestation

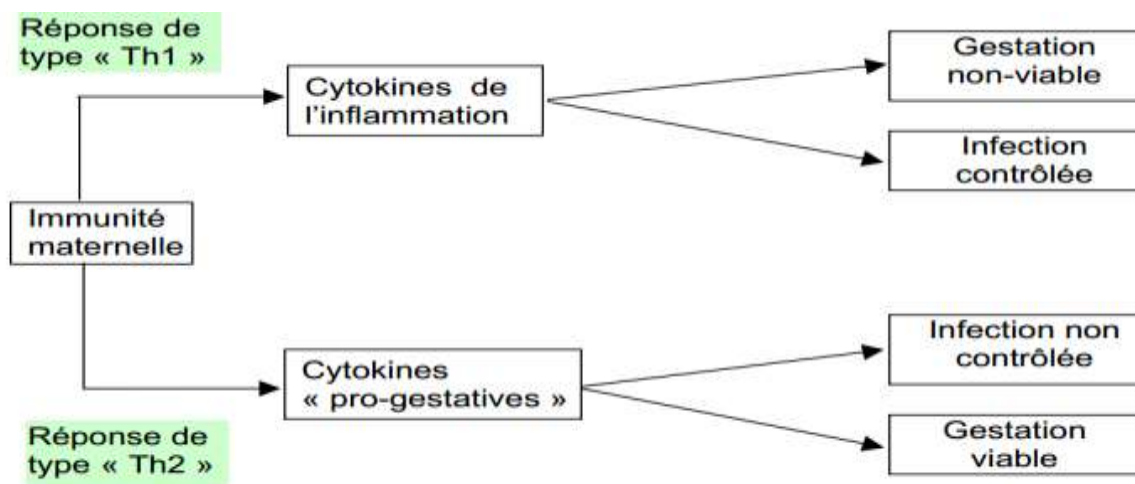


Figure 23 : Réponses cellulaires de l'organisme, lors de l'infection par un protozoaire, au cours de la gestation [Quinn & al. 2002]

L'évolution de la réponse à médiation humorale serait également le témoin de la recrudescence de la multiplication parasitaire lors de la gestation (stimulation antigénique) , chez les animaux infectés permanents.

Les taux d'IgG les plus bas sont observés en milieu de gestation (signe de la baisse d'immunité exercée par l'état gestant) et les plus élevés en fin de gestation et dans les mois qui suivent (Paré *et al.*, 1997; Innes *et al.*, 2002; Sarrazin, 2009).

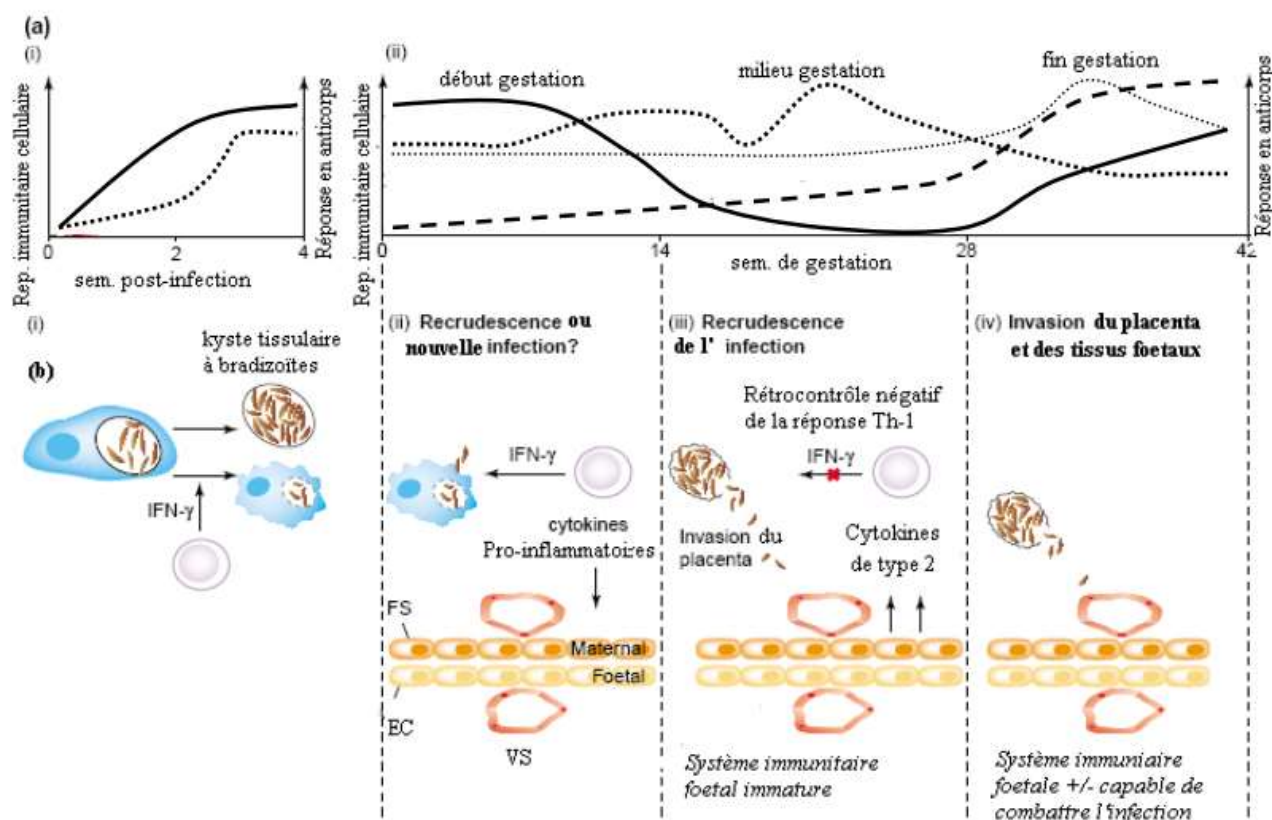
Cependant, si une augmentation du titre d' anticorps est observée en milieu de gestation, celle-ci est souvent liée à un avortement et indique un relargage de tachyzoites provenant des kystes cellulaires (Foulon, 2002; Ghalmi, 2011).

➤ Immunité fœtale :

Le fœtus acquiert progressivement une immunité au cours de la gestation. Mais durant la première période de gestation, les organes intervenant dans la protection immunitaire (rate, système lymphatique et thymus) se forment ; le fœtus n'est pas encore protégé contre une quelconque infection. Si l'infection de la mère survient au début de la gestation , la contamination du fœtus est rare , mais les dommages seront important , car le système immunitaire fœtal n'est pas bien développé (Hesse, 2002).

En effet les avortements en milieu de gestation sont fréquent , ce phénomène est explicable par le fait que le fœtus est exposés au parasite avant qu'il ne soit suffisamment immunocompétent (Foulon, 2002; PAYOT, 2002).

Au fur et à mesure que la gestation progresse, la probabilité de transmission du fœtus augmente mais le risque de développer des lésions diminue car, l'installation de la réponse immunitaire fœtale se met en place. L'animal naît alors normal cliniquement, mais infecté par le parasite (figure 24)



(i) Infection d'un animal non gestant

— Réponse immunitaire à médiation cellulaire
 Réponse en anticorps

(ii, iii et iv) Infection d'un animal pendant la gestation

— Réponse immunitaire à médiation cellulaire
 Réponse en anticorps
 Réponse en anticorps
 Infection en milieu de gestation
 Réponse en anticorps
 Infection en fin de gestation
 - - - Réponse immunitaire fœtale (maturité)

Legende figure (b) :

EC : Epithélium chorionique ; ES : Syncytium fœtal ; VS : Vaisseau sanguin

Figure 24 : Évolution de la relation Hôte/parasite lors d'une infection par *Neospora caninum* chez l'animal non gestant (i) et en cours de gestation (ii, iii et iv) (Innes *et al.*, 2002)

8.3.2. Réponse immunitaire en fonction du stade de gestation chez la chèvre (Porto *et al.*, 2016a, 2017) :

Une récente étude a été menée par Porto et ses collaborateurs, l'objectif était d'améliorer les connaissances relatives à l'influence de la gestation sur la réponse immune vis-à-vis de l'infection par *N. caninum* chez la chèvre.(Porto *et al.*, 2017).

Durant cette étude, trois groupe de chèvres ont été infectés à différents moments de leur gestation : le premier groupe (G1) est infecté à 40 jours de gestation, le second en milieu de gestation (G2 :90 jours) et le troisième vers la fin de gestation (G3 :190jours).Le groupe G4 étant un groupe de contrôle négatif (non –infecté). Les résultats de cette étude étaient les suivants :

L'infection du groupe G1, a induit un avortement chez toutes les chèvres, qui survient soit dans les deux semaines après l'infection (wpi), ou 3 semaines post infection (wpi).

L'analyse des placentas provenant des chèvres G1 ayant avortées durant la troisième semaine de gestation a révélé la présence d'ADN parasite et des lésions caractéristiques principalement localisés dans la partie fœtale et au niveau du placenta, ces lésions sont similaires à celles observées lors de la néosporose chez d'autres ruminants, Cependant l'ADN viral et les lésions n'ont pas pu être détectés chez les chèvres ayant avorté durant la deuxième semaine.

En parallèle, l'infection en milieu de gestation G2, a induit plusieurs cas cliniques tels que : des avortements, des mortinatalités et la naissance de chevreaux cliniquement sains mais séropositif. L'infection du groupe 3 était suivie de la naissance de chevreaux sains séropositifs.

On constate en général dans le groupe G1 et G2, des cinétiques similaires de production de l'IFN- γ , le pic survient entre 7 à 10 jours post infection, et décroît progressivement, jusqu'à atteindre des niveaux indétectables 2 semaines après l'infection. On note chez le groupe 3 une légère augmentation survenant entre 3 et 7 jours post infection (Figure 25).

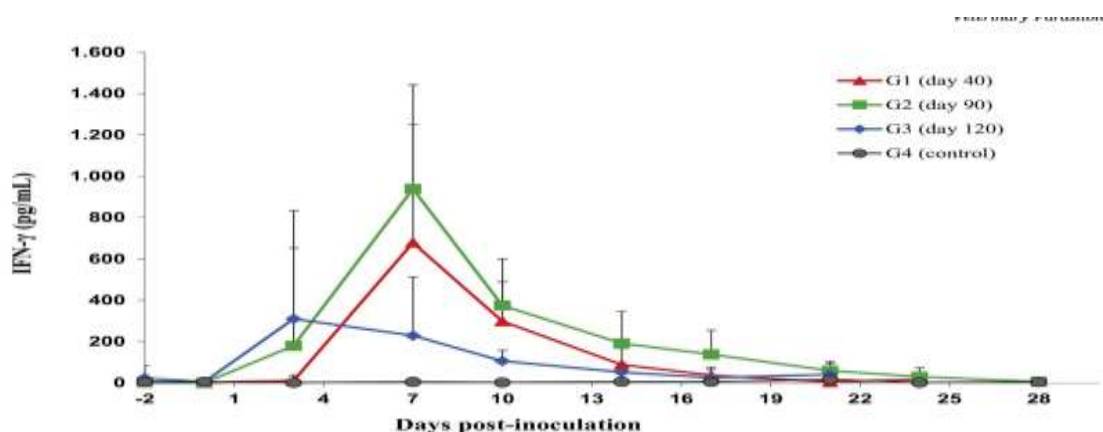
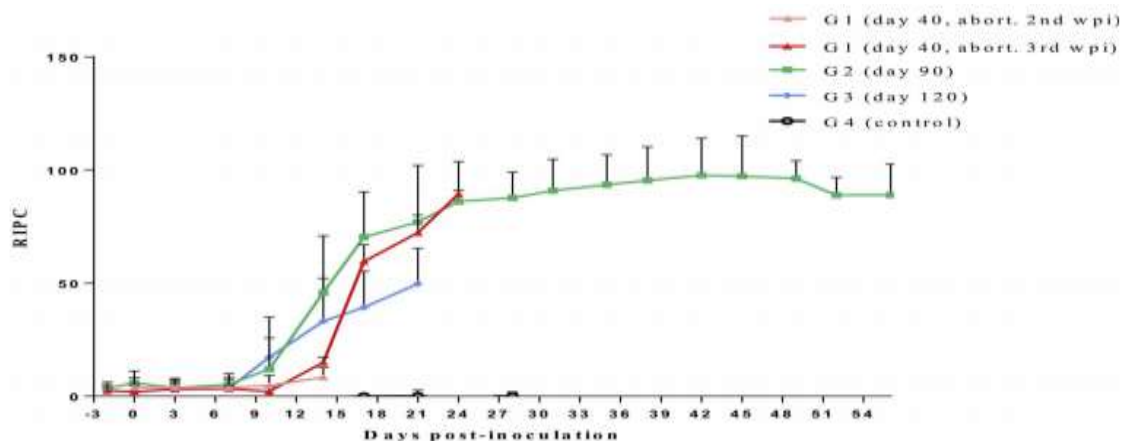


Figure 25: Concentration de l'IFN- γ dans les sérums de chèvres inoculées avec 10^6 tachyzoïtes de *Neospora caninum* : G1 (40j), G2 (90 j) et G3 (120 j) de gestation ainsi que du groupe témoin (G4). (Porto *et al.*, 2017)

Quant à la réponse immune adaptative, elle apparait à 14 jours après l'infection, et est caractérisée par la sécrétion d'IgG. Le taux d'anticorps le plus élevé est observé lors d'avortement (G1 et G2).



Légende : Chaque point représente la moyenne + un écartype selon différents temps d'échantillonnage. Les résultats sont exprimés en RIPC (relative index percent) calculés selon l'équation suivante $RIPC = \frac{(OD_{405} \text{ échantillon} - OD_{405} \text{ contrôle négatif})}{(OD_{405} \text{ contrôle positif} - OD_{405} \text{ contrôle négatif})} \times 100$

Figure 26 : Taux d'IgG dans le sérum de chèvres inoculées avec 10^6 tachyzoïtes de *Neospora caninum* (Porto *et al.*, 2017)

De plus le profil d'expression de la transcription des cytokines à l'interface materno-foetale chez les chèvres infectées en début de gestation était caractérisé par une forte régulation positive de IFN- γ et IL-4, avec des augmentations plus faibles de TNF α et IL-10.

Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse suggérant qu'une réponse mixte d'IFN- γ (Th1) et d'IL-10 (Th2) peut avoir lieu, telle que décrite chez les bovins et les ovins (Porto *et al.*, 2017).

En revanche la plus grande différence entre les caprins et les ovins réside au niveau de l'expression de IL-12.

En effet chez la chèvre, au cours de l'infection la transcription de l'IL-12 est induite, ce qui n'est pas le cas des ovins, puis ce que aucune expression significative de transcription de l'IL-12 n'a pu être détectée. Au contraire, chez les bovins, on note une augmentation accrue de l'expression de l'IL-12, TNF- α et IL-10 (Rosbottom *et al.*, 2008, 2011; Regidor-Cerrillo *et al.*, 2014; Porto *et al.*, 2017).

9. Diagnostic

9.1. Clinique :

Les avortements sont le signe d'appel le plus fréquent. Ils ont lieu plutôt en milieu de gestation, apyrétiques et sans prodrome. Aucune rétention placentaire ni infection utérine ou retour en œstrus décalé n'est observé (Journel et Pitel, 2001a).

Chez les jeunes chevreaux, on peut observer des mortinatalités et des troubles neurologiques, mais ne sont en aucun cas pathognomoniques.

9.2. Méthodes de laboratoire :

Les manifestations cliniques de l'avortement chez les caprins sont la plupart du temps peu spécifiques. Le recours au laboratoire est de ce fait indispensable pour fonder un diagnostic de néosporose.

Plusieurs types de méthodes de diagnostic direct et indirect peuvent être utilisées, cependant, les méthodes de diagnostic direct permettent de mettre en évidence des lésions spécifiques ou le parasite lui-même, elles apportent donc généralement la preuve de l'infection avec certitude

Les tableaux 14 et 15 reprennent les avantages et inconvénients des différentes méthodes

9.2.1. Les méthodes directes :

➤ Histologie

Compte tenu de la répartition des lésions, les prélèvements de choix sont l'encéphale, le cœur et accessoirement le foie et les muscles (Losson and Bourdoiseau, 2000).

Les tissus sont fixés dans du formol à 10% puis inclus dans de la paraffine. Après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, les lésions sont recherchées à un grossissement de x 200. L'examen permet de visualiser des lésions multifocales d'encéphalite ou de myocardite, non-suppurées, caractérisées par des foyers de nécrose entourées de cellules inflammatoires mononucléées.

Les kystes sont rarement observés dans le système nerveux de l'avorton mais faciles à visualiser compte tenu de leur taille importante. La différence avec les kystes de *Toxoplasma*, réside dans l'épaisseur de leur paroi, chez *Toxoplasma* la paroi est fine, elle mesure moins de 0.5µm, tandis que chez *Neospora* elle peut atteindre jusqu'à 4 µm (Ghalmi *et al.*, 2007).

L'examen de coupes histologiques permet d'établir un diagnostic de suspicion, mais les lésions ne sont pas pathognomoniques et le recours à l'immunohistochimie est indispensable pour confirmer la présence de *Neospora caninum* (Guinot, 2005).

➤ **l'immunohistochimie**

Les tissus utilisés sont comme pour histologie : l'encéphale, le cœur ou le foie. L'immunohistochimie permet de mettre en évidence les formes tachyzoïtes et plus rarement les bradyzoïtes localisés au système nerveux (Anderson *et al.*, 1994).

Avec cette technique il est possible de faire la distinction avec les autres protozoaires. Cependant elle 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**

La culture cellulaire n'est pas couramment utilisés en pratique pour le diagnostic de la néosporose, elle concerne plutôt la recherche fondamentale (Marquer and Chermette, 2000).

L'isolement de *Neospora caninum* est réalisé à partir du tissu nerveux. Le succès de cette technique dépend de la charge parasitaire présente dans l'organe ainsi que de son état de lyse. Or les organes des avortons sont souvent très abîmés, et la plupart des tachyzoïtes n'étant pas viables (Dubey and Lindsay, 1996).

L'inoculation est réalisée sur des souris immunodéprimées traités avec des corticoïdes par voie sous-cutanée, orale ou intra-péritonéale (Hemphill, 1999).

➤ **Amplification génique**

L'amplification génique ou PCR (Polymerase Chain Reaction) est une méthode qui permet l'amplification des séquence d'ADN de *Neospora caninum*, c'est une méthode très sensible et très spécifique, permettant de détecter parfois jusqu'à une seule copie d'une séquence (Jenkins *et al.*, 2002). Pratiquement tous les tissus fœtaux ainsi que le placenta peuvent être analysés. Mais les meilleurs prélèvements restent l'encéphale et le cœur frais, conservé au frais ou encore congelé (Ellis, 1998).

Cependant, les inconvénients de cette méthode sont liés au coût et aux difficultés d'interprétation. En effet, la présence du parasite dans les tissus ne traduit pas forcément son implication dans l'avortement (Jenkins *et al.*, 2002), c'est pourquoi il faut toujours l'associer avec d'autres techniques directes ou indirectes.

Les principaux avantages et inconvénients des différentes techniques de diagnostic direct sont rapportés dans tableau 08 et 09

En résumé, la figure 27 présente la démarche diagnostique à suivre en cas de suspicion de néosporose dans un troupeau

Tableau 08 : Avantages et inconvénients des techniques de mise en évidence directe de *Neospora caninum* (Journel and Pitel, 2001a)

Technique	Avantages	Inconvénients	Prélèvements	Modalité de conditionnement
Histologie	- Technique de référence - Coût modéré - visualisation de foyers de nécrose entourés de cellules inflammatoires mononucléées	- Très difficile si autolyse - Nécessité de plusieurs coupes - Visualisation du parasite	- Encéphale - Coeur	- Formol - Liquide de Bouin
Immunohistochimie	- Distinction de <i>Neospora</i> des autres Apicomplexa - Visualisation des lésions	- Difficile si autolyse - Qualité de l'anticorps - Nécessité de plusieurs coupes	- Encéphale - Coeur	- Formol - Liquide de Bouin
PCR	- Grande sensibilité et spécificité - Compatible avec un début d'autolyse	- Pas de visualisation des Lésions	- Encéphale - Coeur	- Frais ou congelé sous couvert du froid

9.2.2. Méthodes de diagnostic indirect

Ces techniques permettent de détecter les anticorps spécifiques de *Neospora caninum*. Elles ne sont, par conséquent, qu'un reflet du contact de l'animal avec le parasite : elles ne permettent pas de confirmer de manière certaine, la relation entre infection et symptômes (Jenkins *et al.*, 2002).

➤ Immunofluorescence indirecte (IFI)

Le principe du diagnostic repose sur la mise en contact de tachyzoïtes intacts de *Neospora caninum* avec du sérum ,contenant ou pas des anticorps spécifiques (Björkman and Uggla, 1999). De plus, il semble préférable d'utiliser des antigènes (tachyzoïtes) isolés dans la même espèce que celle du sérum à tester. En effet, il n'est pas certain qu'il n'existe aucune différence antigénique en fonction des souches de *Neospora caninum* (Björkman and Uggla, 1999).

Toutefois, les performances de ce test dépendent en partie de l'expérience du manipulateur.

➤ Agglutination directe

Compte tenu de sa simplicité, de sa rapidité et de ses qualités intrinsèques, la technique d'agglutination directe représente un outil de diagnostic intéressant qui pourrait être utilisée dans beaucoup d'espèces.

Le principe du test d'agglutination directe repose sur la mise en contact de tachyzoïtes *Neospora caninum* intacts et prétraités au formol avec des anticorps spécifiques du parasite. Il se forme alors un agglutinat visible à l'œil nu.

Ce test met en évidence les IgG seulement , les IgM sont détruits lors de la préparation (Björkman and Uggla, 1999).

➤ Techniques enzymatiques ou méthodes ELISA :

Il existe plusieurs types d'ELISA indirect , les plus utilisées sont décrites ci-dessous :

ELISA indirect : Le principe de la technique est de mettre en incubation des antigènes de *Neospora caninum* avec du sérum à tester. Ensuite, on ajoute 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 enzymatique (Björkman and Uggla, 1999).

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

ELISA avidité La recherche de l'affinité des anticorps (IgG) permet aussi de savoir si l'animal est atteint de manière aiguë ou chronique ou encore, d'avoir une indication sur le risque

d'avortement d'un animal, en effet l'affinité des anticorps IgG augmente progressivement après la contamination puis reste très élevée lors d'infection chronique

Le principe de ce test se repose sur un ELISA classique au début , ensuite les anticorps de faible avidité sont détachés par traitement à l'urée (Björkman *et al.*, 2003; Sager *et al.*, 2003; Ghalmi *et al.*, 2007) .

Tableau 08 : Avantages et inconvénients des techniques de mise en évidence indirecte de *Neospora caninum* (Journel and Pitel, 2001a)

Méthode	Avantages	Inconvénients
IFI	– méthode sérologique de référence – relativement simple, rapide, peu coûteuse et utilisable en routine dans un laboratoire – très grande spécificité et sensibilité élevée surtout sur sérum maternel – utilisable sur le sang des adultes, des veaux avant prise colostrale et sur les liquides péritonéaux et pleuraux des fœtus	– Existence de réactions croisées avec d'autres Apicomplexa dans certains tests – lecture non standardisée de la fluorescence – choix du seuil non standardisé – il conviendrait mieux de comparer les titres de mêmes animaux à deux moments différents – intérêt surtout à l'échelle du troupeau, après un examen histologique confirmant l'existence de néosporose
Agglutination directe	– test spécifique et très sensible, utilisable sur différentes espèces animales – méthode simple et quantitative	– intérêt surtout à l'échelle du troupeau • Difficulté de lecture parfois
Immunoblot	– spécifique si au moins trois antigènes immunodominants décelés – bonne sensibilité	– risque de réaction croisée avec <i>Toxoplasma gondii</i> (dilution et antigène recherché)
Test immunoenzymatique	– rapide et précis, peu coûteux, constant, objectivité du lecteur – très sensible et spécifique – utilisation sur le lait – automatisation réalisable sur un grand nombre d'échantillons	– choix des seuils non standardisés entre les différents kits – intérêt surtout à l'échelle du troupeau

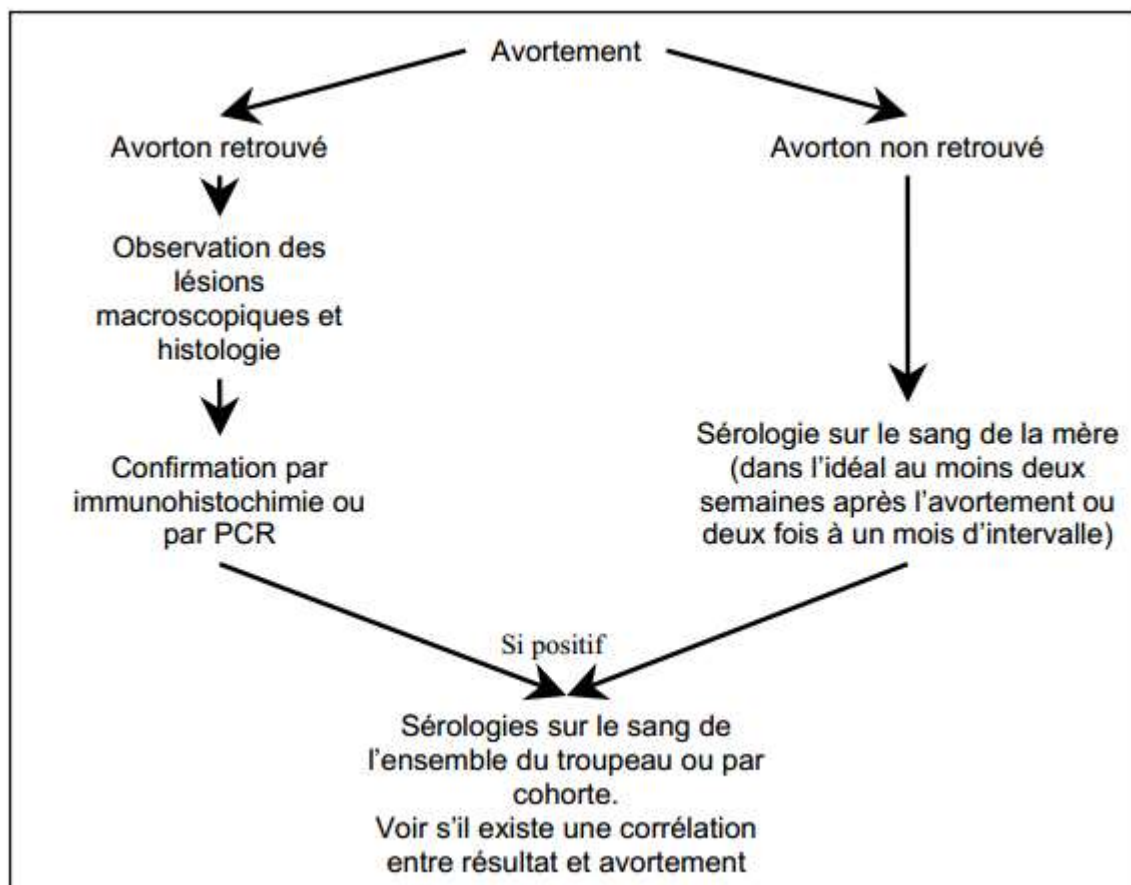


Figure 27 : Démarche diagnostique en cas de suspicion de néosporose dans un élevage

10. Traitement et prophylaxie :

10.1. Prophylaxie médicale

En Algérie, il n'existe actuellement aucune prophylaxie médicale contre la néosporose.

L'utilité de développer un vaccin pose cependant quelques interrogations. un vaccin peut avoir différents buts : prévenir l'infection, la transmission, la maladie ou sa conséquence l'avortement. Idéalement, un vaccin contre la néosporose devrait protéger contre les pertes embryonnaires et contre la transmission verticale. Mais aussi, il devrait permettre la différenciation entre animaux vaccinés et infectés.

Aujourd'hui, les recherches s'orientent vers le développement d'un vaccin inactivé, malgré que ci celui-ci est moins capable d'induire une réponse immunitaire à médiation cellulaire appropriée, que les vaccins vivants.

Les vaccins vivants sont plus durs à produire et à stocker. De plus, le potentiel zoonotique de *Neospora caninum* n'est pas exclu, donc un vaccin vivant pourrait être un risque pour la santé humaine (Sarrazin, 2009).

10.2. Prophylaxie sanitaire

Le meilleur moyen d'éviter ou d'éliminer la maladie repose sur la mise en place de mesures sanitaires.

10.2.1. prophylaxie offensive

Dans les élevages infectés, plusieurs stratégies sont utilisables en fonction du nombre d'animaux touchés, du coût nécessaire à leur mise en œuvre et bien entendu, de la motivation de l'éleveur.

1. Stopper la transmission verticale

L'éleveur peut décider de réformer ou de retirer de la reproduction tous les animaux séropositifs, afin de stopper la transmission verticale. Le problème est que cela peut s'avérer très coûteux, surtout si le taux de séropositivité est élevé, d'autant plus que cela revient à sacrifier une partie du travail de sélection génétique dans un troupeau.

D'autre part, cette technique n'empêche évidemment pas une réinfection du même cheptel par une nouvelle source du parasite. Cette mesure peut donc être recommandée si le nombre d'animaux séropositifs est assez faible et si la transmission est seulement verticale

2. Stopper ou limiter la transmission horizontale

Il faut empêcher la poursuite du cycle parasitaire. Les animaux sauvages ou les chiens ne doivent pas avoir accès aux avortons, placentas, fluides fœtaux et/ou aux veaux morts.

D'autre part, les chiens ne doivent pas avoir accès aux aliments des bovins (ensilage, concentrés, foin, eau) que ce soit dans les lieux de stockage ou dans les aires d'alimentation

La nécessité de se séparer d'un chien qui serait séropositif ne paraît pas du tout évidente, car expérimentalement, certains chiens excrètent des ookystes mais sont séronégatifs, alors qu'il n'est pas prouvé qu'un chien séropositif puisse excréter à nouveau des ookystes sans recontamination préalable

10.2.2. Prophylaxie défensive

Dans les élevages indemnes, il s'agit bien sûr, de ne pas « acheter » la maladie lors d'importations. Il faut, par conséquent, inciter les éleveurs à demander une sérologie à l'achat et à établir un billet de garantie conventionnelle avec le vendeur (Bouveret, 2004).

10.3. Traitement :

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement médical curatif de la néosporose chez les ruminants . Les essais avec différents antibiotiques et antiparasitaires se sont, pour l'instant, montrés décevants (Journel and Pitel, 2001b).

Cependant, il semblerait que chez le chien, les molécules actives contre les protozoaires classiques le sont aussi contre *Neospora caninum*. Ainsi, la clindamycine, les sulfamides et la pyriméthamine utilisés seuls, mais surtout en association, ont donné des résultats favorables dans le traitement de chiots atteints cliniquement. Le traitement doit être de 3 ou 4 semaines au minimum et le pronostic reste, de toute manière, mauvais lorsque les chiots sont déjà sévèrement atteints au commencement du traitement (Barber, 1998; Pluye, 1999).

Enfin, à la fois chez les bovins et les chiens, aucune molécule testée à l'heure actuelle n'est active contre les kystes tissulaires à bradyzoïtes et aucune n'empêche la transmission verticale (Barber, 1998; Pluye, 1999).

Deuxième partie :
Partie expérimentale

I. But et objectifs de l'étude :

Le but de la présente étude est de dresser un état des lieux de la situation du cheptel caprin algérien, concernant la séroprévalence de l'herpesvirus *caprin-1* et de *Neospora caninum* qui demeure à ce jour inconnue, puisque aucune étude séro-épidémiologique vis-à-vis de ces pathogènes n'a été faite .

Le CpHV-1, est un important agent abortif des caprins, fortement prévalent dans les régions méditerranéennes et la néosporose est connue pour être une des causes majeures d'avortement chez les bovins dans de nombreux pays à travers le monde y compris l'Algérie, toutefois peu de choses sont connues chez la chèvre.

Les hypothèses de recherche sont :

- ✓ Le CpHV-1 existe en Algérie et sa prévalence serait élevée ;
- ✓ *Neospora caninum* chez les caprins serait surtout présente dans les fermes où l'élevage est mixte (chiens)

Les principaux objectifs poursuivis par cette étude sont les suivants :

- ✓ Décrire la prévalence de l' *herpèsvirus caprin* et *Neospora caninum* dans les régions étudiées ;
- ✓ Déterminer les facteurs de risques liés à l'infection par *herpesvirus caprin* et *Neospora caninum* ;
- ✓ Mettre en évidence des cas des coïnfections possibles avec l'herpèsvirus *caprin* , *Neospora caninum* et *Brucella sp* ;
- ✓ Étudier les réactions croisées du *CpHV-1* avec d'autres *Alphaherpèsvirus* de la même famille comme, le virus BoHV-1

II. Description de l'étude

1. Répartition du cheptel caprin en Algérie :

En Algérie, le cheptel caprin est estimé de 3.256.580 têtes, il est localisé essentiellement dans les zones steppiques et sahariennes (Habi, 2014).

2. Type, zone et période d'étude :

En tenant compte de la répartition du cheptel, notre enquête a concerné 1 Wilayas du Littoral, 2 wilayas steppiques du centre, et 3 wilayas du Sahara comme suit :

✓ Wilaya de M'sila :

Fait partie de la région des hauts plateaux du centre et s'étend sur une superficie de 18.175 km², un climat de steppe est présent à M'Sila. Tout au long de l'année, il y a peu de précipitations. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe le climat comme étant de type BSk (Climats froids semi-arides)

M'Sila affiche une température annuelle moyenne de 15.8 °C. Chaque année, les précipitations sont en moyenne de 229 m

✓ Wilaya de Laghouat (Nord) :

Située au centre du pays à 400 Km au sud d'Alger, elle s'étend sur une superficie de 25000Km². Le climat est semi-aride avec des moyennes de -5 °C en hiver et de plus de 40 °C en été. Le cheptel caprin est d'environ 174 023 têtes.

✓ Wilaya de Ouargla :

large territoire de 163 230 km² , Les températures moyennes mensuelles enregistrées au mois le plus chaud (juillet) sont de 48° C à Touggourt et de 50° C à Hassi Messaoud. Alors que celles du mois le plus froid (janvier) sont de 10,8° C à Touggourt et de 9,7° C à Ouargla, le cheptel caprin est environ 173 600 têtes.

✓ Wilaya deTindouf :

Wilaya de l'extrême ouest de l'Algérie, Elle est limitée au nord par le Maroc, au nord-est par la Wilaya de Béchar, à l'ouest par le Sahara occidental, à l'Est par la wilaya d'Adrar et au sud par la Mauritanie . Elle n'est constituée que de deux communes : Tindouf et Oum el Assel .

Sa superficie est de 159 000 km² avec un climat désertique chaud typique de la zone saharienne hyper-aride, c'est-à-dire du cœur du Sahara.

✓ Wilaya de Ghardaia :

On retrouve dans cette wilaya aussi un climat désertique, BWh (Climat chaud du désert) et une superficie de 86 560 km². L'élevage ovin occupe la première place avec 356000 de têtes, suivi par l'élevage caprin dont l'effectif est évalué à 152000 de têtes.

✓ **Wilaya d'Oran :**

Située au nord-ouest de l'Algérie, à 432 km de la capitale Alger, Cette wilaya bénéficie d'un climat méditerranéen classique marqué par une sécheresse estivale, des hivers doux. L'élevage caprin est estimé à 11966 têtes dont 6 203 chèvres.

❖ **Période d'étude** L'enquête s'est déroulée du mois de février 2017 à Aout 2017

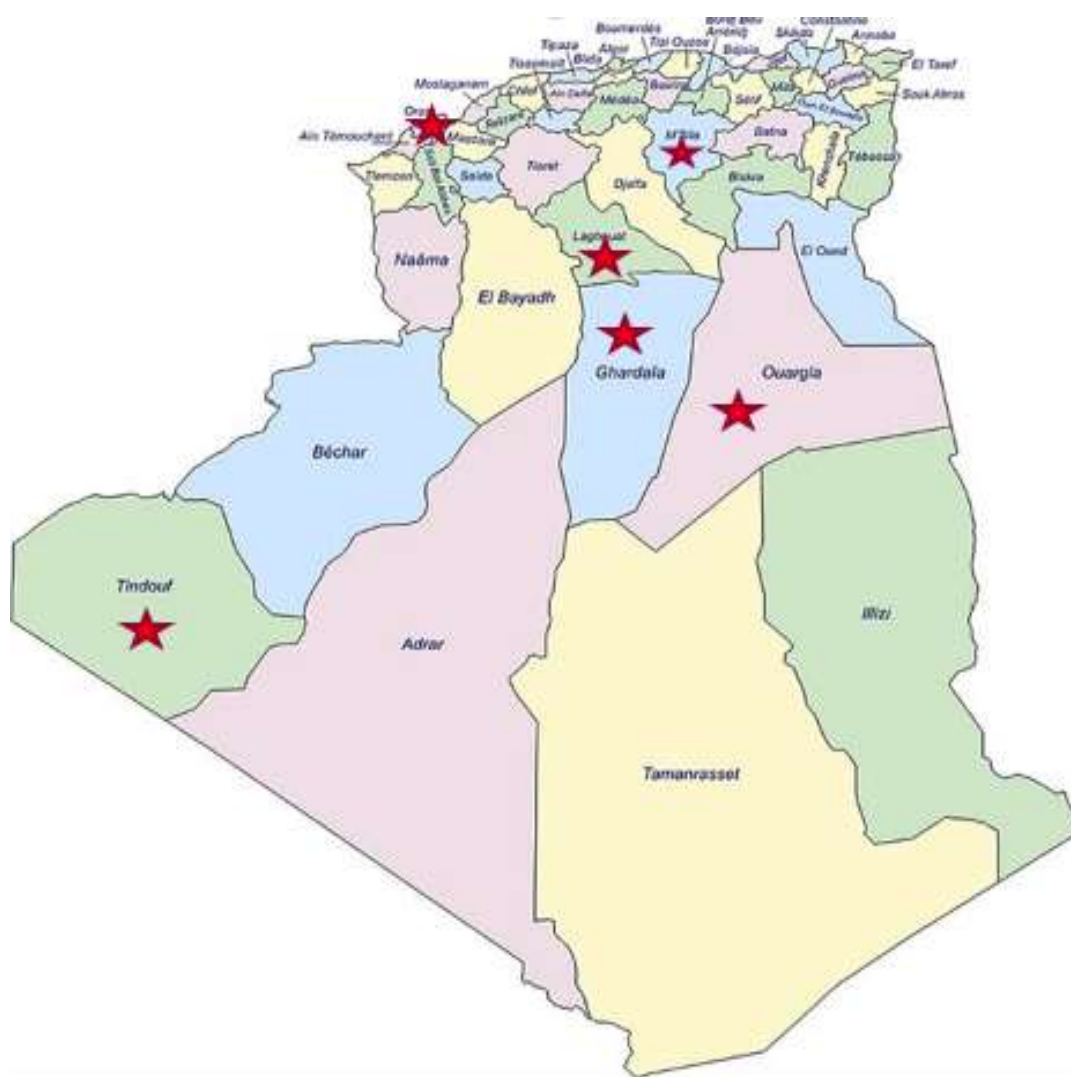


Figure 01 : Zone d'étude

III. Matériels et Méthodes

1. Matériel :

1.1. Matériel de prélèvement et du laboratoire

1.1.1 Matériel de prélèvement :

Le matériel de prélèvement sanguin était constitué de : tubes secs de 5 ml de type « Vacutainer », des aiguilles stériles, des porte-tubes, des portes aiguilles, des gants, du coton et de l'alcool.

Des glacières et des pains de glace ont été utilisés pour la conservation des prélèvements, le temps de leur acheminement au laboratoire de microbiologie de l'ENSV dans les plus brefs délais.

1.1.2 Matériel de laboratoire :

Le matériel et les équipements du laboratoire utilisé étaient constitués de :

- La verrerie habituelle : des pissettes, des microplaques à fond « en U », Bacs, embouts, tubes eppendorfs, portoirs, tubes à hémolyse, flacons, éprouvettes, réfrigérateur, congélateurs.
- l'appareillage : lecteur de microplaque avec un filtre de 450nm, centrifugeuse, étuve, bain marie, agitateur de plaque et de microplaque, pipettes multicanaux et micropipettes.

1.1.3 Réactifs :

Les réactifs nécessaires à la mise en évidence des Ac-anti-Neospora et des Ac-anti-CpHV1 étaient contenus dans les kits Elisa commerciaux (Kit Neospora ID Screen®, ID.VET) et (Eradikit CpHV1, IN3 diagnostics).

Pour l'étude des réactions croisées avec IBR deux autres Kits ont été utilisés : IDEXX IBR gB X3 Ab Test et ID Screen® IBR gE Compétition

Enfin les réactifs utilisés pour le diagnostic de la brucellose étaient : le rose Bengale (ID-Vet) pour la technique d'agglutination et l'Antigène *Brucella abortus* K99, le sérum hémolytique, tampon véronal, sérums positifs et négatifs de brucellose fournis par (ID-Vet) et complément de cobaye (Pourquier) pour la méthode de fixation du complément

1.2. Fiches d'enquête :

Le recueil des données est réalisé à l'aide d'un questionnaire, rempli en interrogeant l'éleveur de chaque élevage

Le questionnaire présenté en annexe N°4, est divisé en deux parties :

- ✓ La première partie pour le recueil des commémoratifs
- ✓ La deuxième partie pour la récolte de renseignements sur l'état sanitaire du cheptel, et en particulier l'existence de signes évoquant la néosporose et /ou herpèsvirose

2. Méthode :

2.1. Choix des échantillons et description des troupeaux :

Suite à des raisons pratiques et économiques, le nombre de prélèvement a été limité à 288 échantillons pour le diagnostic de *Neospora caninum*, en provenance de différentes wilayas : (Oran, M'sila, Ouargla , Ghardaïa , Laghouat et Tindouf) .

Les mêmes échantillons ont été re-testés pour l'étude de l'herpèsvirus *caprin-1*, Cependant cette fois –ci les échantillons provenant de la Wilaya d'Oran n'ont pas pu être testés, ce qui constitue un total de 188 pour le CpHV-1.

Cette enquête séro-épidémiologique a concerné les caprins de tout sexe et âge, les échantillons ont été choisis au hasard. La répartition des prélèvements au sein des troupeaux a été réalisée selon la taille des troupeaux avec un objectif de détecter une prévalence intra troupeau $\geq 10\%$ avec une certitude de 95% ($\alpha = 5\%$) selon le tableau

• Objectif : détecter une prévalence $\geq 10\%$ avec une certitude de 95% ($\alpha = 0.05$) • Tailles d'échantillon selon la taille du troupeau • Taille ≤ 10 têtes : tout le troupeau • $10 < \text{taille} \leq 100$ têtes										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1x	10	11	12	13	14	14	14	14	14	15
2x	16	16	17	18	19	19	19	19	19	19
3x	19	19	20	21	21	21	21	21	21	21
4x	21	21	22	22	23	23	23	23	23	23
5x	23	23	23	23	24	24	24	24	24	24
6x	24	24	24	24	25	25	25	25	25	25
7x	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
8x	25	25	25	25	26	26	26	26	26	26
9x	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
• Taille > 100 têtes :										
	100	150	200	250	300	500	1000	10000		
Echantillon	25	26	27	27	28	28	29	29		

Figure 02 : Taille des prélèvements en fonction de la taille des troupeaux

Cependant dans notre étude, la taille de la majorité des élevages était inférieure à 10 de ce fait, une prise de sang de l'ensemble des caprins a été réalisée. (Figure 2)

Tableau 01 : Description de l'origine des troupeaux testés *herpèsvirus caprin -1*

Wilayas	Commune	Nombre d'élevage	Nombre de prélèvements
M'sila	Zarzour	01	10
	Howamed	01	04
	Ben Srou	01	06
	Ouled Slimen	01	03
	Tamessa	05	44
Laghouat	Laghouat nord	02	12
Ouargla	Hassi Ben Abdellah	03	33
Ghardaia	Hassi Ben Daoua	01	01
	Ghardaia	04	30
Tindouf	Oum el Assel	05	45
Total		24	188

Tableau 02 : Description de l'origine des troupeaux testés *Neospora caninum*

Wilayas	Commune	Nombre d'élevage	Nombre de prélèvements
Oran	Bottlilis	05	44
	Ain Tassa	03	28
	Briadi	02	20
M'sila	Zarzour	01	10
	Howamed	01	04
	Ben Srou	01	06
	Ouled Slimen	01	03
	Tamessa	05	44
Laghouat	Laghouat nord	02	12
Ouargla	Hassi Ben Abdellah	03	33
Ghardaia	Hassi Ben Daoua	01	01
	Ghardaia	04	30
Tindouf	Oum el Assel	05	45
Total		34	280

Enfin, La répartition des classes d'Age et le sexe étaient comme suit (tableau 03) :

Tableau 03 : Répartition des échantillons en fonction du sexe et la classe d'Age

		Étude de <i>Neospora caninum</i>	Étude de CpHV-1
Age	1 ans	03	03
	2 ans	51	49
	3 ans	46	26
	4 ans et plus	170	110
Sexe	Femelle	249	172
	Male	31	16

Le pourcentage de femelles étant de 91% (172) dans l'étude de herpèsvirose contre 88.9% (249) dans l'étude de la néosporose.

En ce qui concerne l'âge, on remarque que plus de la moitié de nos échantillons appartenaient à la classe d'âge plus de 3 ans.

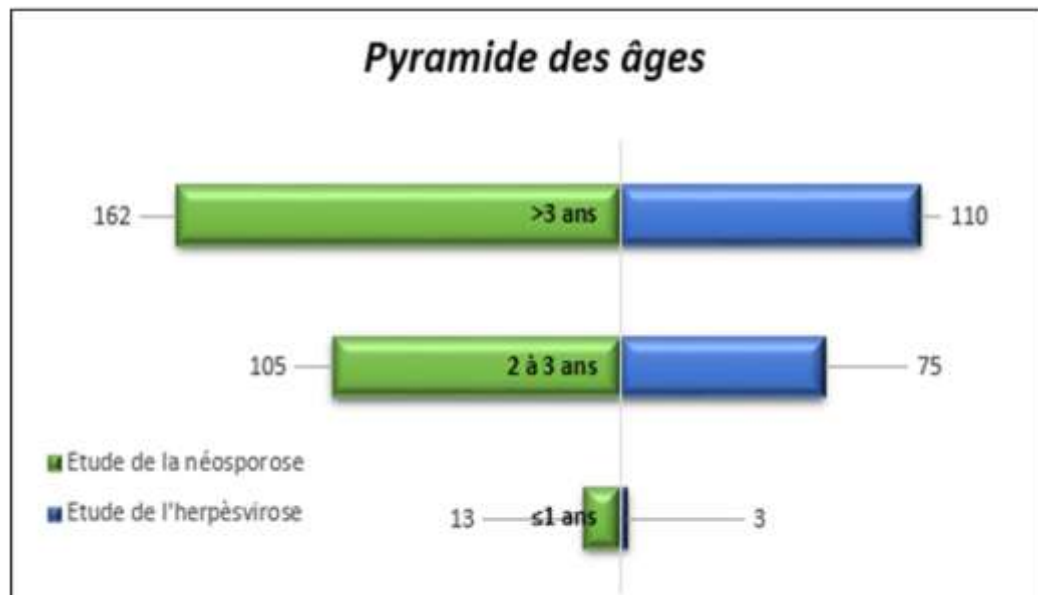


Figure 03: Pyramide des âges au cours de notre étude

2.2 Méthode de collecte et de conservation des échantillons :

- Le sang a été prélevé au niveau de la veine jugulaire sur tube sec de 5 ml, il est laissé 1-2heures à température ambiante de façon à obtenir une bonne rétraction du caillot, avant tout traitement.
- Le traitement des échantillons est soumis aux prescriptions de la norme NF U 47-020 « Guide de bonnes pratiques de traitement de l'échantillon soumis à des analyses immuno-sérologiques » :
 - ✓ Tous les échantillons sont numérotés, placés sous froid dans une glacière contenant des pains de glace et sont acheminés directement au laboratoire dans le plus court délai ;
 - ✓ Le tube de sang après rétraction du caillot sera par la suite centrifugé à 1500 rpm pendant 10 mn ;
 - ✓ Les sérums à tester doivent être de qualité satisfaisante. Tout sérum hémolysé ou trouble est susceptible de donner des résultats d'interprétation difficile. de ce fait durant notre travail les échantillons hémolysés ont été écartés.
- À la fin, les sérums ont été transvasés dans des cryotubes et identifiés puis conservés dans un congélateur à -16 C°.

Avant la réalisation du test, les sérums sont retirés du congélateur et laissés à température ambiante au minimum 01 heures avant leurs utilisations, ils sont ensuite homogénéisés avec le vortex.

2.2. Méthode du Laboratoire :

2.3.1 Normes et référentiels :

- Norme NF U 47-019 : Guide de bonnes pratiques pour la mise en œuvre des techniques ELISA
- Notice fournisseur des kits ELISA :
 - ✓ *Neospora caninum* Indirect, ID.VET;
 - ✓ *Herpèsvirus caprin-1* indirect , Eradikit , IN3 diagnostic ;
 - ✓ IBR gB X3 Ab , IDEXX;
 - ✓ ID Screen® IBR gE, ID.VET.
- Norme NF U 47-003 : Recherche d'anticorps contre la brucellose par la technique de l'épreuve à L'antigène tamponné
- Norme NF U 47-004 : Recherche d'anticorps contre la brucellose par la micro méthode de fixation du complément

2.3.2 Différentes techniques utilisées

2.3.2.1 ELISA Indirect :

a) Domaine d'application :

Cette technique était utilisée au cours de notre étude, pour le diagnostic de CpHV-1 et de *Neospora caninum* .

b) Principe :

L'ELISA indirect, est une technique immunoenzymatique, qui fait appel à l'affinité entre l'antigène et l'anticorps.

- Les échantillons et les contrôles sont déposés dans la plaque sensibilisée avec de l'antigène. Les anticorps anti-CpHV1 ou anti-*Neospora caninum* éventuellement présents se lient à l'Ag.

-Après lavage, un conjugué marqué à la peroxydase est ajouté et se fixe sur les anticorps préalablement fixés sur les microcupules.

-Le conjugué non fixé est éliminé par lavage avant addition d'un substrat chromogène. L'apparition d'une coloration bleue est la conséquence de l'oxydation du substrat par la peroxydase du conjugué.

-Après l'arrêt de la réaction, la coloration devient jaune. La lecture des résultats est réalisée par un lecteur de plaques ELISA.

L'apparition d'une coloration jaune indique un échantillon positif. La coloration de chaque puits est proportionnelle au taux d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon.

c) Mode Opératoire :

➤ **Mode opératoire « Eradikit kit CpHV-1 »**

Composition du kit

Microplaques sensibilisées avec l'antigène CpHV1
Conjugué 100 fois concentré
Contrôles positif et négatif
Tampon de dilution des échantillons (1c): prêt à l'emploi
Tampon de dilution du conjugué (3b) : prêt à l'emploi
Solution de lavage 20 fois concentrée
Solution STOP

Méthode :

Les étapes de la réalisation de cette technique sont les suivantes :

- Au début, tous les constituants ont été portés à température ambiante (21°C±5°C) ;
- Nous avons distribué dans un pré plaque 190 de tampon de dilution (1C) dans toutes les cupules, ensuite 10 µl de contrôle positif dans les cupules A1 et B1, enfin 10 µl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes
- Les sérums et les contrôles sont après transférés avec une pipette multicanaux dans la plaque sensibilisée puis incubés pendant 60mn±5mn à 23±5°

- À la fin de l'incubation, La plaque est vidée et lavée 3fois avec la solution lavage avec environ 300µl par cupule. La plaque est séchée en la tapant sur du papier absorbant.
- Après nous avons distribué dans chaque cupule 100µl de conjugué, qui a été préalablement dilué au 1/100 .la plaque a été ré incubée pour la deuxième fois pendant 45mn ±2mn heure à 23±5°.
- Après l'incubation trois lavages ont été effectués.
- Nous avons distribué alors 100µl de substrat dans chaque cupule .
- Encore une fois la plaque a été re-incubée 15 mn à température ambiante (21±5°C) à l'obscurité.
- La dernière étape était la distribution de 100µl de solution de stop dans chaque cupule. Nous avons procédé juste après à lecture de la plaque dans un lecteur ELISA avec un filtre de 450 nm.

Expression et Interprétation des résultats

Après la lecture de notre plaque, la validité du test a été vérifiée selon les recommandations du fournisseur :

- ✓ La valeur moyenne de la densité optique des contrôles positifs est supérieure à 0,4 ;
- ✓ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs et négatifs est supérieur à 0,3 ;

Nous avons calculé ensuite le ratio S/P pour chaque échantillon en appliquant la formule suivante :

$$S/P\% = \frac{(DO_{CH}-DO_{CN})}{(DO_{CP}-DO_{CN})} \times 100$$

Les résultats sont exprimés de manière qualitative : négatif, douteux, positif si :

S/P ≤ 30% : Négatif

30% < S/P < 40%: Douteux

S/P ≥ 40%: Positif

➤ **Mode opératoire *Neospora caninum* « Indirect, ID.VET »**

Constituants du kit :

Microplaques sensibilisées
Conjugué concentré 10X
Contrôles positif et négatif
Tampon de dilution Sérum (2)
Tampon de dilution du conjugué (3)
Solution de lavage 20 fois concentrée
Solution de révélation
Solution STOP (0.5M)

Méthode :

- Tous les constituants ont été ramenés à température ambiante $21^{\circ}\text{C}\pm 5$ avant l'emploi et homogénéisés au vortex
- Après la disparition des cristaux, la solution de lavage concentrée 20 fois a été diluée dans l'eau distillée
- Pour réduire la différence de temps entre les échantillons, nous avons préparé une microplaque de 96 puits contenant 90 μl de tampon de dilution 2 dans chaque puits puis nous avons distribué :
 - 10 μl du contrôle positif dans les cupules A1 et B1 ;
 - 10 μl du contrôle négatif dans les cupules C1 et D1 ;
 - 10 μl de chaque échantillon dans les cupules correspondantes .
- Puis nous avons transféré le tout dans une plaque sensibilisée .
- La plaque a été incubée pendant 45 minutes à $21^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}$.
- Après l'incubation, la plaque est vidée et lavée 3 fois avec la solution de rinçage. Les lavages seront réalisés sous un volume de 300 μl par cupule. Le séchage de la plaque se fait en tapant sur du papier absorbant.
- Ensuite nous avons distribué dans chaque cupule 100 μl de conjugué concentré à 1X.
- La plaque a été incubée pour la deuxième fois 30mn ± 3 mn heure à $21\pm 5^{\circ}$.
- Après la fin de l'incubation, la plaque a été vidée et lavée trois fois.
- Nous avons distribué par la suite 100 μl de solution de révélation.
- De nouveau la plaque a été incubée pendant 15 mn ± 2 mn à température ambiante ($21\pm 5^{\circ}\text{C}$) à l'obscurité.
- À la fin de l'incubation nous avons distribué 100 μl de solution d'arrêt.
- La lecture a été faite par un lecteur ELISA avec un filtre de 450nm.

Expression et Interprétation des résultats

Après la lecture de notre, la validité du test a été vérifié selon les recommandations du fournisseur :

- ✓ La valeur moyenne de la densité optique des contrôles positifs est supérieure à 0,350
- ✓ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs et négatifs est supérieur à 3
- Après la vérification de la validité du test, On a calculé le ratio S/P Pour chaque échantillon comme suit :

$$S/P\% = \frac{(DO_{\text{CH}} - DO_{\text{CN}})}{(DO_{\text{CP}} - DO_{\text{CN}})} \times 100$$

Les échantillons présentant un S/P % :

S/P ≤ 40% : Négatif

40% < S/P < 50% : Douteux

S/P ≥ 50% : Positif

2.3.3.2 ELISA de Compétition

a) Domaine d'application :

Dans le cadre de notre étude, deux kit d'ELISA de compétition ont été utilisés pour mettre en évidence l'existence de réactions croisées avec le virus le plus du CpHV-1, le BHV-1 « virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine »

Le premier kit, c'est le Kit ID Screen® IBR gE Compétition, destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre la glycoprotéine gE du virus BHV-1 ;

Le deuxième, c'est le kit IDEXX IBR gB X3 Ab qui détecte des anticorps spécifiques de la glycoprotéine-B des herpèsvirus en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de la gB

b) Principe des ELISA compétition :

Les cupules sont sensibilisées avec la glycoprotéine recherchée. Les anticorps spécifiques anti-gB ou anti-gE s'ils sont présents, dans les sérums à tester se fixent sur les épitopes de l'antigène fixé sur les microcupules. En l'absence d'anticorps, c'est le conjugué anti-gE ou anti-gB marqué à la peroxydase (Anticorps monoclonal anti-gB ou anti-gB marqué à la peroxydase) qui se fixent sur les épitopes. La fixation du Conjugué est révélée par l'addition du substrat de l'enzyme dont la dégradation entraîne l'apparition d'une coloration. L'intensité de cette coloration permet la quantification du conjugué fixé. L'apparition d'une coloration indique la fixation du conjugué donc la présence d'un échantillon négatif en anticorps anti-gB ou anti-gE . Une absence de coloration, à l'inverse traduit la présence d'anticorps anti-gB ou anti-gE

c) Mode Opératoire :



Mode opératoire de ELISA ID Screen® IBR gE

Composition du kit :

Réactifs
Microplaques sensibilisées
Contrôles positif et négatif
Tampon de dilution 100
Conjugué anti-IBR-gE -HRP concentré 10 X
Solution de lavage 20 fois concentrée
Solution de révélation (TMB)
Solution d'arrêt

Méthode :

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, nous avons préparé une plaque de pré –dilution contenant les échantillons à tester et les contrôles, puis nous avons transféré avec une pipette multicanaux dans la plaque ELISA sensibilisées.

- Les réactifs sont portés à température ambiante et homogénéisés ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) avant la réalisation du test.
- Les échantillons et les contrôles sont à diluer dans du tampon de dilution 100, on ajoute 50µl de ce dernier dans chaque cupule ;
 - 50µl de témoin pur positif sont déposés dans les cupules (A1 et B1).
 - Ensuite, dans d'autres cupules (C1 et D2), 50µl de témoin négatif sont déposés.
 - Enfin, 50µl de sérum à analyser sont déposés dans les autres cupules
- Une fois les échantillons et les contrôles déposés, la plaque est couverte avec un adhésif et incubé pendant une nuit à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) (nous avons choisi l'incubation de nuit car selon le fournisseur, elle montre une sensibilité améliorée).
- À la fin de l'incubation, la plaque est vidée et lavée trois fois avec la solution de rinçage diluée au 1/20. Ces lavages sont réalisés sous un volume de 300µl par cupule. La plaque est séchée en la tapant sur du papier absorbant.
- L'analyse continue par la distribution dans chaque cupule de 50µl de d'anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase. Ce Conjugué a été au préalable dilué au 1/10 avec le tampon de dilution 100.
- La plaque est ensuite incubée 30 minutes $\pm$ 3 minutes à ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$).
- Après l'incubation, la plaque est vidée et lavée 3 fois avec la solution de rinçage. Les lavages seront réalisés sous un volume de 300µl par cupule. Le séchage de la plaque se fait en tapant sur du papier absorbant.
- Nous distribuons par la suite dans chaque cupule 100µl de Substrat.
- La plaque est une fois de plus incubée pendant 15 minutes $\pm$ minutes à l'obscurité.
- A la fin de l'incubation, nous distribuons dans chaque cupule 100µl de Solution d'arrêt.
- Enfin, la plaque est lue à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre .
- Après la lecture de notre, la validité du test a été vérifiée selon les recommandations du fournisseur :
 - ✓ La valeur moyenne de la densité optique des contrôles négatifs est supérieure à 0,7
 - ✓ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs et négatifs est inférieur à 0,3
- Après la vérification de la validité du test, nous avons calculé le ratio S/P pour chaque échantillon en appliquant la formule suivante :

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

Les échantillons présentant un pourcentage de compétition :

- ✓ Inférieur ou égal à 40% sont considérés comme positifs
- ✓ Supérieur à 40% et inférieur à 50% sont considérés comme douteux
- ✓ Supérieur ou égale à 50% sont considérés comme négatifs

➤ **IDEXX IBR gB X3 Ab Test :**

Composition du kit :

<u>Réactifs</u>
Plaque sensibilisées avec des antigènes du BHV-1
Contrôles positif et négatif
Conjugué anti-IBR-gB -HRP
Solution de lavage 10 fois concentrée
Substrat N°12 (TMB)
Solution d'arrêt N°3

Méthode :

- Les réactifs sont portés à température ambiante et homogénéisés (21°C±5°C) avant la réalisation du test.
- Nous avons distribué dans la plaque sensibilisée :
 - 50µl de solution de lavage dans chaque puit
 - 50µl du contrôle positif dans les cupules A1 et B1
 - 50µl du contrôle négatif dans les cupules C1 et D1
 - 50µl de chaque échantillon dans les puits adjacents
- Une fois les échantillons et les contrôles déposés, la plaque est couverte avec un adhésif et incubé pendant 02 heures ±5 min à (37°C±3°C)
- À la fin de l'incubation, la plaque est vidée et lavée cinq fois avec la solution de rinçage diluée au 1/10. Ces lavages sont réalisés sous un volume de 300µl par cupule. La plaque est séchée en la tapant sur du papier absorbant.
- L'analyse continue par la distribution dans chaque cupule de 100µl de d'anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase.
- La plaque est ensuite incubée 30 minutes ±3 minutes à (21°C±5°C)

Après l'incubation, la plaque est vidée et lavée 5 fois avec la solution de rinçage. Les lavages seront réalisés sous un volume de 300µl par cupule. Le séchage de la plaque se fait en tapant sur du papier absorbant.

Nous distribuons par la suite dans chaque cupule 100µl de Substrat.

La plaque est une fois de plus incubée pendant 15 minutes ± minutes à l'obscurité.

À la fin de l'incubation, nous distribuons dans chaque cupule 100µl de Solution d'arrêt.

Enfin, la plaque est lue à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- Après la vérification de la validité du test, nous avons calculé le ratio S/P pour chaque échantillon en appliquant la formule suivante :

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

2.3.3.3 Test d'Agglutination

a) Domaine d'application :

Ce test a été utilisé pour la recherche d'anticorps anti-*Brucella*

b) Principe :

C'est une épreuve de séroagglutination rapide. Le mélange réactionnel contient pour moitié le sérum et pour moitié l'antigène constitué d'une suspension phénolée à 0,5 p. cent de *Brucella abortus* biovar 1, souche 99, inactivée, colorée au Rose Bengale et tamponnée à pH = 3,65 ± 0,05.

c) Mode Opératoire :

Le test au Rose Bengale a été effectué à l'aide d'un antigène produit par Id-Vet le protocole était le suivant :

- L'antigène est laissé à température ambiante pendant 30 min avant emploi, puis agité doucement de manière à obtenir une suspension homogène.
- Sur une plaque en verre de séroagglutination, nous avons déposé 30 µl de chaque sérum à tester , puis 30 µl de l'antigène à côté de chacun des sérums.
- enfin nous avons mélangé soigneusement l'antigène et le sérum à l'aide d'un petit bâton.
- La plaque été agitées pendant 5 minutes exactement, ensuite on a procédé immédiatement à la lecture de la plaque sous un bon éclairage et à l'œil nu.
- les résultats sont exprimés de la façon suivante
 - ✓ Absence d'agglutinat : négatif ;
 - ✓ Présence d'agglutinats (même très fins) : positif ;
 - ✓ Présence de flocculats (faux agglutinats) : ininterprétable ou illisible.

d) Limite de diagnostic

Le Rose Bengale est un test économique, rapide, simple. Il est certes sensible mais certains positifs peuvent se révéler être de faux positifs. Ainsi, tous les positifs doivent être confirmés par

un autre test, notamment la FC ou l'ELISA. Dans notre cas, nos positifs ont été re-testés par la fixation du complément.

2.3.3.4 Test de fixation de complément

a) Domaine d'application :

Cette technique était utilisée comme test de confirmation, sur les échantillons qui se sont révélés brucellose positifs par EAT.

b) Principe :

Du complément hétérologue est mis en présence du mélange antigène-sérum testé. Lors de la formation de complexes immuns antigène-anticorps spécifiques, le complément se fixe sur ces complexes. La réaction est révélée par l'adjonction d'un second système immunitaire hématies-sérum hémolytique (système hémolytique).

Le complément non utilisé par les premiers complexes se fixe au système hémolytique entraînant une lyse des hématies d'ampleur proportionnelle à la quantité de complément resté libre.

Le taux d'hémolyse observé, évalué d'après la coloration du milieu de réaction (surnageant après centrifugation), est ainsi inversement proportionnel au taux d'anticorps spécifiques initialement présents dans le sérum.

c) Mode Opératoire :

- la première étape de notre technique était la dilution des réactifs, des sérums et des contrôles comme suit :

- ✓ Les hématies sont diluées à 2,5 p. cent en TV ; Le sérum hémolytique et le complément sont dilués selon les résultats du titrage ;
- ✓ Le complément est utilisé sous un volume de 25 μ l contenant six unités hémolytiques 50 p. cent (H50) ;
- ✓ Le système hémolytique, utilisé sous un volume de 50 μ l, est constitué d'un mélange à parties égales : d'une suspension d'hématies à 2,5 p. cent avec le sérum hémolytique de lapin .

- La deuxième étape était la décomplémentation des sérums à tester et des sérums de contrôle au bain-marie à $59^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

- Nous avons ensuite procédé à la répartition de l'antigène, du tampon ainsi que le complément et à la réalisation des témoins suivant le tableau ci-dessous.

Tableau 04 : Répartition de l'antigène, du tampon et du complément

	Sérum dilué	TV	Antigène dilué	C 6H50
Puits témoin sérum dilution du 1/4	25 µl	25 µl		25 µl
Puits examen dilutions de 1/4 à 1/256	25 µl	—	25 µl	25 µl

Tableau 05 : Réalisation des témoins

	TV	Antigène dilué	C 6H50
Témoin antigène	25 µl	25 µl	25 µl
Témoin complément	50 µl		25 µl
Témoin système hémolytique	75 µl		

- Après la répartition, nous avons agité et placé la plaque à 5 °C ±3 °C pendant 16 h à 20 h
- La plaque a été retirée le lendemain du réfrigérateur, puis nous l'avons placée pendant 10 min à l'étuve préréglée à 37°C±2 °C
- Ensuite, nous avons ajouté 50 µl de système hémolytique
- Encore une fois nous l'avons agité et placé à l'étuve préréglée à 37 °C ±2 °C pendant 30 min.
- la dernière étape était la centrifugation et la lecture de la plaque.

La série d'épreuves est validée par le résultat des témoins :

- ✓ témoin antigène : 100 p. cent d'hémolyse ;
- ✓ témoin complément : 100 p. cent d'hémolyse ;
- ✓ témoin système hémolytique : 0 p. cent d'hémolyse (sédimentation)
- ✓ sérum de contrôle négatif : 100 p. cent d'hémolyse ;
- ✓ le sérum de contrôle interne est révélé au titre attendu ±une dilution.

Expression et Interprétation des résultats

L'interprétation se fait à partir de la conversion des résultats en titre, exprimé en unités internationales de fixation du complément par millilitre (UI/ml) qui s'établit comme indiqué dans le tableau suivant. (La sédimentation indique que le résultat est positif, et l'hémolyse que le résultat est négatif).

Tableau 06 : Interprétation des résultats de la fixation du complément *Brucella*

Dilution du sérum	Inhibition de l'hémolyse			
	25 % (+)	50 % (++)	75 % (+++)	100 % (++++)
1/2	8,3	10	11,6	13,3
1/4	16,6	20 ^{a)}	23,3	26,6
1/8	33,3	40	46,6	53,3
1/16	66,6	80	93,3	107
1/32	133	160	187	213
1/64	267	320	373	427
1/128	533	640	747	853
1/256	1 067	1 280	1 493	1 707
a) Seuil de positivité européen (20 UI/ml).				

2.4 Analyses des données et méthode statistiques

Des analyses statistiques ont été réalisées pour déterminer la proportion d'animaux et de troupeaux infectés par la Néosporose, et l' Herpesvirus caprin, ainsi que pour traiter les données du questionnaire. Ces derniers ont été saisis au fur et à mesure dans le système de gestion de données Excel 2013.

La comparaison de pourcentages est effectuée par le test du X^2 ou Fisher (quand les effectifs calculés sont inférieurs à 05) à partir d'un tableau de contingence.

Le test de khi 2 est utilisé quand les effectifs calculés (c) sont supérieures à 5 selon la règle suivante $X^2 = \sum \frac{(o-c)^2}{c}$

Dans ce cas :

Si $X^2 < 3,84$, la différence n'est pas significative ($p > 0.05$) : La différence observée est due aux fluctuations d'échantillonnage

Si $X^2 \geq 3,84$, la différence est significative ($p < 0.05$) et le degré de signification est fixé par le risque lu dans la table de X^2 à n degré de liberté : c'est-à-dire que dans ce cas La différence observée est réelle et n'est pas due aux fluctuations d'échantillonnage (cette méthode n'est valable que si tous les effectifs calculés sont supérieurs ou égaux à 5)

Enfin tous ces tests ont été menés grâce au logiciel XLSTAT

IV. Résultats

1. Résultat de l'étude de l'herpès virus caprin-1 :

1.1. Séroprévalence de l'herpès virus caprin

2.1.1 Séroprévalence globale

Le nombre total d'analyses effectuées pour le diagnostic de CpHV-1 était de 188. Les résultats de cette analyse sont les suivants : 51 échantillons se sont révélés positifs, 08 douteux (soit 4.2 % de la totalité des sérums) et 129 négatifs. La séroprévalence globale se situe entre 31.38% et 28.33% selon que l'on considère ou non les caprins de statut « douteux ».

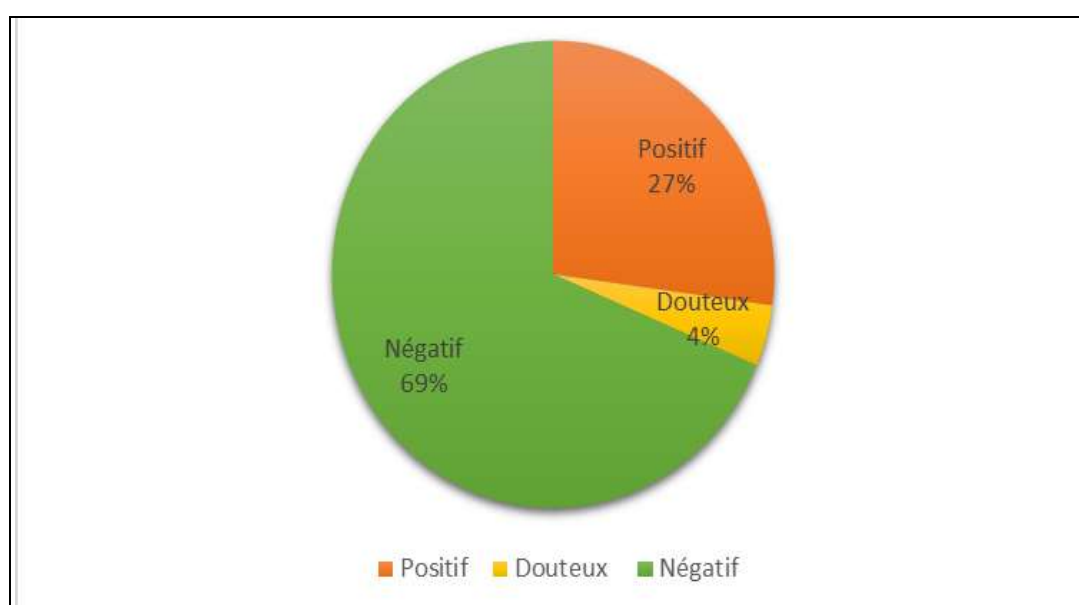


Figure 04 : Résultat CpHV-1

En excluant les sérologies douteuses, on obtient 51 animaux séropositifs et 129 séronégatifs sur 180. La séroprévalence globale calculée est donc de 28.33% avec un intervalle de confiance à 95% de cette valeur est de 21.5% à 34.5 %.

2.1.2 Séroprévalence de troupeaux

Un troupeau a été considéré positif si au moins un animal était positif dans le troupeau. De ce fait le taux de prévalence troupeau du CpHV-1 est estimé à 13/24 soit 54% des troupeaux sont positifs.

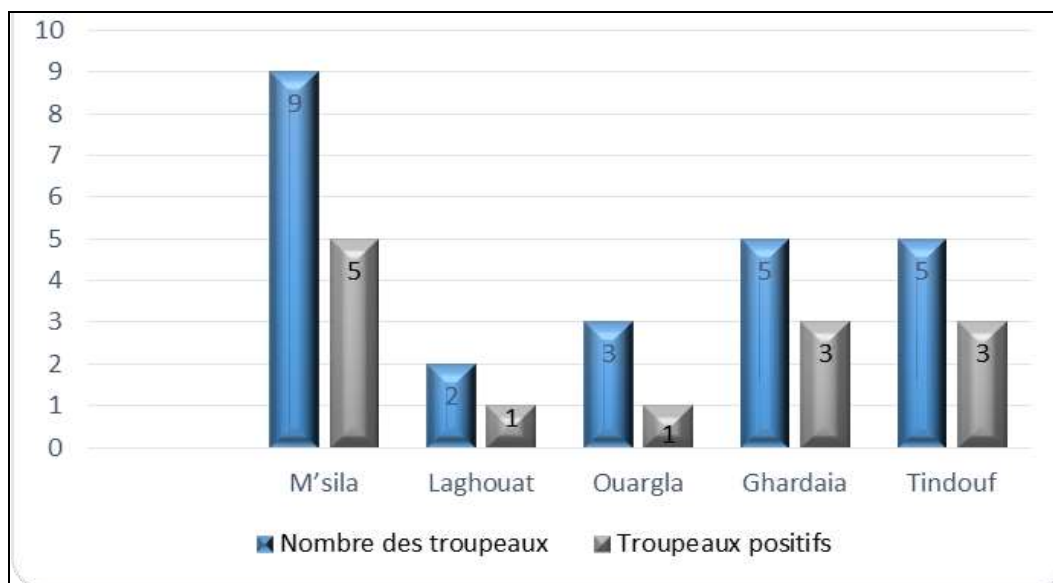


Figure 05 : Nombre de troupeaux positifs

1.2. Étude des facteurs de risques

2.2.1 La région

La prévalence de CpHV-1 pour chaque wilaya est décrite sur le tableau ci-dessous, et ce en excluant les sérologies douteuses.

Tableau 8 : Prévalence de CpHV-1 dans les différentes régions

Wilayas	NTA	NTP	Prévalence troupeau	NPA	NPP	Prévalence individuelle
M'sila	09	05	55%	63	14	22%
Laghouat	2	1	50%	12	4	33%
Ouargla	3	1	33%	31	6	19%
Ghardaia	5	3	60%	29	5	17%
Tindouf	5	3	60%	45	22	48%
Total	24	13	54%	180	51	28.33%

Légende : NTA : nombre de troupeaux analysés ; NTP : Nombre de troupeaux positifs ; NPA : nombre de prélèvements analysés ; NPP : nombre de prélèvements positifs

M'sila, Laghouat, Ouargla , Ghardaïa, Tindouf, présentant respectivement une prévalence individuelle de 22% , 33%, 19 % , 17% et 40%. la prévalence de la wilaya de Tindouf est la plus élevée 48 % avec 60 % des troupeaux sont touchés.

2.2.2 Le système d'élevage

Durant notre enquête, 33% des échantillons provenaient des élevages intensifs et 67% d'élevages extensifs. Après l'étude de la prévalence du CpHV-1 par rapport aux systèmes d'élevages, on a trouvé que le taux de séropositivité le plus fort se trouvait dans les élevages extensifs, avec une prévalence individuelle de 33 % et un taux de 18% dans les élevages intensifs.

Cependant, il faut noter que le nombre de troupeaux intensifs prélevés est moins important que celui des élevages extensifs.

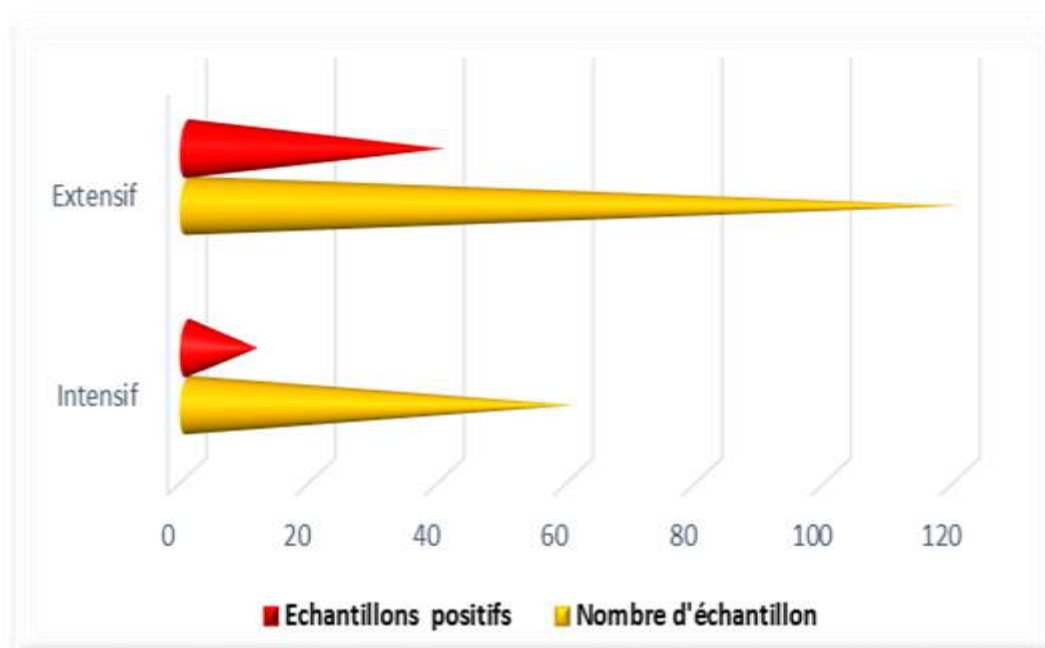


Figure 06: Nombre d'échantillons positif en fonction du système d'élevage

Ces résultats suggèrent donc une tendance à l'association entre l'intensification et une faible prévalence CpHV-1 .($p < 0.05$) $p = 0.03$

2.2.3 La mixité de l'élevage :

Il faut bien noter que dans cette catégorie les prélèvements sont à peu près à part égale et donc représentatifs. Après l'analyse des résultats la prévalence mesurée sur les élevages mixtes caprins-ovins et/ou bovins est élevée avec 38.9% des animaux positifs. Cependant dans les élevages

caprins élevés indépendamment, on note une prévalence individuelle moins importante avec 16.47 des animaux séropositifs.

Le tableau 07 résume les principaux résultats

Tableau 07 : Résultat en fonction de la mixité d'élevages

Type d'élevage	Prélèvements	Prélèvements positifs	Prévalence individuelle
Caprin	85	14	16.47%
CP-OV et /ou BV	95	37	38.9%

2.2.4 L'âge :

La prévalence individuelle dans chaque groupe d'âge (1an, 2 ans, 3 ans, 4ans et plus) était de 0%, 26%, 22%, 31% respectivement. Cependant après l'analyse des résultats aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les différentes classes d'âge.

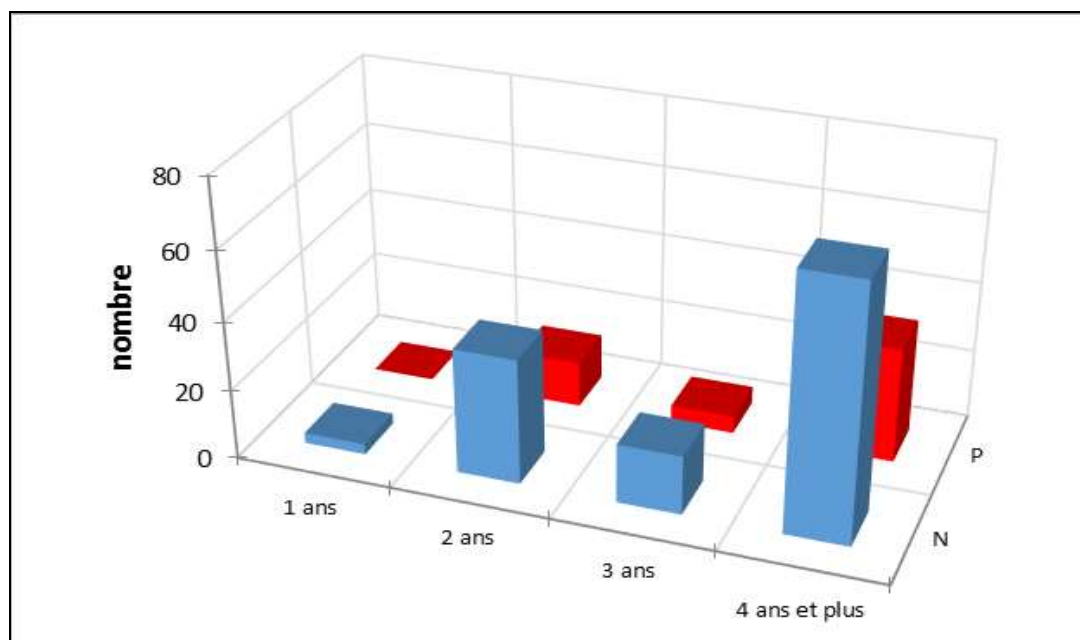


Figure 07 : Résultat en fonction de l'âge

Tableau n° 08 : Étude des facteurs de risque liés à la séropositivité vis-à-vis le CpHV-1

Séroprévalence (positive) Herpes virus caprin					
Facteurs de risque		NPN	% de séropositivité	IC à 95%	p
Sexe	male	10	6/16 (37,5%)	13,8-61,2	0,39
	femelle	119	45/164 (27,43%)	20,6-34,3	
	Interprétation	> 0.05 (NS)			
Age	1 ans	3	0/3(0%)	0%	0,5
	2 ans	36	13/49 (26,53%)	14,2-38,9	
	3 ans	17	5/22 (22,72%)	05,2-40,2	
	4 ans et plus	73	33/106(31,13%)	22,3-39,9	
	Interprétation	> 0.05 (NS)			
zones	M'sila	49	14/63 (22,22%)	12-32,5	0,008
	Laghouat	8	4/12(33,33%)	06,7-60	
	Ghardaia	24	5/29 (17,24%)	03,5-31	
	Ouargla	25	6/31 (19,35%)	05,4-33,3	
	Tindouf	23	22/45 (48,88%)	34,3-63,5	
	Interprétation	< 0.05 (S)			
Mode d'élevage	Intensif	49	11/60 (18,33%)	08,5-28,1	0,035
	Extensif	80	40/120 (33,33%)	24,9-41,8	
	Interprétation	< 0.05 (S)			
Antécédent d'avortement dans l'élevage	oui	62	34/96 (35,41%)	25,8-45	0,024
	Non	67	17/84 (20,23%)	11,6-28,8	
	Interprétation	< 0.05 (S)			
Présence d'animaux	caprins	71	14/85 (16,47%)	08,6-24,4	0,001
	CP-Ov et /ou BV	58	37/95 (38,94%)	29,1-48,7	
	Interprétation	< 0.05 (S)			
Race	locale	9	6/15(40%)	15,2-64,8	0,349
	croisée	118	47/165(28,48%)	21,6-35,4	
	Interprétation	0.05 (NS)			
<i>Brucella sp</i>	Positif	14	12/26(46,15%)	27-65,3	0.029
	Négatif	115	39/154(25,32%)	18,5-32,2	
	Interprétation	< 0.05 (S)			

(S) Significatif

(NS) non significatif

1.3. Étude de réaction croisée avec l'herpès virus Bovin-1 (BoHV-1) :

Le virus du BHV-1 et CpHV-1 réagissent de manière croisées en ELISA, des études ont montré que les Kits ELISA compétition gB et gE de la rhinotrachéite infectieuse bovine peuvent être utilisés pour le diagnostic du CpHV-1 (Thiry and Thiry, 2008a; Suavet *et al.*, 2016).

Pour confirmer qu'il s'agit bien du CpHV-1 et pas de faux positifs en IBR, nous avons re-testé tous nos sérums positifs et quelques sérums négatifs avec les deux kits commerciaux IBR-gB et IBR-gE. Les résultats ainsi que l'interprétation sont résumés dans les tableaux 11 et 12.

Eradikit CpHV-1 ELISA indirect	Idexx gB (ELISA compétition)			Total
	Négatifs	Douteux	positifs	
Négatif	17	00	00	17
Douteux	07	00	00	07
positif	06	00	45	51
Total	30	00	45	75

Tableau 09 : Résultat des tests ELISA g B compétition (IDEXX) et ELISA indirect (ERADIKIT)

Le nombre total d'accords est égal à 17+45, soit 62. La proportion observée d'accords est égale à $p_0 = 82.67\%$. Les 13 désaccords correspondent aux 07 sérums douteux et 05 positifs qui se sont révélés gB négatifs, ceci est peut-être dû au fait que ces positifs étaient juste à la limite, le titre d'anticorps a probablement baissé au cours de la congélation et décongélation des sérums. Ces mêmes sérums sont aussi g E négatifs

Le résultat final du test gB et gE sur les 51 échantillons positifs et les 07 douteux, ainsi que l'interprétation sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Résultat et interprétation de l'étude de réaction croisée avec le BHV-1

	Nombre d'échantillons	Interprétation	Observation
g B +/ g E -	32	les caprins possèdent des anticorps contre la glycoprotéine B, mais pas contre la glycoprotéine E, donc elle a été en contact avec le CpHV-1	CpHV-1 confirmé
g B +/ g E +	15	les caprins possèdent des anticorps contre la glycoprotéine gB et gE, ils ont été en contact avec le BoHV-1 ou le CpHV-1	Une séroneutralisation croisée est alors nécessaire pour identifier la nature de l'infection
g B- / g E -	12	les caprins ne possèdent pas d'anticorps contre la glycoprotéine gB et gE, ils sont donc indemnes d'une infection à BoHV-1 ou à CpHV-1	Il s'agit de : -07 sérums douteux dans le kit ERADIKIT - 05 sérums dont le pourcentage S/P% est dans la limite du positif

1.4. Étude de coïnfection avec *Brucella* :

Pour le dépistage de la brucellose caprine, deux tests ont été utilisés. Avec le test au rose bengale, sur 280 sérums examinés (échantillons d'Oran inclus), 35 étaient positifs. Après ré analyse des positifs par le test de fixation de complément, 26 sérums positifs se sont révélés positifs soit une prévalence globale de 09,2%.

Ensuite, on s'est intéressé à rechercher des co-infections du CpHV-1 avec *Brucella*, afin de mettre le point sur une éventuelle association. Nos résultats ont montré l'existence de 12 cas de coïnfections, soit un pourcentage de 23,5 % (12/51)

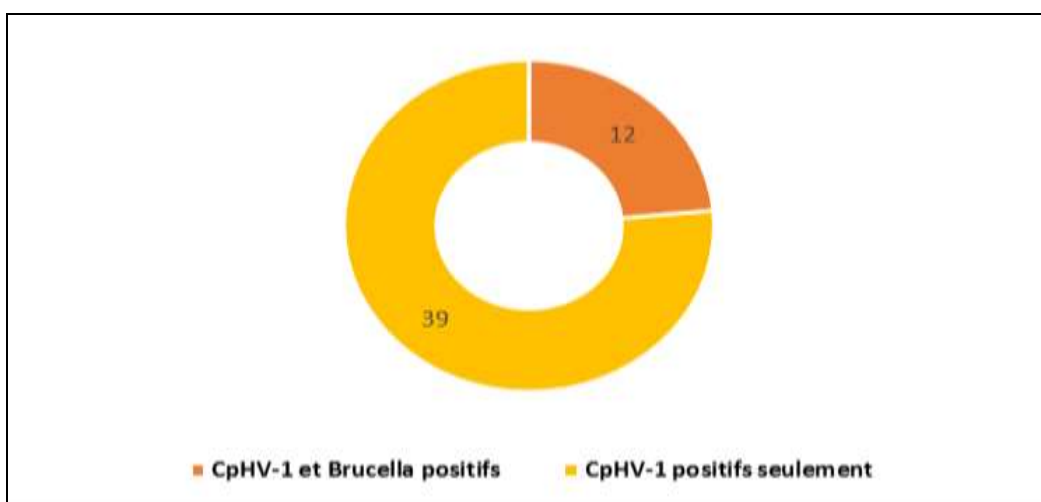


Figure 08 : Coïnfection CpHV-1 avec *Brucella*

1.5. Étude de la relation entre la présence ou non d'avortements et la séropositivité vis à vis CpHV-1 et *Brucella*:

Le tableau 13 montre le nombre de chèvres infectées en brucellose et en CpHV-1 en fonction de l'existence ou non d'antécédents d'avortements. On remarque qu'il y a plus de séropositives en CpHV-1 qu'en brucellose dans le groupe d'animaux qui n'ont pas connu un avortement selon l'éleveur.

On déduit, que la fréquence des formes inapparentes sont plus élevées pour le CpHV-1 que pour *Brucella*.

Tableau 11 : Nombre de chèvres séropositives à CpHV-1 et *Brucella sp* en fonction de l'existence ou non d'antécédents d'avortements

présence d'avortement	CpHV-1 positifs	<i>Brucella</i> +
oui	28	21
Non	17	01

2. Résultat de l'étude de *Neospora caninum*:

2.1. Étude de la séroprévalence

3.1.1 Séroprévalence globale

Rappelons, que les sérums analysés sont les mêmes traités que lors du diagnostic de CpHV-1, à une seule exception, c'est l'inclusion de 92 prélèvements provenant de la wilaya d'Oran. L'étude comprenait donc 280 caprins, la répartition des échantillons est résumée dans la figure 10

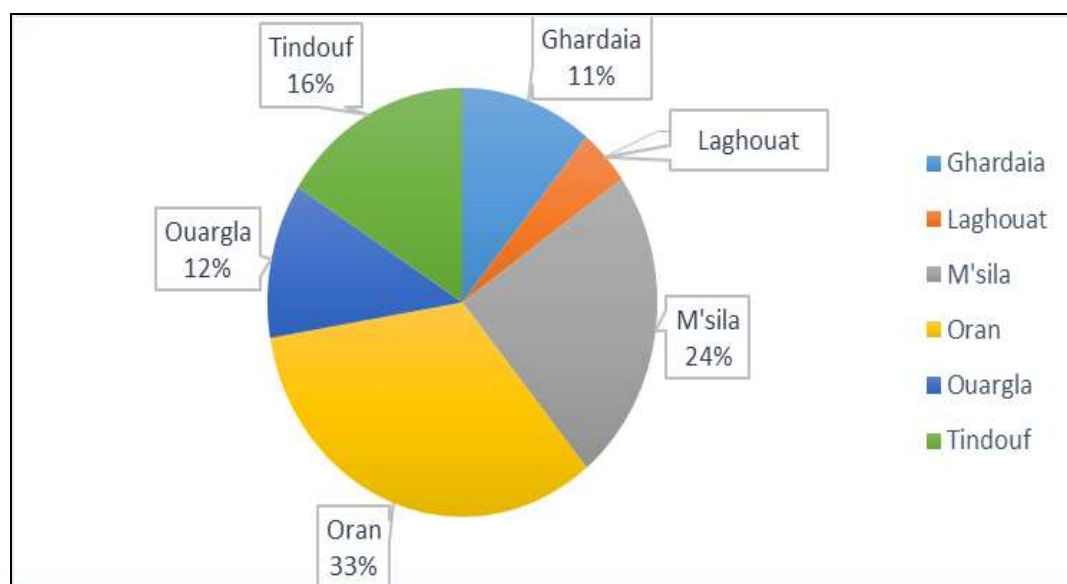


Figure 09: Répartition des échantillons testés *Neospora caninum*

Les résultats de l'analyse sérologique sont synthétisés dans la figure 10 , seuls 04 échantillons répondent positivement au test.

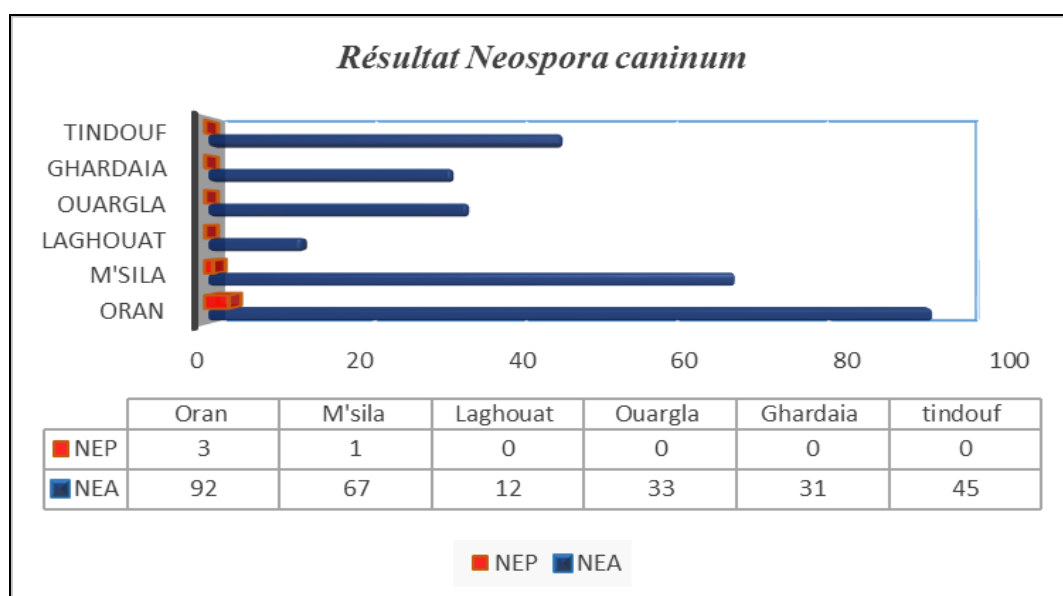


Figure 10 : Résultat *Neospora caninum*

3.1.2 Séroprévalence régionale

Le seroprevalence regionale de l'infection à *Neospora caninum* est représentée dans le tableau 14

Tableau 12: Résultat des analyses de *Neospora caninum* par commune et par wilayas

Wilayas	Commune	NT	NTP	NP	NPP
Oran	Bottlilis	05	01	44	02
	Ain Tassa	03	01	28	01
	Briadi	02	00	20	00
M'sila	Zarzour	01	01	10	01
	Howamed	01	00	04	00
	Ben Srou	01	00	06	00
	Ouled Slimen	01	00	03	00
	Tamessa	05	00	44	00
Laghouat	Laghouat nord	02	00	12	00
Ouargla	Hassi Ben Abdellah	03	00	33	00
Ghardaia	Hassi Ben Daoua	01	00	01	00
	Ghardaia	04	00	30	00
Tindouf	Oum el Assel	05	00	45	00
Total		34	03	280	04

NT : Nombre de troupeaux participant à l'étude

NPW : Nombre de prélèvement par Wilaya

NP : Nombre de prélèvement

Sur les 280 prélèvements analysés par ELISA, 04 sérums se sont révélés positifs pour *N. caninum*, soit une séroprévalence globale de 01.42 %.

L'étude du statut sérologique de la population caprine testée vis-à-vis de *N. caninum* par wilaya a révélé une séroprévalence individuelle de 3,2 % (Oran), 1.14 % (M'sila) et 0% pour les wilayas de Tindouf, Laghouat, Ouargla et Ghardaia

3.2 Étude des facteurs de risques liés à la séropositivité

En raison du faible nombre de prélèvements positifs (n=4), nous n'avons pas pu analyser les facteurs de risques associés.

Ainsi le seul prélèvement de M'sila néosporose positif, était herpes virus et *Brucella* négatifs, quant aux trois autres prélèvements d'Oran *Neospora* positifs. Ils se sont révélés à leur tours *Brucella* négatifs.

Discussion

I. Discussion

L'objectif principal de cette étude était de connaître la situation actuelle et d'estimer la prévalence vis-à-vis de l'Herpesvirus caprin 1 et de *Neospora caninum* chez les caprins. Pour répondre à cet objectif, une enquête seroépidémiologique a été menée dans six Wilayas.

Le CpHV-1 touche en particulier les chevreaux qui présentent une entérite, parfois une conjonctivite, une rhinite avec des difficultés respiratoires ; ces signes cliniques sont comparables à ceux causés par le virus de l'IBR. Une vulvo-vaginite, un avortement et une balanoposthite peuvent être observés chez l'adulte. Ces signes cliniques sont également observés lors d'infection par l'IPV (Thiry, 2008).

Neospora caninum est un agent pathogène responsable de perte de fœtus chez les bovins, et est analogue à l'infection par *T. gondii* chez la chèvre. Alors que *Neospora* ne paraît pas causer de pertes fréquentes chez ces derniers, l'infection expérimentale est facilement induite chez la chèvre, et si elle est initiée durant la gestation, elle produit un très bon modèle de l'infection bovine. De plus, les signes cliniques et les lésions pathologiques chez les chèvres sont similaires à ceux induits chez eux par *T. gondii* (Porto *et al.*, 2016b).

Notre étude a permis pour la première fois en Algérie de confirmer effectivement l'existence du CpHV-1, avec une prévalence de 28,33%. Ceci est en accord avec la suggestion des chercheurs, supposant que cette infection est particulièrement localisée dans les régions méditerranéennes, avec une séroprévalence élevée allant de 21% à 60% (Suavet *et al.*, 2016).

Du côté de *Neospora caninum*, nos résultats ont montré que la séroprévalence est faible chez cette espèce. Cependant, il faut noter que de nombreuses interrogations demeurent concernant le cycle biologique de *N.caninum* chez le caprin. En effet, peu d'études ont été faites à travers le monde chez cette espèce et des recherches plus approfondies doivent être menées (Van Sante, 2015).

1. Population étudiée et représentativité des résultats

Le protocole de l'étude nous semble adéquat pour cette étude transversale à visée descriptive et qui a pour objectif de mettre en évidence la circulation de ces deux micro-organismes ainsi que la séroprévalence des infections au CpHV-1 et à *Neospora caninum* dans les élevages caprins en Algérie.

2. Forces et limites de l'étude

Notre effectif est à peu près du même ordre de grandeur que celui prélevé dans une étude antérieure réalisée par Thiry et al en 2006 portant sur l'évaluation de la séroprévalence de l'infection au CpHV-1 dans le sud-ouest de l'Europe : France (n=250), Belgique (n=356), Italie (n=311), Espagne (n=356) (Thiry, Keuser, Schynts, *et al.*, 2006)

Concernant *Neospora*, on retrouve à peu près le même effectif qu'au cours des études menées en Chine et l'État de Paraíba. En effet le nombre de caprins était respectivement de 207 et 306 chèvres (Faria *et al.*, 2007; Lu *et al.*, 2007).

Cependant, même si des études avec un nombre similaire ont été réalisées dans d'autres pays, cet effectif demeure insuffisant et le résultat ne peut être extrapolé pour toute l'Algérie. L'augmentation de la taille de l'échantillonnage ainsi que l'inclusion d'autres Wilayas serait plus représentative de la situation réelle de ces pathogènes en Algérie.

3. Méthodes de diagnostic employées et conditions de travail :

La conservation et le transport de prélèvements ont été réalisés en respectant strictement la norme NF U 47-019. Les contrôles de qualité des analyses sérologiques ont été rigoureusement effectués parallèlement avec les échantillons (AFNOR, 2010).

Nous avons utilisé comme méthode de diagnostic principal l'ELISA, Il ne fait aucun doute que les dosages immunoenzymatique (ELISA) constituent un test sérologique supérieur très sensible et spécifique. Des centaines ou des milliers d'échantillons peuvent être traités en un seul jour ou en une seule semaine pour détecter et mesurer une variété d'agents pathogènes bien que d'autres types peuvent être également sensibles, spécifiques et éventuellement moins coûteux, ils exigent souvent des procédures longues et un travail intensif (Faou, 2012).

En outre, pour la bonne réalisation de cette technique, nous avons pris plusieurs précautions telles que : l'utilisation de consommables à usage unique, tout en évitant les contaminations entre les échantillons. Nous avons respecté aussi le temps de distribution des échantillons sur la microplaque sensibilisée, en utilisant toujours une pré-plaque.

Ceci est en reponse aux recommandations de la norme NF U 47-019 , qui exige que le temps de distribution ne doit à aucun moment aboutir au non-respect des durées d'incubation des échantillons dans la première phase analytique (AFNOR, 2010).

En parallèle, nous avons utilisé pour la confirmation des échantillons positifs des micropipettes conformes, dont les vérifications métrologiques se font périodiquement, avec la traçabilité sur des cartes de contrôles pour micropipettes.

Les équipements thermostatés sont à leurs tours vérifiées, un enregistrement est effectué avant et au cours d'utilisation.

En ce qui concerne les kits et reactifs, ces derniers étaient tous validés et accompagnés d'une fiche de contrôle qualité.

4. Limite des tests sérologiques :

L'un des obstacles au cours de l'interprétation des résultats des tests sérologiques est l'existence de réactions croisées, l'exemple type est chez les alphaherpesvirus.

En effet, tous les alphaherpesvirus des ruminants apparentés au CpHV-1 sont antigéniquement et génétiquement proches, leurs propriétés biologiques communes leur permettent d'infecter des espèces hétérologues, donc de traverser la barrière d'espèce et de provoquer une séroconversion, des réactions sérologiques croisées sont donc possible.(Thiry and Thiry, 2008b)

Ainsi le virus le plus proche du CpHV-1 , est le BHV-1 . le Tableau 15 montre le taux de la séroprévalence des chèvres envers BHV-1(Cassard, 2003)

Tableau 15 : Taux de séroprévalence des chèvres envers BoHV-1 d'après Cassard 2003

Continent	pays	Année	Séroprévalence	Échantillonnage
Afrique	Kenya	1966-1974	12%	297 sérums
	Niger	1992	11.2%	501 sérums
	Tchad		13%	561 sérums
	Tanzanie		12%	207 sérums
Amérique	Quebec	1985	0%	40 sérums
	Quebec,Estrie	1982	11.3%	/
	EU, Louisiane	1997-1980	13.2%	38 troupeaux
			11.9%	502 sérums

De plus, les tests de diagnostic sérologique ne permettent pas toujours de faire la distinction entre ces différentes infections : l'ELISA de compétition utilisant la glycoprotéine gB du BHV1 a une réaction positive à tous les alphaherpèsvirus des ruminants (l'herpèsvirus Bovin 1 et 5 , herpèsvirus caprin (CpHV1), du cerf (CerHV1) et du renne (RanHV1))(Thiry and Thiry, 2008a)

Quant à *Neospora caninum* , il faut souligner que l'absence d'anticorps spécifiques n'exclut pas la présence du parasite : au cours de la gestation le fœtus peut être trop jeune et par conséquent immuno-incompétent ou bien l'infection peut être trop récente donnant des tests sérologiques négatifs (Ghalmi *et al.*, 2007). Aussi, en cas d'infection chronique sous forme de bradyzoïtes, la sérologie peut se révéler négative les bradyzoïtes sous formes enkystées sont généralement non immunogène (PAYOT, 2002)

5. Questionnaire épidémiologique :

Nous avons rempli les questionnaires avec les éleveurs des 34 fermes prélevées. Les résultats obtenus dépendent en grande partie de la réponse des éleveurs, qui parfois manque de connaissance ou ne se souviennent pas très bien.

6. Étude séro épidémiologique de l'herpès virus caprin :

la prévalence de l'herpèsvirose caprine obtenus était de 28.33% (51/180), avec un intervalle de confiance à 95 % : 21,5 – 34,5 %.

En comparant nos résultats sérologiques avec d'autres études qui ont été faites, on observe une séroprévalence proche de celle de l' Espagne 21% (Keuser *et al.*, 2004). La Turquie 26%. (Yonguç *et al.*, 1990), et la France de 0.1% à 31.56(Suavet *et al.*, 2016).

Cependant certaines études révèlent une seroprévalence supérieure comparées à nos résultats, notamment, en Grèce elle était plus de 50% (Koptopoulos *et al.*, 1988) et en Italie de 30- 60% (Tempesta *et al.*, 1994; Guercio *et al.*, 1998).

7. Étude des facteurs de risques liés à la séropositivité vis-à-vis du CpHV-1:

Les différents facteurs de risques étudiés en rapport avec la séroprévalence sont : l'âge, le sexe, la zone d'étude , le mode d'élevage, la présence ou non d'antécédent d'avortement, la mixité d'élevage, la coïnfection avec la brucellose et la race .

Après analyse statistique, il s'est avéré que l'âge, le sexe, et la race n'ont pas d'influence significative sur la séropositivité vis-à-vis herpes virus caprin.

Si on compare notre étude avec des études antérieures en prenant par exemple l'âge. On constate que contrairement à Suavet et ses collaborateurs, on n'a pas pu mettre en évidence une différence significative en fonction de l'âge. Ils ont montré que l'âge était un facteur de risque de séropositivité des caprins.

Ceci est probablement liée au nombre réduit de notre échantillonnage, contrairement à suavet et ses collaborateurs qui ont reparti les animaux en 06 groupes et dans chaque groupes les caprins variait de 124 à 322 (Suavet *et al.*, 2016).

L'association entre l'âge des animaux et la séroprévalence de l'infection à CpHV-1 est probablement due au fait que les animaux plus âgés ont un risque d'être exposés au virus plus longtemps que les jeunes animaux (Suavet *et al.*, 2016).

Nous avons remarqué aussi, la présence de boucs reproducteurs séropositifs. Ces derniers peuvent jouer un rôle important dans la persistance et la dissémination de l'infection.

D'un autre côté, nous avons montré qu'il existe une différence significative entre la séropositivité vis-à-vis CpHV-1 et **la région, le système d'élevage** la mixité d'élevage, la région, antécédent ou non d'avortement et la coïnfection avec *Brucella*.

➤ **La région :**

les wilayas de M'sila, Laghouat, Ouargla, Ghardaïa, Tindouf, présentent respectivement une prévalence individuelle de 22%, 33%, 19 %, 17% et 40%.

Il est vrai que la prévalence peut varier selon la zone d'étude. Cependant, on s'attendait à ce que la prévalence de l'infection à CpHV-1 dans notre étude soit plus élevée dans les régions du nord plutôt que dans le sud, ceci est surtout en rapport avec la viabilité du virus dans un climat aride défavorables à la survie du virus. Mais au contraire, Tindouf est la région présentant la prévalence sérologique la plus élevée vis-à-vis du CpHV-1. On relève une prévalence individuelle de 48 % avec 54 % des troupeaux sont touchés.

En second lieu viennent M'sila et Laghouat, deux régions qui présentent respectivement une prévalence individuelle de 22% et 33%.

En dernier lieu, on trouve les wilayas de Ouargla et Ghardaïa avec des prévalences individuelles de 19% et 17% et des prévalences troupeaux de 33 % et 60% des troupeaux touchés.

Cependant, il faut quand même préciser que, pour des raisons de difficultés sur le terrain, le nombre d'élevages prélevés au sud est différent. Seuls 2 troupeaux ont été enquêtés à Laghouat et 03 à Ouargla.

➤ **Système d'élevage :**

Rappelons, que dans notre étude la séropositivité la plus élevée était dans les élevages extensifs dont la plupart appartenait aux régions sud. On a trouvé une différence statistiquement significative entre la séropositivité / mode d'élevage ; et la séropositivité / zone d'étude.

Ceci est peut-être expliqué par le fait que, la plupart des élevages enquêtés des régions sud, appartenaient aux nomades .Leur mode de vie fait qu'ils sont souvent en déplacement à la recherche de nourriture, c'est ce qu'on appelle la transhumance, qui est souvent une partie intégrante des méthodes d'élevage traditionnel du sud.

Il s'agit aussi souvent de troupeaux collectifs dans lesquels les animaux appartiennent à plusieurs propriétaires, ce qui fait que le risque de contamination entre les animaux de plusieurs origines est élevé.

➤ **Mixité des élevages et réactions croisées :**

La mixité d'élevage représente une des causes de contamination et de persistance des alphaherpesvirus des ruminants dans les élevages. D'après la littérature les élevages mixtes ou les élevages se trouvant à proximité de troupeaux de ruminants ont toujours des séropositivités plus importantes (Galais-Duhamel, 2006).

Ceci est totalement en accord avec nos résultats puisque on a pu démontrer statistiquement qu'il existe une différence significative entre la séropositivité et la mixité d'élevage.

L'existence de troupeaux mixtes peut expliquer une facilité de contamination inter-espèces, en effet les bovins et les ovins peuvent être réceptifs et excrétés le CpHV-1 , mais sont peu sensibles à l'infection, dans ce cas les ruminants jouent un rôle de réservoir du virus , ce dernier est même capable de provoquer une infection latente chez eux .

De plus, on a enregistré la présence de possibles faux positifs de CpHV-1 avec les kits ELISA commerciaux. Les résultats sérologiques des échantillons avaient plusieurs interprétations (tableau 11) .

D'un autre côté, les chèvres sont aussi réceptives à d'autre Alphaherpesvirus , et surtout le BHV-1, comme cité plus haut des réactions sérologiques croisées sont donc possible (Thiry and Thiry, 2008b). Cette étude fait apparaitre le risque existant de réactions croisées, envers le BoHV-1.

Ainsi 15 sérums parmi 59 représentants 25,42% de sérums positifs ne sont pas interprétables et nécessitent une séroneutralisation croisée pour identifier la souche (CpHV-1 ou BHV-1).

Enfin, ce risque de contamination inter-espèces concerne beaucoup plus les pays de l'Afrique où la gestion des animaux et des points de rencontre semble difficile à gérer.

➤ **Coïnfection :**

La brucellose caprine sévit à l'état enzootique en Algérie(MADR, 2016) ; c'est pourquoi nous avons choisi d'étudier la présence d'une éventuelle coïnfection. L'analyse des résultats obtenus indique que 12 chèvres soit 23,5% des chèvres séropositives au CpHV-1 hébergent de façon concomitante les deux germes *Brucella* et herpèsvirus caprin.

Aussi, nous avons montré qu'il existe une différence significative entre la seropositivité vis-à-vis de *Brucella* et CpHV-1. Une des hypothèses possibles, est que l'infection à *Brucella* entraîne un affaiblissement du système immunitaire : l'animal devient alors plus susceptible ce qui favorise une contamination primaire ou la réactivation du CpHV-1 se trouvant à l'état latent, et donc une séroconversion. Il faut noter que lors d'une réactivation virale provoquée par des stress divers l'état de latence peut se lever, ainsi de nouveaux cycles de multiplications peuvent se produire aboutissant à la libération de nouveaux virus. (Galais-Duhamel, 2006).

➤ **Antécédents ou non d'avortement**

En ce qui concerne la présence ou l'absence d'avortement comme facteur de risque de séropositivité. Nous avons trouvé une différence significative entre la présence d'avortement et la séropositivité vis-à-vis de l'herpèsvirus caprin 1

8. Étude Séro épidémiologique de *N.caninum*

En Algérie, l'étude de l'infection à *Neospora caninum* chez les caprins n'a jamais fait l'objet d'une recherche, la présente étude est donc une première.

Il est bien documenté que, chez les bovins, l'infection par *N. caninum* provoque des problèmes de reproduction importants, tels que la mortinaissance et l'infertilité maternelle, et surtout l'avortement épidémique et endémique. Cependant, en ce qui concerne les chèvres, peu d'études ont été menées, en effet selon Costa *et al* (2012) la néosporose caprine pourrait être une cause importante d'avortement chez les caprins.

Notre étude a été menée dans les Wilayas de M'sila (67 caprins) , Tindouf (45) , Laghouat (12) , Ghardaia (31) et Ouargla (33) et Oran (92) . Au total 280 échantillons ont été testés.

Les prélèvements étaient constitués de femelles (88.9%) plus que de mâle (11.1%), leurs mode d'élevage était dans la majorité des cas extensif à (75.7%), et intensif (24.3%) .

Le résultat de notre étude montre que la séroprévalence individuelle vis-à-vis de *Neospora caninum* est faible chez les caprins , nous avons trouvé une séroprévalence de 1.42%, Qui était comparable aux résultats de ; Abo-Shehada and Abu-Halaweh, (2010) qui ont trouvé un taux de 2% dans le nord de la Jordanie (n=302) ; de Iovu et al (2012b) avec 2.3% en Roumanie (2012) ; et de Faria et al (2007) avec un pourcentage de 3.3% dans l'état de Paraíba.

Dans d'autres études, les chercheurs ont trouvé une séroprévalence inférieure aux résultats que nous avons obtenu, parmi ces pays on cite : la Pologne 0.4% (n=1060) Czopowicz et al (2011), et le Sri Lanka (0.7%) (Naguleswaran et al., 2004)

La séroprévalence de *Neospora sp* est relativement plus élevée dans d'autre pays , elle est estimée à 6.9% pour 375 chèvres en Grèce (Diakoua *et al.*, 2013) , 5.8% pour 138 chèvres en Inde (Sharma *et al.*, 2015) , 6% pour 638 chèvres en Espagne (Díaz *et al.*, 2016) , 9.0% pour 1060 chèvres en Pologne (Czopowicz *et al.*, 2011) et 9% pour 735 chèvres en Roumanie (Iovu *et al.*, 2012)

D'après une enquête sérologique menée par Chartier *et al* (2000) dans des élevages caprins de l'Ouest de la France , la séroprévalence relevée était de 8,9% à l'échelle du troupeau et de 1,4% à l'échelle individuelle, ce qui a conduit le chercheur à suggérer qu'il existe une faible circulation du parasite dans les conditions naturelles d'infections (Chartier *et al.*, 2000).

Ci-dessous un résumé de la prévalence de *Neospora caninum* chez la chèvre à travers le monde

Tableau 14 : Séroprévalence de *N.caninum*

Pays		Nombre	% de positive	Méthode	Cut-off fournisseur	
Argentine		1594	6.6	IFAT	1:50	Moore et al. (2007)
Brésil	Paraiba state	306	3.3	IFAT	1:50	Faria et al. (2007)
	Rio Grande do Norte	381	1	IFAT	1:50	Lima et al. (2008)
	São Paulo	923	19.7	NAT	1:25	Modolo et al. (2008)
Jordanie	Nord	302	2	ELISA	BioX	Abo-Shehada and Abu-Halaweh (2010)a
	Sud	300	5.7	ELISA	CHEKIT	Al-Majali et al. (2008)a
Chine		207	7.7	ELISA	IH-NcSAG1	Lu et al. (2007)
Philippine		89	23.6	ELISA	IH	Konnai et al. (2008)
Pologne		1060	0.4	ELISA	VMRD	Czopowicz et al. (2011)
Slovaquie		18	16.6	ELISA	ID-VET	Spilovská and Reiterová (2008)

Notre enquête sérologique sur la néosporose a révéler une très faible séropositivité, de ce fait nous n'avons pas pu mettre en évidence aucune association significative entre la séroprévalence et les facteurs de risque tels que la race, le type de production, le sexe, l'âge et enfin la présence ou non de chien .

Cependant selon des études antérieures, Il apparaît tout de même que la séropositivité ne serait pas corrélée avec l'âge mais plutôt répartie de manière uniforme chez les caprins, d'où un mode de transmission plutôt vertical dans cette espèce.

Enfin, les explications possibles de ces résultats pourraient inclure le fait que les caprins sont des hôtes intermédiaires, *Neospora caninum* infecte occasionnellement les caprins. La principale source d'infection sont les chiens, qui constituent un point clé du cycle épidémiologique, ce dernier excrète les oocystes, principale source de contamination des caprins. Une autre hypothèse serait que la race locale est peut être non réceptive à l'infection, celle-ci peut même dépendre de la température corporelle (Rezende-Gondim et al., 2017).

En effet , une étude expérimentale menée par Rezende Gondim et ses collaborateurs portant sur l'effet de la température sur la croissance des cultures cellulaires de *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* a montré que *in vitro N caninum* ne peut se multiplier à des températures entre 39 C° et 41.5 °C contrairement aux tachyzoïtes de *T. gondii* qui continuent à se multiplier jusqu'à 41 C°(Rezende-Gondim et al., 2017) . Ceci suggère que la température serait néfaste pour le développement de *Neospora* chez les animaux à haute température corporelle (Rezende-Gondim et al., 2017) .

Il est important de noter que la plupart des Wilayas incluses dans notre étude possèdent un climat aride ou semi-aride, cette zone d'étude est peut-être défavorable pour la sporulation ou à la survie des oocystes puisque jusqu'à l'heure actuelle peu de choses sont connues sur la durée de survie des oocystes dans l'environnement, si cette hypothèse s'avère vraie le cycle biologique de *Neospora caninum* serait rompu ce qui explique le faible taux de contamination.

Ainsi, nous avons remarqué que le faible nombre d'échantillons séropositifs concernait les wilayas d'Oran et de M'sila, et aucun prélèvement des villes du sud de l'Algérie ne s'est révélé positif, pourtant certains élevages la présence de chien a été constaté, ceci rejoint l'hypothèse de l'éventuel effet négatif du climat aride sur la biologie de *N.caninum*

Conclusion et Recommandations

Conclusion et recommandations

Bien que l'effectif du cheptel caprin Algérien ait doublé au bout de 20 ans (1992-2011) pour atteindre 4544000 têtes, il est qualifié d'espèce mineure et demeure peu connu ;

Aujourd'hui , la connaissance du statut immunitaire de notre cheptel vis-à-vis certains agents pathogènes, et surtout ceux répandus mondialement est indispensable et doit faire l'objet d'étude systématique ;

Depuis sa découverte *Neospora caninum* à particulièrement attiré l'attention, non seulement comme responsable d'avortement chez les bovins et les maladies neuromusculaires chez les chiens mais aussi comme un modèle complémentaire de *Toxoplasma gondii* pour l'étude des parasites intracellulaires. Les caprins constituent un très bon modèle pour l'étude de la néosporose .En effet la caractérisation des mécanismes et des molécules qui interviennent au moment de l'infection offre une cible pour d'éventuels vaccins et un meilleur contrôle de la maladie.

L'Herpes virus caprin-1 Le CpHV-1 est étroitement apparenté à L'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) responsable d'une maladie chez les bovins dénommée la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) causant de sévères pertes économiques dans les pays atteints par cette infection.

La raison pour laquelle nous avons choisi de mener une enquête sérologique sur ces deux pathogènes est le fait qu'ils peuvent avoir un impact épidémiologique et économique grave puisqu'ils sont capables d'établir une infection latente avec persistance pendant des années ou même des siècles.

Un des points faibles de l'Algérie, est de rester focaliser seulement sur le dépistage des maladies de première intention. Aujourd'hui avec le changement climatique et l'évolution il se pourrait que les maladies qui était hier banales acquièrent certaines résistances et deviennent à leurs tours pathogènes. L'ignorance, le manque de moyens et de données sont des facteurs favorisant la propagation des maladies.

Au terme de ce travail il en ressort les recommandations suivantes :

Un recensement rigoureux des fermes caprines existantes en Algérie est souhaitable ; prévoir des recherches plus approfondies, élargir la gamme d'analyses en utilisant des méthodes plus sensibles et plus spécifiques visant directement le pathogène en question ; une étude sur un

effectif plus important sera plus représentatif et témoignera de la situation réelle ; un diagnostic sérologique des troupeaux est requis afin d'identifier les animaux infectés de manière latente, en vue de leurs éliminations. Ce qui réduit le risque d'une circulation constante et enfin l'élaboration d'un plan national pour le dépistage et la lutte contre ces maladies. « **Il faut lutter contre les maladies surtout quand elles ne sont pas là !** » (Le clainche).

Références

- Abo-Shehada MN, and Abu-Halaweh MM (2010) Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. *Prev Vet Med* 93:25–32.
- AFNOR (2010) NF U47-019 - Méthodes d'analyses en santé animale - Guide de bonnes pratiques pour la mise en oeuvre des techniques ELISA.
- Allanonto V (2012) Séroprévalence et facteurs de risque de la toxoplasmose, de la néosporose chez les carnivores domestiques et chez les femmes en consultation prénatale dans la région de St. Louis (Sénégal), université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Almería S, Serrano-Pérez B, and López-Gatius F (2017) Immune response in bovine neosporosis: Protection or contribution to the pathogenesis of abortion. *Microb Pathog* 109:177–182.
- Anderson ML, Barr BC, and Conrad PA (1994) Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 10:439–461.
- Anderson ML, Reynolds JP, Rowe JD, Sverlow KW, Packham AE, Barr BC, and Conrad PA (1997) Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 210:1169–1172.
- Aranda AM, and Epstein AL (2015) Latence et réactivation du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) - Une mise à jour. *médecine/sciences* 31:506–514.
- Avice M-N (2002) *Régulation de la production d'interleukine-12 par les monocytes humains*.
- Babiuk LA, Tikoo SK, and others (1996) Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet Microbiol* 53:31–42.
- Baker J., Muller R, and Rollinson D (eds) (1999) *Advances in Parasitology*, Academic Press.
- Baranowski E, Keil G, Lyaku J, Rijsewijk FA, Van Oirschot JT, Pastoret P-P, and Thiry E (1996) Structural and functional analysis of bovine herpesvirus 1 minor glycoproteins. *Vet Microbiol* 53:91–101.
- Barber JS (1998) Canine neosporosis. *Walth Focus* 8:25–29.
- Barr BC, Anderson ML, Woods LW, Dubey JP, and Conrad PA (1992) *Neospora*-Like Protozoal Infections associated With Abortion in Goats.
- Bendaoud MEA, Bouziane-Rahmani B, Slimani A, and Bouzid R (2016) *Enquête sur les étiologies des maladies abortives chez les petits ruminants dans la région de Ain Defla*, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger.
- Bertolotti L, Rosamilia A, Profiti M, Brocchi E, Masoero L, Franceschi V, Tempesta M, Donofrio G, and Rosati S (2013) Characterization of caprine herpesvirus 1 (CpHV1) glycoprotein E

- and glycoprotein I ectodomains expressed in mammalian cells. *Vet Microbiol* 164:222–228.
- Bjerkas I, Mohn SF, and Presthus J (1984) Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Parasitol Res* 70:271–274.
- Björkman C, McAllister MM, Frössling J, Näslund K, Leung F, and Uggla A (2003) Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. *J Vet Diagn Invest* 15:3–7.
- Björkman C, and Uggla A (1999) Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 29:1497–1507.
- BLANC R (2002) BHV1 et reproduction. *Th Doct Vét Alfort*.
- Bolon A (2003) La certification IBR des cheptels bovins en Europe: situation actuelle et propositions d’harmonisation, Thèse: Med. Vet.: Lyon: 2003, 115.
- Bouveret M (2004) Approche séro-épidémiologique des avortements à *Neospora caninum* chez les bovins dans le département du Jura.
- Buxton D (1998) Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. *Vet Res* 29:289–310.
- Callan RJ, and Van Metre DC (2004) Viral diseases of the ruminant nervous system. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 20:327–362.
- Camero M, Crescenzo G, Marinaro M, Tarsitano E, Bellacicco AL, Armenise C, Buonavoglia C, and Tempesta M (2010a) Cidofovir does not prevent caprine herpesvirus type-1 neural latency in goats. *Antivir Ther* 15:785–788.
- Camero M, Crescenzo G, Marinaro M, Tarsitano E, Bellacicco AL, Armenise C, Buonavoglia C, and Tempesta M (2010b) Cidofovir does not prevent caprine herpesvirus type-1 neural latency in goats. *Antivir Ther* 15:785.
- Candanosa Aranda IE, Sierra García M, Sánchez Cervantes A, Salas Garrido G, Méndez Bernal A, Cobos Marín L, and Álvarez Ramírez L (2011) Vulvovaginitis y balanopostitis pustular sugerente a herpesvirus caprino-1 en cabras (Querétaro, México). *Vet México* 42:233–243.
- Cassard H (2003) Infections croisées à alphaherpèsvirus chez les ruminants: application au contrôle de la rhinotrachéite infectieuse bovine.
- Chartier C, Baudry C, Losson B, De Meerschman F, Romand S, and Thuillier P (2000) La néosporose chez la chèvre: résultats de deux enquêtes sérologiques dans l’Ouest de la France. *Point Vét* 31:65–70.
- Chénier S, Montpetit C, and Hélie P (2004) Caprine herpesvirus- 1 abortion storm in a goat herd in Quebec. *Can Vet J Rev Veterinaire Can* 45:241–243.

- Chevanne E (2014) LE BoHV-4 chez les bovins et la place de sa recherche dans les protocoles “avortements bovins” en France : enquête auprès des laboratoires départementaux d’analyses vétérinaires.
- Chiaruzzi SD (2000) Les infections par les herpes virus 2, 3 et 4 chez les bovins.
- Corbellini LG, Colodel EM, and Driemeier D (2001) Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J Vet Diagn Invest* 13:416–419.
- Costes B, Van den Branden A, Thiry E, and Vanderplasschen A (2007) L’herpèsvirus félin 1, l’agent de la rhinotrachéite virale féline, in *Annales de Médecine Vétérinaire* pp 61–78, Université de Liège.
- Czopowicz M, Kaba J, Szaluś-Jordanow O, Nowicki M, Witkowski L, and Frymus T (2011) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Vet Parasitol* 178:339–341.
- Davison AJ, Eberle R, Ehlers B, Hayward GS, McGeoch DJ, Minson AC, Pellett PE, Roizman B, Studdert MJ, and Thiry E (2009) The order herpesvirales. *Arch Virol* 154:171–177.
- Delost T (2011) Evolution of the certification IBR in France.
- Denis M, Hanon E, Rijsewijk FA, Kaashoek MJ, van Oirschot JT, Thiry E, and Pastoret P-P (1996) The role of glycoproteins gC, gE, gI and gG in the induction of cell-mediated immune responses to bovine herpesvirus 1. *Vet Microbiol* 53:121–132.
- Denis M, PASTORET P-P, and THIRY E (1994) la réponse immune des bovins envers le virus.
- Diakoua A, Anastasia D, Papadopoulos E, Elias P, Panousis N, Nikolaos P, Karatzias C, Charilaos K, Giadinis N, and Nektarios G (2013) *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. *Vet Parasitol* 198:387–390.
- Díaz P, Cabanelas E, Díaz-Cao JM, Viña M, Béjar JP, Pérez-Creo A, Prieto A, López CM, Panadero R, Fernández G, Díez-Baños P, and Morrondo P (2016) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats from north-western Spain. *Ann Agric Environ Med AAEM* 23:587–590.
- DOMBOU E (2008) Séroprévalence de la néosporose (*Neospora caninum*) chez quelques espèces animales du Parc Forestier et Zoologique de Hann (Sénégal), université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Donahoe SL, Lindsay SA, Krockenberger M, Phalen D, and Šlapeta J (2015) A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 4:216–238.

- Donofrio G, Franceschi V, Lovero A, Capocefalo A, Camero M, Losurdo M, Cavirani S, Marinaro M, Grandolfo E, Buonavoglia C, and Tempesta M (2013) Clinical Protection of Goats against CpHV-1 Induced Genital Disease with a BoHV-4-Based Vector Expressing CpHV-1 gD. *PLoS ONE* 8.
- Dubey JP (2005) Neosporosis in Cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 21:473–483.
- Dubey JP (1999) Neosporosis—the first decade of research. *Int J Parasitol* 29:1485–1488.
- Dubey JP (2003) Review of Neospora caninum and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41:1–16.
- Dubey JP, Acland HM, and Hamir AN (1992) Neospora caninum (Apicomplexa) in a stillborn goat. *J Parasitol* 532–534.
- Dubey JP, Barr BC, Barta JR, Bjerkås I, Björkman C, Blagburn BL, Bowman DD, Buxton D, Ellis JT, Gottstein B, Hemphill A, Hill DE, Howe DK, Jenkins MC, Kobayashi Y, Koudela B, Marsh AE, Mattsson JG, McAllister MM, Modrý D, Omata Y, Sibley LD, Speer CA, Trees AJ, Uggla A, Upton SJ, Williams DJL, and Lindsay DS (2002) Redescription of Neospora caninum and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol* 32:929–946.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, and Uggla A (1988) Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192:1269–1285.
- Dubey JP, and Dubey J (2003) Review of Neospora caninum and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41:1–16.
- Dubey JP, and Lindsay DS (1996) A review of Neospora caninum and neosporosis. *Vet Parasitol* 67:1–59.
- Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, Gay JM, Baszler TV, Blagburn BL, and Thulliez P (1996) Serologic responses of cattle and other animals infected with Neospora caninum. *Am J Vet Res* 57:329–336.
- Dubey JP, Schares G, and Ortega-Mora LM (2007) Epidemiology and control of neosporosis and Neospora caninum. *Clin Microbiol Rev* 20:323–367.
- Dubreuil P, and Arsenault J (2003) Les avortements chez les petits ruminants. *Médecin Vét Qué* 33:6–12.
- Eleni C, Crotti S, Manuali E, Costarelli S, Filippini G, Moscati L, and Magnino S (2004a) Detection of Neospora caninum in an aborted goat foetus. *Vet Parasitol* 123:271–274.
- Eleni C, Crotti S, Manuali E, Costarelli S, Filippini G, Moscati L, and Magnino S (2004b) Detection of Neospora caninum in an aborted goat foetus. *Vet Parasitol* 123:271–274.

- Ellis JT (1998) Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 28:1053–1060.
- Engels M, and Ackermann M (1996) Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol* 53:3–15.
- Engels M, Gelderblom H, Darai G, and Ludwig H (1983) Goat herpesviruses: biological and physicochemical properties. *J Gen Virol* 64:2237–2247.
- Euzéby J (2008) *Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire*, Lavoisier.
- Faou AL (2012) *Virologie humaine*, Pradel.
- Faria EB, Gennari SM, Pena HFJ, Athayde ACR, Silva MLCR, and Azevedo SS (2007) Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol* 149:126–129.
- Fauquenoy S (2010) Implication de la N-glycosylation dans les mécanismes de motilité et d'invasion des cellules hôtes chez *Toxoplasma gondii*, Lille 1.
- Foulon G (2002) Etude de la prévalence de la neosporose dans les avortements bovins du département du Rhône, Ecole Nationale Vétérinaire, LYON.
- Fujii TU, Kasai N, Nishi SM, Dubey JP, and Gennari SM (2001) Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Vet Parasitol* 99:331–334.
- Galais-Duhamel C (2006) Les herpesvirus bovins chez les ruminants.
- Gavier-Widen D, Meredith A, and Duff JP (2012) *Infectious Diseases of Wild Mammals and Birds in Europe*, John Wiley & Sons.
- Gavier-Widén D, Meredith A, and Duff JP (2012) *Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe*, John Wiley & Sons.
- Ghalmi F (2011) The immune response induced by *Neospora caninum*., in *Annales de Médecine Vétérinaire* pp 38–52, Annales de Médecine Vétérinaire.
- Ghalmi F, China B, and Losson B (2007) Diagnostic et surveillance épidémiologique de *Neospora caninum*, in *Annales de Médecine Vétérinaire* pp 123–149, Université de Liège.
- Grewal AS, and Wells R (1986) Vulvovaginitis of goats due to a herpesvirus. *Aust Vet J* 63:79–82.
- Grisard A (2008) Importance de la coccidiose à *Isospora* spp., de la giardiose et de la néosporose en élevage canin: exemple du CESECAH dans le Puy-de-Dôme

- Guercio A, Greco G, Lanizzoto G, Di Marco V, and Todaro M (1998) Valutazione della diffusione di anticorpi anti Herpes Virus della capra in allevamenti caprini della Sicilia. *Atti SIPAOC* 12:138–142.
- Guinot P (2005) Etude séroépidémiologique de la Néosporose bovine dans 42 élevages des Pyrénées-Atlantiques.
- Habi W (2014) Caractérisation phénotypique de la population caprine de la région de Ghardaïa, Université Kasdi Merbeh.
- Haldorson GJ, Mathison BA, Wenberg K, Conrad PA, Dubey JP, Trees AJ, Yamane I, and Baszler TV (2005) Immunization with native surface protein NcSRS2 induces a Th2 immune response and reduces congenital Neospora caninum transmission in mice. *Int J Parasitol* 35:1407–1415.
- Hemphill A (1999) The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv Parasitol* 43:47–104.
- Hemphill A, Vonlaufen N, and Naguleswaran A (2006) Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with Neospora caninum. *Parasitology* 133:261–278.
- Hesse céine (2002) Neospora caninum : description du parasite, etude bibliographique, Ecole Nationale Vétérinaire, LYON.
- Hireche S (2014) L'avortement enzootique des brebis : Séroprévalence et caractérisation moléculaire de Chlamydia abortus dans la wilaya de Constantine, Institut des sciences vétérinaires, Constantine.
- Homer GW, Hunter R, and Day AM (1982) An outbreak of vulvovaginitis in goats caused by a caprine herpesvirus. *N Z Vet J* 30:150–152.
- Honess RW, and Roizman B (1975) Regulation of herpesvirus macromolecular synthesis: sequential transition of polypeptide synthesis requires functional viral polypeptides. *Proc Natl Acad Sci* 72:1276–1280.
- Innes EA, Andrianarivo AG, Björkman C, Williams DJ, and Conrad PA (2002) Immune responses to Neospora caninum and prospects for vaccination. *Trends Parasitol* 18:497–504.
- Iovu A, Györke A, Mircean V, Gavrea R, and Cozma V (2012) Seroprevalence of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dairy goats from Romania. *Vet Parasitol* 186:470–474.
- Jenkins M, Baszler T, Björkman C, Schares G, and Williams D (2002) Diagnosis and seroepidemiology of Neosporacanium-associated bovine abortion. *Int J Parasitol* 32:631–636.

- Jones C (1998) Alphaherpesvirus Latency: Its Role in Disease and Survival of the Virus in Nature. *Adv Virus Res* 51:81–133.
- Jones C (2009) Regulation of innate immune responses by bovine herpesvirus 1 and infected cell protein 0 (bICP0). *Viruses* 1:255–275.
- Jones C, Geiser V, Henderson G, Jiang Y, Meyer F, Perez S, and Zhang Y (2006) Functional analysis of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genes expressed during latency. *Vet Microbiol* 113:199–210.
- Journel C, and Pitel P-H (2001a) Diagnostic de la néosporose en élevage bovin.
- Journel C, and Pitel P-H (2001b) La lutte contre la néosporose en élevage bovin. 38–39.
- Keuser V, Espejo-Serrano J, Schynts F, Georgin JP, and Thiry E (2004) Isolation of caprine herpesvirus type 1 in Spain. *Vet Rec* 154:395–399.
- King AM, Lefkowitz E, Adams MJ, and Carstens EB (2011) *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier.
- Klevar S (2007) Tissue cyst forming coccidia; *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* as a cause of disease in farm animals. *Acta Vet Scand* 49:S1.
- Koptopoulos G, Papanastasopoulou M, Papadopoulos O, and Ludwig H (1988) The epizootology of caprine herpesvirus (BHV-6) infections in goat populations in Greece. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 11:199–205.
- Le Corre A-C (2012) Etude des infections parasitaires à *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis* spp: et *Trichinella* spp. chez les mammifères marins.
- Lebrun M (2012) *Comprendre et Interférer avec la Jonction-Mobile gouvernant l'invasion des parasites protozoaires Apicomplexa*.
- LELEU A (2003) Infection à *Neospora caninum* dans la faune sauvage Française.
- Losson B, and Bourdoiseau G (2000) *Neospora caninum*, un nouvel agent abortif chez les bovins. *Bull Group Tech Vét* 7.
- Lu Y, Wang G, and Ma L (2007) Serodiagnosis of *Neospora caninum* infection in cashmere goat by enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant truncated NcSAG1t. *Chin Anim Husb Vet Med* 34:109–111.
- Ludwig H, and Gregersen JP (1986) Rhinotrachéite infectieuse bovine/ vulvovaginite pustuleuse infectieuse : infections à BHV-1. *Rev sec tech Off int Epiz.*
- Ma Y, and He B (2014) Recognition of herpes simplex viruses: toll-like receptors and beyond. *J Mol Biol* 426:1133–1147.

- MADR (2010) Présentation de la politique de Renouveau Agricole et Rural en Algérie et du programme quinquennal 2010-2014.
- MADR (2003) *Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie*.
- Mallah M, and Alrodhan M (2013) A study of Cellular Immunity (IL4) OF Cattle infected with *Neospora caninum* in Al-muthanna province -Iraq. *J Int Acad Res Multidiscip* 1:149–159.
- Marquer A, and Chermette R (2000) La néosporose chez les bovins. *Point Vet* 31:17–22.
- McAllister MM (n.d.) Overview of Neosporosis - Generalized Conditions.
- McVey DS, Kennedy M, and Chengappa MM (2013) *Veterinary Microbiology*, John Wiley & Sons.
- Mesquita LP, Nogueira CI, Costa RC, Orlando DR, Bruhn FRP, Lopes PFR, Nakagaki KYR, Peconick AP, Seixas JN, Júnior PSB, Raymundo DL, and Varaschin MS (2013) Antibody kinetics in goats and conceptuses naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 196:327–333.
- Meurens F, Schynts F, and Thiry E (2001) La recombinaison chez les alphaherpèsvirus. 108–119.
- Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis A, Martelli GP, Mayo MA, and Summers MD (2012) *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*, Springer Science & Business Media.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, and Studdert MJ (1999) *Veterinary Virology*, Academic Press.
- Muylkens B, Meurens F, Schynts F, and Thiry E (2003) Les facteurs de virulence des alphaherpèsvirus. *Virologie* 7:401–415.
- Naguleswaran A, Hemphill A, Rajapakse RPVJ, and Sager H (2004) Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka. *Vet Parasitol* 126:257–262.
- Naguleswaran A, Müller N, and Hemphill A (2003) *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*: a novel adhesion/invasion assay reveals distinct differences in tachyzoite-host cell interactions. *Exp Parasitol* 104:149–158.
- Nasir A, Ashraf M, Khan MS, Javeed A, Yaqub T, Avais M, and Reichel MP (2012) Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep and goats in Pakistan. *J Parasitol* 98:213–215.
- Nishikawa Y (2017) Towards a preventive strategy for neosporosis: challenges and future perspectives for vaccine development. *J Vet Med Sci* 79:1374–1380.

- Paré J (1998) LA NÉOSPOROSE BOVINE.
- Paré J, Thurmond MC, and Hietala SK (1997) Neospora caninum Antibodies in Cows during Pregnancy as a Predictor of Congenital Infection and Abortion. *J Parasitol* 83:82–87.
- Parzefall B, Driver CJ, Benigni L, and Davies E (2014) Magnetic Resonance Imaging Characteristics in Four Dogs with Central Nervous System Neosporosis. *Vet Radiol Ultrasound* 55:539–546.
- Pastoret P-P, Lemaire M, Denis M, Hannon E, Meyer G, Vanderplasschen A, and Thiry E (1994) Les herpesvirus bovins: biologie et implications.
- PAYOT F (2002) Épidémiologie de la néosporose bovine en France et au Québec; évaluation des moyens de lutte actuels.
- Piette J, Defechereux-Thibaut de Maisières P, Baudoux-Tebache L, Sadzot-Delvaux C, and Rentier B (1998) La régulation des cycles infectieux du virus de la varicelle et du zona. *M -Médecine Sci* 14:556–565.
- Pino P, and Soldati-Favre D (2011) Invasion et réplication chez les Apicomplexes , TgROM4 and TgAMA1: a checkpoint in parasite replication.
- Pitel P-H, LEGRAND L, PRONOST S, MAILLARD K, MARCILLAUD-PITEL C, RICHARD E, and FORTIER G (2010) Néosporose bovine: de l'étude du cycle parasitaire à la définition des méthodes de lutte.
- Pluye A (1999) Un cas de néosporose chez un chiot.
- Porto WJN, Horcajo P, Kim P de CP, Regidor-Cerrillo J, Romão EA, Álvarez-García G, Mesquita EP de, Mota RA, and Ortega-Mora LM (2017) Peripheral and placental immune responses in goats after primoinfection with Neospora caninum at early, mid and late gestation. *Vet Parasitol* 242:38–43.
- Porto WJN, Regidor-Cerrillo J, de Cássia Peixoto Kim P, Benavides J, dos Santos Silva AC, Horcajo P, da Fonseca Oliveira AA, Ferre I, Mota RA, and Ortega-Mora LM (2016a) Experimental caprine neosporosis: the influence of gestational stage on the outcome of infection. *Vet Res* 47:29.
- Porto WJN, Regidor-Cerrillo J, de Cássia Peixoto Kim P, Benavides J, dos Santos Silva AC, Horcajo P, da Fonseca Oliveira AA, Ferre I, Mota RA, and Ortega-Mora LM (2016b) Experimental caprine neosporosis: the influence of gestational stage on the outcome of infection. *Vet Res* 47.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, and Constable PD (2006) *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, Elsevier Health Sciences.

- Regidor-Cerrillo J, Arranz-Solís D, Benavides J, Gómez-Bautista M, Castro-Hermida JA, Mezo M, Pérez V, Ortega-Mora LM, and González-Warleta M (2014) Neospora caninum infection during early pregnancy in cattle: how the isolate influences infection dynamics, clinical outcome and peripheral and local immune responses. *Vet Res* 45:10.
- Rezende-Gondim MM, da Silva AV, Schares G, and Gondim LFP (2017) In contrast to *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* tachyzoites did not sustain multiplication in vitro at increased incubation temperatures. *Vet Parasitol* 234:19–24.
- Rivera-Rivas JJ, Kisiela D, and Czaprynski CJ (2009) Bovine herpesvirus type 1 infection of bovine bronchial epithelial cells increases neutrophil adhesion and activation. *Vet Immunol Immunopathol* 131:167–176.
- Rodríguez-Ponce E, Conde M, Corbera JA, Jaber JR, Ventura MR, and Gutiérrez C (2017) Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goat population in Canary Islands (Macaronesia Archipelago, Spain). *Small Rumin Res* 147:73–76.
- Roizman B, and Sears AE (1987) An inquiry into the mechanisms of herpes simplex virus latency. *Annu Rev Microbiol* 41:543–571.
- Rosbottom A, Gibney EH, Guy CS, Kipar A, Smith RF, Kaiser P, Trees AJ, and Williams DJ (2008) Upregulation of cytokines is detected in the placentas of cattle infected with *Neospora caninum* and is more marked early in gestation when fetal death is observed. *Infect Immun* 76:2352–2361.
- Rosbottom A, Gibney H, Kaiser P, Hartley C, Smith RF, Robinson R, Kipar A, and Williams DJ (2011) Up regulation of the maternal immune response in the placenta of cattle naturally infected with *Neospora caninum*. *PloS One* 6:e15799.
- Sager H, Gloor M, Björkman C, Kritznier S, and Gottstein B (2003) Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. *Vet Parasitol* 112:1–10.
- Sarrazin claire (2009) TRANSMISSION VERTICALE DE NEOSPORA SP. CHEZ LES... - Google Scholar, ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT.
- Saydam O, Abril C, Vogt B, Ackermann M, and Schwyzer M (2004) Transactivator protein BICP0 of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) is blocked by prostaglandin D2 (PGD2), which points to a mechanism for PGD2-mediated inhibition of BHV-1 replication. *J Virol* 78:3805–3810.
- Saydam O, Steiner F, Vogt B, and Schwyzer M (2006) Host cell targets of immediate-early protein BICP22 of bovine herpesvirus 1. *Vet Microbiol* 113:185–192.

- Schaechter M, Medoff G, and Eisenstein BI (1999) *Microbiologie et pathologie infectieuse*, De Boeck Supérieur.
- Schares G, Pantchev N, Barutzki D, Heydorn AO, Bauer C, and Conraths FJ (2005) Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. *Int J Parasitol* 35:1525–1537.
- Schwyzer M, and Ackermann M (1996) Molecular virology of ruminant herpesviruses. *Vet Microbiol* 53:17–29.
- Sharma RN, Bush J, Tiwari K, Chikweto A, and Bhaiyat MI (2015) Seroprevalence of *Neospora caninum* in Sheep and Goats from Grenada, West Indies. *Open J Vet Med* 05:219.
- Sirakov IN, Peshev R, Alexandrov M, and Gardeva E (2012) Immunofluorescence and cytopathological features induced by Caprine herpes virus 1 in MDBK cells. *Rev Méd Vét* 163:167–173.
- Six A, Banks M, Engels M, Bascuñana CR, and Ackermann M (2001) Latency and reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus 1 (CapHV-1) in calves. *Arch Virol* 146:1325–1335.
- Smith MC, and Sherman DM (2011) *Goat Medicine*, John Wiley & Sons.
- Sohn CS, Cheng TT, Drummond ML, Peng ED, Vermont SJ, Xia D, Cheng SJ, Wastling JM, and Bradley PJ (2011) Identification of Novel Proteins in *Neospora caninum* Using an Organelle Purification and Monoclonal Antibody Approach. *PLoS ONE* 6.
- Spear PG (2004) Herpes simplex virus: receptors and ligands for cell entry. *Cell Microbiol* 6:401–410.
- Speer CA, Dubey JP, McAllister MM, and Blixt JA (1999) Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 29:1509–1519.
- Strauss EG, and Strauss JH (2007) *Viruses and Human Disease*, Academic Press.
- Suavet F, Champion J-L, Bartolini L, Bernou M, Alzieu J-P, Brugidou R, Darnatigues S, Reynaud G, Perrin C, Adam G, Thiéry R, and Duquesne V (2016) First Description of Infection of Caprine Herpesvirus 1 (CpHV-1) in Goats in Mainland France. *Pathogens* 5.
- Tarigan S, Webb RF, and Kirkland D (1987) Caprine herpesvirus from balanoposthitis. *Aust Vet J* 64:321–321.
- Tempesta M, Buonavoglia D, Sagazio P, Pratelli A, and Buonavoglia C (1998) Natural reactivation of caprine herpesvirus 1 in latently infected goats. *Vet Rec* 143:200–200.

- Tempesta M, Cavalli A, Voigt V, and Buonavoglia D (1994) Presenza di anticorpi per caprine herpesvirus 1 (CapHV. 1) in allevamenti caprini dell'Italia meridionale. *Atti SIPAOC* 11:121–122.
- Tempesta M, Pratelli A, Greco G, Martella V, and Buonavoglia C (1999) Detection of Caprine Herpesvirus 1 in Sacral Ganglia of Latently Infected Goats by PCR. *J Clin Microbiol* 37:1598–1599.
- Thiry E (2002) Stratégies de prévention des avortements provoqués par les herpèsvirus et les pestivirus de ruminants. *Ann Méd Vét* 146:161–168.
- Thiry E, and Thiry J (2011) Herpesvirus infections in ruminants and elephants.
- Thiry J (2008) Viral diversity and heterologous protection in the cluster of ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1.
- Thiry J, Keuser V, Muylkens B, Meurens F, Gogev S, Vanderplasschen A, and Thiry E (2006) Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet Res* 37:169–190.
- Thiry J, Keuser V, Schynts F, Chartier C, Tempesta M, Espejo-Serrano J, Saegerman C, and Thiry E (2006) Evaluation De La Séroprévalence De L'Infection à Herpesvirus Caprin 1 Dans Le Sud-Ouest De L'Europe. *Epidémiol Santé Anim* 49:55–58.
- Thiry J, and Thiry E (2008a) Détecter et contrôler l'herpèsvirose caprine. *Point Vét* 39:47–50.
- THIRY J, and THIRY E (2008) Détecter et contrôler l'herpèsvirose caprine.
- Thiry J, and Thiry E (2008b) Herpèsvirose caprine et faux positifs en IBR?
- Van Sante M (2015) Etude de la séroprévalence de quatre pathogènes abortifs chez la chèvre dans le Rhone et la Loire, Université Claude Bernard - Lyon I.
- Verweij MC, Horst D, Griffin BD, Luteijn RD, Davison AJ, Rensing ME, and Wiertz EJHJ (2015) Viral Inhibition of the Transporter Associated with Antigen Processing (TAP): A Striking Example of Functional Convergent Evolution. *PLOS Pathog* 11:e1004743.
- WALADJO AK, GBATI O, BAKOU S, and DOMBOU E (2008) Etiologie, cycle évolutif et pathogénie de la néosporose.
- Williams DJL, Hartley CS, Björkman C, and Trees AJ (2009) Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* - how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. *Parasitology* 136:1895–1900.
- Wouda W (2000) Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet Q* 22:71–74.

Annexes

Annexe 01 : Alphaherpèsvirus des ruminants apparentés au CpHV-1 (Delost, 2011)

Sous-famille	Genre	Espèce virale	Espèce hôte (hôte accidentel)	Maladie
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Varicellovirus</i>	Bovine herpesvirus 1 (BoHV1)	Espèce bovine (chèvre, mouton)	Rhinotrachéite infectieuse bovin
		Bovine herpesvirus 5 (BoHV5)	Espèce bovine (chèvre, mouton)	Encéphalite bovine
		Cervid herpesvirus 1 (CvHV1)	Cerf [Cervus elaphus]	Maladie oculaire, infection subclinique
		Cervid herpesvirus 2 (CvHV2)	Renne [Rangifer tarandus] (espèce bovine)	Infection génitale subclinique
		Caprine herpesvirus 1 (CpHV1)	Chèvre (espèce bovine)	Maladie génitale, maladie néonatale mortelle
		Bubaline herpesvirus1 (BuHV1)	Buffle d'eau asiatique	Infection génitale subclinique
		Elk herpesvirus 1 (ElkHV1)	Elk (espèce bovine)	Infection génitale subclinique
		Suid herpesvirus 1 (SuHV1)	Porc, sanglier [Sus scrofa] (ruminants, carnivores)	Maladie d'Aujeszky, pseudorage
		Equid herpesvirus 9	Zèbre [Equus quagga] (Gazelle de thomson)	Virus homologue à l'équid herpesvirus1 ; encéphalite chez la gazelle. Hôte naturel probable : le zèbre (infection subclinique)
	<i>Simpl exvirus</i>	Bovine herpesvirus 2 (BoHV2)	Espèce bovine, ruminants Africains	Thélite infectieuse bovine, maladie d'Allerton (pseudo-lumpy skin diasease)
<i>Gammapherpesvirinae</i>	<i>Rhadino virus</i>	Bovine herpesvirus 4 (BoHV4)	Espèce bovine, buffle africain(ruminants,dourouc ouli [Aotustrivirgatus],chat)	Infection subclinique, vulvovaginite, métrite post partum, avortement
	<i>Macavirus</i>	Ovine herpesvirus 2 (OvHV2)	Mouton (espèce bovine,cervidés, porc)	Coryza gangreneux (forme européenne) ; infection subclinique chez le mouton
		Alcelaphine herpesvirus 1 (AlHV1)	Gnou (espèce bovine)	Coryza gangreneux (forme africaine) ; infection subclinique chez le gnou
		Alcelaphine herpesvirus 2 (AlHV2)	Bubale roux, topi (espèce bovine)	Coryza gangreneux atypique (non mortel dans l'espèce bovine)
		Caprine herpesvirus 2 (CpHV2)	Chèvre (espèce bovine, cervidés)	Coryza gangreneux chez les hôtes hétérologues (moins virulent que lesvirus coryza gangreneux classiques)
		Hippotragine herpesvirus 1(HipHV1)	Antilope chevaline [Hippotragus equinus]	Infection subclinique
		Bovine herpesvirus 6 (BoHV6)	Espèce bovine	Herpèsvirus lymphotrope bovin, infection subclinique, peut-être impliqué dans des métrites post partum
	<i>Non assigné</i>	Ovine herpesvirus 1 (OvHV1)	Mouton	Herpèsvirus associé à l'adénomatose pulmonaire ovine

Annexe 02: Caractéristique génomiques du BoHV-1, BoHV-5, CapHV-., CvHV-1, CvHV-2(Delost, 2011).

Espèce virale	Taille du virion	Génome	
		Taille en kpb	%G+C
BoHV-1	150-250	136-140	71-72
BoHV-5	150-250	136-140	77-75
CapHV-1	145-150	130-150	Nd
CvHV-1	nd	141	77
CvHV-2	100-220	132	76

Annexe 03 : les principaux caractères structuraux de *N.caninum* et les éléments différentiels avec d'autre *Sarcocystidés*

	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Sarcocystis sp.</i>	<i>Besnoitia besnoiti</i>	<i>Hammondia sp.</i>
Généralités	avortements chez les bovins, HD : le chien	pas cause d'avortement chez les bovins, HD : le chat	avortements chez les bovins, HD : carnivores	infertilité chez le taureau, HD : le chat	peu pathogène (chien), cycle dixène obligatoire
structure du kyste [Speer & al, 1999] [Marquer, 1999] [Dubey & al., 2002] [Dubey, 1993]	paroi épaisse (1-4 µm) et irrégulière • kyste tissulaire non septé • vésicules (couche granuleuse) larges, nombreuses et denses aux électrons • contient 20 à 100 bradyzoïte	• paroi fine (0,5 µm) et lisse • paroi invaginée dans la couche granuleuse, mais non septée • vésicules moins larges, moins denses et moins nombreuses. • contient 50 à 500 bradyzoïtes	• paroi épaisse • kyste tissulaire septé • appelé « tube de Miescher »	• kyste globuleux et de grande taille • paroi épaisse • kyste non septé	• kyste fusiforme mais plus gros que chez <i>Neospora</i> • deux fines parois • très proche du kyste de <i>Toxoplasma</i>
Localisation des kystes tissulaires [Dubey, 1993]	tissu nerveux (cerveau,	nombreux tissus	muscles squelettiques et cardiaques, SNC rare	fibroblastes et histiocytes du derme	muscles principalement
Ultrastructure des bradyzoïtes [Dubey, 1993] [Speer & al., 1999]	bradyzoïtes similaires en taille et en structure rares micropores • micronèmes perpendiculaires au plasmalemme • noyau subterminal	micropores nombreux • micronèmes orientés au hasard • noyau postérieur	bradyzoïtes plus grands que chez <i>Neospora</i> et <i>Toxoplasma</i>	forme de croissant ou piriforme • proche de <i>Toxoplasma gondii</i> mais membrane et corps « énigmatiques » caractéristiques	• similaires à ceux de <i>Toxoplasma gondii</i> mais de taille inférieure
Ultrastructure des tachyzoïtes [Bjerkas & Landsverk, 1986] [Speer & al., 1999] [Dubey, 1993]	• 7,5 x 2 µm • rhoptries nombreuses (6 à 16), denses aux électrons, parfois postérieures. • micronèmes nombreux, perpendiculaires à la membrane, corps denses plutôt postérieurs • pas ou peu de micropores	• 6,8 x 1,5 à 3 µm • rhoptries peu nombreuses (4 à 10), rarement postérieures. • micronèmes peu nombreux, orientés au hasard, corps denses plutôt antérieurs • présence de micropores	• pas de rhoptries • structure en « rosette »	• 2 types ; 4 x 2,5 µm ou 6-8 x 2,5 µm • présence de corps typique	ultrastructure plus proche de <i>Neospora caninum</i> que de <i>Toxoplasma gondii</i> • nombreux granules denses, rhoptries et micronèmes postérieurs
Ultrastructure des ookystes	Morphologie identique entre <i>Neospora caninum</i> , <i>Hammondia heydorni</i> retrouvés dans les fèces de chiens et <i>Toxoplasma gondii</i> et <i>Hammondia hammondi</i> retrouvés dans les fèces de chats [Mac Allister & al., 1998 ; Lindsay & al., 1999a)				

	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Sarcocystis sp.</i>	<i>Besnoitia besnoiti</i>	<i>Hammondia sp.</i>
Mode de division des tachyzoïtes					
Mode de multiplication des tachyzoïtes [Dubey, 1993] [Euzeby, 1987]	• endodyogénie • dans ou en dehors de la vacuole parasitophore	• endodyogénie • toujours dans une vacuole parasitophore	• endopolygénie • pas de vacuole Parasitophore	• endopolygénie • dans une vacuole parasitophore	• endodyogénie • dans une vacuole parasitophor
Génétique					
Séquence nucléotidique [Marsh & al., 1995] [Ellis, 1998] [Holmdahl & al., 1997]	4 nucléotides de différence concernant la petite sous-unité ribosomale • séquences ITS1 différente				• séquence ITS1 différente de celle de <i>Neospora</i>
Antigénémie					
Réactions croisées [Shkap & al., 2002] [Wallace, 1975]	• réactions des anticorps anti <i>Neospora</i> avec les antigènes de <i>Besnoitia besnoiti</i>	réaction croisée avec <i>Hammondia hammondi</i>		pas de réaction des anticorps anti- <i>Besnoitia</i> avec les antigènes de <i>Neospora caninum</i>	réaction croisée avec <i>Toxoplasma gondii</i>
	différence des antigènes de surface SAG/SRS				• protéines ITS1 différente
	détection possible des antigènes NcGRA6 et NcGRA7 sans réaction croisée avec <i>Toxoplasma gondii</i> et <i>Sarcocystis sp</i>				

Annexe 04 : Fiche d'enquête

Information sur le prélèvement :

Wilaya : Commune : Nombre : ... Taille du Troupeau :

Race Age : < 01 ans 02 ans 03ans >4 ans et plus

Mode d'élevage

Y a-t-il eu un changement récent d'alimentation ? ☐ OUI ☐ Non

Présence d'autres animaux : ☐ Ovin ☐ Bovin ☐ Caprin ☐ chien ☐ Autre :...

Commémoratifs et Information sur l'état sanitaire :

Femelle : ☐ Primipare ☐ Multipare

Troubles de la reproduction ? ☐ Oui ☐ non

si oui : infertilité ☐ métrite ☐ vulvovaginite Autre :....

Avortement : Stade de gestation :

y a-t-il eu récemment des introductions d'animaux ? ☐ OUI ☐ Non