

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO – DIOULASSO  
INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL  
Département d'élevage

Numéro:



**THESE**

**Pour obtenir le grade de**

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO – DIOULASSO**

**(DOCTORAT UNIQUE)**

Gestion Intégrée des Ressources Naturelles

Option : Productions Animales

Spécialité: Génétique et Reproduction

**Présentée par**

**Alain Richi KAMGA WALADJO**

Le 27 octobre 2009

---

**Incidence de la prévalence sérologique de *Neospora caninum*  
sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal**

---

devant le jury composé de :

---

Président : **Mr Pascal LEROY**, Professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège (Belgique)

Directeurs : **Mr Papa El Hassane DIOP**, Professeur à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal)  
**Mr Daniel TAINURIER**, Professeur à l'Ecole Nationale vétérinaire de Nantes (France)

Rapporteurs: **Mr Louis Joseph PANGUI**, Professeur à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal)  
**Mr Christian HANZEN**, Professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège (Belgique)

Examineur : **Mr Hamidou BOLY**, Professeur à l'Université Polytechnique de Bobo - Dioulasso (Burkina - Faso)

---

---

## REMERCIEMENTS

---

Ce travail a été réalisé au sein des laboratoires de sérologie du service de biotechnologies et pathologies de la reproduction de l'école nationale vétérinaire de Nantes (France) et du service de microbiologie immunologie et pathologies infectieuses de l'école inter – états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (Sénégal). Sa réalisation a été possible grâce à l'appui financier :

- de la coopération française sur le fond de solidarité prioritaire ;
- de l'agence universitaire de la francophonie par l'octroi d'une bourse de mobilité francophone de formation à la recherche ;
- du service de biotechnologies et pathologies de la reproduction de l'école nationale vétérinaire de Nantes (France) par l'achat de tous les réactifs qui ont été utilisés dans ces travaux ;
- du service de chirurgie - reproduction et la Direction de l'école inter – états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (Sénégal).

**A Monsieur Pascal LEROY, Professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège (Belgique)**

En remerciements pour l'honneur qu'il me fait de présider ce jury de thèse.

Qu'il trouve ici, l'expression de ma profonde gratitude.

**A Monsieur Daniel TAINURIER, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (France)**

Qui m'a accueilli au sein de son service et de son équipe de recherche un matin glacial et pluvieux de décembre 2006 et m'a confié ce travail alors que j'en étais dans le besoin pour démarrer ma carrière universitaire. Vos qualités humaines, scientifiques et votre détermination m'ont accompagné tout au long de ce travail. J'ai fait le bon choix de retourner chez mon « grand père » scientifique. J'espère, aujourd'hui, me montrer digne de la confiance que vous m'avez accordée.

Profonde reconnaissance.

**A Monsieur Papa El Hassane DIOP, Professeur à l'Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal)**

Qui m'a accueilli au sein de son service et de sa famille. Vos qualités humaines, scientifiques et votre détermination m'ont toujours accompagné. J'espère, aujourd'hui, me montrer digne d'être votre héritier scientifique.

Profonde reconnaissance.

**A Monsieur Louis Joseph PANGUI, Professeur à l'Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal)**

Je suis très honoré de votre participation à ce jury.

Elle est le reflet de votre intérêt sans faille pour le partage des acquis de la recherche dans notre sous région. Vos qualités humaines, scientifiques et votre disponibilité suscitent beaucoup d'admiration.

Sincères remerciements pour votre présence quotidienne et vos conseils.

**A Monsieur Christian HANZEN, Professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège (Belgique)**

Votre participation en qualité de rapporteur honore cette thèse. Vos préoccupations scientifiques sont les miennes et j'espère voir naître une collaboration entre les services de reproduction de L'Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar et de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

**A Monsieur Hamidou BOLY, Professeur à l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso)**

En remerciements pour toute sa disponibilité à me guider durant cette thèse et aujourd'hui, l'honneur qu'il me fait de juger ce travail.

Qu'il trouve ici, l'expression de ma grande reconnaissance.

**A Monsieur Gérard CHATAGNON du laboratoire de sérologie du service de biotechnologies et pathologies de la reproduction de l'école nationale vétérinaire de Nantes (France)**

Pour ta précieuse collaboration technique et tes conseils au cours de la réalisation de ce travail.

A ma famille

Pour son indéfectible attachement

A mes amis (es)

Pour leur fidélité

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail

Sincères remerciements

Je suis également redevable

Envers les personnes qui ont participé activement à certains aspects de ce travail, notamment les vétérinaires des fermes sollicitées, le personnel des laboratoires, les correcteurs des versions anglaises, le personnel du parc zoologique et forestier de Hann, les éleveurs, et tous ceux qui ont contribué à la contention des animaux.

<b>TABLE DES MATIERES</b>		<b>Page</b>
Liste des tableaux .....		i
Liste des figures .....		iv
Résumé – Abstract .....		vi
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>		<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>		<b>5</b>
<b>CHAPITRE I : ETIOLOGIE, CYCLE EVOLUTIF ET PATHOGENIE DE LA NEOSPOROSE .....</b>		<b>6</b>
Introduction .....		8
1 - Définition .....		8
2 - Historique .....		8
3 - Importance .....		10
I - Etiologie .....		12
1 - Classification .....		12
1.1 - Taxonomie de <i>Neospora caninum</i> .....		12
1.2 - Phylogénie .....		12
2 - Morphologie de <i>Neospora caninum</i> .....		13
2.1 - Tachyzoïtes .....		14
2.2 - Kystes à bradyzoïtes .....		15
2.3 - Ookystes .....		17
3 - Biologie .....		17
3.1 - Localisation .....		17
3.2 - Culture <i>in vitro</i> .....		18
3.3 - Mode de nutrition de <i>Neospora caninum</i> .....		20
4 - Modèles d'animaux d'infection .....		21
4.1 - Souris .....		21
4.2 - Rat .....		22
4.3 - Gerbille .....		23
4.4 - Hamster .....		23
4.5 - Bovin .....		23
5 - Composition antigénique .....		24
5.1 - Identification d'antigènes à l'aide d'anticorps monoclonaux .....		24
5.2 - Identification d'antigènes à l'aide de préparations polyclonales d'anticorps .....		26
II - Cycle évolutif .....		27
III - Pathogénie .....		29

<b>CHAPITRE II : EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE</b> .....	32
Introduction .....	34
I - Répartition géographique .....	34
II - Epidémiologie descriptive .....	34
III - Epidémiologie analytique .....	35
1 - Source du parasite .....	35
2 - Longévité et résistance .....	36
3 - Espèces affectées .....	36
4 - Causes favorisantes .....	39
5 - Pouvoir pathogène .....	42
6 - Pouvoir immunogène .....	42
7 - Mode de contamination .....	43
7.1 - Transmission verticale par la voie transplacentaire .....	43
7.2 - Transmission horizontale .....	46
7.2.1 - Ingestion des kystes tissulaires à bradyzoïtes ou des tachyzoïtes .....	46
7.2.2 - Ingestion d'ookystes sporulés .....	46
7.3 - Transmission vénérienne .....	47
8 - Risque sanitaire de la néosporose .....	48
IV - Facteurs de risque de la neosporose bovine .....	49
1 - Études des facteurs de risque .....	52
2 - Risques d'infection .....	52
2.1 - Age de l'animal .....	52
2.2 - Hôtes définitifs .....	53
2.3 - Autres carnivores .....	58
2.4 - Hôtes intermédiaires autres que les bovins .....	58
2.5 - Pâturage, fourrage et eau de boisson .....	59
2.6 - Consommation du colostrum ou du lait .....	60
2.7 - Origine des génisses de remplacement .....	60
2.8 - Conditions climatiques .....	61
2.9 - Présence des anticorps des autres agents infectieux .....	61
2.10 - Système d'élevage .....	61
3 - Risques d'avortements .....	62
3.1 - Séropositivité des bovins .....	62
3.2 - Séroprévalence dans le troupeau .....	62
3.3 - Facteurs de risque associant <i>Neospora caninum</i> – avortements .....	63
3.3.1 - Age de l'animal .....	63
3.3.2 - Stade de gestation .....	63

3.3.3 - Présence de chiens de ferme .....	64
3.3.4 - Présence d'autres hôtes .....	65
3.3.5 - Alimentation .....	65
3.3.6 - Climat et saison .....	65
3.3.7 - Présence d'autres agents infectieux .....	66
3.3.8 - Logement des animaux .....	67
3.4 - Croisement entre races bovines .....	67
3.5 - Facteurs de risque associés à la reproduction .....	68
3.5.1 - Mortalités embryonnaires et intervalle vêlage insémination fécondante .....	68
3.5.2 - Involution utérine et rétention placentaire .....	69
<b>CHAPITRE III : ETUDE CLINIQUE, DIAGNOSTIC, PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT DE LA NEOSPOROSE .....</b>	<b>70</b>
Introduction .....	72
I - Etude clinique .....	72
1 - Symptômes .....	72
1.1 - Néosporose bovine .....	72
1.1.1 - Avortements .....	73
1.1.2 - Pathologie du nouveau - né .....	74
1.2 - Néosporose chez les autres espèces .....	75
1.2.1 - Chien .....	75
1.2.2 - Petits ruminants .....	76
1.2.3 - Chevaux .....	76
1.2.4 - Faune sauvage .....	77
2 - Lésions .....	77
II - Diagnostic .....	78
1 - Epidémiologique .....	78
2 - Expérimental .....	80
2.1 - Méthodes Sérologiques .....	80
2.1.1 - Immunofluorescence indirecte .....	80
2.1.2 - Séro - Agglutination directe .....	82
2.1.3 - Méthodes immunoenzymatiques et applications actuelles .....	83
2.1.3.1 - Méthodes immuno - enzymatiques .....	83
2.1.3.2 - Applications actuelles .....	84
A - ELISA à antigènes bruts .....	84
B - ELISA à antigènes entiers .....	84
C - ELISA à antigènes complexés à un adjuvant (iscom) .....	85
D - ELISA à antigènes peptidiques recombinants purifiés .....	85
E - ELISA avec capture d'antigène .....	86

2.1.4 - Western blot .....	86
2.1.5 - Bilan des tests sérologiques .....	87
2.2 - Mise en évidence du parasite .....	89
2.2.1 - Méthodes histologiques .....	89
2.2.2 – Méthodes immunohistochimiques .....	90
2.2.3 - Détection et identification du parasite à l'aide d'outil de génétique moléculaire .....	91
2.2.4 - Culture cellulaire et inoculation à l'animal de laboratoire .....	92
3 - Diagnostic différentiel .....	94
4 - Application au diagnostic de terrain .....	95
4.1 - Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle individuelle .....	95
4.2 - Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle du troupeau .....	98
5. Pronostic .....	99
III - Prophylaxie .....	99
1 - Sanitaire .....	99
1.1 - Prophylaxie sanitaire défensive .....	99
1.2 - Prophylaxie sanitaire offensive .....	100
1.2.1 - Prévention de la transmission horizontale .....	100
1.2.2 - Prévention de la transmission verticale .....	101
2 - Médicale .....	102
2.1 - Souris .....	103
2.2 - Chien .....	105
2.3 - Brebis .....	105
2.4 - Vache .....	105
IV - Traitement .....	106
1 - <i>In vitro</i> .....	106
2 - <i>In Vivo</i> .....	107
2.1 - Souris .....	107
2.2 - Chien .....	107
2.3 - Bovins .....	108
V - Coût de la néosporose .....	109
1 - Pertes économiques dues à la néosporose bovine .....	109
2 - Rendement des stratégies de lutte contre la néosporose bovine .....	110
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE</b> .....	112
<b>CHAPITRE I : SEROPREVALENCE DE <i>NEOSPORA CANINUM</i> ET CONSEQUENCES SUR LES PARAMETERS DE REPRODUCTION DES VACHES LAITIERES A DAKAR – SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST</b> .....	113
Résumé .....	114
Introduction .....	115

---

Matériel et Méthodes .....	116
Résultats .....	118
Discussion .....	121
<b>CHAPITRE II : SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE ET CONSEQUENCES SUR LE TAUX DE REUSSITE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DANS LES TROUPEAUX BOVINS A DAKAR – SENEGAL .....</b>	<b>124</b>
Résumé .....	125
Introduction .....	126
Matériel et Méthodes .....	127
Résultats .....	130
Discussion .....	131
<b>CHAPITRE III : EFFET DE LA SEROPREVALENCE DE <i>NEOSPORA CANINUM</i> ET <i>TOXOPLASMA GONDII</i> SUR LES PARAMETRES DE REPRODUCTION DES OVINS ET DES CAPRINS A DAKAR – SENEGAL .....</b>	<b>134</b>
Résumé .....	135
Introduction .....	136
Matériel et Méthodes .....	136
Résultats .....	139
Discussion .....	140
<b>CHAPITRE IV : <i>NEOSPORA CANINUM</i> ET CONSEQUENCES SUR LES CARACTERISTIQUES DE REPRODUCTION CHEZ LES TRUIES EN DIVAGATION AU SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST .....</b>	<b>143</b>
Résumé .....	144
Introduction .....	145
Matériel et Méthodes .....	145
Résultats .....	146
Discussion .....	148
<b>CHAPITRE V : <i>NEOSPORA CANINUM</i> ET <i>TOXOPLASMA GONDII</i> CHEZ LES LIONS (<i>PANTHERA LEO</i>) AU SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST.....</b>	<b>149</b>
Résumé .....	150
Introduction .....	151
Matériel et Méthodes .....	151
Résultats .....	152
Discussion .....	153
<b>CHAPITRE VI : <i>NEOSPORA CANINUM</i> ET <i>TOXOPLASMA GONDII</i> CHEZ DES GLOBICEPHALES (<i>GLOBICEPHALA MACRORHYNCHUS</i>) ECHOUES SUR LA PLAGE DE YOFF A DAKAR, AFRIQUE DE L'OUEST .....</b>	<b>155</b>
Résumé .....	156
Introduction .....	157

---

Matériel et Méthodes .....	157
Résultats .....	158
Discussion .....	158
<b>CHAPITRE VII : SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE CANINE (<i>NEOSPORA CANINUM</i>) DANS LES REGIONS DE DAKAR ET THIES DU SENEGAL .....</b>	<b>160</b>
Résumé .....	161
Introduction .....	162
Matériel et Méthodes .....	162
Résultats .....	164
Discussion .....	165
<b>DISCUSSION GENERALE .....</b>	<b>168</b>
1 - Principaux résultats .....	169
2 - Séroprévalence de la néosporose chez les animaux d'élevage au Sénégal .....	171
2.1 - Bovins .....	171
2.2 - Petits Ruminants .....	172
2.3 - Porcins .....	172
3 - Conséquences de la prévalence sérologique de <i>Neospora caninum</i> sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal .....	173
3.1 - Bovins .....	173
3.2 - Petits ruminants .....	175
3.3 - Porcins .....	175
4 - Mode d'entretien de la néosporose au Sénégal .....	176
5 - Perspectives de lutte contre la néosporose au Sénégal .....	177
5.1 - Prévention de la transmission horizontale .....	178
5.2 - Prévention de la transmission verticale .....	178
6 - Risque sanitaire de la néosporose .....	179
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>181</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>183</b>
<b>ANNEXE .....</b>	<b>a</b>
<b>PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS PERSONNELLES .....</b>	<b>b</b>

---

**LISTE DES TABLEAUX**

---

	<b>Page</b>
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : NEOSPOROSE</b>	
<b>ETIOLOGIE, CYCLE EVOLUTIF ET PATHOGENIE DE LA NEOSPOROSE</b>	
<b>Tableau I</b> : Historique de la néosporose .....	9
<b>Tableau II</b> : Principaux critères de diagnose différentielle de <i>Neospora caninum</i> .....	14
<b>Tableau III</b> : Description du stade parasitaire de <i>Neospora caninum</i> .....	14
<b>Tableau IV</b> : Souches de <i>Neospora caninum</i> isolées chez des bovins .....	19
<b>EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE</b>	
<b>Tableau I</b> : Excrétion expérimentale d'ookystes de <i>N. caninum</i> .....	38
<b>Tableau II</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez le chien .....	40
<b>Tableau III</b> : Transmission congénitale asymptomatique <i>N. caninum</i> chez les bovins .....	45
<b>Tableau IV</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez l'homme .....	49
<b>Tableau V</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez des bovins laitiers .....	50
<b>Tableau VI</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez des bovins allaitants .....	51
<b>Tableau VII</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez les caniformes ( <i>Caniformia</i> ) sauvages .....	54
<b>Tableau VIII</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez les féloïdés ( <i>Feliformia</i> ) sauvages .....	55
<b>Tableau IX</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez les équidés, ruminants et cervidés sauvages .....	56
<b>Tableau X</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez les rongeurs et autres mammifères sauvages .....	57
<b>Tableau XI</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez les mammifères marins .....	57
<b>Tableau XII</b> : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez des espèces autres que les bovins et les canins domestiques .....	58
<b>ETUDE CLINIQUE, DIAGNOSTIC, PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT DE LA NEOSPOROSE</b>	
<b>Tableau I</b> : Lésions macroscopique et microscopique de 6 fœtus bovins infectés par <i>N. caninum</i> .....	78
<b>Tableau II</b> : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence indirecte de <i>N. caninum</i> .	80
<b>Tableau III</b> : Méthodes sérologiques mises au point pour la détection des anticorps anti <i>N. caninum</i> .....	88
<b>Tableau IV</b> : Tests sérologiques commercialisés pour la détection des anticorps anti <i>N. caninum</i> .....	88
<b>Tableau V</b> : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence directe de <i>N. caninum</i> ...	93
<b>Tableau VI</b> : Diagnostic différentiel de la néosporose .....	95
<b>Tableau VII</b> : Recherche de <i>N. caninum</i> dans les avortons de bovins .....	97
<b>Tableau VIII</b> : Posologie des médicaments recommandés pour le traitement de la néosporose canine .....	107
<b>ETUDE EXPERIMENTALE : INCIDENCE DE LA PREVALENCE SEROLOGIQUE DE NEOSPORA CANINUM SUR LA REPRODUCTION DES ANIMAUX D'ELEVAGE AU SENEGAL</b>	
<b>SEROPREVALENCE DE NEOSPORA CANINUM ET CONSEQUENCES SUR LES PARAMETERS DE REPRODUCTION DES VACHES LAITIERES A DAKAR – SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST</b>	
Table 1: Distribution of cattle breeds in the dairy herds .....	116

Table 2: Seroprevalence of <i>N. caninum</i> antibodies in different breeds .....	119
Table 3 : Seroprevalence of <i>N. caninum</i> antibodies in different age groups of cows .....	119
Table 4 : Seroprevalence of <i>N. caninum</i> antibodies in aborted and non - aborted cows .....	120
Table 5: Number of inseminations to conception for <i>N. caninum</i> -infected in different cow breeds .....	120
Table 6: Number of inseminations to conception for <i>N. caninum</i> -infected in different age groups of cows .....	121

#### **SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE ET CONSEQUENCES SUR LE TAUX DE REUSSITE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DANS LES TROUPEAUX BOVINS A DAKAR – SENEGAL**

Tableau I : Description de l'échantillon et séroprévalence de <i>Neospora caninum</i> .....	130
Tableau II : Effet du sérostatut ( <i>N. caninum</i> ) des vaches sur le nombre moyen d'inséminations par gestation	131

#### **EFFET DE LA SEROPREVALENCE DE NEOSPORA CANINUM ET TOXOPLASMA GONDII SUR LES PARAMETRES DE REPRODUCTION DES OVINS ET DES CAPRINS A DAKAR – SENEGAL**

Tableau I : Répartition des femelles en fonction des classes d'âge .....	137
Tableau II : Séroprévalence de <i>N. caninum</i> et <i>T. gondii</i> dans les échantillons d'ovins et de caprins .....	139
Tableau III : Effet du statut sérologique des animaux sur leur fertilité .....	140
Tableau IV : Effet du statut sérologique des animaux sur leur prolificité .....	140

#### **NEOSPORA CANINUM ET CONSEQUENCES SUR LES CARACTERISTIQUES DE REPRODUCTION CHEZ LES TRUIES EN DIVAGATION AU SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST**

Table 1: Seroprevalence of <i>N. caninum</i> antibodies among different age groups of wandering sows in Senegal .....	147
Table 2: Relationships among seroprevalence of <i>N. caninum</i> antibodies and reproductive characteristics in wandering sows in Senegal .....	147

#### **NEOSPORA CANINUM ET TOXOPLASMA GONDII CHEZ LES LIONS (PANTHERA LEO) AU SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST.**

Table 1: Serological results of <i>Neospora caninum</i> and <i>Toxoplasma gondii</i> of lions ( <i>Panthera leo</i> ) from zoo in Senegal .....	152
---	-----

#### **NEOSPORA CANINUM ET TOXOPLASMA GONDII CHEZ DES GLOBICEPHALES (GLOBICEPHALA MACRORHYNCHUS) ECHOUES SUR LA PLAGE DE YOFF A DAKAR, AFRIQUE DE L'OUEST**

Table 1: <i>Neospora caninum</i> and <i>Toxoplasma gondii</i> antibodies in short-finned pilot whale ( <i>Globicephala macrorhynchus</i> ) aground on the beaches of Dakar .....	158
--	-----

#### **SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE CANINE (NEOSPORA CANINUM) DANS LES REGIONS DE DAKAR ET THIES DU SENEGAL**

Tableau I : Effet de la provenance, du sexe, de l'âge et de la race sur la séroprévalence de la néosporose canine dans les régions de Dakar et de Thiès – Sénégal .....	165
---	-----

---

## LISTE DES FIGURES

---

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : NEOSPOROSE

### ETIOLOGIE, CYCLE EVOLUTIF ET PATHOGENIE DE LA NEOSPOROSE

<b>Figure 1</b> : Tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> (a, b, c) dans un frottis (Giemsa) de foie d'une souris expérimentalement infectée .....	15
<b>Figure 2</b> : A : Tachyzoïtes dans le cerveau de chien .....	15
<b>Figure 2</b> : B : Ultrastructure au Microscope Electronique à Transmission (MET) de Tachyzoïtes (souche NC-2 de <i>N. caninum</i> ) en culture dans les cellules HS68 .....	15
<b>Figure 2</b> : C : Ultrastructure de Tachyzoïtes (souche NC-1 de <i>N. caninum</i> ) dans un foie de souris .....	15
<b>Figure 3</b> : Coupe histologique d'un kyste de <i>N. caninum</i> dans le cerveau d'un avorton bovin. (A) Coloration Hématoxylin – éosine. (B) Immunohistochimie .....	16
<b>Figure 4</b> : Coupe histologique d'un kyste de <i>N. caninum</i> dans un neurone de veau issu d'une infection congénitale (coloration hématoxyline – éosine) .....	16
<b>Figure 5</b> : Coupe histologique d'un kyste de <i>N. caninum</i> . (A) Kyste dans le cerebellum d'un chien – (B) Kyste tissulaire dans le cerveau d'un chien .....	16
<b>Figure 6</b> : Ultrastructure d'un kyste de <i>N. caninum</i> . (A) Bradyzoïtes (Br) mis en évidence à proximité de la membrane kystique (Cw) au MET à 2µm sur un muscle squelettique de chien. - (B) Agrandissement du bradyzoïte au MET à 1µm .....	17
<b>Figure 7</b> : Ookyste de <i>N. caninum</i> [coyote ( <i>Canis latrans</i> )]. Barre = 10 µm. (A) ookyste non sporulé. (B) ookyste sporulé contenant deux sporocystes .....	17
<b>Figure 8</b> : Cycle évolutif de <i>N. caninum</i> .....	28

### EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE

<b>Figure 1</b> : Mise en évidence de tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> dans le lobe antérieur de la prostate (A) et dans les vésicules séminales (B) de souris mâles de 20 jours .....	48
<b>Figure 2</b> : Fréquence des avortements des vaches positives à <i>N. caninum</i> en fonction du stade de gestation .	64

### ETUDE CLINIQUE, DIAGNOSTIC, PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT DE LA NEOSPOROSE

<b>Figure 1</b> : Physiopathogénie de l'infection par <i>Neospora caninum</i> chez les bovins et conséquences pour le foetus .....	74
<b>Figure 2</b> : Approche diagnostique de la néosporose dans un troupeau bovin .....	79
<b>Figure 3</b> : Relation entre la fréquence des lésions histologiques évocatrices d'une infection à <i>N. caninum</i> et la positivité à l'Immunohistochimie de 89 foetus bovins .....	90
<b>Figure 4</b> : Diagnostic de la néosporose bovine par la PCR .....	91
<b>Figure 5</b> : Période d'induction d'avortements des principaux agents abortifs bovins .....	94
<b>Figure 6</b> : Modalité d'assainissement d'un élevage contaminé par <i>N. caninum</i> .....	102

---

**RESUME – ABSTRACT**

---

## Incidence de la prévalence sérologique de *Neospora caninum* sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal

### Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la prévalence sérologique de la néosporose et ses effets sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal. Le coffret ELISA compétition multi – espèces (VMRD, Pulman – USA) a été utilisé pour déterminer le statut sérologique de certains animaux au Sénégal.

Dans les régions de Dakar et de Thiès, la séroprévalence chez les chiens, est de 14,2%. Les chiens errants de Thiès sont plus infectés que les chiens domestiques tandis qu'à Dakar les chiens domestiques sont les plus infectés ( $p < 0,05$ ).

Chez les bovins, la prévalence sérologique de *N. caninum* est plus élevée chez les vaches locales semi – transhumantes (71,4%) comparée à la séroprévalence chez les races exotiques (17,4%) et métisses (27,3%) en stabulations dans des fermes laitières péri – urbaines de Dakar ( $p < 0,05$ ). Dans des troupeaux intensifs en stabulation permanente, la prévalence sérologique est plus élevée chez des vaches locales (53,3%) et les métisses (25%) comparée à celle des vaches de races exotiques (13,4%) ( $p < 0,05$ ). Nous avons observé qu'une vache séropositive nécessite plus d'inséminations par gestation qu'une vache séronégative, quel que soit la classe d'âge ( $p < 0,05$ ).

La séroprévalence est plus élevée dans le troupeau ovin par rapport aux « moutons de case » ( $p < 0,05$ ). Elle est de 12% chez des chèvres transhumantes. La prolificité est meilleure dans le troupeau d'ovins et de caprins séronégatifs ( $p < 0,05$ ).

La séroprévalence chez les truies est de 58%. Elle se traduit par une mise à la reproduction tardive des truies, une réduction du nombre annuel de mise bas par truie et du taux de viabilité des porcelets à la naissance.

La recherche d'éventuelles sources du parasite, nous a amené à mettre en évidence, des anticorps témoins d'une infection d'une part, chez des lions (*Panthera leo*) nourris avec de la viande bovine non cuite et d'autre part, chez des globicéphales (*Globicephala macrorhynchus*), échoués sur la plage de Yoff à Dakar (Sénégal).

Notre étude démontre l'existence de la néosporose au Sénégal et confirme son caractère cosmopolite. Par ailleurs, l'infection a des répercussions sur la reproduction des espèces de rente, quel que soit le type d'élevage.

Des mesures de prophylaxie sanitaire notamment la suppression des sources du parasite sont faciles à mettre en œuvre dans les zones à risque où l'impact de la néosporose sur la reproduction des animaux d'élevage est perceptible. Ces mesures peuvent être conseillées à l'homme en raison du risque sanitaire de la maladie.

**Mots - clés :** *Neospora caninum*, animaux d'élevage, lions, globicéphales, chiens, Sénégal.

## Impact of seroprevalence of *Neospora caninum* on reproduction of livestock in Senegal

### Abstract

This study aimed to evaluate the seroprevalence of neosporosis and the effect of the disease on livestock reproduction in Senegal. The serological status of several animals in Senegal was determined by using the competitive ELISA kit multi - species (VMRD, Pulman - USA).

In the area of Dakar and Thies, the seroprevalence of neosporosis is 14.2% in dogs. At Thies, the wandering dogs were more infected than domestic dogs while in Dakar region, domestic dogs were the most infected ( $p < 0.05$ ). The seroprevalence of *N. caninum* in cattle was higher in local semi-transhumant cows (71.4%) than in exotic cows (17.4%) and crossbreeds (27.3%) in stalling in peri - urban dairy farms of Dakar ( $p < 0.05$ ). In permanently intensive animals, the seroprevalence was higher in local cows (53.3%) and Crossbreeds (25%) than exotic cows (13.4%) ( $p < 0.05$ ). Moreover, we observed that, in seropositive cows, the number of inseminations per pregnancy was significantly increased compared to insemination number in seronegative cows ( $p < 0.05$ ).

The seroprevalence was higher in sheep flock than in "house sheep" ( $p < 0.05$ ). It was 12% in transhumant goats. Prolificacy is better in the seronegative flock of sheep and goats ( $p < 0.05$ ).

The seroprevalence in sows was high (58%) and leads to an increase of the age at first birth of the sow and in a decrease annual number of deliveries.

Research of possible parasite sources revealed the presence of antibodies against *N. caninum* in lions (*Panthera leo*) fed with uncooked beef meat and in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar (Senegal).

Our study showed the existence of neosporosis in Senegal and confirms its cosmopolitan character. Moreover, the infection affects livestock reproduction, no matter the type of farming.

Prophylactic measures, particularly the elimination of the parasite sources are simple to implement in high risk-areas where the impact of neosporosis on animals reproduction is perceptible. These measures could be also recommended in humans regarding the health risk of the disease.

**Keywords:** *Neospora caninum*, livestock, lions, short-finned pilot whale, dogs, Senegal.

---

## INTRODUCTION GENERALE

---

La néosporose, protozoose cosmopolite due à *Neospora caninum*, suscite un intérêt de plus en plus grandissant en reproduction animale en raison de ses conséquences abortives et des troubles néonatales. Décrite pour la première fois en 1984 par **Bjerkås et al.** [81] chez des chiens atteints d'encéphalopathie et de myosite, *N. caninum* a une structure et un cycle évolutif proches de *Toxoplasma gondii*. Le chien et certains canidés ont été identifiés comme hôtes définitifs de *N. caninum* alors que les félinés dont le chat domestique sont des hôtes définitifs de *T. gondii* [237, 446] qui sévit essentiellement chez l'homme et les petits ruminants domestiques.

La néosporose est responsable de troubles de la reproduction dans l'espèce bovine. Elle se manifeste cliniquement par des avortements chez la vache et des maladies néonatales chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages. Ces avortements entraînent des pertes des produits de la gestation (veau), l'allongement de l'intervalle entre vêlage, la réforme précoce des femelles et la réduction de la production laitière [237]. Des études montrent que *N. caninum* pourrait être responsable de 42,5% des avortements [18] parmi lesquels 15 à 20% ont été soumis à un diagnostic de laboratoire [318]. L'importance de la néosporose en élevage est médicale mais surtout économique car ces avortements peuvent se produire sur des gestations successives chez un même animal.

En absence d'avortements, le fœtus peut naître mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique. 95% de veaux nés vivants de mères séropositives à *N. caninum* sont cliniquement normaux, mais, porteurs de parasites [217, 765]. Ainsi, l'issue de la gestation dépend de l'âge du fœtus, de l'importance de la parasitémie et de la souche de *N. caninum* [237].

La voie de transmission naturelle connue est la voie verticale trans-placentaire, et secondairement la voie horizontale. La transmission vénérienne de *N. caninum* est possible [669], mais, peu probable [113, 560] ; ce qui autorise la réforme des animaux séropositifs.

Certaines molécules ont été proposées pour le traitement de cette affection avec des succès variables [237]. Chez les animaux de rente notamment les bovins, elles réduisent la transmission placentaire ainsi que le taux d'avortement à *N. caninum* [42]

Par ailleurs, la conservation de la valeur génétique des femelles séropositives peut être envisagée par le transfert d'embryons de ces animaux à des mères séronégatives.

Le risque d'infection dans un troupeau est fonction du système d'élevage, de la densité animale dans l'exploitation, du mode de conduite de la reproduction, du mode d'abreuvement et d'alimentation des animaux, de la présence permanente ou occasionnelle d'hôte définitif dans l'exploitation, de la présence d'hôtes intermédiaires autres que les bovins dans l'exploitation, des conditions climatiques et de la prévalence des autres maladies dans l'exploitation [237]. Ces risques sont omniprésents dans les élevages de rente majoritairement de type semi – intensif et extensif en Afrique Subsaharienne.

Si la néosporose pose déjà autant de problèmes de reproduction chez les animaux dans les pays du nord malgré le respect des normes en élevage, qu'en serait – il dans les pays du sud, où les conditions d'élevage sont favorables à une exposition des animaux à divers facteurs responsables des pathologies de la reproduction ?

En raison de la présence permanente de ces facteurs de risque dans les élevages en Afrique Subsaharienne, du caractère cosmopolite de cette protozoose émergente et de sa grande importance en élevage de rente [237, 614, 718], la présente thèse se propose d'évaluer les effets de la prévalence sérologique de la néosporose sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal.

De façon spécifique, cette étude vise à :

- Evaluer le statut sérologique de certains animaux d'élevage, domestiques, marins et en captivité au Sénégal ;
- Rechercher la relation entre la prévalence sérologique et les troubles de la reproduction observés dans certains troupeaux d'animaux de rente ;
- Rechercher quelques facteurs de risque d'infection de ces animaux.

Le présent document va s'articuler en deux grandes parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui décrit :

- L'étiologie, le cycle évolutif et la pathogénie de la néosporose ;
- L'épidémiologie de la néosporose ;
- L'étude clinique, le diagnostic, la prophylaxie et le traitement de la néosporose.

La seconde partie va s'intéresser à l'étude expérimentale dans laquelle ont été présentée :

- Le séroprévalence de la néosporose chez certaines espèces animales (bovins, ovins, caprins, porcins, lions, globicéphales et chiens) au Sénégal et les conséquences sur la reproduction des animaux d'élevage ;
- Une discussion générale qui :
  - Etablit clairement une relation entre la prévalence sérologique de la néosporose et ses effets sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal ;
  - Actualise les connaissances sur l'épidémiologie de la néosporose ;
  - Propose des mesures de préventions ;
  - S'interroge sur le risque sanitaire de la néosporose.

---

**PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**NEOSPOROSE**

---

# Chapitre I

---

## ETIOLOGIE, CYCLE EVOLUTIF ET PATHOGENIE DE LA NEOSPOROSE

---

**KAMGA WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, BAKOU S.N.<sup>1</sup>, DOMBOU E.<sup>1</sup>, MUKAKANAMUGIRE A.<sup>1</sup>,  
CHATAGNON G.<sup>2</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup> et TAITURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. BP : 5077 Dakar – Fann – Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole – La Chantrerie B.P : 40706 – 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉Correspondant : akwar2003@yahoo.fr; a.kamga@eismv.org

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (1) : 3 - 18

## **Etiologie, cycle évolutif et pathogénie de la néosporose**

### **Résumé**

La présente synthèse bibliographique fait le point sur l'étiopathogénie et le cycle évolutif de la néosporose, une protozoose due à *Neospora caninum*. Décrite pour la première fois en 1984 en Norvège chez des chiens atteints d'encéphalopathie et de myosite, *N. caninum* est morphologiquement très proche de *Toxoplasma gondii*. La néosporose est essentiellement une pathologie bovine. Le chien et certains canidés ont été identifiés comme des hôtes définitifs de *N. caninum*. La toxoplasmose sévit essentiellement chez l'homme et les petits ruminants domestiques. Les félinés sont hôtes définitifs de *T. gondii*. La néosporose se manifeste cliniquement par des avortements chez la vache et des maladies néonatales chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages. Le cycle évolutif et le mécanisme d'action de *N. caninum* dans les cellules hôtes sont mal connus, ce qui rend difficile la prophylaxie de la maladie.

**Mots - clés** : *Neospora caninum*, néosporose, étiologie, pathogénie, cycle évolutif.

## **Etiology, pathogenesis and life cycle of neosporosis**

### **Abstract**

We reported in this literature review, etiology, pathogenesis and life cycle of neosporosis, a protozoonosis caused by *Neospora caninum*. The first description was made in 1984 in Norway from dogs affected by encephalopathy and myositis, *N. caninum* is morphologically similar to *Toxoplasma gondii*. Neosporosis is a disease affecting mainly cattle. Dog and some canids have been identified as definitive hosts of *N. caninum*. Toxoplasmosis, however, affects mainly humans and small domestic ruminants but felines are the definitive hosts of *T. gondii*. Clinically, neosporosis manifests by abortions in cows and neonatal disease in many domestic and wild mammals. The life cycle and pathogenicity mechanism of *N. caninum* in the host cells are not well known; control measures against neosporosis are consequently very difficult.

**Keywords**: *Neospora caninum*, neosporosis, etiology, pathogenesis, life cycle.

## Introduction

### 1 - Définition

La néosporose est une protozoose due à *Neospora caninum*, protozoaire parasite du groupe des coccidies, proche de *Toxoplasma gondii* avec lequel, il présente de nombreuses similitudes.

L'infection à *N. caninum* est particulièrement répandue chez les bovins et se manifeste cliniquement par des avortements, et, plus rarement, par des affections nerveuses néonatales chez de nombreuses espèces de mammifères, en particulier chez le chien et chez les bovins.

### 2 - Historique

Une nouvelle affection a été décrite en Norvège (1984) chez des chiens atteints d'encéphalopathie et de myosite, due à des parasites ressemblant à *Toxoplasma gondii* [81] (**Tableau I**). Cependant, malgré la présence de parasites dans les lésions du cerveau et des muscles, aucun anticorps anti-*toxoplasma* n'a été observé chez ces chiens, et les essais d'infections expérimentales de souris à partir de ces tissus parasités ont échoué. Au cours d'une étude rétrospective effectuée en 1988 sur la toxoplasmose canine, de tels parasites ont été observés sur des coupes histologiques de chiens aux Etats – Unis et ont été nommés *Néospora caninum* [203]. Dès lors, des tachyzoïtes isolés en culture cellulaire à partir de chiens infectés naturellement ont pu être inoculés expérimentalement à des souris [203]. De même, l'inoculation de chiens à partir de ces parasites en culture a été possible et divers tests ont été développés d'une part, pour mettre en évidence des anticorps anti – *N. caninum* (immunofluorescence indirect) et d'autre part, pour l'identification des formes parasitaires au sein de tissus formolés (immunohistochimies) [443, 444, 445]. Ces outils d'identifications mis au point ont permis d'authentifier par étude retrospective, la néosporose canine aux Etat – Unis à partir de 1957 et l'identification de *N. caninum* comme agent responsable des lésions décrites en 1984 chez le chien [214, 220].

Des protozoaires semblables ont été observés chez des bovins, responsables de troubles nerveux chez des veaux, et d'avortement chez la vache [16, 49, 237, 671, 704]. Ces *Neospora sp.* d'origine bovine

ont été en tous points, identiques à *N. caninum* d'origine canine [237, 348, 375]. Par ailleurs, ce parasite a été reconnu responsable de troubles graves chez de nombreuses espèces dans des conditions naturelles et/ou expérimentales.

Aujourd'hui, *N. caninum* est considéré dans la plupart des pays où il a été recherché comme un agent abortif majeur chez les bovins [1, 62, 74, 188, 237, 281, 632]. En outre, une phosphoprotéine ribosomale Po de *N. caninum* a été mise en évidence. Elle pourrait être utilisée comme agent vaccinal dans le contrôle de la néosporose et de la toxoplasmose [791].

**Tableau I** : Historique de la néosporose

Année	Contributions	Références
1984	Description de troubles neurologiques de type « <i>Toxoplasma-like</i> » chez des chiots en Norvège	[81]
1988	Identification de <i>N. caninum</i>	[203]
1988	Isolement du parasite en culture cellulaire et vérification du postulat de Koch	[208]
1988	Sérodiagnostic par immunofluorescence indirecte	[208]
1989	Développement d'un test de diagnostic immunohistochimique	[444]
1989	Identification de <i>N. caninum</i> comme une cause d'avortement chez les bovins	[671, 704]
1989	Mise en évidence du passage transplacentaire du protozoaire chez le chien, les bovins, le chat, le cheval et les moutons	[214, 219, 220, 221, 223, 231]
1989	Développement de modèle d'infection expérimentale chez la souris et le rat	[441, 445, 450]
1989	Screening des molécules utilisables pour le traitement	[443]
1991	Identification du parasite identifié en Norvège comme <i>N. caninum</i>	[79]
1991	<i>N. caninum</i> reconnu comme cause majeure d'avortements bovins en Californie	[16, 59]
1993	Isolement de souche à partir d'avortons bovins et induction d'avortements à partir de souche bovine	[55, 141]
1994	Modèle expérimental chez un primate non humain	[53]
1994	Mise en évidence d'une forme transmissible sans avortement	[577]
1996	Développement de techniques ELISA pour diagnostiquer la néosporose canine et bovine	[70, 88, 573]
1996	Production de la première protéine recombinante de <i>N. caninum</i> à des fins diagnostiques	[423]
1996	Mise au point de la PCR pour le diagnostic de la néosporose.	[248, 340, 582]
1996	Mise en évidence de l'identité morphologique, ultrastructurale et moléculaire des isolats canins et bovins	[348, 375]
1998	Développement d'une technique de séro-agglutination	[567, 628]
1998	Identification du chien comme un hôte définitif de <i>N. caninum</i>	[488]
1998	Détection des anticorps de <i>N. caninum</i> dans le sérum humain	[299, 459, 533, 717]
1998	Description de <i>N. Hughesi</i> chez le cheval	[483]
2000	Essais de vaccins recombinants	[535, 537, 539, 543]

**Tableau I suite:** Historique de la néosporose

Année	Contributions	Références
2001	Protection de la transmission verticale de <i>N. caninum</i>	[369]
2002	Développement d'une technique de Polymerase Chain Reaction (PCR) quantitative	[139]
2002	Mise en évidence d'une différence entre <i>N. caninum</i> et <i>Hamondia heydorni</i>	[200, 209]
2002	Mise en place d'un modèle <i>in vitro</i> d'infection de cellules nerveuses	[745]
2004	Identification du coyote ( <i>Canis latrans</i> ) comme hôte définitif <i>N. Caninum</i> .	[292]
2006	Identification par PCR, de la séquence d'ADN de <i>N. Caninum</i> dans les fèces de renard ( <i>Vulpes vulpes</i> )	[760]
2006	Mise en évidence de la voie vénérienne de transmission	[668, 669]
2007	Identification d'une protéine de <i>N. caninum</i> (Nc Po) comme potentiel agent vaccinal contre la néosporose et la toxoplasmose.	[791]

### 3 - Importance

La néosporose a été mise en évidence sur tous les continents, sur diverses espèces animales domestiques et sauvages et dans tous les pays où elle a été recherchée [152, 237].

L'impact le plus grave de la néosporose dans un troupeau bovin est l'avortement qu'elle induit. En effet, une vache séropositive a plus de risque d'avorter que sa consœur séronégative [18, 146, 166, 170, 237, 282, 318, 336, 384, 411, 468, 469, 477, 512, 514, 519, 575, 649, 659, 660, 661, 694, 712, 727, 747, 762]. Ces avortements ont une repercussion sur l'économie de l'exploitation en raison :

- Des pertes de produits de gestation (veau) ;
- De l'allongement de l'intervalle entre vêlage ;
- Du décalage et de la réduction de la production laitière.

En général, ces avortements sont parfois associés à des pathologies graves notamment la brucellose, la fièvre Q, les salmonelloses... En outre, ils peuvent être les premiers révélateurs du passage d'un virus notamment, celui de la maladie des muqueuses (BVD). Aujourd'hui, s'ajoute à la panoplie de pathologies abortives, les infections cosmopolites à *N. caninum*. En France, 50% des avortements restent jusqu'à présent inexplicables. La moitié d'entre eux peuvent être dû à la néosporose. Dans certains pays, *N. caninum* serait responsable de 42,5% des avortements [16, 18].

Ces cas de néosporoses ont été rapportés aussi bien dans les élevages bovins laitiers qu'allaitants [1, 18, 62, 74, 166, 168, 170, 188, 237, 281, 345, 384, 515, 572, 632, 753]. Il semblerait cependant que les élevages laitiers soient plus touchés que les élevages allaitants [67, 94, 405, 515].

L'évaluation de l'impact économique de ce protozoaire doit prendre en compte, la reforme des séropositifs et leurs remplacements par des séronégatifs [708, 709, 710, 718]. Les pertes annuelles dans un élevage bovin laitier de 50 têtes au Canada ont été estimées à 2304 dollars [132]. Cette étude place le coût de la néosporose après celui de l'infection par le virus de la diarrhée virale bovine, mais avant celui de la paratuberculose bovine. Les femelles infectées qui avortent produisent moins de lait que leurs consœurs non infectées [346].

En Californie, des génisses séropositives en première lactation ont produit environ un kilogramme de lait, de moins que les femelles séronégatives du même âge [708]. Par ailleurs, sans être informés sur la sérologie du cheptel, les éleveurs reformeraient les femelles séropositives six mois plus tôt [710].

Les pertes annuelles imputables à *N. caninum* ont été évaluées à 35 millions de dollars en Californie, 85 et 25 millions de dollars respectivement dans les élevages laitiers et allaitants Australien [197].

Une sérologie positive a été associée à une baisse des performances, du gain moyen quotidien et du poids carcasse dans certaines exploitations bovines [46].

Chez les primates non humains, l'infection se traduit par des signes cliniques présentant de nombreuses similitudes avec la toxoplasmose congénitale de l'homme. En effet, des tachyzoïtes de *N. caninum* inoculés in utéro ou par voie veineuse à des macaques (*Maccaca mulata*) gravides ont été responsables d'encéphalomyélite chez le fœtus [53].

Chez l'homme, des anticorps anti – *N. caninum* ont été mis en évidence au Brésil [459] en Irlande du Nord [299], en Corée [533] et au USA [717]. Cependant la séoprévalence [38% (23/61)] de *N. caninum* observée au Brésil chez des patients immunodéprimés (VIH) ainsi que chez des patients présentant des troubles neurologiques [8% (9/50)] [459] incite à réaliser des analyses complémentaires pour distinguer *N. caninum* de *T. gondii* dans la « toxoplasmose cérébrale » diagnostiquée par imagerie

médicale dans certains centres hospitaliers. Par ailleurs, *N. caninum* devrait au même titre que *T. gondii*, être dépisté chez des femmes qui présentent des fausses couches à répétition.

Ces observations démontrent la réalité d'une exposition humaine à *N. caninum*. Cependant, la signification de ces sérologies positives demeure inconnue. Toutefois, compte tenu de la prévalence de l'infection chez les bovins et de l'incidence des excréments d'ookystes par des chiens, l'infection de l'homme est à craindre.

## I – Étiologie

### 1 - Classification

#### 1.1 - Taxonomie de *Neospora caninum*

*Neospora caninum* appartient au phylum des apicomplexa et au sein de ce phylum, au groupe des coccidies kystogènes. Bien que la taxonomie de ce groupe de parasite reste complexe en raison de l'absence de critère précis de distinction des genres et des familles [121], *N. caninum* a été classé dans la famille des Sarcocystidae parallèlement au genre *Toxoplasma* [250, 324]. Néanmoins, la position taxonomique de *N. caninum* reste incertaine car son cycle n'a pas été totalement élucidé. Ainsi, la taxonomie suivante a été admise [131].

Règne .....	Protozoaires
Embranchement .....	Apicomplexa
Classe .....	Sporozoea
Sous classe .....	Coccidia
Ordre .....	Eucoccida
Famille .....	Sarcocystidae
Genre .....	<i>Neospora</i>
Espèces .....	<i>N. caninum</i> , <i>N. hughesi</i>

#### 1.2 - Phylogénie

Les bases de la phylogénie reposent sur la morphologie et les caractéristiques en culture des agents pathogènes, mais, la comparaison des séquences d'ADN a ouvert de nouveaux horizons. Ainsi, les

premiers cas de néosporose ont été attribués à un parasite de type « *Toxoplasma-like* » du fait de la parenté morphologique associée à une absence de marquage par des anticorps anti-*T. gondii* en immunofluorescence [72, 79, 232].

Les moyens de diagnostic ont permis d'identifier ce nouveau parasite et de le différencier des autres Apicomplexa notamment de *T. gondii* [80, 203, 444, 455, 689, 696]. La biologie moléculaire a permis de distinguer deux espèces de *Neospora* sp. chez le cheval (*N. caninum* et *N. hughesi*) [215, 483, 485, 688, 756]. Il n'y aurait aucune différence de souche entre *N. caninum* d'origine bovine et canine [484].

Chez le chien, *N. caninum* et *Hamondia heydorni* sont deux protozoaires dont les ookystes sont morphologiquement indissociables [446, 488, 656, 676, 677] ; *N. caninum* serait génétiquement très proche de *Hamondia heydorni-Berlin* [334, 335, 526, 656]. Néanmoins, bien que ces parasites soient proches, les séquences génétiques ITS-1 et ARN16S, les caractéristiques en culture cellulaire et dans les modèles expérimentaux distinguent ces protozoaires [200, 209, 249, 380, 525, 676, 677].

## **2 - Morphologie de *N. caninum***

*N. caninum* par ses caractères morphologique et biologique se range au sein du Phylum Apicomplexa [203]. Les Apicomplexa sont des parasites intracellulaires possédant un appareil apical complexe visible en microscopie électronique. Ils présentent un cycle monoxène ou hétéroxène ; ce dernier se caractérisant par l'existence d'un hôte intermédiaire obligatoire ou non [685]. L'existence de kyste tissulaire au sein du tissu nerveux de l'animal le rapproche de la famille des *Sarcocystidae* qui comprend, entre autres, les genres *Toxoplasma* et *Sarcocystis*. Néanmoins, les connaissances sur le cycle de *N. caninum* restent incomplètes et la position systématique de ce nouveau genre reste imprécise.

Les principaux caractères structuraux de *N. caninum* et les éléments différentiels avec d'autres Sarcocystidés sont indiqués dans le tableau II [131].

**Tableau II** : Principaux critères de diagnose différentielle de *Neospora caninum* [131]

	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Sarcocystis sp.</i>
<b>Structure générale</b>		aspect identique au microscope optique	
	PAS* Négatif	PAS* Positif	
<b>Structure du kyste</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• paroi plus épaisse (1-4 µm) que la largeur des bradizoïtes</li> <li>• kyste tissulaire non septé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• paroi plus fine (0,5 µm) que la largeur des bradizoïtes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• paroi épaisse</li> <li>• kyste tissulaire non septé</li> </ul>
<b>Localisation des kystes tissulaires</b>	Tissu nerveux (cerveau, moelle épinière, rétine)	Nombreux tissus	Muscles squelettiques et cardiaques, SNC rare
<b>Ultrastructure des tachyzoïtes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• rhoptries nombreuses</li> <li>• micromèmes antérieurs et corps denses nombreux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• rhoptries peu nombreuses</li> <li>• micromèmes antérieurs et corps denses rares</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pas de rhoptries</li> </ul>

\*PAS = coloration à l'acide periodique-Schiff

Les formes parasitaires connues de *N. caninum* sont essentiellement les tachyzoïtes, les kystes à bradizoïtes et les ookystes (**Tableau III**).

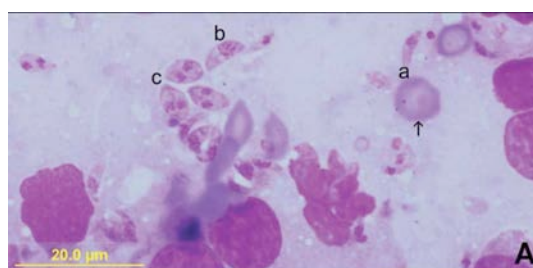
**Tableau III** : Description du stade parasitaire de *Neospora caninum*.

	Tachyzoïtes	Kyste Tissulaires a Bradyzoïtes	Ookystes
<b>Forme</b>	Ovoïde	Ronds à ovales	Sphériques
<b>Taille</b>	3 à 7 µm sur 1 à 5µm	Kyste : jusqu'à 150µm Bradyzoïte : 6 à 8µm sur 1 à 1,8µm	10 à 11µm
<b>Localisation</b>	Dans de nombreux types cellulaires, à l'intérieur d'une vacuole parasitophore	Kyste : tissu nerveux	Selles de l'hôte définitif (chien)
<b>Structure</b>	2 anneaux apicaux ; 1 conoïde ; 1 anneau polaire ; Jusqu'à 150 micronèmes ; 8 à 18 mitochondries ; 1 appareil de Golgi REL et REG ; 1 noyau et 1 nucléole	Kyste à paroi lisse d'une épaisseur maximale de 4µm (1à2 µm), contenant de 50 à 200 bradyzoïtes. Même organites que les tachyzoïtes avec moins de rhoptries (6 à 12)	Avant sporulation : 1 sporonte central Après sporulation : 2 sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes.

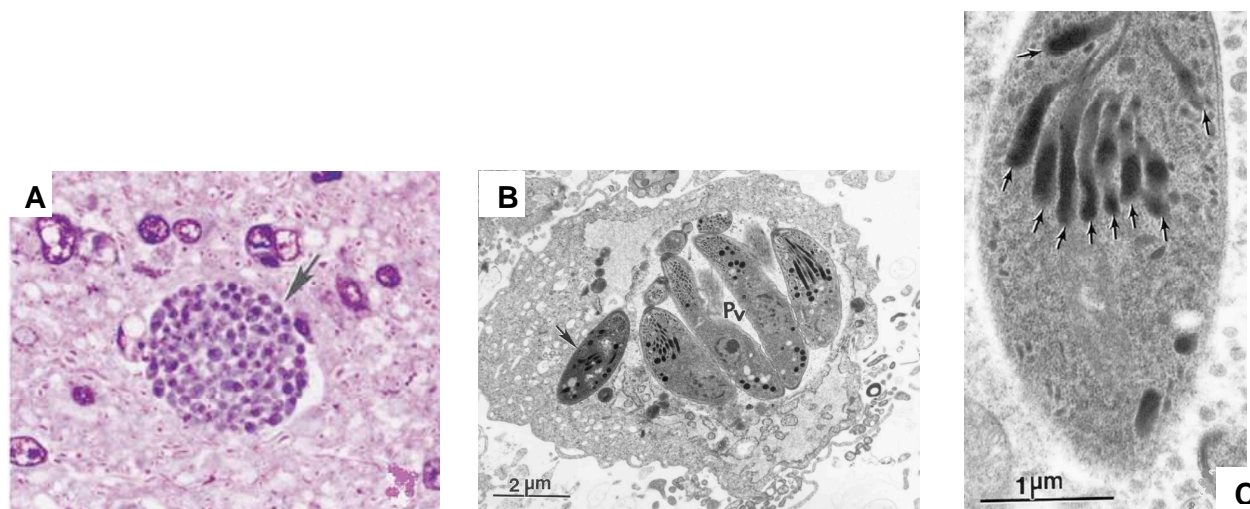
## 2.1 - Tachyzoïtes

Le tachyzoïte est de forme ovoïde, en croissant ou globuleuse. Sa taille moyenne est de 6 x 2 microns (3-7 x 1-5 microns en fonction du stade de division). Il se divise par endodyogénie. Ces tachyzoïtes sont parfois très nombreux par cellules; 100 tachyzoïtes peuvent être retrouvés dans un seul plan de section

(**Figure 1**). L'ultrastructure montre la présence d'un complexe apical typique (**Figure 2**), avec des rhoptries, des micronèmes antérieurs et de nombreux corps denses. Ils sont présents chez l'hôte intermédiaire, intracellulaire le plus souvent dans une vacuole parasitophore (parfois plusieurs vacuoles parasitophores par cellule). Les cellules hôtes sont très variées: neurones, macrophages, fibroblastes, cellules dermiques, cellules endothéliales, myocytes, cellules épithéliales des tubes renaux, hépatocytes.



**Figure 1.** : Tachyzoïtes de *N. caninum* (a, b, c) dans un frottis (GIEMSA) de foie d'une souris expérimentalement infectée. [La flèche présente un globule rouge permettant d'estimer la taille d'un tachyzoïte] [237]

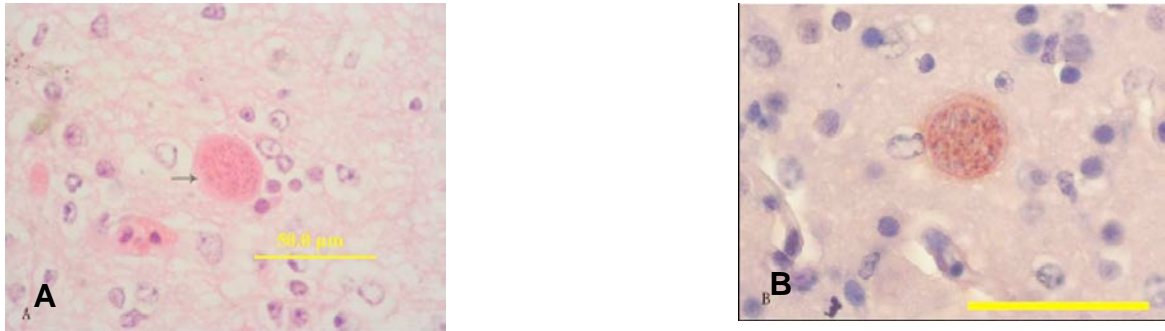


**Figure 2 :** A : Tachyzoïtes dans le cerveau de chien - B : Ultrastructure au Microscope Electronique à Transmission (MET) de Tachyzoïtes (souche NC-2 de *N. caninum*) en culture dans les cellules HS68. Amas de tachyzoïtes dans une vacuole Parasitophore (Pv) et un tachyzoïte hors de la membrane. - C : ultrastructure de Tachyzoïtes (souche NC-1 de *N. caninum*) dans un foie de souris. Terminaison apicale montrant le conoïde et 9 rhoptries dans un plan de section. [200]

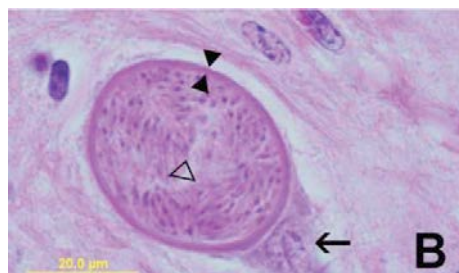
## 2.2 - Kystes à bradyzoïtes

Ce sont des kystes arrondis ou ovalaires (**Figure 3, 4 et 5**), jusqu'à 150 microns de longueur; les parois du kyste sont lisses et épaisses (1 à 2 microns). Quant aux bradyzoïtes, ils sont minces et allongés

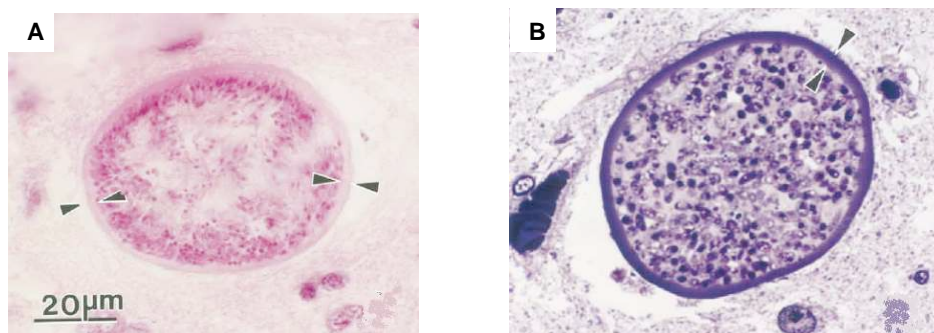
(**Figure 6**), 7 x 2 microns et contiennent les mêmes organites que les tachyzoïtes (rhoptries moins nombreuses, et granules PAS-positifs plus abondant). Les kystes, intracellulaires ont été observés dans le système nerveux central (cerveau, moelle épinière) et rarement dans la rétine des hôtes de *N. caninum*.



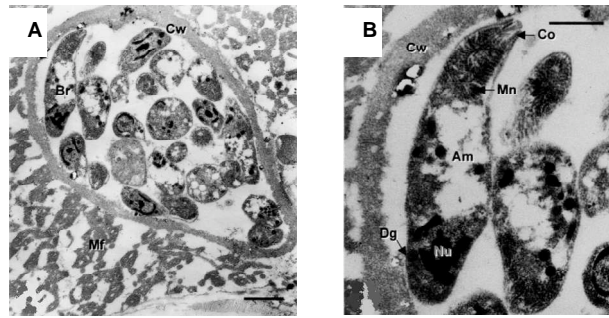
**Figure 3.** : Coupe histologique d'un kyste de *N. caninum* dans le cerveau d'un avorton bovin. (A) Coloration Hematoxylin – éosine. (B) Immunohistochimie. [Barre = 50 µm] [790]



**Figure 4.** Coupe histologique d'un kyste de *N. caninum* dans un neurone de veau issu d'une infection congénitale (coloration hématoxyline – éosine). Le triangle transparent présente des bradyzoïtes à l'intérieur du kyste. La flèche présente le noyau de la cellule hôte [237]



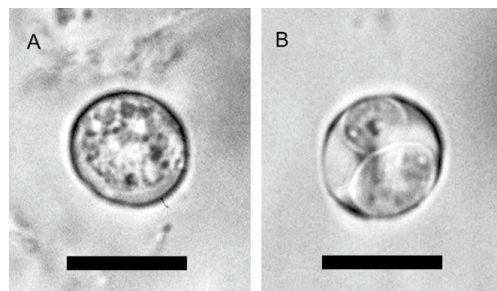
**Figure 5** : Coupe histologique d'un kyste de *N. caninum*. (A) Kyste dans le cerebellum d'un chien – (B) Kyste tissulaire dans le cerveau d'un chien [200]



**Figure 6:** Ultrastructure d'un kyste de *N. caninum*. (A) Bradyzoïtes (Br) mis en évidence à proximité de la membrane kystique (Cw) au MET à 2µm sur un muscle squelettique de chien. - (B) Agrandissement du bradyzoïte au MET à 1µm. Abréviations : Mf=Microfilament ; Co= Conoïde ; Mn= Micronèmes ; Nu= Nucleus ; Dg= Granule dense [588].

### 2.3 - Ookystes

Les ookystes sont de petite taille (10 x 11 microns) et ont une forme arrondie. Ils sont émis non sporulés (**Figure 7A**) dans les excréments de l'hôte définitif (Chien et coyote) et contiennent une masse granuleuse. Après sporulation dans le milieu extérieur, l'ookyste contient deux sporocystes (**Figure 7B**) avec chacun quatre sporozoïtes (ookyste de type *Isospora*). L'apparence des ookystes de *N. Caninum* est semblable à celle de *Hammondia heydorni* du chien, à celle de *Toxoplasma gondii* et de *Hammondia hammondi* du chat [488]. Néanmoins, ils sont morphologiquement distinguables.



**Figure 7.** Ookyste de *N. caninum* [coyote (*Canis latrans*)]. Barre = 10 µm. (A) ookyste non sporulé. (B) ookyste sporulé contenant deux sporocystes [292].

## 3 - Biologie

### 3.1 - Localisation

*N. caninum* est un parasite dixène intracellulaire obligatoire dont la multiplication asexuée, à l'instar de *T. gondii*, ne semble pas avoir de spécificité d'hôte ni de cellule. Des tachyzoïtes ont été observés dans une grande variété de tissus et d'organe notamment le cerveau, la moelle épinière, le cœur, les

poumons, le foie, les membranes fœtales, les muscles, le placenta et la peau [217, 218]. Ainsi, un grand nombre de cellules nerveuses, fibroblastiques, endothélio – vasculaires, myocytaires, épithéliales (tubes renaux), hépatocytaires et macrophagiques peuvent héberger les formes parasitaires de *N. caninum*. Ainsi, les tachyzoïtes sont capables d'envahir toutes les cellules nucléées. Par contre, les bradyzoïtes de *N. caninum* forment des kystes tissulaires intracellulaires qui eux n'ont été observés que dans le système nerveux central et la rétine [449]. Ces kystes tissulaires peuvent persister pendant plusieurs années dans la cellule infectée sans causer de manifestation clinique significative [217].

La multiplication asexuée de *T. gondii*, se déroule dans l'intestin grêle du chat, hôte définitif excréteur d'ookystes. En revanche, il n'existe aucune information sur le déroulement de la multiplication de *N. caninum* chez son hôte définitif excréteur d'ookyste, le chien.

### 3.2 - Culture *in vitro*

*N. caninum* a d'abord été cultivé *in vitro* dans les monocytes de bovin et dans les cellules endothéliales d'artère cardio-pulmonaires, avec un meilleur rendement dans les monocytes [445]. Puis, il a été cultivé sur de nombreux types cellulaires notamment les cellules renales de bovins, les fibroblastes de prépuce humain, les cellules *vero* et les cellules de cerveau de fœtus murin.

Jusqu'en 1997, seuls les tachyzoïtes avaient été identifiés dans les cellules en culture ; les éléments parasitaires obtenus ont été infectieux pour les animaux. Le passage continu de tachyzoïtes sur cultures cellulaires pendant huit ans n'a pas altéré leur pouvoir pathogène sur des souris [217]. Des tachyzoïtes congelés dans de l'azote liquide ont conservé leur pouvoir pathogène en cultures cellulaires. Les procédés de cryoconservation et de culture utilisés pour *N. caninum* ont été identiques à ceux de *T. gondii* [201]. Il convient néanmoins d'être attentif au choix du sérum fœtal de veau utilisé comme milieu de croissance [324]. En effet, le sérum fœtal de veau de nombreux lots disponibles dans le commerce contient des anticorps anti - *N. caninum* qui induisent une agglutination et la lyse des parasites en cultures. Cependant, l'origine de ces anticorps agglutinant reste inconnue. Néanmoins, la

forte séroprévalence de la néosporose subclinique expliquerait la prédominance de ces sérums bovins riches en anticorps agglutinants [217].

Afin d'éviter diverses complications, d'autres sérums notamment celui du cheval dépourvu d'immunoglobuline (IgG) ont été utilisés pour la culture des tachyzoïtes de *N. caninum* [324].

Plusieurs souches de *N. caninum* ont été isolées (Tableau IV). Le taux de prolifération semble varier en fonction de la souche et de la cellule hôte utilisé. Certains isolats de *N. caninum* se multiplient plus rapidement que d'autres et l'interféron gamma peut inhiber la multiplication intracellulaire des tachyzoïtes [367]. Les tachyzoïtes de la souche NC-1 cultivés dans des cellules endothéliales d'aorte bovine se multiplient par endodyogenie en 6 heures après infection, la lyse cellulaire intervient 72 heures post - infection [330]. Le maintien des tachyzoïtes de *N. caninum* libre dans un milieu de culture pendant plus de 4 heures conduit à une perte rapide du pouvoir infectant, alors que des tachyzoïdes de *T. gondii* conserve leur pouvoir infectant après un séjour extracellulaire de 72 heures [172].

**Tableau IV** : Souches de *Neospora caninum* isolées chez des bovins

Pays	Souches <i>N. c</i>	Origine	Références
	BPA-1	Fœtus	[141]
	BPA-2	Fœtus	[141]
Etats – Unis	BPA-3	Veau de 2 jours	[484]
	BPA-4	Veau de 6 jours	[484]
Angleterre	NC-LivB1	Mort né	[168]
Japon	JPA-1	Veau de 2 jours	[785]
Suède	NC-SweB1	Mort né	[692]
Etats – Unis	NC-Beef	veau	[487, 488]
Corée	KBA-1	Veau de 1 jours	[403, 404]
	KBA-2	Fœtus	[398, 404]
Italie	NC-PVI	Veau de 45 jours	[475, 476]
	NC-PGI	Veau de 8 mois	[270]
Japon	BT-3	Vache adulte	[646]
Angleterre	NC-LivB2	Fœtus	[722]
Portugal	NC-Porto1	Fœtus	[115]
Etats – Unis	NC-Illinois	veau	[288]
Australie	NC-Nowra	Veau de 7 jours	[507]

**Tableau IV suite** : Souches de *Neospora caninum* isolées chez des bovins

Pays	Souches <i>N. c</i>	Origine	Références
Brésil	BNC-PR1	Veau de 3 mois	[461]
Brésil	BCN/PR3	Fœtus	[463]
Malaisie	Nc-MalB1	Veau de 1 jour	[130]
	NcNZ 1	vache	[550]
Nouvelle Zélande	NcNZ 2	Veau de 2 jours	[550]
	NcNZ 3	Mort né	[550]
Espagne	NC-SP-1	Fœtus	[114]

Grâce à la culture *in vitro* de tachyzoïtes de *N. caninum*, les clés de l'immunodiagnostic, de l'immunohistochimie et la détection moléculaire du parasite par Polymerase Chain Reaction (PCR) ont été mises au point. Des modèles de culture cellulaire ont été utilisés pour explorer les événements qui surviennent au cours de l'adhésion et de l'invasion de la cellule hôte [330]. Ces mêmes modèles ont facilité les manipulations génétiques du parasite [73, 355, 356]. Par ailleurs, la culture *in vitro* des tachyzoïtes de *N. caninum* a été mise à profit dans la réalisation des essais thérapeutiques [439, 443, 452]. Deux mutants résistants à la pyriméthamine ont ainsi été identifiés. Néanmoins, seuls quelques molécules ont été testés *in vivo* [227, 442].

### 3.3 - Mode de nutrition de *Neospora caninum*

Peu d'informations sont disponibles sur le mode de nutrition *N. caninum*. Par analogie à *T. gondii*, son mode de nutrition serait semblable à celui des autres apicomplexa. Ainsi, après sa pénétration dans la cellule, l'agent infectieux passe au stade de trophozoïtes dépourvus de complexe apical, mais conservent ses micronèmes et rhoptries. La cellule hôte infectée produit des nutriments pour le parasite. Sa stimulation n'intervient qu'en cas de spécificité cellulaire du parasite. En effet, dans une cellule non spécifique, le parasite égaré ne peut l'activer.

Dans la vacuole parasitophore, qui présente un réservoir alimentaire, le germe infectieux, devenu un trophozoïte, se nourrit et se multiplie à l'abri des réactions des anticorps élaborés par l'hôte et il absorbe

ses nutriments à travers une double membrane, celle de la vacuole et la sienne. L'absorption de ces nutriments s'accomplit soit par le micropore, soit en un point quelconque de la membrane parasitaire par pinocytose. La digestion des nutriments par le parasite s'effectue au sein des vacuoles.

#### **4 - Modèles d'animaux d'infection**

De nombreux modèles expérimentaux d'infection à *N. caninum* ont été mis en évidence [217]. Les manifestations cliniques induites ont contribué à la compréhension de la physiopathologie de *N. caninum*. Ces modèles ont été développés chez la souris, le rat, la gerbille et les bovins.

##### **4.1 - Souris**

De nombreux modèles murins ont été élaborés. Néanmoins, ils n'ont pas tous donné entière satisfaction. Ainsi, bien que les souris de type Swiss Webster (immunocompétentes) ne soient pas très réceptives à *N. caninum*, il est possible d'y observer quelques kystes cérébraux [208]. Des troubles neurologiques et de kystes intracérébraux ont été observés chez ces souris à partir du 21<sup>ème</sup> jour post - inoculation de  $10^5$  tachyzoïtes associée à une immunosuppression chimique (acétate de méthylprednisolone à la dose de 2 mg/kg/j). Cependant, une néosporose aiguë suivie de la mort de l'animal en 20 jours a été observée à une dose de 4 mg.

Les souris consanguines BALB/C et C57 BL/6 ont été plus sensibles au parasite que les souris B10.D2 [450]. Les souris HDR:ICR quant à elles, n'ont développé aucun symptôme d'infection par *Neospora* [450, 465]. Néanmoins, la virulence parasitaire serait fonction de la souche de *N. caninum* isolée. En effet, la souche NC-1 a été plus virulente que les souches NC-2 et NC-3 [450]. Les souris "nude" (athymiques) ont été très sensibles à l'infection de  $10^4$  tachyzoïtes de la souche NC-1 par voie péritonéale [784].

Les souris génétiquement déficientes peuvent être mises à profit dans l'étude du rôle de la protéine codée par le gène délété. Ces changements de propriétés liées à une délétion génétique ont été utilisés

notamment pour étudier le rôle des protéines immunitaires [217, 648]. Ainsi, l'importance de l'interleukine12 (IL-12) et de l'interféron gamma (INF $\gamma$ ) dans l'immunité vis-à-vis de *N. caninum* a été mise en évidence [397]. Le rôle de l'immunité humorale a été montré par l'utilisation de souris déficientes en lymphocytes B (souris C75BL/6 microMT). Ces animaux meurent d'une néosporose aiguë [253]. Les souris génétiquement délétées en INF (INF $\gamma$  KO) sont couramment utilisées pour l'isolement de souche de *N. caninum* [66, 128, 139, 208, 646, 755].

L'utilisation de modèles murins a aussi permis de découvrir deux gènes codant pour des polypeptides immunogènes qui interviendraient dans le développement d'une infection à *N. caninum* chez la souris [31].

Enfin, l'infection murine avant ou pendant la gestation entraîne un passage transplacentaire du parasite avec avortement et/ou mortinatalité [135, 435]. Ces modèles murins de transmission verticale sont particulièrement utiles pour tester l'efficacité d'agents antiparasitaires ou de vaccins [25, 433, 543, 624]. Un modèle murin de transmission verticale chez des souris non consanguines a été mis en évidence [603]. Plusieurs souches de parasites ont été testées avec plusieurs doses d'inoculum (de  $10^4$  à  $10^6$  tachyzoïtes) et différentes voies d'administration (sous cutanée ou intra péritonéale). Une efficacité de transmission verticale du parasite associée à une séroconversion des souris ont été obtenues avec la souche Ne-Liverpool à 5 jours de gestation. Les avantages de ce modèle sont l'utilisation d'animaux non immunodéprimés et la grande prolificité de la souche [603].

#### 4.2 - Rat

Les rats (*Ratus norvegicus*) Sprague Dawley ont naturellement été résistants à une infection par *N. caninum* [217]. Associée à une immunodépression par des corticostéroïdes, une dose de  $10^5$  tachyzoïtes entraîne une néosporose aiguë avec des atteintes hépatique, pulmonaire et cérébrale aboutissant à la mort de l'animal. De rares kystes tissulaires localisés dans l'encéphale ont été observés au 17<sup>ème</sup> jour post infection.

### 4.3 - Gerbille

L'utilisation de modèle de gerbille (*Meriones unguiculatus*) sensible à l'infection en l'absence d'immunosuppression revêt un grand intérêt [293]. En effet, l'inconvénient majeur de la plupart des modèles murins est le recours à des animaux immunodéprimés qui sont d'un entretien plus délicat que des animaux immunocompétents. D'autre part, la délétion de certains compartiments immunitaires peut biaiser les résultats. Une souche de *N. caninum* a été isolée dans l'ascite de gerbilles inoculées avec l'encéphale contaminé d'origine canine, alors que les essais sur des souris et des hamsters étaient infructueux [158]. La gerbille se révèle même très sensible à une infection *per os*, puisque 10 ookystes suffisent pour induire une infection [216]. Ce modèle est une référence pour l'identification des ookystes de *N. caninum* [190, 200]. Par ailleurs, la gerbille, insensible à *N. hughesi* a été utilisée pour la distinction de *N. caninum* et de *N. hughesi* [755].

### 4.4 - Hamster

Un modèle animal utilisant une espèce de hamster (*Phodopus sungorus*) a été développé [723]. L'infection intrapéritonéale de  $10^5$  tachyzoïtes de *N. caninum* permet d'observer une atteinte neurologique. Des kystes parasites ont été observés dans le cerveau et dans la musculature de l'estomac cinq semaines après l'inoculation.

### 4.5 - Bovin

Les modèles bovins revêtent un grand intérêt compte tenu de l'importance économique de la néosporose dans cette espèce. Malgré le coût de l'achat et de l'entretien des animaux, quelques études ont été menées afin de mieux connaître l'immunité anti-*N. caninum* chez les bovins [314, 474]. Deux modèles d'infection de bovins par ingestion d'ookystes ont été rapportés [174, 720].

Chez le veau, l'ingestion d'ookystes a induit une activation des mécanismes de défenses immunitaires à médiation humorale et cellulaire. Cette observation a été associée à la mise en évidence par la PCR,

de l'ADN de *N. caninum* dans le tissu nerveux des veaux infectés [174].

Chez des femelles gestantes, l'ingestion d'une dose de 600 ookystes sporulés a entraîné une activation de la sécrétion des IgG anti- *N. caninum* et de l'INF $\gamma$  ainsi qu'une prolifération lymphocytaire. Par ailleurs, l'ADN de *N. caninum* a été mis en évidence dans l'encéphale de ces femelles 4 mois après le vêlage. Cependant aucun avortement n'est survenu pendant les 4 gestations suivies. Il semble donc que la dose de 600 ookystes soit insuffisante pour induire une néosporose clinique chez la femelle adulte gestante [720].

Un modèle d'infection de veau par des tachyzoïtes administrés par voie orale a été mis au point [726]. Aucun des 4 animaux infectés n'a développé de signe clinique et aucun parasite n'a été observé (histologie et culture cellulaire) bien que l'ADN de *N. caninum* a été mis en évidence par PCR dans l'encéphale de deux veaux séroconvertis.

## 5 - Composition antigénique

La connaissance de la composition antigénique de *N. caninum* revêt un intérêt majeur. La détermination des caractéristiques immunologiques des protéines est nécessaire pour l'amélioration des outils de diagnostic et pour le développement des vaccins. La comparaison de ces études s'avère difficile en raison des différences méthodologiques [314].

### 5.1 - Identification d'antigènes à l'aide d'anticorps monoclonaux

Le premier anticorps monoclonal décrit (mAb 6G7) se lie à un épitope porté par 8 antigènes majeurs (de 31 à 97,4 kDa) et quelques mineurs [136, 137]. L'épitope reconnu peut être associé aux micronèmes, granules denses, rhoptries, et au réseau tubulo-vésiculaire lié à la vacuole parasitophore [137]. Cet anticorps monoclonal reconnaît aussi une protéine de 107 kDa de *T. gondii* [137]. Un autre anticorps monoclonal (mAb 4A4-2) reconnaissant une protéine de surface des tachyzoïtes de 65 kDa a été décrit [68, 70]. La formation du complexe antigène (protéine p65)-anticorps (mAb 14A4-2) a été

inhibée par le sérum de vaches positives à *N. caninum* ayant avorté. Cette propriété n'est pas observée sur des sérums provenant de bovins expérimentalement infectés par *T. gondii*, *Sarcocystis cruzi*, *S. hominis*, et *S. hirsuta*. Cet anticorps monoclonal a été utilisé pour la mise au point d'une réaction de type ELISA compétitive [68, 70].

Un anticorps monoclonal (mAb 6D12-G10), dirigé contre la conoïde de sporozoïtes d'*Eimeria acervulina*, agent pathogène du poulet, reconnaît la conoïde de *T. gondii* et *N. caninum*. Or cet organite intervient dans la pénétration des cellules cibles par les apicomplexa, ce qui pourrait, à terme, lui conférer un intérêt vaccinal [645].

Sept (7) autres antigènes majeurs, 17,29, 32, 35, 42, 43 et 56 kDa ont été identifiés à l'aide d'anticorps monoclonaux. La plupart des épitopes ont présenté une dépendance conformationnelle [326]. Par ailleurs, des anticorps monoclonaux ont été obtenus après immunisation à l'aide d'iscoms (Immunostimulating complex) [84]. Ainsi, des anticorps décelant des protéines de 18, 30/32, 41 et 65 kDa ont été mis en évidence. Néanmoins, les anticorps antiprotéines 30/32, 18 et 41 kDa se fixent à la surface des tachyzoïtes. La présence de la protéine doublon 30/32 a été identifiée dans les granules denses des tachyzoïtes. Les anticorps monoclonaux ainsi caractérisés ne réagissent pas avec des tachyzoïtes de *T. gondii* et peuvent être utilisés dans le marquage immunohistochimique de *N. caninum*.

Enfin, l'utilisation d'anticorps monoclonaux a permis la mise en évidence, de 4 autres antigènes majeurs de poids moléculaire 19, 33, 38, et 40 kDa [654]. Toutes ces protéines à l'exception de la 33 kDa ont été détectées à la surface des tachyzoïtes alors que la protéine de 33 kDa a été localisée dans les granules denses. La protéine de 38 kDa ne se retrouve que dans les tachyzoïtes alors que celle de 33 kDa est présente aussi bien dans les tachyzoïtes que dans les bradyzoïtes.

La caractérisation de protéines peut aussi être réalisée par l'analyse des séquences d'ADNc (ADN complémentaire). Cette technique facilite l'identification des protéines NCDG1 (33kDa) et NCDG2 (36 kDa) de granules denses [424, 436]. Néanmoins, NCDG1 possède des similitudes avec une protéine

de *T. gondii* et NCDG2 semble être proche de la protéine GRA6 de *T. gondii*.

## 5.2 - Identification d'antigènes à l'aide de préparations polyclonales d'anticorps

Dès 1992, 20 antigènes immunodominants (de 16 à 80 kDa) ont été identifiés à l'aide d'un sérum de lapin hyperimmun [56]. Ces antigènes ont été mis en évidence dans les granules denses, les micronèmes, la partie postérieure des rhoptries et sur la membrane de la vacuole parasitophore.

Une protéine de 33 kDa, présente dans les granules denses a été décelée à l'aide d'anticorps polyclonaux de lapin [327]. Cette protéine est présente chez deux souches de *N. caninum* (NC-1 et NC-Liverpool) mais absente chez *T. gondii*. Par sa localisation, elle serait impliquée dans les modifications membranaires de la vacuole parasitophore lors du passage du stade de tachyzoïte à celui de bradyzoïte enkysté [277, 327].

Par ailleurs, cinq (5) autres antigènes majeurs de *N. caninum* ont été mis en évidence. Il s'agit des protéines de poids moléculaire de 17, 27, 29, 30 et 46 kDa [80, 314]. Les marquages en immunomicroscopie électronique révèlent que la protéine de 17 kDa se localise dans les rhoptries alors que celles de 29 et 30 kDa sont dans le réseau de la vacuole parasitophore, sur la membrane de cette dernière et dans les granules denses.

D'autres travaux ont analysé des extraits de tachyzoïtes fractionnés et traités au détergent (Triton-X-114). A l'aide du sérum polyclonal de lapin, trois (3) protéines de poids moléculaire 33, 36, et 43 kDa ont été observées. Les protéines Nc-P43 et Nc-P36 ont été identifiées comme étant des protéines de surface [328, 682]. Par ailleurs, Nc-P33 présente dans les granules denses a été identique à la protéine NCDG1 reconnue à l'aide d'anticorps monoclonaux [327]. Les protéines Nc-P33 et Nc-P43 ont été observées chez les tachyzoïtes et bradyzoïtes alors que la Nc-P36 est présente uniquement sur les tachyzoïtes [277]. Les protéines Nc-P36 et Nc-P43 se rattachent au groupe des protéines SG de *T. gondii*. Nc-P36 possède une homologie avec SAG1, identifiée comme une protéine intervenant dans l'adhésion de *T. gondii* aux cellules, alors que la séquence en acides aminés de Nc-P43 est proche de

la protéine « SAG1-related sequence 2 » (SRS2) de *T. gondii* [326, 682].

Ces deux protéines facilitent la distinction de *N. caninum* de *N. hughesi* [485]. Des antigènes immunodominants de poids moléculaire 29 et 35 kDa, de séquences identiques à Nc-P36 et Nc-P43 ont été mis en évidence par **Howe et al.** [354]. La différence de poids moléculaire peut être due aux conditions de séparation en SDS-PAGE [354]. En effet, de possibles similitudes malgré des poids moléculaires apparents différents ont été observées dans une précédente étude [314]. Ainsi, **Howe et al.** [354] ont proposé une nouvelle nomenclature des protéines Nc-P36 et Nc-P43 (NcSAG1 et Nc-SRS2 respectivement). Ces protéines ont été identifiées à la surface des tachyzoïtes. Nc-SRS2 intervient également dans l'adhésion et la pénétration des tachyzoïtes de *N. caninum* dans les cellules [325, 328, 354]. La localisation et la fonction de ces protéines rendraient possible, la préparation d'un vaccins anti-*Neospora* [535, 539, 543].

La plupart des études ont porté sur le stade tachyzoïte. Certaines protéines ont été identifiées à la fois dans les tachyzoïtes et les bradyzoïtes. Cependant, la réactivité de sérums polyclonaux dirigés contre une protéine BAG5 exprimée par les bradyzoïtes de *T. gondii* croise avec les bradyzoïtes de *N. caninum*. Par contre, aucune réaction croisée n'a été observée avec les tachyzoïtes [491]. Ainsi, BAG5 permettra une meilleure compréhension du stade bradyzoïte ainsi que de la conversion tachyzoïte-bradyzoïte.

## II - Cycle évolutif

*N. caninum* a un cycle dixène et de nombreuses espèces domestiques et sauvages ont été identifiées comme hôtes intermédiaires (**Figure 8**). Les preuves d'une infection ont été mise en évidence chez de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages [10, 39, 50, 66, 114, 115, 128, 130, 145, 158, 190, 199, 205, 208, 215, 230, 233, 237, 238, 247, 270, 288, 291, 321, 358, 359, 364, 382, 415, 431, 492, 498, 507, 550, 589, 590, 626, 646, 658, 667, 681, 692, 722, 739, 764, 772, 785, 786]. En effet, cinq jours après l'ingestion de viande infestée par des kystes à bradyzoïtes (période prépartente), le

chien excrète par la voie anale, des ookystes non sporulés de *N. caninum* [446]. La sporogonie se produira dans le milieu extérieur en 24 heures si les conditions sont favorables [446]. Elle aboutira à la formation d'un ookyste sporulé avec deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes [488] au bout de 3 jours. Ces ookystes sporulés constituent la forme de résistance de *N. caninum*. Ils seront ingérés par un hôte intermédiaire lors de l'alimentation ou de l'abreuvement (transmission horizontale), chez qui se déroulera la multiplication asexuée avec formation de tachyzoïtes à division rapide et de kystes à bradyzoïtes à multiplication lente [324].

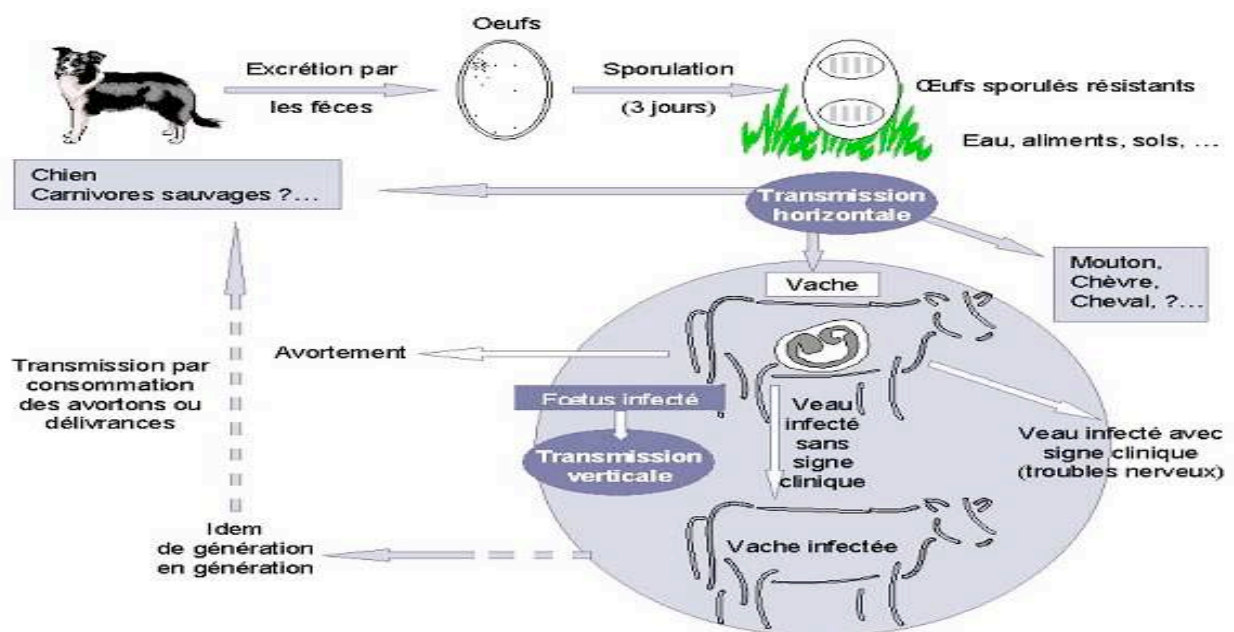


Figure 8. Cycle évolutif de *N. caninum* [792].

L'hôte intermédiaire peut contaminer sa descendance (transmission verticale) ou manifester les signes cliniques de la néosporose (avortements) [237, 390]. L'avortement n'étant pas systématique, le fœtus infecté *in utero* peut naître sain cliniquement et porteur du parasite, participant ainsi à la constitution d'un réservoir parasitaire. Le fœtus infecté peut manifester les signes cliniques de la maladie (troubles nerveux). Les avortons et/ou les placentas infectés peuvent être consommés par l'hôte définitif domestique ou sauvage, ce qui entretiendrait le cycle de vie du parasite dans l'exploitation.

L'hôte définitif est resté longtemps inconnu. En effet, les bradyzoïtes et les tachyzoïtes étaient les seuls stades parasitaires isolés. La mise au point d'un protocole fiable de production de kystes tissulaires de

*Neospora* chez la souris [496] a permis de mettre en évidence, l'excrétion expérimentale d'ookystes de *N. caninum* chez le chien identifié comme hôte définitif du parasite.

Par ailleurs, **Dijkstra et al.** [190] ont montré la possibilité d'excrétion des ookystes par des chiens nourris au placenta de vache séropositive. Néanmoins, l'ingestion de colostrum contaminé par des tachyzoïtes n'a pas été suivie d'une excrétion d'ookystes chez les chiens. La voie de transmission transplacentaire a été le premier mode de contamination reconnu [53, 69, 135, 199, 206, 219, 221, 223, 237, 492]. L'infection transplacentaire peut se produire de façon répétée chez le même animal [51, 81, 208].

La contamination par la voie orale a été reconnue par **De Marez et al.** [174]. Des veaux nourris avec des ookystes de *N. caninum* isolés chez le chien ont séroconverti. Par ailleurs, *N. caninum* a été isolé du cerveau et de la moelle épinière de ces veaux contaminés.

La contamination par voie lactogénique a été observée chez des souriceaux allaités par des souris expérimentalement infectées par *N. caninum*. Néanmoins, aucune infection naturelle de bovins par le lait, le colostrum et le placenta n'a été remarquée [170] bien que des veaux aient été expérimentalement infectés par du colostrum contaminé par des tachyzoïtes de *N. caninum* [726]. Ainsi, l'infection naturelle par la voie orale nécessiterait une forte charge parasitaire dans le tissu ingéré.

Chez les animaux infectés expérimentalement, *N. caninum* est infectieux par la voie sous cutanée, intra péritonéale, intramusculaire, intraveineuse et bucale [217]. Cependant, l'infection par la voie bucale se produirait suite à un traumatisme bucco – pharyngé et non suite à une invasion gastro-intestinale par les tachyzoïtes de *N. caninum* [217].

### III - Pathogénie

Des incertitudes résident toujours dans la pathogénie de la maladie. En effet, il n'existe pas encore de modèle expérimental probant d'infection par *N. caninum* à partir d'ookystes. L'injection parentérale

(sous cutanée, intramusculaire ou intrapéritonéale) de trachyzoïtes reste le mode d'infection expérimental le plus courant, mais ce n'est pas le mode de contamination naturel.

D'autre part, le processus physiopathogénique de la transmission verticale et le mécanisme des avortements consécutifs à l'infection par *N. caninum* restent inconnus.

L'avortement est la résultante de la mort fœtale. Toutefois, la variation de la réponse inflammatoire entre avortons et veaux vivants infectés pourrait être expliquée par une différence de sensibilité à l'infection [548]. Cette modulation serait liée à la compétence immunitaire du fœtus.

Une infection expérimentale de bovins à différentes périodes de gestation a été initiée afin de mieux comprendre le mécanisme du passage transplacentaire de *N. caninum* [765]. Trois lots de 6 femelles ont été infectés par voie intraveineuse ( $10^7$  tachyzoïtes / animal) respectivement avant l'insémination, à 10 et à 30 semaines de gestation. L'infection avant l'insémination a été suivie de la naissance de 6 animaux vivants, non infectés. L'infection à 10 semaines de gestation a entraîné une fœtopathie et une résorption fœtale dans 5 cas sur 6. Enfin, L'infection à 30 semaines de gestation a conduit à la naissance de 6 veaux vivants, viables, mais infectés par *N. caninum*. L'infection s'accompagne d'une stimulation de la sécrétion d'INF $\gamma$ , d'une prolifération lymphocytaire et d'une réponse anticorps de type IgG2. Des résultats similaires ont été observés lors d'une infection expérimentale de brebis [102]. Ainsi, plus les animaux sont infectés tôt dans la gestation, plus il y a de résorptions embryonnaires et des avortements. Par contre, les infections tardives conduisent à la naissance de produits infectés et viables.

Une étude expérimentale de la réaction immunitaire observée sur des femelles infectées à 110 jours de gestation ainsi que sur des fœtus, produits de ces gestations a été menée [8]. Elle met en évidence une contamination fœtale 3 semaines après l'infection maternelle par la voie veineuse. En outre, des modifications dans la population lymphocytaires ont été observées chez les mères, accompagnées d'une augmentation des lymphocytes T chez les fœtus contaminés. L'étude par PCR des transcripts cytokiniques montre une augmentation des réponses Th1 et Th2.

Chez les animaux chroniquement infectés, la modulation physiologique de la réponse immunitaire au cours de la gestation rendrait la mère plus vulnérable à l'infection et favoriserait la transmission du parasite au fœtus [329]. Piergili *et al.* [594] ont suivi des bovins chroniquement infectés sur 3 gestations successives afin d'évaluer les risques liés à la transmission verticale de *N. caninum*. Aucune de ces gestations n'a abouti à un avortement mais, le parasite a été isolé sur le placenta à chaque vêlage. De même le parasite a été mis en évidence dans l'encéphale de tous les veaux, cliniquement sains, obtenus au cours des 3 gestations étudiées. Le suivi sérologique mensuel des femelles gestantes montre une augmentation des anticorps de type IgM et IgG au cours du troisième trimestre de la gestation. Chez les veaux, un pic d'IgM a été observé à la naissance, puis, une augmentation des IgG a été détectée après la prise colostrale. Ainsi, lors d'infection chronique, la vache n'avorterait pas en raison de la contamination tardive du fœtus.

Une étude sérologie menée sur 38 bovins du précédent troupeau ainsi que des recherches sérologiques et parasitologiques sur des chiens (tous négatifs à *N. caninum*) de la même ferme ont permis de confirmer la contamination verticale des fœtus lors de la recrudescence de l'infection chronique des vaches en fin de gestation. La transmission verticale asymptomatique semble donc être une voie de contamination prépondérante dans un cheptel. Ainsi, les cas cliniques observés pourraient être la résultante de la transmission transplacentaire du parasite [217].

Par ailleurs, une étude menée sur des lymphocytes T cytotoxiques de bovins expérimentalement infectés révèle que ces lymphocytes T cytotoxiques de type CD4<sup>+</sup> lysent les cellules autologues infectées par *N. caninum* [689]. Le développement de ces travaux permettra de mieux comprendre le rôle des lymphocytes T cytotoxiques au cours des transmissions verticales du parasite pendant la gestation.

## Chapitre II

---

### EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE

---

**KAMGA WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, BAKOU S.N.<sup>1</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, BOLY H.<sup>3</sup> DIOP P.E.H.<sup>1</sup>, AKAKPO J.A.<sup>1</sup> et  
TAINTURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. BP : 5077 Dakar – Fann – Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole – La Chantrerie BP : 40706 – 44307 Nantes Cedex 03 – France

<sup>3</sup>Université polytechnique de Bobo Dioulasso – Burkina Faso – 01 BP.: 1091 Bobo-Dioulasso 01 – Burkina Faso

✉ Correspondant : akwar2003@yahoo.fr; a.kamga@eismv.org

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (2) : 75 - 98

## Epidémiologie de la néosporose

### Résumé

La présente revue bibliographique fait le point sur l'épidémiologie de la néosporose, une protozoose causée par *Neospora caninum*. Décrite pour la première fois en Norvège en 1984 chez des chiens atteints d'encéphalopathie et de myosite, *N. caninum* a une structure et un cycle évolutif proches de *Toxoplasma gondii*. La néosporose est une pathologie bovine, le chien et certains canidés sont des hôtes définitifs de *N. caninum*. Elle se manifeste cliniquement par des avortements chez la vache et des maladies nerveuses néonatales chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages. L'épidémiologie de la maladie est encore mal connue. Cependant, *N. caninum* semble prendre une place importante dans l'étiologie des avortements d'origines inconnues chez les bovins dans la plupart des pays où il a été recherché. Par ailleurs, la néosporose constituerait un problème en santé publique.

**Mots - clés :** *Neospora caninum*, Néosporose, Epidémiologie.

## Epidemiology of neosporosis

### Abstract

We reviewed the epidemiology of neosporosis, a protozoonosis caused by *Neospora caninum*. Described for the first time in 1984 in Norway from dogs affected by encephalopathy and myositis, *N. caninum* has a structure and a life cycle similar to *Toxoplasma gondii*. Neosporosis is a cattle disease. Dog and some canids are known as definitive hosts of *N. caninum*. Clinically, neosporosis manifests by abortions in cows and nervous neonatal diseases in many domestic and wild mammals. The epidemiology of the disease is still poorly understood. However, *N. caninum* appears to be one of the most important causal agents of abortions in cattle in most countries. Furthermore, neosporosis could constitute a public health problem.

**Keywords:** *Neospora caninum*, Neosporosis, Epidemiology.

## Introduction

*Neospora caninum* est un protozoaire appartenant à l'embranchement des Apicomplexa. Jusqu'en 1988, il a été à tort confondu avec *Toxoplasma gondii* [203]. Depuis sa description en 1984 chez des chiens en Norvège [81] et la mise en évidence du nouveau genre et espèce (*N. caninum*) par **Dubey et al.** [203], la néosporose est apparue comme une grave pathologie bovine et canine dans le monde entier. *N. caninum* a été identifié comme agents abortifs majeurs en élevage bovin. Par ailleurs, des anticorps anti *N. caninum* ont été mis en évidence chez l'homme [299, 459, 533, 717]. La présente étude fait le point sur l'épidémiologie de la néosporose.

## I - Répartition géographique

La néosporose a été mise en évidence sur tous les continents et dans tous les pays où elle a été recherchée [1, 18, 109, 141, 143, 237, 246, 377, 404, 407, 785, 790]. En Afrique, ces investigations ont concerné les pays d'Afrique australe, de l'Est, du Nord et aujourd'hui le Sénégal.

## II - Epidémiologie descriptive

*N. caninum* est un protozoaire dont le cycle évolutif fait intervenir plusieurs hôtes intermédiaires et définitifs. Sa structure et son cycle évolutif sont proches de celui de *T. gondii*. La néosporose est une maladie bovine. Le chien et certains canidés sauvages sont des hôtes définitifs de *N. caninum*. La toxoplasmose sévit chez l'homme et les petits ruminants domestiques (caprins et ovins). Les félidés dont le chat domestique sont hôtes définitifs de *T. gondii* [237].

La néosporose est principalement une pathologie abortive, se manifestant secondairement par des névroses néonatales chez de nombreuses espèces animales dont le chien. Par son tropisme génital, elle est responsable de mortalités néonatales, de résorptions embryonnaires allongeant ainsi l'intervalle entre vêlages dans les troupeaux bovins.

Les avortements occasionnés sont d'allure endémique, épidémique ou sporadique. Le risque d'infection d'un troupeau bovin est fonction de l'âge des animaux [57, 166, 245], du système d'élevage [57], de la densité animale dans l'exploitation [45, 641], du mode de conduite de la reproduction [45], du mode d'abreuvement et d'alimentation des animaux [45, 561, 564], de la présence permanente ou occasionnelle d'hôte définitif dans l'exploitation [47, 59, 148, 477, 572, 651, 744], de la présence d'hôtes intermédiaires autres que les bovins dans l'exploitation [561, 564], des conditions climatiques [621, 651] et de la prévalence des autres maladies dans l'exploitation [82, 622].

Quant au risque d'avortement, il est fonction du moment de l'infection [548], de la parasitémie [62, 392, 471, 489, 604, 660, 661, 693, 747, 774], de la présence d'hôtes dans la ferme [62, 347], des conditions climatiques [467, 707, 774] et de la prévalence des autres infections dans l'exploitation [318].

### III - Epidémiologie analytique

#### 1 - Source du parasite

Les différentes formes parasitaires de *N. caninum* sont présentes dans les avortons, le placenta, les eaux fœtales, les muscles, les viscères, l'encéphale et les matières fécales (hôte définitif) des animaux infectés. Par ailleurs, le sol regorge de formes sporulées d'ookystes de *N. caninum*.

Les différentes formes parasitaires de *N. caninum* ont été observées dans les tissus de nombreux mammifères. Ainsi, le réservoir du parasite est constitué d'espèces variées, domestiques et sauvages. Leurs importances respectives dans le cycle parasitaire sont imprécises. Néanmoins, le rôle de l'alimentation a semblé apporter quelques précisions dans le cycle de *N. caninum*. En effet, l'hôte définitif se contaminerait lors d'ingestion d'avortons et de placentas contaminés, ainsi que des viandes crues ou mal cuites contaminées. Quant à l'hôte intermédiaire, il se contaminerait lors d'ingestion de l'aliment et/ou de l'eau de boissons souillées soit par les ookystes d'hôtes définitifs, soit par les tissus d'hôtes infestés [237, 564]. Une étude réalisée dans un troupeau laitier californien a conclu qu'une incorporation d'aliments souillés par *N. caninum* dans la ration induirait une épidémie [489].

Par ailleurs, une corrélation positive a été mise en évidence entre la présence dans une exploitation de volailles, de lapins, de canidés/félinés sauvages errants et la présence d'anticorps spécifique et/ou des avortements dans le troupeau.

## 2 - Longévité et résistance

Les kystes tissulaires de *N. caninum* peuvent survivre jusqu'à 14 jours à une température de 4°C, mais ne sont plus infectieux après une incubation de 24 heures à -20°C [437]. *N. caninum* a survécu à la congélation à -52°C dans le cerveau d'un veau [97]. Par analogie à *T. gondii*, une température de 57°C serait fatale pour les tachyzoïtes de *N. caninum*. Ainsi, il est recommandé aux laboratoires qui ne sont pas équipés P3 et qui souhaitent mettre en évidence *N. caninum* par la PCR, d'inactiver les échantillons par chauffage à une température minimale de 90°C pendant 30 minutes. Cependant, les bradyzoïtes dans les kystes tissulaires sont résistants à une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine [437]. Quant aux tachyzoïtes, ils ont été sensibles *in vitro* à la digestion par une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine [220]. Les kystes tissulaires peuvent persister pendant plusieurs années chez un hôte infecté sans qu'il soit observé de manifestation clinique [217]. Le passage pendant huit ans de tachyzoïtes sur des cultures cellulaires n'a pas diminué leurs pouvoirs infectieux chez des souris [217].

## 3 - Espèces affectées

Il a fallu attendre 1998 pour observer la présence d'ookystes dans les fèces de chiots ayant ingérés des souris expérimentalement contaminées. Le chien a ainsi été identifié comme hôte définitif de *N. caninum* [488]. Plusieurs modèles d'excrétions expérimentales ont été mis au point [236] (Tableau I page 39). Le rôle du chien comme hôte définitif a permis de proposer un cycle parasitaire de *N. caninum*. Cependant quelques points restent non élucidés dont la présence d'avortements attribués à *N. caninum* dans des élevages bovins ne possédant pas de chien, et la faible quantité d'ookystes excrétés par l'hôte définitif, comparée à la quantité nécessaire pour l'expression de la néosporose dans

le troupeau [174]. Par ailleurs, la présence d'anticorps anti-*N. caninum* chez certaines espèces de la faune sauvage notamment le coyote, le renard, le buffle, le lama, l'antilope, le rhinocéros [237] a permis d'émettre l'hypothèse de l'existence d'un cycle sylvestre de *N. caninum*. Cette suspicion a été renforcée par des considérations épidémiologiques. En effet, la présence occasionnelle ou permanente d'animaux de la faune sauvage dans des exploitations bovines a été identifiée comme facteur de risque d'infection à *N. caninum* dans ces élevages [45, 47].

La présence de canidés sauvages (coyotes et renards gris) à proximité des exploitations au Texas a été un facteur de risque de l'exposition bovine à *N. caninum* [47]. La mise en évidence d'un éventuel cycle sylvestre a été abordée par la recherche d'hôte(s) intermédiaire(s) certains (kystes tissulaires) ou potentiels (sérologie positive), mais aussi par la recherche d'excrétion d'ookyste dans les fèces d'hôtes définitifs potentiels. Ainsi, le coyote (*Canis latrans*) [292] et le renard (*Vulpes vulpes*) [760] ont été classés parmi les hôtes définitifs de *N. Caninum*.

Aujourd'hui, les anticorps anti - *N. caninum* ont été mis en évidence chez toutes les espèces animales terrestres et marines où ils ont été recherchés [237]. Plusieurs espèces animales domestiques et sauvages participent au cycle *N. Caninum* en tant qu'hôtes intermédiaires. Il s'agit du chien [157, 203, 208, 214, 220], des bovins [19, 74, 86, 99, 162, 737], du cheval [231, 408], du mouton [219, 410, 415, 679] de la chèvre [145, 199, 230, 453], du renard [9, 100, 662], du raton – laveur [456], du cerf [233, 772] et des rongeurs domestiques et sauvages [262]. Par ailleurs, des anticorps anti - *N. caninum* ont été mis en évidence chez le chat domestique [222, 225, 352], les félidés sauvages [129, 687], les mammifères marins [242], les opossums [783], le buffle d'eau [234, 279, 303, 361], le chameau [337], ainsi que les ruminants sauvages [210, 264, 451]. Enfin, des anticorps anti *N. caninum* ont été retrouvés chez l'homme [299, 459, 533, 717].

Des infections expérimentales ont été obtenues chez de nombreuses espèces notamment la souris [441, 442, 450, 472, 627, 755], le rat [217], le chien [208, 755], le renard [217], les petits ruminants domestiques [101, 102, 104], le chat domestique [222, 223], le coyote [217], le porc [385], la gerbille

[216, 293, 755], le lapin [56], le pigeon [497, 509], les bovins [23, 55, 224] et le macaque [53]. Ces données indiquent que ces animaux pourraient être des hôtes potentiels de *N. caninum* [196, 197, 237].

**Tableau I** : Excrétion expérimentale d'ookystes de *N. caninum* (modifié d'après Dubey *et al.* [237])

Tissus ingérés	Excrétion d'ookystes		Conversion sérologique	Références
	Période (Jour)	Nombre	(nbre de chien/total)	
<b>Infection expérimentale</b>				
Cerveau de souris; NC 2	8–27	-	3/3	[488]
Cerveau de souris; NC-beef	13–20	-	1/2	[488]
Cerveau de souris; NC-Liverpool	13–20	-	2/2	[488]
Cerveau de souris; NC-beef	5-6	4,5 10 <sup>6</sup>	1/2	[446]
Cerveau de souris; wild CKO	13	peu	3/3	[454]
Cerveau de souris; cloned CKO	7–14	8,1 10 <sup>5</sup>	3/3	[454]
	8–15	1,6 10 <sup>5</sup>	2/3	[454]
Cerveau de souris; NC 2	17-24	700	-	[288]
	6–17	2,99 10 <sup>4</sup>	-	[288]
Cerveau de souris; NC-beef	9-25	500	-	[288]
	9–14	1,2 10 <sup>3</sup>	-	[288]
Cerveau de souris; NC-IL	10-17	300	-	[288]
Souris BALB/c			0/1	[655, 656]
Cobaye (Excepté peau-estomac-intestin)*	5–12	2 10 <sup>6</sup>	1/2	[655, 656]
Cobaye (Excepté peau)*	5–14	0	-	[655, 656]
Cobaye (muscle - os) *	8–13	peu	0/2	[655, 656]
Cœur et muscle squeletique de chèvre infectés*	9–13	1,5 10 <sup>6</sup>	0/5	[655, 656]
	6-13	peu		[655, 656]
Cerveau, cœur et muscle squeletique de chèvre infectés*	7–12	0	0/3	[655, 656]
	6–12	8 10 <sup>4</sup>		[655, 656]
Veau; NC-beef	5–17	5,4 10 <sup>4</sup>	-	[288]
	5–21	5 10 <sup>5</sup>		[288]
Veau; NC-IL	8–20	2,5 10 <sup>4</sup>	-	[288]
	10–29	3,5 10 <sup>5</sup>		[288]
Tissus infectés de vache		2 10 <sup>3</sup>	4/5	[290]
	-	5,1 10 <sup>4</sup>	2/3	[290]
<b>Infection naturelle</b>				
Placenta bovin	13-30	<10*	0/3	[190]
Cerveau de cerf (White-tailed deer)	7–14	1,2 10 <sup>4</sup>	-	[291]
Cerveau de buffle d'eau ( <i>Bubalus bubalis</i> )	26- 17	2,8-8,2 10 <sup>5</sup>	2/4	[626]

\*les isolats de *N. caninum* ont été nommés *Hammondia heydorni* Berlin-1996 (HY-Berlin-1996), car le chien n'avait pas encore été identifié comme hôte définitif de *N. caninum*.

#### 4 - Causes favorisantes

Des enquêtes séroépidémiologiques ont mis en évidence une association entre la présence de certaines espèces animales dans les fermes et l'infection de cheptel bovin par *N. caninum*. Ainsi, la séroprévalence de *N. caninum* a été plus élevée chez les chiens de ferme par rapport aux chiens citadins (**Tableau II**). La présence de chiens dans les fermes a été significativement associée à une augmentation du taux de séroprévalence dans les exploitations bovines [62, 477, 561, 564, 572, 629, 640]. L'infection par *N. caninum* a été significativement associée à l'introduction d'un nouveau chien ou à la naissance d'une portée de chiots dans l'année et demie précédant l'apparition des troubles abortifs [189]. Cependant, l'absence de chiens dans des exploitations bovines a considérablement réduit la séroprévalence de la néosporose sans pour autant l'annuler [776].

En revanche, d'autres études font ressortir que la présence d'un chien en élevage bovin n'est pas un facteur de risque d'infection des bovins par *N. caninum* [271, 625].

Néanmoins, le comportement des chiens de ferme notamment l'ingestion de placentas des bovins infectés et la défécation dans les allées, les mangeoires et sur les stocks d'ensilages ou de foin entretiennent le parasitisme dans l'exploitation [187, 189].

La quantité d'ookystes excrétés varie en fonction de la souche infectante, de la quantité de parasites ingérée, du statut immunitaire du chien [655] et du degré de fraîcheurs des tissus bovins infectés consommés [288]. Cependant, certains chiens infectés n'excrètent pas d'ookystes [190, 655]. Toutefois, compte tenu de la faible teneur du placenta en formes parasitaires de *N. caninum* [76], l'ingestion d'au moins 400g de placenta contaminé a été nécessaire pour induire une infection associée à une excrétion d'ookystes [190]. Par ailleurs, un nouveau repas de placenta contaminé semble incapable d'induire une nouvelle excrétion [190].

**Tableau II** : Séroprévalence de *N. caninum* chez le chien (modifié d'après **Dubey et al. [237]**).

<b>Pays</b>	<b>% Positif (Min – Max*)</b>	<b>Références</b>
Argentine	26,2 – 54,2	[67, 192]
Australie	5 – 14	[38]
Autriche	2,1 – 5,3	[755]
Belgique	9,7 – 46,4	[41, 428]
Brésil	0 – 58,9	[3, 20, 21, 33, 118, 180, 182, 258, 268, 284, 286, 287, 315, 386, 510, 511, 629, 672, 701, 732]
Chili	12,5 – 57	[581]
République Tchèque	1,3 – 4,9	[414, 728]
Danemark	15,3	[608]
Allemagne	4 - 13	[406]
Îles Malouines	0,2	[38]
France	22,7	[597]
Hongrie	1 – 6	[350]
Iran	20 – 46	[480]
Italie	6,4 – 36,4	[120, 155, 156, 263, 416, 571]
Japon	7,1 – 31,3	[647]
Kenya	0	[38]
Corée	8,3 – 21,6	[399]
Mexique	20 – 51	[157, 640]
Pays Bas	5,5 – 23,6	[776]
Nouvelle Zélande	22 – 100	[26, 612]
Roumanie	12,5	[698]
Espagne	2,9 – 51	[138, 557]
Suède	0,5	[89]
Suisse	7,3 – 20	[639]
Taiwan	23	[553]
Tanzanie	22	[38]
Thaïlande	1,2	[421]
Turquie	10	[149]
Angleterre	5,8 – 16,6	[429, 719]
Etats - Unis	2 – 7	[127, 448]
Uruguay	20	[38]

\* Min – Max = séroprévalence Mininale – Maximale par pays ; les valeurs maximales ont toujours été observées chez des chiens de ferme.

Outre la présence de chiens sur l'exploitation, d'autres facteurs favorisant l'exposition au parasite ont été observés. Ainsi **Barling et al.** [47], ont montré qu'il existe une corrélation positive entre la densité animale dans l'exploitation et le contact avec le parasite [45, 641]. Les modalités d'alimentation pourraient avoir une incidence sur le risque d'exposition. En effet, l'utilisation d'un distributeur automatique de concentré a été associée à une faible séropositivité des animaux, tandis que l'utilisation de balles de foin a été associée à une forte séropositivité de la population bovine exposée [44]. Le foin contaminé pourrait servir de vecteur aux ookystes excrétés par l'hôte définitif carnivore sur les prairies de récolte.

Par ailleurs, il a été observé que les bovins se contaminent en ingérant des aliments souillés par des ookystes (ensilages, pâturages, céréales) [185, 187]. Aucune étude n'a permis d'évaluer la résistance de l'ocyste dans les conditions naturelles.

D'autres travaux ont montré que la présence d'une basse-cour dans les fermes est un facteur de risque d'avortements par *N. caninum* [62, 152, 564]. Les volailles pourraient jouer le rôle de vecteurs mécaniques dans la transmission du parasite, ou infecter les chiens qui les consommeraient. En effet, le poulet domestique (*Gallus domesticus*) a été identifié comme hôte intermédiaire de *N. caninum* [152] et une infection expérimentale a été mise en évidence chez le pigeon [497, 509].

Par ailleurs, les animaux de la basse-cour sont les proies des carnivores sauvages notamment le renard qui rôde aux abords des élevages. Au même titre que le chien, il pourrait avoir un rôle d'hôte définitif, être une source d'ookystes et ainsi, contaminer les stocks d'aliment ou de l'eau de boisson des bovins [45]. L'observation d'une association spatiale entre l'abondance de carnivores sauvages (renard gris et coyote) et la séroprévalence de *N. caninum* dans les élevages au Texas renforce l'hypothèse selon laquelle les carnivores sauvages sont impliqués dans le cycle de *N. caninum* [47].

Dans un élevage, la séroprévalence augmente avec l'âge des bovins, ce qui pourrait être dû à un contact répété avec le parasite [67].

## 5 - Pouvoir pathogène

*Neospora caninum* est potentiellement pathogène pour l'hôte qui l'héberge. Après l'invasion cellulaire, le parasite est à l'origine de la mort des cellules dans lesquelles les tachyzoïtes se multiplient activement, conduisant ainsi à l'apparition de foyers de nécrose dans les tissus colonisés [196, 218, 472], en particulier dans les muscles, le tissu nerveux et plus rarement dans la peau [273], les viscères [208] ou les poumons [302]. L'infection du fœtus ou de l'embryon et/ou l'altération du placenta à l'issue d'une parasitémie a pour conséquence, l'interruption de la gestation chez les femelles gravides [329]. Cette parasitémie peut être secondaire à une primo-infection ou au réveil d'une infection latente par des bradyzoïtes enkystés [324].

Outre la lyse mécanique des cellules, des infiltrats lymphoplasmocytaires sont à l'origine de foyers inflammatoires et de granulomes autour des kystes tissulaires dégénérés, localisés dans les tissus nerveux. La réaction de l'hôte est donc en partie à l'origine de l'apparition des symptômes neurologiques observés sur les animaux infectés. La libération d'éventuelles substances toxiques ou chimiotactiques par le parasite pourrait jouer un rôle non négligeable dans la genèse des lésions [440].

## 6 - Pouvoir immunogène

La réaction immunitaire de l'hôte parasité dans la lutte contre l'infection n'est pas encore bien connue. Mais, il semblerait qu'elle puisse inhiber la multiplication des formes endogènes. En effet, l'infection expérimentale par *N. caninum* peut être asymptomatique dans certains cas et des immunoglobulines (IgG) ont été observés trois semaines après une infection expérimentale des bovins [174, 474]. Cependant, la seule présence d'anticorps n'a probablement pas permis le contrôle de la maladie car *N. caninum* est un parasite intracellulaire. La composante cellulaire de la réponse immunitaire interviendrait dans la protection contre l'infection [397, 474, 633].

Chez la souris, *N. caninum* stimule à la fois les réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale. Bien que les mécanismes de protections cellulaires ne soit pas entièrement connus, le rôle

protecteur des cytokines (Il-12) et de l'interféron (IFN- $\gamma$ ) a été démontré chez la souris [397]. Chez la femelle gestante, les cytokines ont un rôle important dans le maintien de la gestation. Certaines telles que l'interleukine (Il) 10 et le Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$  sont bénéfiques, d'autres en revanche sont néfastes [Il-2, Il-12, IFN- $\gamma$ , et le Tumoral Necrosis Factor (TNF)- $\alpha$ ]. Ainsi, la réaction cellulaire à l'encontre de l'invasion parasitaire pourrait être à l'origine d'une production accrue de cytokines délétères pour la gestation chez les bovins [1, 103].

## 7 - Mode de contamination

Depuis la mise en évidence du chien comme excréteur d'ookystes de *N. caninum*, plusieurs voies de transmission ont été admises :

- La transmission verticale, par voie transplacentaire ;
- La transmission horizontale par ingestion :
  - de kystes tissulaires à bradyzoïtes ou de tachyzoïtes ;
  - d'ookystes sporulés ;
- La transmission horizontale par la voie vénérienne (semence animale)

### 7.1 - Transmission verticale par la voie transplacentaire

La transmission par la voie transplacentaire est le passage du parasite de la mère au fœtus pendant la gestation. L'induction de la néosporose congénitale a été mise en évidence en inoculant par la voie sous cutanée ou intramusculaire de tachyzoïtes en culture ( $1,5 - 5 \times 10^6 - 10^7$  tachyzoïtes) aux femelles gestantes.

La transmission transplacentaire est la première voie de contamination découverte. Elle a été induite expérimentalement chez la chienne [221], la chatte [223], la vache [55], la brebis [219], la chèvre [453], la truie [385] et la souris [135, 472, 627]. Dans les conditions naturelles, les cas de néosporose congénitales ont été décrits chez le chiot, le veau (Tableau III page 46), le chevreau, le poulain, l'agneau et le faon [191, 196, 237, 418]. Par ailleurs, la persistance des anticorps chez des jeunes

renardeaux nés de femelles séropositives a permis de confirmer ce mode de transmission de la néosporose [662]. Une forte parasitémie précède la transmission fœtale de *N. caninum*. Expérimentalement, la probabilité de transmission chez les bovins et les conséquences lésionnelles pour le fœtus seraient fonction du moment de l'infection au cours de la gestation. En effet, plus l'inoculation est tardive au cours de la gestation, plus la probabilité de transmission au fœtus est élevée mais moins les dommages tissulaires sont importants [765]. Cette voie de contamination s'est révélée être un mode efficace de transmission au sein des troupeaux [59, 191]. En effet, la probabilité qu'une vache séropositive infecte son fœtus est comprise entre 82 à 95% [171, 329]. La transmission congénitale de *N. caninum* chez la femelle gestante pourrait être amplifiée par l'inhibition des mécanismes de défense du système immunitaire observée pendant la gestation [602].

La transmission transplacentaire peut être répétée chez un animal au cours de gestations successives [51, 387]. Son mécanisme reste en revanche encore méconnu. En effet, des auteurs ont observé que ces infections congénitales répétées seraient dues à une réactivation du parasite chez la femelle ou secondaires à une réinfection [29, 197]. Il apparaît que la plupart des avortements sporadiques et endémiques sont le résultat d'une réactivation du parasite au cours d'une infection chronique. En effet, les vaches séropositives ont un risque deux à trois fois plus élevé d'avorter que celles qui sont séronégatives [512, 566, 575]. De même, les génisses expérimentalement infectées avant la gestation ont un risque 7,8 fois plus élevé d'avorter, en particulier au cours de leur première gestation [709]. Ce mode de contamination contribue à la persistance de l'infection dans les élevages [15]. Toutefois, la transmission verticale ne peut expliquer à elle seule, l'épidémiologie de la néosporose [774].

En effet, des cas de séroconversion post-natale chez des veaux [171, 272, 709, 711] ont permis de constater qu'il n'existait pas forcément une association entre le statut sérologique des mères et celui de leurs descendances [185]. Les modalités de la contamination extra-utérine sont encore peu connues. Néanmoins des modes de transmission horizontale ont été mis en évidence par ingestion des formes parasitaires de *N. caninum* ou par la voie vénérienne.

**Tableau III** : Transmission congénitale asymptomatique *N. caninum* chez les bovins (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

<b>Pays</b>	<b>Nbre de gestation</b>	<b>%Seropositif (descendance)</b>	<b>Test</b>	<b>Références</b>
Argentine	16 (séropositif)	100	IFI	[110]
Australie	27 (séropositif)	74	ELISA (POURQUIER)	[311]
	27 (séronégatif)	15		
Canada	619 (séropositif)	40.7	ELISA (WT-IHCA)	[569]
	2,490 (séronégatif)	6.7		
	144 (séropositif)	44.4	ELISA (BIOVET)	[74]
	85 (séropositif)	90	ELISA (VMRD)	[752]
	13 (séronégatif)	71		
Costa Rica	249 (séropositif)	67.5	WT-IH-ELISA	[631]
	498 (séronégatif)	23.5		
Allemagne	15 (séropositif)	94	IFI, WB, ELISA (IDEXX)	[659]
	43 (séronégatif)	2		
Pays Bas	36 (séropositif)	88.9	ELISA (WT-IH)	[779]
	14 (séronégatif)	14.3		
	14 (séropositif)	100		
	204 (séropositif)	80		[188]
	248 (séronégatif)	16.5		
	190 - 195 (séropositif)	56.8 - 30.8		
	500 (séropositif)	73		[186]
Nouvelle Zélande	115	12.5	Western Blot	[653]
Espagne	25 - 98 (séropositif)	48 - 50	IFI	[585]
	192 (séronégatif)	7		
	73 (séronégatif)	0		
	32 (séropositif)	90.9	ELISA (IDEXX)	[468]
Suède	369 (séropositif)	85.6	ELISA (IH-ISCOM)	[276]
	952 (séronégatif)	13.7		
Angleterre	124 (séropositif)	95	ELISA (MASTAZYME)	[171]
	248 (séronégatif)	2		
Etats – Unis	51 - 115 (séropositif)	81 - 88.2	ELISA (WT-IHCA)	[576]
	25 (séropositif)	100	IFI (1:80)	[19]
	25 (séronégatif)	0		
	150 (séropositif)	89	ELISA (IH-ISCOM)	[90]
	41 (séronégatif)	22		
	74 (séropositif)	43	IFI	[245]

NAT = séroagglutination; IFI = Immunofluorescence indirecte; WB = Western Blot.

## 7.2 - Transmission horizontale

### 7.2.1 - Ingestion des kystes tissulaires à bradyzoïtes ou des tachyzoïtes

La transmission horizontale suite à l'ingestion de kystes tissulaires à bradyzoïtes ou de tachyzoïtes a été mise en évidence [217]. Elle a été logique pour les carnivores, mais, paraît peu probable chez les herbivores [167]. Cependant, des veaux ont pu être infectés lors de la consommation du colostrum de vaches infectées [148] ou de lait enrichi de tachyzoïtes. Un passage par la voie galactogène a été démontré chez le souriceau en inoculant de tachyzoïtes à la mère par la voie sous cutanée [135].

Bien que les tachyzoïtes soient sensibles *in vitro* à la digestion par une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine, l'hypothèse d'une transmission orale avec passage de tachyzoïtes à travers les muqueuses buccales ou œsophagienne n'est pas écartée [220]. En effet, l'administration *per os* du lait contaminé par des tachyzoïtes en cultures a induit une infection à *N. caninum* chez le veau [726]. Bien que l'ADN de *N. caninum* ait été amplifié par PCR à partir du lait prélevé sur des vaches infectées [524], cette possibilité de transmission semble être secondaire.

L'ingestion de placentas par d'autres vaches du troupeau [74] ainsi qu'un contact étroit et permanent entre les placentas contaminées et les vaches du troupeau ont été émis comme hypothèse de transmission horizontale [74]. En revanche, l'hôte définitif s'infecte principalement par ingestion de placentas, d'avortons, de viandes et d'abats crus d'animaux séropositifs.

### 7.2.2 - Ingestion d'ookystes sporulés

La transmission horizontale consécutive à l'ingestion d'ookystes sporulés de *N. caninum* a été mise en évidence chez le chat [490] et chez le veau [174]. Par analogie à *T. gondii* [179, 193], les animaux se contaminent lors de la consommation d'aliment ou de l'eau de boisson souillé par des ookystes de *N. caninum*. Ainsi, le mode d'infection des troupeaux bovins indemnes a été mis en évidence. Toutefois, l'hôte définitif reste la source potentielle d'excrétion d'ookystes [14, 64, 66, 446, 488]. Son rôle dans la transmission naturelle du parasite aux bovins est encore peu connu. Diverses observations de terrain révèlent la circulation de *N. caninum* entre l'espèce canine et l'espèce bovine dans les élevages [487,

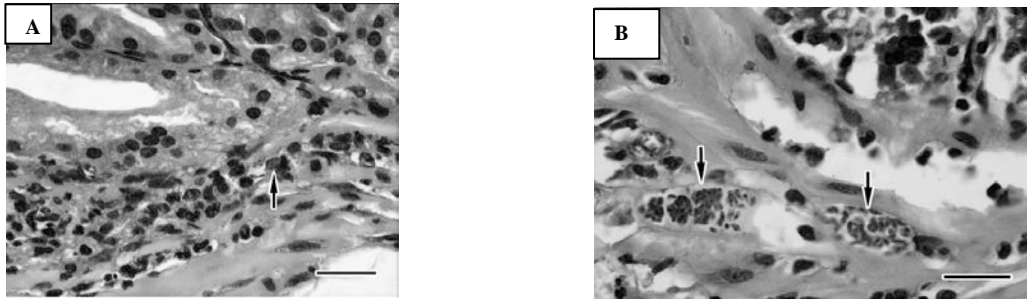
597]. Par ailleurs, l'identité entre les isolats bovins et canins de *N. caninum* [692] et l'étroite relation entre les statuts sérologiques des bovins et des chiens de ferme [776] ont révélé une transmission du parasite entre les deux espèces.

La présence de chien de ferme a été un facteur de risque d'une exposition environnementale des bovins aux formes parasitaires de *N. caninum* [59, 477, 564] associé à la survenue d'avortements [62, 572]. Des études rétrospectives tendent à confirmer l'hypothèse selon laquelle le chien est la principale cause des flambées épidémiques de néosporose observées dans les élevages bovins [487, 597]. L'hôte définitif pourrait contaminer les stocks d'aliments et l'eau de boisson des animaux par les ookystes [64] qu'il excrète suite à l'ingestion de tissus infectés [15, 187]. La dose nécessaire pour induire des troubles cliniques est indéterminée. Néanmoins, une ingestion de 600 ookystes a induit une infection sans avortement chez des vaches gestantes [720]. Dans les conditions naturelles, l'hôte définitif excrète de petite quantité d'ookystes (10 ookystes par gramme de fèces) sur une courte période [190, 446, 488]. Comparée à la toxoplasmose qui induit des avortements chez les petits ruminants, le chat excrète plus de 150 millions d'ookystes de *T. gondii*, sur une courte période, suite à une première infection [165] et la dose nécessaire pour induire un avortement chez la brebis est inférieure à 1500 ookystes [565]. La quantité d'ookystes de *N. caninum* excrétés par le chien et celle nécessaire pour induire une infection chez les animaux ont été inversement proportionnelle au taux de contamination observé dans des cas avérés de transmission horizontale de néosporose bovine. Par ailleurs, des contaminations post-natales ont été observées dans des fermes en l'absence de chien. C'est ainsi qu'a été mis en évidence, la contribution d'animaux commensaux dans le cycle de *N. caninum*.

### 7.3 - Transmission vénérienne

La transmission vénérienne de *N. caninum* est possible [668, 669], mais, peu probable [113, 560]. En effet,  $5 \times 10^4$  tachyzoites ont induit une séroconversion avec maintien du taux d'anticorps anti-*N. caninum* chez des génisses inséminées avec de la semence contaminée [669]. Des génisses gestantes ainsi

que des veaux issus des saillies avec des taureaux infectés expérimentalement ont tous été séronégatifs [560]. Bien que *N. caninum* ait été mis en évidence dans du sperme de taureau [108, 260, 556] et que ses formes parasitaires aient été identifiées dans la prostate et les vésicules séminales de taureau (**Figure 1**), des vaches inséminées avec de la semence contaminée aux tachyzoïtes de *N. caninum* n'ont pas été infectées [113].



**Figure 1.** Mise en évidence de tachyzoïtes de *N. caninum* dans le lobe antérieur de la prostate (A) et dans les vésicules séminales (B) de souris mâles de 20 jours [barre = 50µm]. Les flèches indiquent les amas de tachyzoïtes. (Masuda *et al.* [486])

La néosporose reste une pathologie difficile à contrôler en raison d'une part, de la diversité de ses formes parasitaires et d'autre part, de la transmission à la fois verticale et horizontale de *N. caninum*. La transmission verticale reste le principal mode d'entretien de l'infection dans un troupeau [59, 124, 237]. Ces facteurs font de la néosporose, une pathologie cosmopolite.

## 8 - Risque sanitaire de la néosporose

Les anticorps anti - *N. caninum* ont été mis en évidence chez toutes les espèces dans lesquelles, ils ont été recherchés [152, 237]. Chez l'homme, un taux élevé d'anticorps anti - *N. caninum* a été mis en évidence au Brésil chez des patients immunodéprimés (VIH) [38% (23/61)] et chez des patients présentant des troubles neurologiques [8% (9/50)] contre un faible taux chez des nouveau - nés [5% (5/91)] ainsi que chez le personnel de santé [6% (3/54)] [459]. Des taux d'anticorps anti - *N. caninum* de 8%, 6,7% et 6,7% ont respectivement été observés chez des donneurs de sang en Irlande du Nord [299], en Corée [533] et au USA [717] (**Tableau IV**). Néanmoins, aucun anticorps anti - *N. caninum* n'a été observé chez des femmes sujettes à de fausses couches au Danemark [591] et en Angleterre [722].

En outre, une enquête rétrospective effectuée par [493] dans la population anglaise, n'a montré aucune preuve d'exposition humaine à *N. caninum* aussi bien dans une population à haut risque (n = 518) que dans la population globale (n = 3232). Ces résultats indiquent qu'une infection humaine est peu probable en Angleterre. Toutefois, l'infection de l'homme est à craindre en raison de la prévalence de l'infection bovine et de l'incidence de l'excrétion canine des ookystes de *N. caninum*.

Compte tenu du taux de séroprévalence de *N. caninum* (38%) chez des patients immunodéprimés, le dépistage et la prise en charge de cette coccidiose opportuniste aurait un intérêt lors de la mise en œuvre de la tri-thérapie chez ces malades atteints du virus du Syndrome d'Immuno Déficience Acquise.

**Tableau IV** : Séroprévalence de *N. caninum* chez l'homme (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Pays	Origine des échantillons	Nombre de serums	Test	% Positif	Références
Bresil	Immunodéprimés	61		38	
	Troubles neurologiques	50		18	
	Nouveau - nés	91	IFI (1:50); ELISA; WB	5	[459]
	Témoins	54		6	
Danemark	Fausses couches répétées	76	IFI (1:640); ELISA; WB	0	[591]
Corée	Donneurs de sang	172	IFI (1:100); ELISA; WB	6,7	[533]
Irlande du Nord	Donneurs de sang	247	IFI (1:160)	8	[299]
Royaume - Unis	Fermier - Fausses couches	400	IFI (1:400)	0	[722]
	Population à risque	518		0	[493]
	Echantillon aléatoire	3232		0	
Etats - Unis	Donneurs de sang	1,029	IFI (1:100) ; WB	6,7	[717]

IFI = Immunofluorescence indirecte; WB = Western Blot.

#### IV - Facteurs de risque de la néosporose bovine.

La connaissance des facteurs de risque d'infection à *N. caninum* ainsi que l'association entre la présence du parasite et l'observation des avortements ont été importantes pour le développement et la mise en œuvre des mesures de contrôle de la néosporose bovine [237].

La prévalence sérologique de *N. caninum* dans les troupeaux laitiers (**Tableau V**) et allaitants (**Tableau VI**) montre d'une part, qu'il existe des différences considérables entre les pays et d'autre part, qu'elle est le plus souvent élevée dans des troupeaux à avortements [57, 175, 412, 515, 605].

**Tableau V** : Séroprévalence de *N. caninum* chez des bovins laitiers (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

<b>Pays</b>	<b>% Positif*</b>	<b>Références</b>
Argentine	16,6 – 64,5	[513, 515, 736, 737]
Australie	10,2 – 24	[29, 309]
Belgique	12,2	[175]
Brésil	11,2 – 46	[3, 146, 148, 177, 178, 293, 304, 462, 464, 503, 508, 529, 547, 587, 606, 643, 644, 742]
Canada	5,6 – 25,5	[35, 74, 154, 244, 308, 346, 395, 569, 572, 663, 715, 729, 730, 731]
Chili	15,7 – 30,2	[580]
Costa Rica	39,7 – 43,3	[632, 639]
République Tchèque	3,1 – 3,9	[727]
Denemark	22	[384]
France	5,6 – 26	[405, 407, 564, 597, 598]
Allemagne	1,6 – 27	[57, 143, 659, 761]
Hongrie	3,3 – 10	[351, 353]
Iran	15,1 – 46	[610, 635]
Irlande	3 – 12,6	[500]
Italie	11,4 – 30,8	[259, 476, 561, 571, 621]
Japon	5,7 – 20	[412, 413]
Corée	12,1 – 48,7	[5, 34, 362]
Mexique	16 – 59	[281, 282, 501, 519]
Pays Bas	9,9 – 39,4	[57, 188]
Nouvelle Zélande	7,6 – 53	[153, 590, 612, 617, 653, 706, 762]
Paraguay	35,7	[558]
Chine	17,2	[789]
Pologne	9,3 – 15,6	[105, 763]
Portugal	28 – 49	[112, 705]
Russie	9,9	[144]
Slovaquie	22,2	[243]
Espagne	11,2 – 36,8	[57, 107, 467, 468, 469, 470, 477, 605]
Suède	1,3 – 63	[57, 82, 275, 693]
Thaïlande	5,5 – 70	[123, 124, 393, 421, 697]
Turquie	0 – 60	[7, 78, 418, 419, 552, 670, 746]
Angleterre	17,1 – 60	[162, 166]
Etats – Unis	10,3 – 60,6	[245, 430, 554, 575, 576, 577, 625]
Uruguay; Vietnam	61,3; 5,5	[392] ; [361]

\* Min – Max = séroprévalence Minimale – Maximale par pays, les valeurs maximales ont le plus souvent été observées dans les troupeaux à avortements.

**Tableau VI** : Séroprévalence de *N. caninum* chez des bovins allaitants (modifié d'après **Dubey et al.** [237])

Pays	% Positif*	Références
Andorre	7,4 – 9,2	[27, 28]
Argentine	4,7 – 20,3	[513, 514, 515, 516]
Australie	14,9	[695]
Belgique	14	[176]
Brésil	6,7 – 29,9	[3, 21, 151, 315, 503, 606, 643]
Canada	5,2 – 9,1	[731, 748, 751, 754]
Allemagne	4,1	[57]
Hongary	1,8	[351]
Italie	6	[561]
France	4,1	[405]
Japon	1,5	[412]
Corée	4,1	[400]
Mexique	10	[501]
Pays Bas	13,3	[57]
Nouvelle Zelande	2,8	[702]
Paraguay	26,6	[558]
Espagne	15,8 – 17,9	[57, 605]
Etats – Unis	5,2 – 79	[46, 396, 487, 641]
Uruguay	13,9	[36]

\* Min – Max = séroprévalence Mininale – Maximale par pays ; les valeurs maximales ont le plus souvent été observées dans les troupeaux à avortements.

Toutefois, l'exploitation des résultats nécessite beaucoup de prudence en raison de différences dans les techniques sérologiques, la conception de l'étude et la taille de l'échantillon utilisé. Ainsi, la présence permanente d'hôtes définitifs dans une zone expliquerait la forte prévalence de la néosporose bovine. En effet, les facteurs "abondance de coyotes" et "abondance de renards gris" ont permis de mettre en évidence, les différences spatiales entre les régions écologiques et la séroprévalence de *N. caninum* chez les veaux de boucherie [47]. L'importance du facteur "abondance de coyotes" a été confirmée lorsque le coyote a été identifié comme hôte définitif de *N. caninum* [292]. Toutefois, l'absence de coyotes sauvages en Europe l'exclut des facteurs de risque dans la transmission de la néosporose bovine.

## 1 - Études des facteurs de risque

Plusieurs études ont évalué les risques d'infection d'une vache ou d'un troupeau bovin à *N. caninum* ainsi que la corrélation entre cette infection et les avortements observés [237]. Le nombre d'ookystes ingéré par la femelle et le stade de gestation ont été des facteurs de risque dans la transmission par la voie transplacentaire de *N. caninum* dont l'origine parasitaire est exogène [289] alors que le statut immunologique de la femelle a été identifié comme facteur de risque d'infection associé aux avortements dans la transmission transplacentaire de *N. caninum* dont l'origine parasitaire est endogène [237]. Cependant, ces facteurs de risques ont été influencés par la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques utilisés. Les variations seraient consécutives aux fluctuations du taux d'anticorps des bovins pendant la gestation, au stade de gestation, ou au nombre de gestation [162, 269, 306, 384, 575, 604, 693].

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

## 2 - Risques d'infection

Plusieurs facteurs de risque d'infections à *N. caninum* de l'animal ou à l'échelle du troupeau ont été évalués. Il s'agit de l'âge de l'animal, de la présence d'hôtes définitifs et/ou intermédiaires dans l'exploitation, du mode de gestion du troupeau (alimentation, abreuvement, origine des génisses de remplacement, densité animale) et le climat.

### 2.1 – Age de l'animal.

Le risque d'être séropositif pourrait augmenter avec l'âge ou de nombre de gestation de l'animal [57, 59, 166, 245, 384, 621, 641], ce qui indiquerait l'importance de la transmission horizontale de *N. caninum* dans certains troupeaux. Cette influence de l'âge pourrait être lié :

- A la durée de vie de l'animal dans l'exploitation (risque d'ingestion d'ookystes) ;

- Au taux de renouvellement du cheptel [566, 621] ;
- Au taux de réforme des animaux [57].

Par ailleurs, la recrudescence du parasite durant la gestation pourrait être la cause de l'augmentation du taux de séroprévalence chez les femelles âgés [166].

Cependant, **Waldner et al.** [753] n'ont observé aucune influence de l'âge sur la séroprévalence de la néosporose dans des troupeaux laitiers au Canada. L'absence de corrélation entre l'âge et la séropositivité indique une transmission verticale probable dans le troupeau.

## 2.2 - Hôtes définitifs.

Dans la plupart des études épidémiologiques portant sur la néosporose bovine, la présence et le nombre de chiens (hôtes définitifs de *N. caninum*) de ferme [14, 59, 148, 189, 477, 572, 651, 744] ont été des facteurs de risque d'infection des bovins. Par analogie avec *T. gondii*, l'introduction d'un nouvel hôte définitif est d'une importance cruciale pour le cycle du parasite [165]. En outre, les jeunes chiens (10 à 14 semaines) ont excrété plus d'ookystes que les adultes (de 2 à 3 ans) [290].

La charge parasitaire émise par défécation de cet hôte sur l'aliment (ensilage, pâturage...) ainsi que dans l'eau de boisson pourrait être la cause de cette contamination [14, 187]. En effet, la séropositivité dans les élevages a été associée à la conduite du troupeau. Ainsi, les animaux en divagation libre en enclos, partageant les mêmes mangeoires ont toujours été plus infectés [189].

Par ailleurs, la séroprévalence a été plus élevée dans des élevages où les chiens ont consommé des avortons et/ou des placentas comparés aux fermes dans lesquelles, la destruction de ces produits est systématique [187]. Ainsi, les annexes fœtales des bovins ont été identifiées comme source potentielle de contamination des chiens de ferme [190]. Néanmoins, sa consommation répétée limite l'excrétion des ookystes de *N. caninum* par l'hôte définitif [190, 290, 656]. **Bergeron et al.** [75] n'ont observé aucune excrétion d'ookystes chez des chiens nourris avec des fœtus bovins naturellement infestés par *N. caninum*. L'autolyse contribue à la lyse du parasite et de la cellule hôte. Ainsi les tachyzoïtes de *N. caninum* ont le plus souvent été détruits dans les tissus [202] et ne constituent plus un facteur de risque

pour le chien. **Conrad et al. [141]** ont isolé des tachyzoïtes viables de *N. caninum* sur uniquement 4,1% (2/49) de fœtus confirmés positifs par des méthodes histologiques.

En plus des chiens de ferme, les chiens errants permanents ou occasionnels et des potentiels hôtes définitifs sauvages notamment le coyote et le renard ont été identifiés comme facteurs de risque d'exposition bovine dans les zones d'élevage [45, 47, 318, 651, 652, 657, 744, 760]. L'étroite relation phylogénétique entre le chien et le loup, ferait de ce dernier un hôte définitif potentiel sauvage de *N. caninum* [292]. La présence des anticorps anti *N. caninum* chez plusieurs espèces de la faune sauvage terrestre (Tableaux VII, VIII, IX et X pages 54 à 57) et marine (Tableau XI page 57) met en évidence, le rôle du cycle sylvatique de *N. caninum* dans le maintien de son cycle domestique (bovins - chien) [291].

**Tableau VII** : Séroprévalence de *N. caninum* chez les caniformes (*Caniformia*) sauvages (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
Dingo ( <i>Canis lupus dingo</i> )	Australie	52 (0,9), 117 (27)	[38]
	République Tchèque	10 (20)	[664]
Coyote ( <i>Canis latrans</i> )	Canada	183 (14,8)	[758]
	Etats – Unis	28-40-45 (17,9-15-2,2), 52 (10)	[291, 449]
Loup gris ( <i>Canis lupus</i> )	Brésil	59 (8,5)	[674]
	Israël	9 (0)	[691]
	Etats – Unis	122 (3,2), 164 (39)	[239, 291]
	Espagne	28 (21,4)	[680]
Chacal doré ( <i>Canis aureus</i> )	Israël	114 (1,7)	[691]
Loup à crinière ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	Brésil	48 (0), 59 (8,5)	[502, 741]
	République Tchèque	6 (16,6)	[664]
	Israël	9 (11,1)	[691]
Renard roux ( <i>Vulpes vulpes</i> )	Autriche	94 (0)	[757]
	Belgique	123 (78)	[100]
	Canada	270 (34,8)	[758]
	Allemagne	122 (2,5)	[662]
	Hongrie	337 (1,5)	[372]
	Irlande	206 (3%), 70 (1,4)	[531, 771]
	Israël	24 (4,1)	[691]
	Suède	221 (0)	[371]

**Tableau VII suite:** Séroprévalence de *N. caninum* chez les caniformes (*Caniformia*) sauvages (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
Renard roux ( <i>Vulpes vulpes</i> )	Angleterre	54 (2), 546 (0,9), 16 (6)	[38, 312, 675]
	Espagne	53 (69,8), 95 (3,2)	[481, 680]
Renard gris ( <i>Urocyon cinereoargenteus</i> )	Etats – Unis	26 (15,4)	[457]
Renard de Chiloé ( <i>Pseudalopex fulvipes</i> )	Chili	2 (100)	[581]
Fennec ( <i>Vulpes zerda</i> )	République Tchèque	2 (100)	[664]
Renard d'Aszara ( <i>Lycalopex gymnocercus</i> )	Brésil	12 (41,6)	[119]
Renard des savanes ( <i>Cerdocyon thous</i> )		2 (0), 15 (26,6)	[119]
Renard chenu ( <i>Dusicyon vetulus</i> )		30 (0)	[502]
Raton-laveur ( <i>Nyctereute procyonoides</i> )	Corée	26 (23)	[399]
Martre pêcheuse ( <i>Martes pennanti</i> )	République Tchèque	2 (50)	[664]
Raton-laveur ( <i>Procyon lotor</i> )	Etats – Unis	99 (10)	[456]
L'Ours noir ( <i>Ursus americanus</i> )		64 (0), 133 (0)	[239]
Blaireau ( <i>Meles meles</i> )	Espagne	31 (6,4)	[680]
Loutre d'Europe ( <i>Lutra lutra</i> )	Espagne	5 (0)	[680]
Putois ( <i>Mustela putorius</i> )	Espagne	2 (50)	[680]
Martre ( <i>Martes martes</i> )	Espagne	3 (66,7)	[680]
Fouine ( <i>Martes foina</i> )	Espagne	14 (21,4)	[680]

**Tableau VIII :** Séroprévalence de *N. caninum* chez les féloïdés (*Feliformia*) sauvages (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
Guépard ( <i>Acinonyx jubatus</i> )	République Tchèque	15 (13,3)	[664]
	Kenya	5 (60)	[265]
	Afrique du Sud	16 (6,3)	[129]
Jaguarundi ( <i>Herpailurus yaguarondi</i> )	République Tchèque	1 (100)	[664]
Lynx d'Eurasie ( <i>Lynx lynx</i> )	République Tchèque	2 (50)	[664]
Lynx ibérique ( <i>Lynx pardinus</i> )	Espagne	25 (12)	[680]
Lion indien ( <i>Panthera leo goojratensis</i> )	République Tchèque	2 (50)	[664]
Lion ( <i>Panthera leo</i> )	Afrique du Sud	18 (16,6)	[129]
	Kenya	20 (55)	[265]
Hyène tachetée ( <i>Crocuta crocuta</i> )	Kenya	3 (33,3)	[265]
Chat sauvage ( <i>Felis silvestris</i> )	Espagne	6 (16,7)	[680]

**Tableau IX** : Séroprévalence de *N. caninum* chez les équidés, ruminants et cervidés sauvages (modifié d'après Dubey *et al.* [237])

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
<b>Equidés</b>			
Zèbre ( <i>Equus burchelli</i> )	Kenya	41 (70,7)	[265]
<b>Ruminants et Cervidés</b>			
Antilope ( <i>Antilope cervicapra</i> )	République Tchèque	9 (22,2)	[664]
Cobe de Lechwe ( <i>Kobus leche</i> )		4 (25)	[664]
Buffle du cap ( <i>Syncerus caffer caffer</i> )		5 (20)	[664]
	Kenya	4 (50)	[265]
Impala ( <i>Aepyceros melampus</i> )	Kenya	14 (14,3)	[265]
Gazelle ( <i>Gazella thomsoni</i> )		26 (26,9)	[265]
Bouquetin d'Espagne ( <i>Capra pyrenaica hispanica</i> )	Espagne	3 (0)	[11]
Mouflon de corse ( <i>Ovis ammon</i> )		27 (0)	[11]
Mouflon à manchettes ( <i>Ammotragus lervia</i> )		13 (7,7)	[11]
Eland ( <i>Taurotragus oryx</i> )	République Tchèque	12 (8,3)	[664]
	Kenya	13 (92,3)	[265]
Bison d'Europe ( <i>Bison bonasus</i> )	République Tchèque	4 (25)	[664]
	Pologne	320 (7,3)	[106]
Bison d'Amérique du Nord ( <i>Bison bison</i> )	Etats – Unis	219 (0,4), 30 (13,3)	[239]
Boeuf musqué ( <i>Ovibos moschatus</i> )		224 (0,44)	[239]
Guib d'eau ( <i>Tragelaphus spekei gratus</i> )	République Tchèque	7 (14,3)	[664]
Cerf du père David ( <i>Elaphurus davidianus</i> )	République Tchèque	28 (25)	[664]
Daguet ( <i>Mazama sp.</i> )	Brésil	150 (42)	[713]
Cerf des pampas ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> )		23 (13), 16 (75)	[714]
Cerf - Thorold ( <i>Cervus albirostris</i> )	République Tchèque	7 (57,1)	[664]
Cerf Rouge ( <i>Cervus elaphus</i> )	Italie	125 (3,2), 102 (12,7)	[95, 264]
	Espagne	237 (11,8)	[11]
Cerf Sika ( <i>Cervus nippon pseudaxis</i> )	République Tchèque	3 (33,3)	[664]
Chevreuril ( <i>Capreolus capreolus</i> )	Italie	66 (7,6), 43 (37,2), 117 (3)	[95, 264, 280]
	Espagne	33 (6,1)	[11]
Daim ( <i>Dama dama</i> )	Espagne	79 (0)	[11]
Cerf à queue blanche ( <i>Odocoileus virginianus</i> )	Etats – Unis	23-147 (48-20), 400 (40,5), 43-150 (46,5-20), 305 (48)	[17, 210, 291, 451]
Cerf mulot de californie ( <i>Odocoileus hemionus columbianus</i> )		43 (8)	[226]
Cerf mulot ( <i>Odocoileus hemionus hemionus</i> )		42 (7)	
Isard ( <i>Rupicapra pyrenaica</i> )	Espagne	40 (0)	[11]
Chamois ( <i>Rupicapra rupicapra</i> )	Italie	503 (1,4), 119 (29,4), 67 (21)	[95, 264, 280]
Cerf Wapiti ( <i>Cervus elaphus canadensis</i> )	République Tchèque	1 (100)	[664]

**Tableau IX Suite** : Séroprévalence de *N. caninum* chez les équidés, ruminants et cervidés sauvages (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
Caribou ( <i>Rangifer tarandus</i> )	Etats – Unis	160 (3,1)	[239]
Elan ( <i>Alces alces</i> )		162 (2,4), 61 (13,1)	[239, 291]
Lama ( <i>Lama glama</i> )	Argentine	308 (4,6)	[520]
	Pérou	18 (38,8)	[666]

**Tableau X** : Séroprévalence de *N. caninum* chez les rongeurs et autres mammifères sauvages (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
<b>Rongeurs</b>			
Lapin européen ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	Espagne	251 (0)	[11]
Lièvre ibérique ( <i>Lepus granatensis</i> )	Espagne	53 (1,8)	[11]
Lièvre brun ( <i>Lepus europaeus</i> )	Hongrie	93 (8,6)	[256]
	Slovaquie	44 (6,8)	[256]
Rat brun ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Grenade	242 (4,6)	[382]
	Italie	103 (13,6)	[262]
Souris domestique ( <i>Mus musculus</i> )	Etats – Unis	79 (5)	[382]
	Italie	75 (13,8)	[262]
Souris sauvage ( <i>Apodemus sylvaticus</i> )	Italie	55 (3,6)	[262]
<b>Autres mammifères sauvages</b>			
Sanglier ( <i>Sus scrofa</i> )	Espagne	298 (0,3)	[11]
	République Tchèque	565 (18,3)	[63]
Phacochère ( <i>Phacochoerus aethiopicus</i> )	Kenya	6 (66,7)	[265]
Phalanger renard ( <i>Trichosurus vulpecula</i> )	Australie	142 (0)	[255]

**Tableau XI** : Séroprévalence de *N. caninum* chez les mammifères marins (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Espèce animale	Pays	Echantillon (% Positif)	Références
Loutre de mer ( <i>Enhydra lutris</i> )	Etats – Unis	30 (36,7), 115 (14,8)	[242]
Morce ( <i>Odobenus rosmarus</i> )		53 (5,6)	[242]
Lion de mer ( <i>Zalophus californianus</i> )		27 (3,7)	[242]
Phoque annelé ( <i>Phoca hispida</i> )		331 (3,5), 117 (8)	[242, 278]
Phoque commun ( <i>Phoca vitulina</i> )		32 (12,5)	[242]
Phoque barbu ( <i>Erignathus barbatus</i> )		8 (12,5)	[242]
Phoche tacheté ( <i>Phoca largha</i> )		9 (0), 28 (7)	[242, 278]
Phoque à Ruban ( <i>Phoca fasciata</i> )		14 (0)	[242]
Dauphin ( <i>Tursiops truncatus</i> )		47 (91,4)	[242]
Orque ( <i>Orcinus orca</i> )	Japon	8 ((12,5)	[551]

### 2.3 - Autres carnivores.

Le chat domestique n'a jamais été incriminé comme hôte définitif de *N. caninum* [490]. Une étude épidémiologique a observé un effet protecteur de la présence de chats sur une ferme [564]. En tant que prédateur, il réduirait l'accès des tissus infectés aux hôtes intermédiaires (souris, volailles...), vecteurs des formes parasitaires de *N. caninum*. Par ailleurs, cet effet protecteur du chat pourrait être lié à l'absence de chiens dans l'exploitation [237].

### 2.4 - Hôtes intermédiaires autres que les bovins.

Des anticorps de *N. caninum* ont été mis en évidence chez des espèces animales autres que les bovins et canins (**Tableau XII**). Plusieurs espèces, hôtes intermédiaires de *N. caninum* peuvent être des sources d'infections pour les chiens et autres canidés. La présence d'ADN de *N. caninum* dans le cerveau des rats et souris naturellement infectés [262] indique qu'ils pourraient être une source d'infection pour les carnivores, hôtes définitifs de *N. caninum* [9, 50, 145, 199, 230, 233, 247, 358, 359, 364, 382, 431, 590, 667, 681, 764, 772]. Une étude française a mis en évidence, une relation entre la présence de lapins et/ou de canards et la séropositivité dans des élevages laitiers [564]. Par ailleurs, le risque de séropositivité associé aux avortements a augmenté avec la présence de chiens de fermes, de volailles et de chevaux dans des exploitations bovines [62, 347, 561].

**Tableau XII** : Séroprévalence de *N. caninum* chez des espèces autres que les bovins et les canins domestiques (modifié d'après **Dubey et al.** [237])

Hôtes	Pays	Echantillon (%Positif)	Références
Chat domestique ( <i>Felis domesticus</i> )	Brésil	400 (24,5), 502 (11,9)	[96, 225]
	Italie	282 (31,9)	[261]
	Hongrie	330 (0,6)	[352]
Dromadaire ( <i>Camelus dromedarius</i> )	Egypte	161 (3,7)	[337]
	Iran	120 (5,8)	[636]
Ovin ( <i>Ovis ovis</i> )	Brésil	597 (9,2), 305 (9,5), 409 (1,8), 62 (3,2)	[266, 629, 679, 742]
	Suisse	117 (10,3)	[319]
	Angleterre	660 (0,45)	[323]
	Italie	1,010 (2)	[280]

**Tableau XII Suite** : Séroprévalence de *N. caninum* chez des espèces autres que les bovins et les canins domestiques (modifié d'après **Dubey et al. [237]**)

Hôtes	Pays	Echantillon (%Positif)	Références
Caprin ( <i>Capra hircus</i> )	Costa Rica	81 (6,1)	[230]
	Sri Lanka	486 (0,7)	[532]
	Brésil	306 (3,3), 394 (6,4)	[257, 267]
	Taiïwan	24 (0)	[553]
Llama ( <i>Lama glama</i> )	Perou	73 (32,9), 81 (1,2)	[126, 666, 770]
	Allemagne	20 (0)	[770]
Alpaca ( <i>Vicugna pacos</i> )	Perou	78 (35,9), 32 (37,5), 657 (2,6)	[126, 666, 770]
	Allemagne	12 (0)	[770]
	Minnesota	61 (13,1)	[291]
Vicugna ( <i>Vicugna vicugna</i> )	Perou	114 (0)	[770]
Buffle des eaux ( <i>Bubalus bubalis</i> )	Argentine	449 (64)	[111]
	Brésil	411 (56), 196 (70,9), 222 (53), 164 (14,6)	[183, 279, 285, 742]
	Egypte	75 (60)	[234]
	Italie	1,377 (34,6)	[303]
	Chine	40 (0)	[789]
	Vietnam	200 (1,5)	[361]
	Allemagne	2,041 (0,04 – 3,3)	[161]
Porc ( <i>Sus scrofa</i> )	Angleterre	454 (0)	[323]
	Chine	946 (2,2)	[458]
Equin ( <i>Equus caballus</i> )	Argentine	76 (0)	[240]
	Brésil	101 (0), 961 (2,5), 36 (47), 1106 (10,3)	[213, 343, 460, 740]
	Chili	145 (32)	[579]
	France	434 (23), 45-54-76 (77,7-50-77,6), 50 (6)	[596, 599, 600]
	Italie	150 (28)	[134]
	Israël	800 (11,9)	[408]
	Corée du Sud	191 (2)	[305]
	suède	414 (9)	[373]
	Etats – Unis	536 (11,5), 296 (21,3), 276 (31,1), 1,917 (30,4), 140-160 (13-8), 208 (17)	[128, 229, 235, 344, 494, 734]

## 2.5 - Pâturage, fourrage et eau de boisson.

Le pâturage, le fourrage, et l'eau de boisson contaminés par des ookystes de *N. caninum* ont été reconnus comme sources potentielles d'infection du bétail. Dans le nord-ouest des États-Unis ainsi qu'en Italie, la mise en pâture du bétail, en été, semble être un facteur de protection [561, 641]. Bien

que les canidés sauvages et les chiens aient libre accès aux pâturages, les ookystes excrétés seraient soit insuffisants pour induire une infection, soit incapable de résister aux conditions climatiques. Malheureusement, peu d'informations sont disponibles sur la résistance des ookystes dans le milieu extérieur.

Dans les élevages allaitants, l'utilisation des bottes de foin semblent être un facteur de risque d'infection des animaux [45]. En effet, en absence de local de vêlage, les mises bas ainsi que l'expulsion des placentas se font souvent à proximité des balles de foin destinées à l'alimentation des animaux. Ainsi, l'hôte définitif se contamine en consommant les produits de la mise bas infectés, tout en contaminant la litière et le foin des bovins [45]. Toutefois, le mode d'alimentation individuelle des vaches a été identifié comme facteur protecteur [45].

L'utilisation d'un cours d'eau en lieu et place de l'adduction d'eau potable pour l'abreuvement des animaux a été un facteur de risque pour l'infection des bovins par *N. caninum* [564]. La mise en évidence de *N. caninum* chez les mammifères marins par **Dubey et al.** [242] confirme sa présence dans l'eau de mer.

## **2.6 - Consommation du colostrum ou du lait.**

Des études expérimentales ont démontré une infection de veaux nouveau-nés par ingestion de lait contenant des tachyzoïtes [167, 726]. Toutefois, l'allaitement de veaux nés de femelles séronégatives par des vaches séropositives n'a pas induit une infection [167]. La présence d'ADN de *N. caninum* dans du lait de vache [522, 524] a suscité des recherches sur la transmission lactogène de *N. caninum*. Toutefois, la consommation du colostrum constitue un facteur de risque de séropositivité [148].

## **2.7 - Origine des génisses de remplacement.**

La production de génisses de remplacement au sein de l'exploitation constitue un facteur de risque qui concourt à la persistance de l'infection dans une ferme [45, 276, 693]. En revanche, une bonne gestion

de la réforme et l'introduction de génisses indemnes permettraient de réduire l'infection dans les élevages [45, 317, 318].

### **2.8 - Conditions climatiques.**

Les conditions climatiques ont été identifiées comme facteurs de risque d'infection bovine à *N. caninum* [621, 651]. En effet, le climat a une influence sur la sporulation et la survie des ookystes. Néanmoins, la limite de température favorable à la sporulation de ces ookystes n'a pas encore été déterminée.

### **2.9 - Présence des anticorps des autres agents infectieux.**

L'infection à *N. caninum* a été associée à la présence d'un certain nombre d'agents infectieux notamment celui de la diarrhée virale bovine virus (BVDV) [82], de l'herpès viral bovin de type 1 (BHV-1) [622] et du Syndrome d'Immuno Déficience Acquise chez l'homme [459]. Ainsi, *N. caninum* serait un protozoaire opportuniste.

### **2.10 - Système d'élevage.**

Le mode de gestion du troupeau bovin représenterait un facteur de risque d'infection par *N. caninum* [57]. En effet, les bovins élevés en mode intensif se sont avérés plus sensibles à la néosporose que ceux conduits au pâturage dans les zones des hauts plateaux à faible densité d'élevage [57]. Ainsi, la forte densité animale a contribué à l'augmentation du taux d'infection par *N. caninum* dans l'élevage bovins [45, 47, 641]. Les élevages mis en cause font d'énormes réserves alimentaires qui attirent les vecteurs mécaniques d'ookystes de *N. caninum* notamment les rongeurs et des volailles. Ainsi, l'hôte définitif se contamine lors de l'ingestion de ces proies et excrète des ookystes de *N. caninum* dans l'aliment et l'eau de boisson destinés au bétail [45, 47, 148, 561, 651].

### 3 – Risques d'avortements.

Les facteurs de risque d'infections peuvent être différents de ceux qui augmentent le risque d'avortements dans une exploitation. Les facteurs de risque analysés ont été fondés sur des études limitées à des troupeaux qui ont présenté des flambées d'avortements [62, 517, 774]. Par conséquent, les facteurs de risque identifiés dans ces études peuvent être uniquement liés à la survenue d'avortements en série.

#### 3.1 - Séropositivité des bovins.

Des études ont montré qu'une vache séropositive a plus de chance d'avorter qu'une vache séronégative [15, 146, 166, 170, 282, 318, 336, 384, 411, 468, 469, 477, 512, 514, 518, 519, 566, 575, 651, 659, 660, 661, 694, 712, 727, 747, 762]. Cependant, la relation entre la séropositivité et les avortements dans un troupeau d'animaux peut considérablement varier en fonction du test sérologique utilisé ou de la valeur seuil prédéfinie [653, 753]. Le risque d'avortements a augmenté avec le taux sérique d'anticorps anti - *N. caninum* [392, 471, 489, 604, 660, 661, 693, 694, 747, 774]. De **Meerschman et al.** [176] ont observé une forte association entre le taux maternel d'anticorps sérique et l'apparition de lésions histopathologiques évoquant une infection à *N. caninum* chez l'avorton. Une forte concentration en anticorps témoignerait soit d'une forte dose d'infestation, soit de l'efficacité de la multiplication parasitaire chez l'hôte infesté.

Dans le cas d'une infection latente, un titre élevé d'anticorps pourrait être la preuve d'une recrudescence de l'infection. L'intensité et la cinétique des anticorps spécifiques pendant la gestation représenteraient des facteurs de risque d'expulsion foetale avant terme [10, 185, 306, 604, 693].

#### 3.2 - Séroprévalence dans le troupeau.

La séroprévalence de *N. caninum* a été évaluée aussi bien chez des bovins laitiers que chez des bovins allaitants [237]. Plusieurs études ont observé qu'une forte séroprévalence à *N. caninum* dans des troupeaux a été associée à un risque accru d'avortements [62, 271, 347, 572, 619, 637, 651, 774].

Mais, l'avortement n'est pas systématique en cas d'infection [384, 517, 544, 572, 651] et le taux d'avortements peut régresser au fil des années dans un troupeau fortement infecté [90, 566, 593, 598]. Ainsi, d'autres facteurs auraient une influence sur le taux d'avortements chez des vaches positives à *N. caninum*.

### 3.3 - Facteurs de risque associant *N. caninum* – avortements.

Plusieurs facteurs de risque ont associé l'infection à *N. caninum* aux avortements observés dans les élevages. Cependant, un certains nombres de facteurs identifiés comme protecteurs pour l'infection à *N. caninum* semblent agir sur le risque qu'une femelle positive à *N. caninum* avorte.

#### 3.3.1 – Age de l'animal

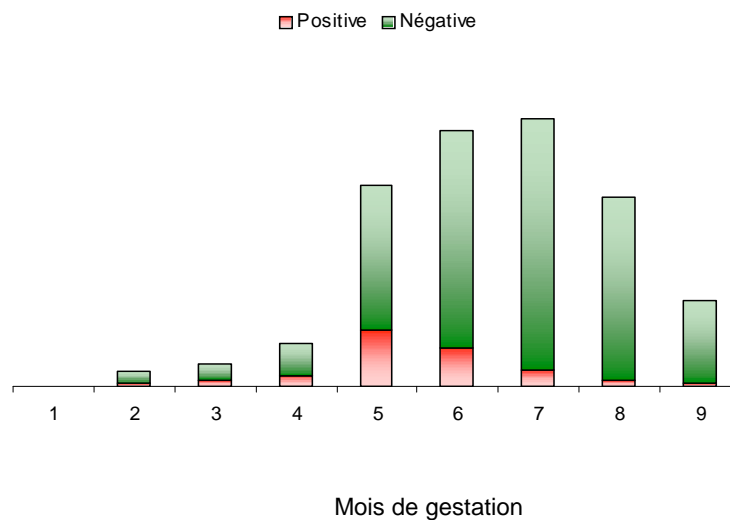
L'âge de l'animal a été un facteur de risque de l'infection à *N. caninum* associée aux avortements. En effet, l'évolution épidémique de l'association *N. caninum* - avortements a mis en évidence une augmentation des avortements avec la parité de la vache [774].

Toutefois, certains troupeaux dans lesquels des avortements endémiques dus à *N. caninum* ont été observés, l'âge n'a pas semblé être un facteur de risque dans la mesure où le numéro de lactation a été identifié comme un probable facteur de protection [467, 709]. En effet, dans une étude évaluant le risque d'avortements dans un troupeau, les auteurs ont observé qu'une génisse infectée *in utero* a 7,4 fois plus de chance d'avorter au cours de la première gestation, mais, a 1,7 fois de chance d'avorter au cours de la deuxième gestation. Ainsi, le risque d'avortement décroît avec la parité dans les avortements endémique à *N. caninum* [331, 709].

#### 3.3.2 - Stade de gestation

La mort fœtale peut survenir à tous les stades de gestation. Les avortements à *Neospora* ont été observés entre le 2<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> mois de gestation avec une forte prévalence dans le deuxième tiers de

gestation (**Figure 2**) [16, 18, 637]. La réceptivité fœtale pourrait être variable en fonction du stade de gestation. En effet, avant le 7<sup>ème</sup> mois de gestation, le fœtus bovin n'a pas encore acquis son immunocompétence. D'autre part, les lésions des jeunes fœtus sont plus sévères que celles des plus âgés [548]. Chez les mères infectées chroniquement, il semble qu'il y ait une augmentation de la production d'anticorps sériques (*N. caninum*) entre le 3<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> mois de gestation suivie d'une chute du taux d'anticorps jusqu'au terme [329]. Cette stimulation de la réponse immunitaire humorale pourrait correspondre à une réactivation parasitaire suivie de la contamination fœtale. Les titres d'anticorps observés chez les vaches avortées ont été statistiquement plus élevés que ceux observés chez les non-avortées.



**Figure 2** : Fréquence des avortements des vaches positives à *N. caninum* en fonction du stade de gestation

### 3.3.3 - Présence de chiens de ferme.

La présence de chiens de ferme, leurs nombres et la fréquence de leurs défécations dans les mangeoires des bovins ont été associés à une augmentation du risque d'avortement dans le troupeau [62, 347]. **Wouda et al.** [776] ont observé une corrélation positive entre la séropositivité des chiens de ferme et l'augmentation de la séroprévalence chez les bovins.

Par contre, d'autres études n'ont pas observé une association entre la présence de chiens et l'apparition d'avortements chez les bovins [271, 477, 632].

### **3.3.4 - Présence d'autres hôtes.**

La présence de canidés sauvages ou de chats domestiques errants occasionnels ou permanents a été identifiée comme facteur protecteur des avortements à *N. caninum* dans les exploitations bovines [347, 564]. En effet, la présence de chats est inversement proportionnelle à la présence de chiens, potentiel excréteur d'ookystes responsables de l'entretien de la transmission horizontale dans le troupeau [347].

Par ailleurs, la présence de volailles, hôte intermédiaire et vecteurs mécaniques de *N. caninum* [152, 561] a été associée aux flambées d'avortements dans certains troupeaux. Le risque de contamination semble augmenter avec le nombre de chiens de ferme lorsque les volailles sont présentes sur l'exploitation [561].

### **3.3.5 - Alimentation.**

L'aliment (fourrage vert, foin, ensilage) contenant des moisissures constituerait un facteur de risque d'infection épidémique à *N. caninum* [62]. En effet, les toxines fongiques contenues dans ces aliments auraient un effet immunodépresseur sur les animaux contaminés [62, 707, 774]. En outre, l'aliment pourrait contenir des ookystes de *N. caninum* excrétés par l'hôte définitif. Par ailleurs, le déficit alimentaire constituerait un facteur de stress, responsable de l'augmentation du risque d'avortements dans des troupeaux séropositifs.

### **3.3.6 - Climat et saison.**

Les avortements imputés à *N. caninum* surviennent toute l'année [16, 707]. Cependant, des auteurs ont observé une fluctuation saisonnière en Californie où des cas ont surtout été observés en hiver [16, 707]. Les mêmes observations ont été faites au Pays Bas en été [62, 774]. Ces variations peuvent être liées

à l'humidité et au regroupement des animaux dans les locaux. Par ailleurs, les précipitations ont été identifiées comme facteurs de risque d'avortement dans des troupeaux laitiers positifs à *N. caninum* [467]. En plus du stress qu'occasionnent ces précipitations sur les animaux, elles contribuent à l'altération de la qualité de l'aliment et de l'hygiène dans les élevages. En conséquence, elles entretiennent l'humidité favorable d'une part, à la sporulation et la survie des ookystes coccidiens et d'autre part, à la croissance fongique dont les toxines immunodépressives pour les bovins peuvent être favorables à la recrudescence de l'infection latente à *N. caninum* [62, 707, 774] et à la survenue des avortements [467].

Cependant l'utilisation d'outils bитеchnologiques pour la planification des naissances dans les élevages pourrait expliquer la recrudescence préférentielle des avortements à certaines périodes de l'année.

### 3.3.7 – Présence d'autres agents infectieux.

Des agents infectieux ont été identifiés comme des facteurs de stress, responsables d'une immunodépression associée à une recrudescence de l'infection latente à *N. caninum* [82, 711]. La vaccination contre ces agents infectieux pourrait amoindrir le stress dans le troupeau, réduisant ainsi les risques d'avortements suite à une infection par *N. caninum* [347]. Toutefois, dans les études épidémiologiques, la sérologie reste difficile à interpréter dans la mesure où il est difficile de préciser l'origine vaccinal ou sauvage des anticorps observés.

Dans certains élevages, les avortements néosporiques ont été principalement associés à la présence d'anticorps anti - *Coxiella burnetii* et secondairement à la présence des anticorps anti - BVD, *Chlamydoxyla*, *Leptospira sp.* dans les troupeaux suivis [318, 619]. Cependant, dans un modèle multivarié, seule la positivité à la BVD semblerait être un facteur de risque de l'association *N. caninum* – avortements. Néanmoins, le statut sérologique des troupeaux à *Coxiella*, *Chlamydoxyla sp.* et *Leptospira sp.* n'a pas été considéré comme un facteur de risque d'avortements suite à une infection par *N. caninum* [318]. En revanche, aucune relation significative n'a été observée entre la séropositivité

à la diarrhée virale bovine (BVD), à l'herpes bovin à virus (BHV-1), à la leptospirose (*Leptospira interrogans* sérovar *hardjo*), ainsi qu'à la salmonellose (*Salmonella enterica* sérotype *Dublin*) et les risques d'avortement à *N. caninum* [62].

### 3.3.8 – Logement des animaux.

Le risque d'infection – avortement par *N. caninum* a été influencé par le type de logement [318, 564]. La forte densité animale dans les exploitations bovines en stabulation libre a été un facteur de risque d'avortements dus à *N. caninum* [318, 651]. Ces auteurs ont remarqué une mauvaise gestion du troupeau dans ces élevages, favorable à l'infection ou à la recrudescence de l'infection latente associée aux avortements. L'utilisation des locaux de vêlage pour la quarantaine des animaux malades a augmenté les risques d'infection et d'avortements à *N. caninum* [62]. Par contre, une meilleure gestion du troupeau a réduit le taux de séroprévalence dans des troupeaux bovins en stabulation libre [564] ainsi que le risque d'avortement chez des génisses en stabulation entravée [347]. En conséquence, l'inaccessibilité des chiens de ferme à l'alimentation du bétail, à la litière ainsi qu'aux placentas a considérablement réduit la transmission horizontale de *N. caninum* dans ces exploitations.

### 3.4 – Croisement entre races bovines

Le métissage stimulerait chez la vache, la production des « pregnancy – associated glycoproteins » (PAG), hormone impliquée dans le maintien de la gestation. Ainsi, l'utilisation de la semence de bovins à viandes a réduit le risque d'avortements dus à *N. caninum* dans des troupeaux de bovins laitiers séropositifs [10, 467, 471]. Toutefois, *N. caninum* n'affecté pas la concentration plasmatique de PAG chez des vaches infectées chroniques qui n'ont pas avortées [466].

Cette stratégie pourrait être bénéfique pour les éleveurs qui d'une part, réformeront tardivement les femelles laitières à avortements répétitifs (*N. caninum*) et d'autre part, produiront des veaux de boucherie.

### 3.5 - Facteurs de risque associés à la reproduction.

L'importance de la néosporose évaluée dans des élevages bovins est surtout économique car elle est susceptible d'induire des avortements et d'autres troubles de la reproduction notamment :

- Les mortalités embryonnaires ;
- L'allongement de l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante ;
- La rétention des annexes fœtales.

#### 3.5.1 - Mortalités embryonnaires et intervalle vêlage - insémination fécondante

Une relation entre la séropositivité à *N. caninum* et le nombre d'insémination pour qu'une gestation soit constatée a été observée dans des élevages bovins laitiers [693]. En effet, des auteurs ont remarqué que des vaches séropositives à *N. caninum* ont nécessité 4,0 inséminations par gestation contre 2,2 inséminations chez les séronégatives [311]. Toutefois, des génisses positives à *N. caninum* ont 1,8 fois plus de chance de demeurer non gestante après une insémination comparé aux séronégatives [530]. Cependant, d'autres auteurs n'ont observé aucune influence de la séropositivité sur le nombre d'insémination dans des troupeaux [86]. A l'inverse, **Santolaria et al.** [642] ont dévoilé que les lésions placentaires et fœtales induites par l'infection à *N. caninum* pourraient stimuler d'une part, la synthèse des prostaglandines F2 $\alpha$  et d'autre part, l'involution utérine. En conséquence, les vaches séropositives sont remises à la reproduction plutôt que leurs congénères séronégatives après un avortement.

Le plus grand nombre d'inséminations requis pour concevoir peut s'expliquer par une augmentation de la mortalité embryonnaire chez les séropositives, qui allonge l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante. **Hall et al.** [311] ont observé un retard de 22,5 jours dans la conception des vaches séropositives, comparées aux séronégatives. Toutefois, cette différence n'est pas significative.

Une étude canadienne a montré une corrélation positive entre les avortements dus à *N. caninum* et le taux de retour en chaleurs après insémination fécondante [347]. Ainsi, du fait de son tropisme génital, *N. caninum* serait responsable aussi bien d'avortements précoces que tardifs [530, 709, 747, 750, 753].

En conséquence, l'accessibilité des hôtes définitifs aux produits infectieux issus d'avortements précoces entretiendrait le cycle de *N. caninum* dans l'exploitation.

Par ailleurs, des bovins infectés expérimentalement à J<sub>70</sub> post insémination avec une dose élevée de tachyzoïtes de *N. caninum* ont été plus sensibles aux avortements que des bovins infectés entre J<sub>140</sub> et J<sub>210</sub> post insémination [765]. Toutefois, des études épidémiologiques n'ont observé aucune preuve que *N. caninum* soit responsable de mortalités embryonnaires précoces dans le cheptel [86, 384, 469, 470, 639].

Ces études indiquent que la néosporose devrait systématiquement être diagnostiquée lors de l'allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante dans les élevages.

### 3.5.2 - Involution utérine et rétention placentaire

L'infection par *N. caninum* provoque d'une part, des lésions placentaires et fœtales et d'autre part, stimule la réponse immunitaire de la femelle gestante pouvant conduire à l'avortement [202, 237]. Ce phénomène inflammatoire post – infectieux pourrait induire la synthèse des prostaglandines F<sub>2α</sub> qui déclencheront la lutéolyse et les contractions utérines prématurées conduisant à l'expulsion du fœtus avant terme [202]. Par ailleurs, la libération de cette PGF<sub>2α</sub> incite l'involution utérine et par conséquent, la remise précoce des femelles à la reproduction. Ainsi, **Santolaria et al.** [642] ont observé une réduction de l'intervalle avortement – insémination fécondante chez les femelles positives à *N. caninum* par rapport aux séronégatives. En conséquence, la fécondité serait plus élevée chez les vaches séropositives à *N. caninum* après l'avortement. A l'inverse, d'autres auteurs ont remarqué que les avortements à *N. caninum* pourrait augmenter les risques de rétention placentaire [62, 347]. Un taux élevé de non délivrance dans un élevage contaminé favoriserait l'infection des hôtes définitifs excréteurs d'ookystes favorable à la persistance de la transmission horizontale. En conséquence, *N. caninum* pourrait en plus d'induire des avortements, être impliqué dans la physiopathologie de la délivrance.

## Chapitre III

---

### ETUDE CLINIQUE, DIAGNOSTIC, PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT DE LA NEOSPOROSE

---

**KAMGA WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, AMIRAT BRIAND L.<sup>2</sup>, BENCHARIF D.<sup>2</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup>, et  
TAINTURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal). BP : 5077 Dakar – Fann – Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole – La Chantrerie. BP : 40706 - 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉ Correspondant : akwar2003@yahoo.fr; a.kamga@eismv.org

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (3-4) : 155 - 179

## Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de la néosporose

### Résumé

La présente synthèse fait le point sur les signes cliniques, le diagnostic, la prophylaxie et le traitement de la néosporose, une protozoose due à *Neospora caninum*. La néosporose est principalement une pathologie bovine responsable des troubles de la reproduction. Le chien et certains canidés sont des hôtes définitifs de *N. caninum*. La néosporose se manifeste cliniquement par des avortements chez la vache et des troubles nerveux chez les nouveau-nés de nombreux mammifères domestiques et sauvages. Plusieurs outils de diagnostic ont été mis au point pour la recherche et l'identification du parasite. Les molécules utilisées pour le traitement de la néosporose blanchissent les animaux, limitent la transmission placentaire et par conséquent, réduisent le taux d'avortements et/ou de mortalités embryonnaires chez les femelles gestantes positives à *N. caninum*. Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable. Ainsi, le dépistage de *N. caninum* devrait systématiquement être réalisé avant toute introduction d'animaux dans un cheptel sain.

**Mots - clés :** *Neospora caninum*, étude clinique, diagnostic, prophylaxie, traitement.

## Clinical signs, diagnosis, prophylaxis and treatment of neosporosis

### Abstract

We report in this literature review, clinical signs, diagnosis, prophylaxis and treatment of neosporosis, a protozooisis due to *Neospora caninum*. Neosporosis is mainly a disease of cattle that causes reproductive problems. Dog and some canids have been identified as definitive hosts of *N. caninum*. Neosporosis manifests clinically by abortions in cows and nervous diseases in new-born of several domestic and wild mammals. Several methods of diagnosis have been developed for the detection and identification of the parasite. Medication can improve clinical condition but not eliminate *N. caninum* infection. The treatments confine placental transmission and therefore reduce the rate of abortions and/or embryonic mortality among pregnant positive *N. caninum*. Although these therapies have shown some effectiveness, prognosis has not always been favourable. Thus, screening of *N. caninum* should be systematically done before introducing new animals in a healthy herd.

**Keywords:** *Neospora caninum*, clinical signs, diagnosis, prophylaxis, treatment.

## **Introduction**

*Neospora caninum* est un protozoaire [250, 483] cosmopolite impliqué dans les avortements chez la vache et dans des pathologies néonatales chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages [195, 237]. Les avortements ont principalement lieu dans le deuxième tiers de gestation. Ces avortements peuvent être d'allures épidémiques, endémiques ou sporadiques et se produisent toute l'année [16, 707, 779]. Par ailleurs, les vaches séropositives sont plus susceptibles d'avorter que les vaches séronégatives [170, 175, 512, 514, 709, 747, 779].

Le fœtus peut mourir et être expulsé de la cavité utérine ou se momifier. Il pourrait naître à terme mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique. 95% de veaux nés vivants de mères séropositives sont cliniquement normaux, mais, porteurs de parasites [576]. Ainsi, l'importance de la néosporose est surtout économique en raison des pertes qu'elle induit dans les exploitations.

Le diagnostic de suspicion est réalisé par la sérologie. La confirmation se fait par identification de l'agent pathogène et/ou des lésions caractéristiques par des techniques histologiques, immunohistochimiques ou « Polymerase Chain Reaction » (PCR). La pathogénie de la néosporose restant mal connue, il est difficile d'assurer sa prophylaxie. Certaines molécules ont été proposées dans le traitement de cette affection avec des succès variables. Les connaissances épidémiologiques de la maladie sont encore très parcellaires. Cependant, *N. caninum* semble prendre une place importante dans l'étiologie des avortements d'origines inconnues chez les bovins dans la plupart des pays où il a été recherché.

## **I – Etude clinique**

### **1 - Symptômes**

#### **1.1 - Néosporose bovine**

La néosporose bovine se manifeste principalement par des avortements, et secondairement par des troubles neurologiques chez les veaux dans les premières semaines de vie [196, 237].

### 1.1.1 - Avortements

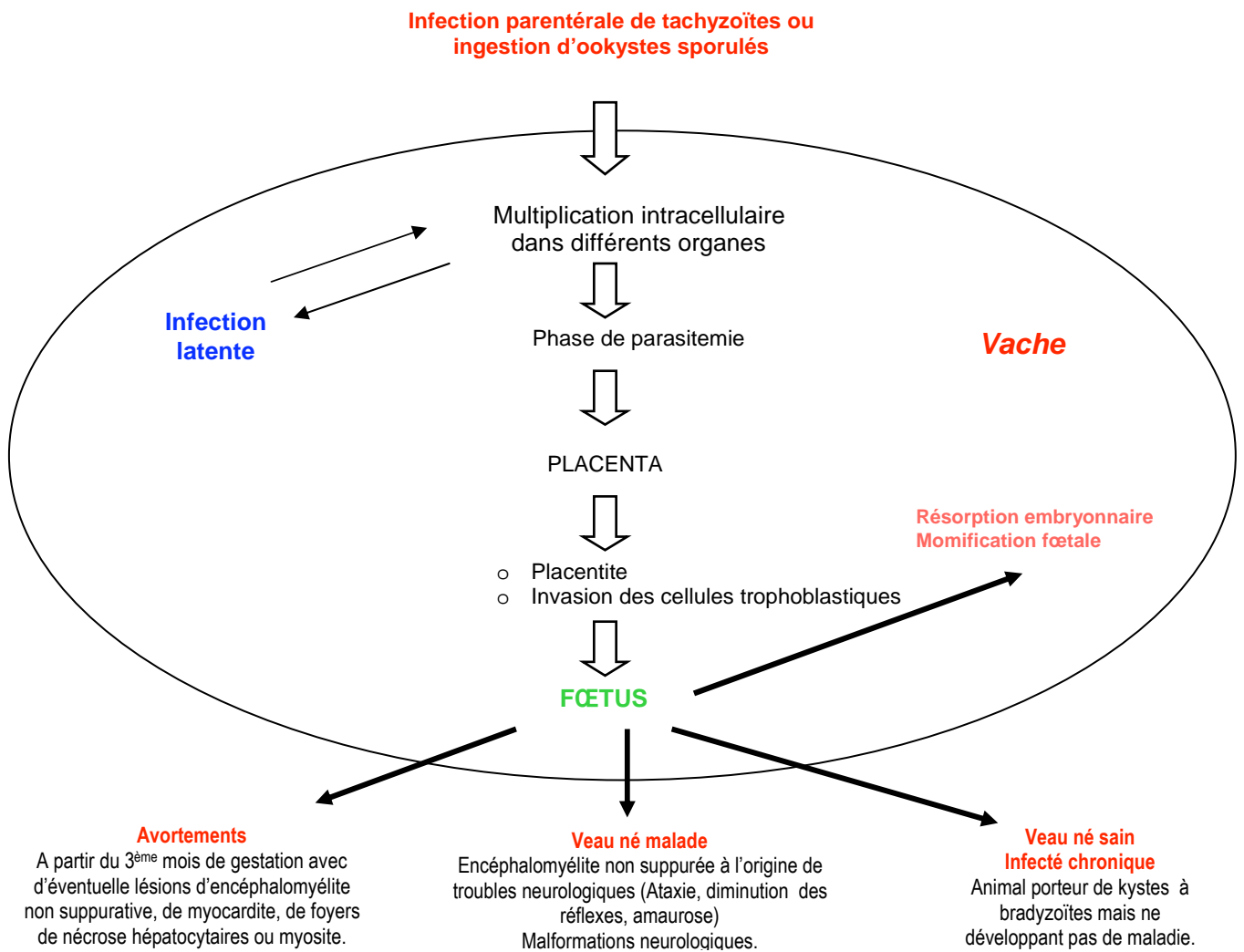
Le premier avortement bovin attribué à *N. caninum* a été observé en 1989 [704]. Dans un premier temps le parasite incriminé était un agent de type « *T. gondii-like* ». Ce n'est qu'avec la production de sérum anti - *N. caninum* que des analyses immunohistochimiques ont confirmé le diagnostic d'avortement à *N. caninum* [444].

*N. caninum* est une cause majeure d'avortements chez les bovins [237]. Son pouvoir pathogène a été mis en évidence aussi bien chez la vache gravide que chez le veau nouveau-né [103, 217] (**Figure 1**).

Chez la femelle gravide, *N. caninum* serait responsable de 15 à 20% des avortements soumis à un diagnostic de laboratoire [15, 318]. Le fœtus peut mourir et être expulsé de la cavité utérine dans les 48 heures ou se momifier. Par ailleurs, il pourrait naître à terme mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique. 95% de veaux nés vivants de mères séropositives sont cliniquement normaux, mais, porteurs de parasites [49, 55, 217, 576, 597, 765]. Lorsqu'une vache a avorté de *N. caninum*, elle a 5% de chance de recidiver l'année suivante [18, 163, 545, 774, 778], comme si une immunité naturelle était apparue chez la mère [254, 487, 767].

Par ailleurs, les avortements dus à *N. caninum* ne sont associés à aucun signe clinique. Ils sont apyrétiques. Cependant, l'incidence de la maladie sur la mortalité embryonnaire reste encore méconnue. Le devenir de la gestation dépend de l'âge du fœtus, de l'importance de la parasitémie, de la souche de *N. caninum* [366], de la présence de d'autres agents infectieux [82, 730].

Lorsque la femelle n'avorte pas, elle vèlle le plus souvent des séropositifs [576, 597]. Le retour en chaleurs de la femelle apparaît dans les délais. Néanmoins, du fait de son tropisme pour l'appareil génital, *N. caninum* pourrait être à l'origine d'une baisse des performances de reproduction dans les élevages. Ainsi, des problèmes de fécondité ont été remarqués dans des exploitations notamment, l'allongement de l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante [237].



**Figure 1** : Physiopathogénie de l'infection par *Neospora caninum* chez les bovins et conséquences pour le fœtus (modifié d'après Dubey et Lindsay [217]).

### 1.1.2 – Pathologie du nouveau - né

Les veaux nés vivants de mères séropositives ont 95 % de chance d'être porteurs de parasites avant la prise du colostrum [49, 55, 217, 576, 597, 765]. Ces veaux peuvent dans certains cas, présenter un mauvais état corporel associés à :

- des troubles neurologiques (ataxie, diminution des réflexes, perte de la proprioception, hyperextension des membres) [52, 140, 171, 198, 204, 206, 211, 228, 300, 365, 576],
- des anomalies oculaires congénitales (exophtalmie, strabisme) [461],
- des malformations vertébrales liées à une atteinte des neuroblastes [15, 51, 140, 206, 217, 228, 578].

Chez ces animaux, l'infection parasitaire est caractérisée essentiellement par des lésions d'encéphalomyélite non-suppurative et de myosite [217]. Le plus souvent, ces manifestations cliniques surviennent dans les premières semaines de vie (moins de deux mois) et elles résulteraient d'une infection *in utero* conduisant à mort de l'animal ou son euthanasie pour raisons éthiques.

## 1.2 - Néosporose chez les autres espèces

### 1.2.1 - Chien

Le rôle pathogène de *N. caninum* a été décrit pour la première fois chez le chien en 1984 [81]. Ainsi, le parasite est responsable d'une atteinte neuromusculaire chez des chiots âgés d'environ quatre semaines. Cependant, des cas de néosporose ont été observés chez des chiots de deux jours [40] comme chez des chiens de 15 ans [203]. Aucune prédisposition du sexe ou de la race n'a été observée. En revanche, la maladie sévit en général chez plusieurs chiots de la même portée, car contaminés congénitalement. Les chiots infectés par *N. caninum* ont développé une parésie progressive et ascendante portant essentiellement sur les membres postérieurs [440, 586]. Ils ont une démarche en « saut de lapin » au début de l'expression clinique, puis, adoptent une posture dite en « phoque » suite à une hyperextension des membres postérieurs lors de l'évolution de la maladie [241, 601]. D'autres anomalies sont observées notamment :

- la paralysie des muscles masticateurs se manifestant par une impossibilité à ouvrir la bouche [217] ;
- une parésie flasque accompagnée d'une fonte musculaire suivi de la mort par insuffisance cardiaque [546] ;
- l'atteinte du système nerveux central conduisant à l'ataxie, au syndrome vestibulaire, au nystagmus, à une anisochorie, à des crises épileptiformes et à des troubles du comportement [205, 237, 241].

Par ailleurs, le suivi de gestation chez des chiennes a mis en évidence, des mortalités et des résorptions fœtales répétitives chez les positives à *N. caninum* [Tainturier, Observations

**personnelles**]. Cependant, l'infection parasitaire s'est rarement traduit par une pneumonie [302], une dermatose nodulaire [227, 273, 586], ou une atteinte inflammatoire des glandes annexes du tube digestif [203, 208, 440].

A l'autopsie, les lésions ne sont en général pas spécifiques. Des zones de nécrose au sein du système nerveux central, de granulomes dans les tissus viscéraux, et des striations musculaires blanchâtre-jaunâtres ont été observées [440]. L'examen histologique permet de mettre en évidence des foyers de nécroses consécutifs à la multiplication des tachyzoïtes dans différents organes ou à la lyse de kystes à bradyzoïtes dans le tissu nerveux.

### 1.2.2 - Petits ruminants

Des cas de néosporose caprine ont été décrits en Californie [50], en Pennsylvanie [199] au Costa-Rica [230] et au Brésil [145]. Les manifestations cliniques ont été similaires à celles décrites chez les bovins et dans la toxoplasmose caprine. Ainsi, des avortements [50, 230] et des naissances de chevreaux mort-nés [199] ou chétifs [145] ont été observés. Les lésions observées sont semblables à celles rencontrées dans l'espèce bovine ; mais, peu d'études sérologiques ont été réalisées [125, 252].

Les ovins sont réceptifs et sensibles à *N. caninum*. Des avortements et des mortalités néonatales ont été enregistrés dans des troupeaux séropositifs [207, 217]. Néanmoins, la prévalence des avortements suites à l'infection à *N. caninum* est faible [102, 618].

### 1.2.3 - Chevaux

Les chevaux peuvent être contaminé par *N. caninum* [213, 235, 240, 599]. L'infection équine à *Neospora* est surtout associée à des symptômes neurologiques. L'analyse du liquide céphalo – rachidien et les lésions nécropsiques peuvent évoquer une myélo – encéphalite équine à protozoaire attribuée à *Sarcocystis neurona*, protozoaire de la même famille que *Néospora sp.* Seule une mise en évidence du parasite permet un diagnostic de certitude. Par ailleurs, deux espèces de *Néospora* ont été

identifiées chez les chevaux. Il s'agit de *N. caninum* et de *N. hughesi* [160, 237, 313, 344, 394, 483, 485, 688]. Chez la souris immunodéficente, *N. caninum* induit des lésions hépatiques alors que *N. hughesi* provoque des lésions myocardites [215, 755]. Malgré ces différences lésionnelles, *N. caninum* et *N. hughesi* ne peuvent pas être distingués par immunohistochimies ou par séro – agglutination [215].

#### 1.2.4 - Faune sauvage

La néosporose naturelle a été décrite chez un cerf à queue noire de deux mois (*Odocoileus hemionus columbianus*) et chez un jeune rhinocéros blanc (*Ceratotherium sinum*) nés dans un centre de sauvegarde [764]. A l'autopsie, des tachyzoïtes ont été identifiés au sein des lésions hépatiques, rénales et pulmonaires du cerf [772]. Un cas de transmission verticale a été rapporté chez un cerf (*Cervus eldi siamensis*). En effet, des lésions d'encéphalomyélites associées à la présence de kystes à bradyzoïtes ont été mises en évidence sur des coupes histologiques des organes d'un fœtus mort-né issu d'un zoo français [233]. Par ailleurs, *N. caninum* a été mis en évidence dans des avortons de Llama (*Lama glama*) et d' Alpaca (*Vicugna pacos*) [666]. Par analogie aux bovins, les ruminants sauvages seraient réceptifs et sensibles au parasite [264].

**Gondim et al.** [292] ont mis en évidence, l'excrétion d'ookystes par le coyote (*Canis latrans*) ; faisant de lui, un hôte définitif de *N. caninum*.

Aucun cas clinique de néosporose naturelle n'a été décrit chez les carnivores sauvages bien qu'ils aient été exposés au parasite. En revanche, le renard bleu (*Alopex lagopus*) a été réceptif et sensible à une inoculation expérimentale du parasite. Par ailleurs, la transmission verticale a été mise en évidence chez le renard roux (*Vulpes vulpes*) [662] qui, par analogie au chien, pourraient être sensibles à *N. caninum* dans les conditions naturelles [675].

## 2 - Lésions

L'infection à *N. caninum* n'engendre pas de lésions macroscopiques caractéristiques. En revanche,

certaines lésions microscopiques peuvent orienter le diagnostic. En effet, *N. caninum* a été responsable de lésions dans de nombreux organes (encéphale, foie, rein, poumon, placenta, cœur). Néanmoins, l'encéphale semble être le prélèvement de choix [52, 197, 322] (Tableau I). Les lésions se caractérisent par des encéphalomyélites multifocales nécrotiques non suppuratives [16, 51, 534, 562, 563].

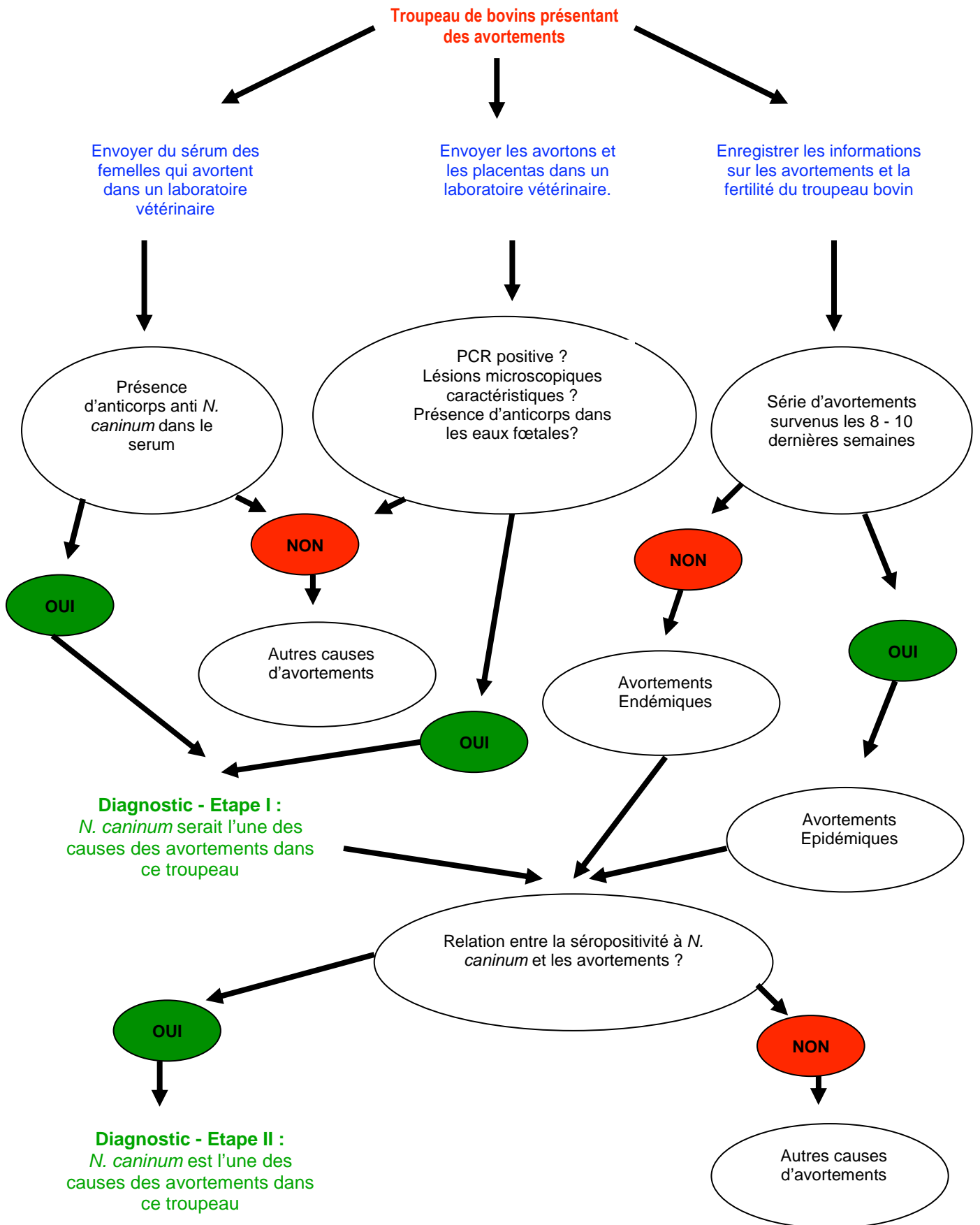
**Tableau I:** Lésions macroscopique et microscopique de 6 fœtus bovins infectés par *N. caninum* [322]

	Lésions Macroscopiques		Lésions microscopiques			
	Epanchement séro – hémorragique dans les grandes cavités	Œdème gélatineux sous muqueux	Cerveau	Cœur	Foie	Rein
1	+	-	+	-	+	-
2	-	-	+	+	-	-
3	+	+	+	+	-	-
4	+	+	+	+	-	-
5	-	-	+	+	-	-
6	-	-	+	+	-	+

## II – Diagnostic

### 1 - Epidémiologique

La contamination du fœtus *in utero* ne se termine pas toujours par un avortement [19, 86] mais, parfois par la naissance d'un veau vivant porteur de *N. caninum* [512, 576, 709, 712]. Ainsi, dès lors que des troubles de la reproduction sont observés dans une exploitation, il est opportun de réaliser un diagnostic étio - épidémiologique. Ce diagnostic repose d'une part, sur la sérologie, l'identification du parasite et/ou de lésions caractéristiques et d'autre part, sur l'analyse des données épidémiologiques enregistrées dans l'exploitation (Figure 2). Néanmoins, seul le diagnostic de laboratoire permet de confirmer une infection à *N. caninum* [15, 482]. En pratique, le diagnostic direct du parasite n'est pas courant en raison de son coût et de la rareté des laboratoires de diagnostic. Le dépistage sérologique reste l'outil diagnostic de choix.



**Figure 2 :** Approche diagnostique de la néosporose dans un troupeau bovin (Modifié d'après Dubey et Schares [236])

## 2 - Expérimental

### 2.1 - Méthodes sérologiques

Les méthodes sérologiques mettent en évidence la présence d'anticorps témoins d'une infection à *N. caninum* dans le sérum, le plasma, le lait maternel et les eaux fœtales. Plusieurs types de tests sérologiques ont été développés notamment l'immunofluorescence indirecte (IFI), les méthodes immunoenzymatiques (ELISA), la réaction d'agglutination directe et le western blot (**Tableau II**).

**Tableau II** : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence indirecte de *N. caninum* [30, 482]

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

#### 2.1.1 - Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur lame a été la première technique utilisée pour mettre en évidence les anticorps anti-*N. caninum* chez le chien [208, 446, 488]. L'IFI reste le test de référence de part sa sensibilité et sa spécificité. Par ailleurs, elle facilite l'étude de l'efficacité des autres tests disponibles.

La méthode consiste à mettre en contact, des tachyzoïtes de culture (Nc-1) fixés sur des lames avec le sérum à tester à différentes dilutions; puis, après rinçage, à révéler les éventuels anticorps spécifiques

fixés sur les antigènes du parasite, avec des anticorps de l'espèce d'origine marqués à la fluorescéine. Les lames sont ensuite lues au microscope à fluorescence. Une lame est considérée comme positive lorsque les tachyzoïtes présentent une fluorescence périphérique. Ce test a été développé pour différentes espèces, en particulier dans l'espèce bovine à partir de la souche de culture BPA-1 [224].

Les tachyzoïtes étant entiers, le test ne détecte que des anticorps dirigés contre des antigènes de surfaces, plus spécifiques que les composants intracellulaires chez les espèces du groupe des Apicomplexa [88, 92, 567].

Cependant l'infection expérimentale de différents hôtes a montré qu'il existait parfois une faible réaction croisée avec d'autres coccidies [224], en particulier avec *T. gondii* [224]. Dans ce cas, seul une fluorescence apicale non spécifique est observée [574]. Ainsi, l'interprétation appropriée du test repose sur la différenciation de la fluorescence apicale et de la fluorescence du parasite entier. La lecture de la lame est donc subjective et exige un personnel qualifié.

La définition d'un seuil de positivité dépend des caractéristiques intrinsèques du test, du matériel utilisé, des propriétés du conjugué, du microscope utilisé [92] et de l'âge de l'animal. Les valeurs seuils ont été plus basses chez le veau/fœtus par rapport aux bovins adultes [197, 329].

En plus d'être utilisable sur le sérum de bovin adulte, l'immunofluorescence indirecte a l'intérêt d'être utilisable sur du sérum de veaux (avant la prise colostrale) et sur les eaux fœtales [48, 92, 574, 678, 777]. Néanmoins, les variations de seuils d'un essai à l'autre ont rendu difficile, la comparaison des résultats. De plus, les investigations expérimentales ont parfois été subjectives. En effet, des sérums issus d'un élevage bovin dans lequel, un épisode d'avortements à *N. caninum* a été observé ont été soumis à trois laboratoires indépendants utilisant l'IFI comme outil de diagnostic de routine (réactifs commerciaux ou de fabrication maison) [212]. Les résultats quantitatifs ont fortement variés d'un laboratoire à l'autre avec des coefficients de corrélation entre les trois laboratoires pris deux à deux compris entre 0,45 et 0,74.

Le kit VMRD (Pullman, USA) a amélioré ces disparités [Sensibilité (97%) et spécificité (97%)]. Ainsi,

l'IFI a été utilisée pour la recherche des anticorps anti-*Neospora* chez de nombreuses espèces notamment le chien, le renard, le chat, les bovins, les ovins, les caprins, le buffle, le cheval, les rongeurs et les primates. Cependant, elle reste difficile à mettre en œuvre et son interprétation est délicate. En revanche, elle se révèle être spécifique.

### 2.1.2 - Séro – Agglutination directe

Le test utilisé pour la détection d'antigènes de *N. caninum* découle de la technique d'agglutination directe validée pour *T. gondii* [181]. Deux techniques ont été développées par les équipes de Packham et de Romand [567, 628]. Elles utilisent comme antigènes des formes parasitaires formolés (tachyzoïtes), soit de souche canine Nc-1 [628], soit de souche bovine BPA-1 [567]. Il n'a pas été rapporté de différence antigénique entre les souches d'origine bovine et canine [326].

Le principe de ce test repose sur l'observation d'une agglutination lorsque des tachyzoïtes traités au formol sont mis en contact avec des anticorps spécifiques. Les sérums testés sont traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) pour détruire les IgM. A la différence du test d'agglutination utilisé pour le diagnostic de la toxoplasmose dans lequel un taux d'IgM est calculé en comparant le sérum non traité au sérum traité au 2-ME, le test de séro-agglutination mis au point pour le diagnostic de la néosporose détecte les immunoglobulines (IgG), signes d'une conversion sérologique ancienne.

La méthode d'agglutination directe de **Packham et al.** [567] a une sensibilité et une spécificité comparable à celle de l'immunofluorescence indirecte [92, 567]. Toutefois, une moindre sensibilité a été décrite dans une étude sérologique chez le chien [557].

La séro - agglutination est considéré comme spécifique de *N. caninum* car aucune réaction croisée n'a été observée avec les parasites proches, notamment *T. gondii*, *Hamondia spp.* et *Sarcocystis spp.* [567, 628]. Du fait de la simplicité du principe, elle s'avère rapide, facile d'utilisation et très sensible [567]. Néanmoins, la lecture n'a pas été aisée d'où l'incorporation de colorant dans les antigènes afin de rendre la visualisation du « bouton d'agglutination » ou du tapis plus aisée [567].

L'absence d'anticorps secondaire facilite son utilisation chez toutes les espèces. Ainsi, elle a été utilisée en sérodiagnostic chez le buffle d'eau, le cheval, le chameau, le renard, le coyote et les ruminants sauvages (chamois, chevreuil et cerf) [210, 234, 235, 240, 264, 337, 361, 449, 451, 456, 457].

Cependant, le seuil de positivité doit être défini pour chaque espèce.

### **2.1.3 - Méthodes immunoenzymatiques et applications actuelles**

#### **2.1.3.1 - Méthodes immunoenzymatiques**

Les méthodes immunoenzymatiques mettent en évidence, des anticorps de *N. caninum* contenus dans un échantillon de sérum à l'aide des antigènes et d'enzymes capable de révéler en présence de substrat, le complexe antigène - anticorps.

Deux types d'ELISA ont été développés pour la détection des anticorps anti-*N. caninum*. Il s'agit d'un ELISA «indirect» et d'un ELISA «compétitif». Les techniques ELISA sont d'une part, facilement automatisables pour le dépistage lors d'enquêtes épidémiologiques et d'autre part, l'utilisation d'un lecteur ELISA pour la lecture donne des résultats objectifs. Les valeurs seuils ont été déterminées à partir de sérums de références, souvent caractérisés par IFI, et ont été prédéfinies de façon à minimiser les faux positifs et les faux négatifs [30]. Dans l'ELISA «indirect» en microplaque, des antigènes sont fixés au fond des puits. Le sérum de l'animal à tester est déposé dans un puit puis, la réaction antigène-anticorps est révélée à l'aide d'un conjugué (anti-immunoglobuline de l'espèce à tester liée à une enzyme révélée à l'aide d'un substrat chromogène). Les antigènes bruts du parasite ainsi que des mélanges d'antigènes intracellulaires et de surface peuvent être utilisés. Cependant il semble que la présence d'antigènes internes augmente le risque de réaction croisée avec d'autres Apicomplexas, et que l'utilisation d'antigènes de surface seuls améliorerait la spécificité [360, 725]. Afin de limiter l'exposition des antigènes internes, plusieurs stratégies ont été développées. Il s'agit de la fixation de tachyzoïtes entiers [768], de l'incorporation des antigènes membranaire de *N. caninum* dans des iscoms (immunostimulatory complex) [85, 87, 88], de l'utilisation d'antigènes recombinants [423, 473] et

de la purification suivie de l'enrichissement de la préparation antigénique par capture de l'antigène par un anticorps monoclonal [212]. Par ailleurs, la spécificité du test peut être accrue par substitution du conjugué polyclonal par des anticorps monoclonaux [85, 88, 768].

Quant à l'ELISA compétitif, son principe repose sur la compétition entre la fixation des anticorps éventuellement présents dans le sérum et un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de l'antigène fixé dans le puits. Cet anticorps monoclonal peut être couplé à une enzyme, ou alternativement, il peut être reconnu par un conjugué anti - immunoglobuline de l'espèce productrice (le plus souvent la souris). Ces techniques s'avèrent plus spécifiques que les ELISA indirects [92]. Par ailleurs, aucun réactif antiimmunoglobuline spécifique d'espèce n'est utilisé avec Elisa compétitif, comparé à ELISA indirect. Cependant, il convient de déterminer un pourcentage d'inhibition seuil pour chaque espèce. Deux coffrets commerciaux d'ELISA compétitif sont disponibles. Il s'agit du VMRD (Pullman, USA) distribué par le Laboratoire Service International (LSI) et de celui de l'Institut Pourquier (Montpellier, France)

### 2.1.3.1 - Applications actuelles

#### A - ELISA à antigènes bruts

Les antigènes de ces ELISA ont été obtenus par action soit des ultra sons, soit des détergents [559, 573, 775]. La sensibilité des tests utilisant ces types d'antigènes varie de 87 à 92 % alors que leur spécificité est de 97 à 100% [559, 573, 775]. Seul un cas de réaction croisée avec le sérum d'un veau infecté par *Babesia bovis* a été rapporté [775]. Cependant, aucune réaction croisée n'a été observée avec d'autres protozoaires, notamment *T. gondii*. Un coffret (Herd-Chek *Neospora*<sup>®</sup>, Idexx) utilisant des antigènes bruts (lysats de tachyzoïtes) a été commercialisé [573]. Par ailleurs, les antigènes bruts ont été utilisés dans une technique d'ELISA compétitif [70].

#### B - ELISA à antigènes entiers

Dans cette variante, des tachyzoïtes entiers sont fixés au fond des puits à l'aide d'un tampon formolé à

4 % [768]. Avec ce traitement, seul les antigènes de surface sont accessibles aux éventuels anticorps présents dans le sérum à tester. Aucune réaction croisée n'a été rapportée avec le sérum d'animaux infectés par *T. gondii*, *S. cruzi* et *Babesia divergens* [768]. Comparée à l'IFI, la sensibilité et la spécificité ont été respectivement de 95 et 96 %. Ce test a été commercialisé sous le nom de Mastazyme *Neospora*® par le laboratoire Mast Diagnostic de Liverpool en Grande-Bretagne.

### **C - ELISA à antigènes complexés à un adjuvant (iscom)**

La technique des complexes antigène-adjuvant a été développée afin de limiter le nombre d'antigènes cytoplasmiques accessible. Cette technique repose sur la création de complexes en forme de matrice composée de saponine, de cholestérol, de phospholipides et d'antigènes [84, 85, 87, 88]. Les antigènes majeurs contenus dans ces complexes ont des poids moléculaires respectifs de 18, 30-45 et 61 kDa [84, 88]. Cette technique ELISA a été initialement développée pour la recherche des anticorps anti-*N. caninum* dans le sérum canin [88]; puis elle a été modifiée pour le sérum et le lait de bovin, et enfin pour le sérum de buffle d'eau et de petits ruminants [85, 361]. Le conjugué anti-chien ou anti-bovin est toujours un anticorps monoclonal anti-IgG1. Aucune réaction croisée n'a été rapportée avec d'autres protozoaires. La sensibilité et la spécificité de ces ELISA par rapport à l'IFI sont respectivement de 96% et de 100% [85, 678]. Cet ELISA distingue les infections récentes des infections chroniques en raison de la différence d'affinité de leurs anticorps [91, 758].

### **D - ELISA à antigènes peptidiques recombinants purifiés**

Cette technique met en jeu des antigènes peptidiques recombinants purifiés par immuno – affinité ou par chromatographie. Plusieurs peptides ont été sélectionnés à l'aide des séquences d'ADN et de transcrits disponibles dans des banques de données [383, 423, 432, 473, 649]. L'utilisation des protéines recombinantes de 30 et de 35 kDa a donné de résultats satisfaisant chez des bovins en début d'infection [423]. Néanmoins, l'ELISA à peptides recombinants de 20 et de 29kDa a amélioré ces résultats [473]. Un seul ELISA à protéine recombinante a été commercialisée (Chekit *Neospora* ®;

Intervet, Beaucouzé, France). La protéine utilisée a été la forme recombinante de Ncp43, protéine de surface des tachyzoïtes servant à l'adhésion et l'invasion du parasite dans la cellule. **Ahn et al.** [5] utilisant la même protéine dans un ELISA non commercial, n'a observé aucune réaction croisée avec *T. gondii*.

### **E - ELISA avec capture d'antigène**

Cet ELISA fait intervenir des anticorps monoclonaux dirigés contre une protéine de *N. caninum* de 65 kDa [212]. Le conjugué est en compétition avec les anticorps monoclonaux. Ainsi, l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope dominant du parasite empêche toutes réactions croisées avec *T. gondii* et *Sarcocystis spp.* Il a été commercialisé par le laboratoire VMRD (cELISA, Pulman USA). Sa spécificité (99%) et sa sensibilité (89%) ont été très satisfaisantes [758]. Par ailleurs, cet ELISA compétitif est facilement reproductible et est utilisable sur le sérum ou plasma de toutes les espèces sensibles à *N. caninum*.

#### **2.1.4 - Western blot**

Le western blot est une méthode protéomique qui consiste à faire migrer des antigènes par électrophorèse sur gel de polyacrylamide suivi de leur transfert (électrotransfert) sur une membrane de nitrocellulose.

L'inhibition des sites de liaison non spécifiques est suivie d'une incubation de la membrane dans le milieu contenant les anticorps recherchés. La liaison antigène-anticorps est ensuite révélée avec un conjugué (anticorps couplé à une enzyme) et un substrat de révélation. Ces techniques ont pour avantage, de suivre la cinétique d'apparition des anticorps identifiés par électrophorèse. Plusieurs études ont rapporté l'utilisation du western blot pour la détection d'anticorps anti-*N. caninum* [30, 80, 88, 89, 314, 573, 574, 653, 654, 659, 661, 690]. Le western blot est plus sensible que les méthodes immunofluorescentes et immunoenzymatiques lors de la recherche des anticorps anti-*N. caninum* dans les eaux foétaux [683] et dans du lait [684]. Cette technique est très fiable, permet de détecter des

anticorps mais aussi de caractériser des antigènes inconnus avec des anticorps connus. Cependant la lourdeur de sa mise en place rend son utilisation difficile en routine. Ainsi, de part sa spécificité et sa sensibilité, le western blot pourrait être utilisé comme outil de diagnostic complémentaire pour le sérodiagnostic des infection à *N. caninum* [690].

### 2.1.5 - Bilan des tests sérologiques

Il existe donc une grande diversité de méthodes sérologiques mises au point (**Tableau III**) et plusieurs coffrets ont été commercialisés pour la détection d'anticorps anti *N. caninum* (**Tableau IV**). La diversité des techniques utilisées ne permet pas de comparer aisément les résultats obtenus [237, 472]. De plus, chez les bovins, les anticorps anti-*N. caninum* fluctuent au cours de la gestation, pouvant même se trouver en deçà du seuil de positivité [142, 297]. Plusieurs études ont évalué la sensibilité et la spécificité des tests disponibles pour le diagnostic de la néosporose. L'une d'elle a comparé les résultats obtenus avec des sérums provenant d'un élevage bovin subissant, avec certitude, un épisode d'avortements à *Neospora*. Trois (3) tests IFI et cinq (5) ELISA [deux ELISA à Lysat de tachyzoïtes, un ELISA à protéine recombinante, un ELISA à antigène complexé et un ELISA à capture d'antigène ont été utilisés [212]. Les résultats ont montré une corrélation positive entre les résultats des différents tests, à l'exception de l'ELISA à protéine recombinante. Cependant, aussi bien pour les titres d'IFI que pour les densités optiques, il existe de grandes variations en fonction des tests. Ces différences pourraient être dues aux types antigènes et aux conjugués utilisés dans chaque test.

La sensibilité de l'ELISA commercial à antigène brut (HerdCheck *Neospora*®, Idexx) a été supérieur à de IFI [659]. Les sérums testés «positifs» en ELISA ont été positifs en western blot, ce qui indique que la différence n'est pas attribuable au défaut de spécificité de l'ELISA par rapport à l'IFI. Par ailleurs, la sensibilité de l'ELISA a été confirmée en comparant 3 ELISA dont deux commerciaux (HerdCheck *Neospora*® et Mastazyme *Neospora*® ; Liverpool, Grande-Bretagne) [775]. La corrélation entre les trois coffrets a été bonne pour les sérums post-avortements. La sensibilité et la spécificité des ELISA ont corroboré l'examen histologique des fœtus. En revanche, la corrélation entre les trois kits s'est avérée

médiocre lors des suivies épidémiologique des troupeaux. ELISA Mastazyme® décèlerait les animaux infectés chroniques à faibles taux d'anticorps. Par ailleurs, les valeurs seuils des ELISA commerciaux semblent être supérieures aux équivalents titres en IFI [617].

Enfin, le western blot serait plus sensible que les techniques ELISA pour la détection d'anticorps anti-*N. caninum* dans les eaux fœtales [683].

**Tableau III** : Méthodes sérologiques mises au point pour la détection des anticorps anti *N. caninum* (modifié d'après **Dubey et Schares [236]**)

Type de test	Caractéristiques du Test	Références
Séro-agglutination direct	Tachyzoïtes entiers en suspension	[567, 628]
IFI	Tachyzoïtes entiers fixés	[99, 142, 659]
ELISA	ELISA Indirect	[5, 34, 85, 122, 224, 283, 297, 357, 381, 423, 473, 540, 559, 573, 613, 653, 660, 768, 775]
	○ Tachyzoïtes entiers fixés	
	○ ISCOM	
	○ Antigène recombinant	
	ELISA Competitif	[68, 70, 212, 495]
	ELISA Avidité	[2, 83, 90, 91, 478, 638, 649]
	ELISA (lait)	[60, 85, 650, 684]
Western blot		[2, 80, 684, 690]

**Tableau IV** : Tests sérologiques commercialisés pour la détection des anticorps anti *N. caninum* (modifié d'après **Dubey et Schares [236]**)

Test	Caractéristique	Antigène	Laboratoire	Références
BIOVET <i>N. caninum</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes ultra -sonnés	BIOVET Laboratories, Canada	[749, 781]
CHEKIT Neospora IDEXX	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés au détergent	IDEXX Laboratories, Pays - Bas	[743]
CIVTEST BOVIS NEOSPOORA	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés aux ultra -sons	HIPRA, Espagne	[743]
Cypress <i>N. caninum</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés au détergent	Cypress Diagnostics, Belgique	[743]
HerdChek IDEXX	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés aux ultra -sons	IDEXX Laboratories, USA	[60, 573, 617, 650, 653, 743, 775, 781]
MASTAZYME <i>Neospora</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes entiers	MAST GROUP, Angleterre	[653, 743, 768, 775]
<i>N. caninum</i> blocking ELISA	ELISA Competitif	-	Institut Pourquier, France	[311]
P38-ELISA	ELISA Indirect	Antigène de surface (NcSRS2)	AFOSA GmbH, Allemagne	[660, 743]
ImmunoComb bv <i>Neospora</i> -Ab	DOT-ELISA	-	Biogal, Israel	[716]
SVANOVIR <i>Neospora</i> -Ab ELISA	ELISA Indirect	ISCOM Antigène incorporé	SVANOVA Biotech AB, Suède	[85, 274, 363, 733]
VMRD <i>N. caninum</i> cELISA	ELISA Competitif	GP65 Antigènes de surface	VMRD, USA	[68, 374]
VMRD <i>N. caninum</i>	IFI	Tachyzoïtes entiers	VMRD, USA	[274, 613, 617, 653]

## 2.2 - Mise en évidence du parasite

La mise en évidence directe de *N. caninum* repose sur l'identification de stades parasitaires ou de lésions évocatrices d'infection. Ce diagnostic repose sur :

- l'observation des lésions tissulaires et/ou des réactions immuno-histochimiques positives ;
- l'utilisation de la génétique moléculaire ;
- la culture cellulaire suivie de l'innoculation aux animaux de laboratoires.

### 2.2.1 - Méthodes histologiques

La reconnaissance des formes parasitaires après coloration à l'hématoxyline-éosine, n'est pas toujours aisée du fait de leur faible nombre [322, 444, 518, 563]. Les formes parasitaires n'ont toujours pas été observées sur des coupes histologiques présentant des lésions caractéristiques [205]. En effet, les tachyzoïtes sont fréquemment morts et leurs morphologies ont pu être altérées au moment de l'analyse [534]. En outre, les kystes à bradyzoïtes sont souvent peu fréquents et de petite taille dans l'encéphale. Par ailleurs, ils peuvent ne pas présenter la paroi caractéristique de *N. caninum* [217, 780]. La fréquence des lésions hépatiques dans les infections épidémiques trouve son intérêt en histologie pour distinguer les infections endémiques des infections épidémiques [780].

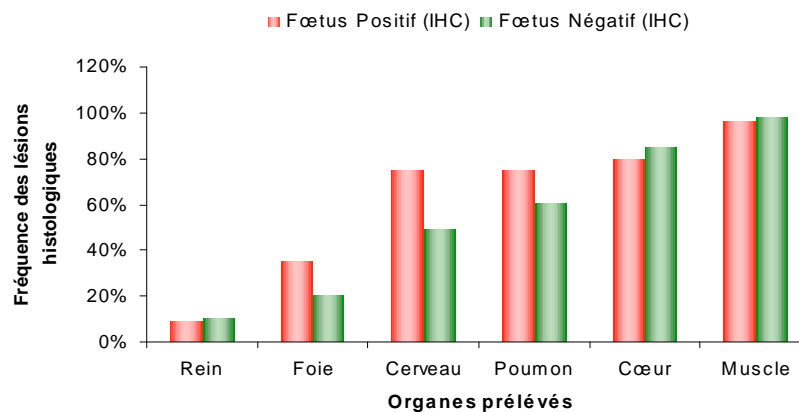
L'influence de l'âge sur le type de lésions reste controversée. En effet, des lésions de type inflammation nécrotique multifocale seraient plus fréquentes chez les fœtus de moins de 5 mois alors que chez les avortons de plus de 7 mois, des macrophages et des IgG contenus dans des cellules plasmocytaires seraient les plus fréquents [548]. Cette différence a été attribuée à la maturation du système immunitaire fœtal. Néanmoins, **Wouda et al.** [780] n'ont observé aucune influence de l'âge sur le type de lésions induit par *N. caninum*.

Cependant, l'examen histologique présente des limites dans la mesure où il ne peut pas être réalisé sur des tissus autolysés. Par ailleurs, il nécessite une grande qualification du lecteur de lames.

Enfin, l'étude histologique peut incriminer à tort, *N. caninum* dans le diagnostic des avortements

(Figure 3). En effet, des lésions similaires peuvent être observées au cours d'une infection par d'autres protozoaires notamment *T. gondii* et *S. cruzi*. Des enquêtes menées en Suisse rapportent des lésions compatibles avec une néosporose associées à une PCR positive pour *T. gondii* chez 4 fœtus [297, 637]. Cependant, *S. cruzi* a rarement été impliqué dans les avortements bovins (1 à 4 %). De plus, les schizontes de *S. cruzi* sont principalement observés dans l'endothélium vasculaire contrairement à *N. caninum* dont la localisation préférentielle est le tissu nerveux et cardiaque [16, 49, 52].

Afin de pallier cette difficulté de reconnaissance morphologique et la possibilité d'observer des lésions non pathognomoniques, il est nécessaire d'associer un immunomarquage à l'examen histologique (figure 3).



**Figure 3** : Relation entre la fréquence des lésions histologiques évocatrices d'une infection à *N. caninum* et la positivité à l'immunohistochimie de 89 fœtus bovins. (Modifié d'après Pescador *et al.* [587])

### 2.2.2 – Méthodes immunohistochimiques

L'immunohistochimie est le processus de détection d'antigènes dans les tissus au moyen d'anticorps couplés à un fluorochrome (immunofluorescence directe) ou à une enzyme (méthodes immunoenzymatiques).

La plupart des anticorps disponibles sont polyclonaux et obtenus par immunisation d'animaux par des tachyzoïtes [16, 49, 295, 297, 320, 376]. Ainsi, de faibles réactions croisées ont été observées avec *T. gondii* [49]. En revanche, aucune réaction croisée n'a été observée avec *S. cruzi* [16, 49, 295, 320]. Pour pallier cet inconvénient, des anticorps monoclonaux ont été mis au point. Ces anticorps monoclonaux ont été utilisés pour l'identification de *N. caninum* dans des coupes de cerveau de souris

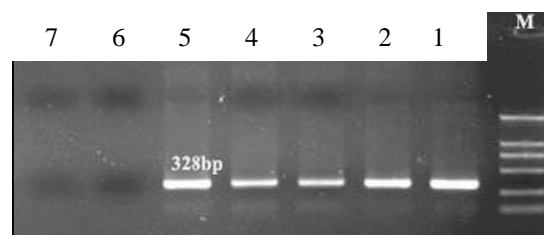
[136] et le tissu cutané de chien [584].

Bien que l'immunohistochimie ait toujours été considérée comme la méthode de référence dans le diagnostic de la néosporose, l'immunomarquage manque de sensibilité [197, 217, 379, 637]. Ainsi, la génétique moléculaire a rapidement été développée pour l'identification de *N. caninum*.

### 2.2.3 - Détection et identification du parasite à l'aide d'outil de génétique moléculaire

Les techniques de génétique moléculaire développées à des fins diagnostiques en routine consistent essentiellement en une amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR) de l'ADN parasite. Plusieurs PCR simples ont été développées [69, 248, 249, 251, 339, 340, 341, 342, 349, 394, 422, 434, 475, 476, 521, 526, 527, 528, 582, 589, 630, 726, 784]. Le gène Nc5 [69, 297, 339, 526, 528, 637] et le gène codant pour une petite sous unité d'ARN ribosomique [341, 342] sont les principales séquences utilisées.

La sensibilité et la spécificité de la technique sont alors un atout en raison de la mise en évidence d'une réaction positive avec peu de tachyzoïtes dans du sang total / liquide amniotique [340], sérum [499], ou dans le cerveau (**Figure 4**) [69, 241, 790]. Par ailleurs, les techniques quantitatives (technique d'amplification en temps réel) ont l'intérêt de mettre en évidence, la quantité d'ADN amplifiée et d'estimer la quantité de parasite présent dans l'échantillon [139, 527].



**Figure 4.** Diagnostic de la néosporose bovine par la PCR. Colonnes 1 – 4 : ADN *N. caninum* dans le cerveau de 4 avortons ; Colonne 5 : Témoin positif (Nc – 1) ; Colonne 6 : Témoin négatif 1 (eau) ; Colonne 7 : Témoin négatif 2 : *T. gondii*. [790]

Une concordance de 84 à 97% a été observée lors de la comparaison des résultats obtenus par la PCR et la méthode immunohistochimique de référence. Des animaux suspects à l'histologie, négatifs à

immunohistologie ont été confirmés positifs par la PCR. Aucun cas de PCR « faussement » positive n'a été observée au cours de l'analyse de 51 fœtus prélevés aux abattoirs [69, 637]. Sager *et al.* [637] ont confirmé par la PCR, une infection fœtales par *N. caninum* chez 3,8% (8/210) fœtus avortés de mères séronégatives dans un échantillon de 210 avortons positifs en histologie.

Ces observations illustrent l'importance de la mise en évidence directe du parasite par rapport à la sérologie qui n'est que le révélateur d'un contact entre l'hôte et le parasite. Cependant, elles indiquent que l'association des différentes techniques est nécessaire pour la confirmation d'un diagnostic.

En outre, la PCR a été utilisée pour la détection et identification des ookystes de *N. caninum* dans les fèces des hôtes définitifs [65, 339, 568]. La sensibilité et la spécificité de la technique sont alors un atout face au petit nombre d'ookystes excrétés et à leurs parentés morphologiques et antigéniques avec d'autres protozoaires.

Elle a l'avantage d'être applicable sur des tissus frais, autolysés, congelés ou fixés sur lame [69]. Elle est utilisable dans le diagnostic, la phylogénie ainsi que dans la biologie du parasite et peut détecter les formes parasitaires vivantes ou mortes. Cette approche laisse entrevoir des perspectives dans l'identification des autres probables hôtes définitifs de *N. caninum* parmi les carnivores sauvages [379]. Cependant, la technique est coûteuse en raison des investissements en matériel et en consommables spécifiques.

#### **2.2.4 - Culture cellulaire et inoculation à l'animal de laboratoire**

*N. caninum* a été initialement cultivé *in vitro* sur des cellules endothéliales et monocytes de bovins [208]. Puis, de nombreux autres types cellulaires ont été utilisés (cellules Vero, fibroblastes humains, ...). Seuls les tachyzoïtes ont été cultivés et peuvent conserver leurs pouvoir infectieux chez la souris après huit ans de culture cellulaire [217, 443]. Toutefois, un minimum de deux mois est nécessaire pour confirmer un résultat.

L'inoculation à des souris ou des gerbilles peut être utilisée pour mettre en évidence *N. caninum* [65, 241, 443]. Néanmoins, les manifestations cliniques ont été fonction de la lignée et du statut immunologique de la souris, de la souche du parasite et de la dose administrée.

La réussite de l'isolement et de l'inoculation est fonction du nombre de parasites dans le tissu et du stade d'autolyse dudit tissu [197]. Ainsi, les tissus frais dans lesquels le parasite est viable ont été nécessaires pour le succès des différentes manipulations. Ces techniques sont très coûteuses et nécessitent beaucoup de temps pour l'identification du parasite. En conséquence, elles sont du domaine de la recherche. Les avantages des différentes méthodes de mise en évidence du parasite ont été présentés dans le **tableau V**.

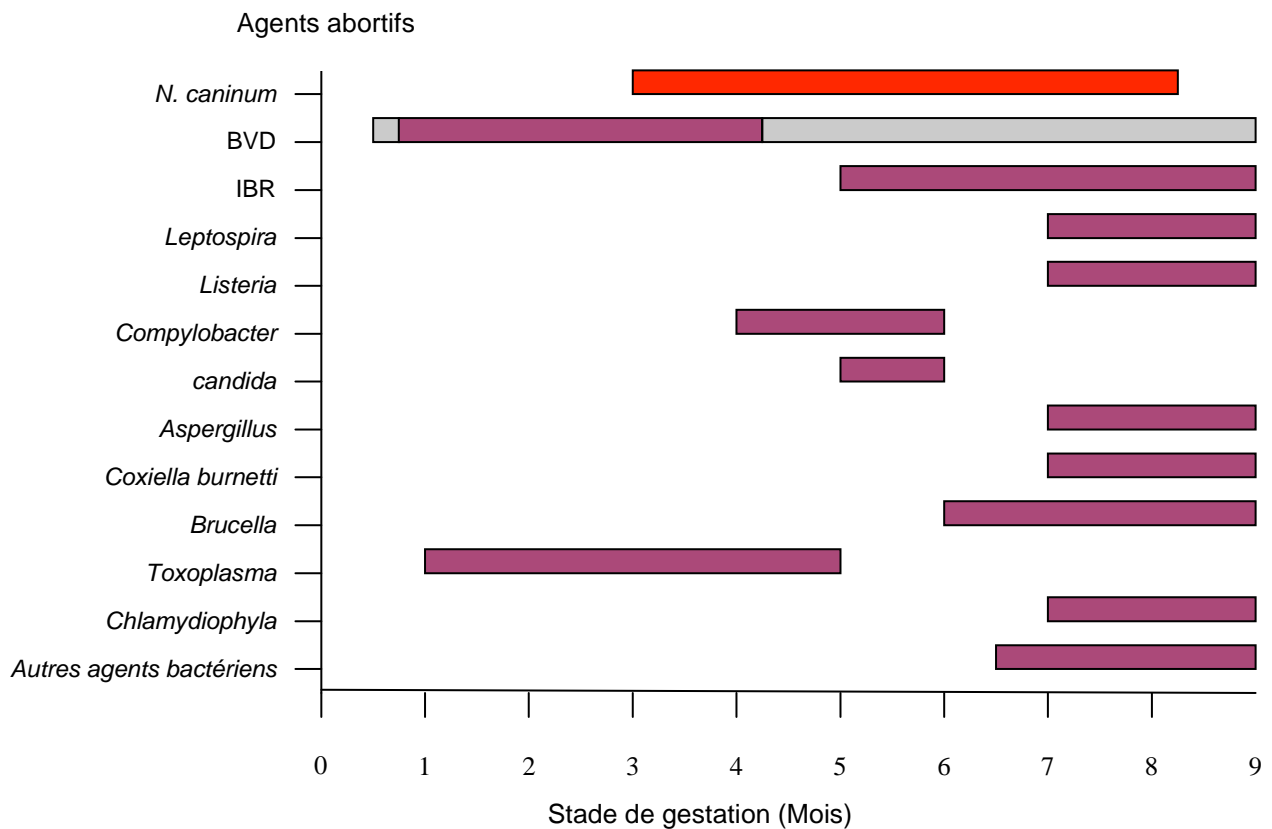
**Tableau V** : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence directe de *N. caninum* [482]

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

### 3 - Diagnostic différentiel

Un diagnostic différentiel (**Tableau VI**) doit impérativement être réalisé :

- avec toutes autres causes d'avortements ou de troubles de la reproduction chez les animaux exposés. Toutefois, le moment de l'avortement chez les bovins (**Figure 5**) ainsi que le devenir du placenta restent des indicateurs ;
- avec toutes autres causes nerveuses lors d'atteinte système nerveux et/ou de l'appareil locomoteur.



**Figure 5 :** Période d'induction d'avortements des principaux agents abortifs bovins

**Tableau VI** : Diagnostic différentiel de la néosporose.

Avortements	Affections nerveuses/locomotrices
<b>Causes infectieuses</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Brucellose</li> <li>▪ Salmonellose</li> <li>▪ Chlamydophilose</li> <li>▪ Fièvre Q</li> <li>▪ Listériose</li> <li>▪ Leptospirose</li> <li>▪ Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR)</li> <li>▪ Diarrhée Virale Bovine (BVD)</li> <li>▪ Trichomonose</li> <li>▪ Mycoses (<i>C. albicans</i>, <i>A. fumigatus</i>...)</li> <li>▪ Toxoplasmose</li> <li>▪ Infections à <i>E. coli</i>, <i>A. pyogenes</i>, ...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Encéphalopathie spongiforme bovine.</li> <li>▪ Coccidioses à <i>Eimeria sp.</i></li> <li>▪ Sarcosporidioses</li> <li>▪ Rage</li> <li>▪ Maladie d'Aujeszky</li> <li>▪ Listériose</li> <li>▪ Méningites</li> <li>▪ Colibacilloses</li> <li>▪ Salmonelloses ...</li> </ul>
<b>Causes non infectieuses</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Nutritionnelles</li> <li>▪ Génétiques</li> <li>▪ Iatrogènes ...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Malformations nerveuses congénitales</li> <li>▪ Déséquilibres hydro – électrolytiques</li> <li>▪ Intoxication par le plomb</li> <li>▪ Carences en vitamines du groupe B...</li> </ul>

#### 4 - Application au diagnostic de terrain

Les manifestations cliniques de l'infection par *N. caninum* en élevage bovin sont peu spécifiques [236].

Les examens complémentaires sont nécessaires pour étayer un diagnostic de la néosporose. Les différentes techniques développées pour mettre en évidence le parasite n'ont pas la même valeur à l'échelle individuelle et à l'échelle du troupeau.

##### 4.1 - Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle individuelle

Le recours au laboratoire est indispensable pour le diagnostic étiologique et différentiel des avortements chez les bovins. Compte tenu de son faible coût, et de son intérêt pratique, l'examen sérologique de la vache avortée est fréquemment utilisé. Les tests ELISA, d'agglutination et d'immunofluorescence (IFI) peuvent être préconisés. Leurs spécificités et leurs sensibilités sont équivalentes [92, 758].

Une sérologie positive à *N. caninum* permet de confirmer l'exposition au parasite. Toutefois, cet examen ne suffit pas pour conclure que l'avortement en est la conséquence. Bien que les animaux séropositifs aient un risque trois à cinq fois plus élevé d'avorter que des animaux indemnes [575, 774], l'exposition au parasite ne s'accompagne pas systématiquement d'un avortement [574, 661].

L'observation d'une conversion sérologique trois semaines après le premier prélèvement est un bon indicateur d'une infection. Le praticien doit rester prudent dans l'interprétation d'un résultat sérologique négatif. En effet, le taux d'anticorps diminue au cours de la période du péripartum [142, 329].

La certitude de la sérologie étant aléatoire, les méthodes de diagnostic direct chez le fœtus sont à privilégier. Elles ont l'avantage de mettre en évidence le parasite, son ADN ou des lésions cellulaires. La PCR est une technique à la fois sensible et spécifique mais, elle ne permet pas de faire un lien de cause à effet entre la présence du parasite et l'avortement [765]. L'histologie et l'immunohistochimie ont l'avantage de mettre en évidence la relation entre la présence de *N. caninum* et les manifestations cliniques observées. Cependant ces techniques sont moins sensibles que la technique d'amplification génique qui a par ailleurs, l'atout d'être automatisable et applicable aux tissus autolysés.

Ainsi, le diagnostic individuel de la néosporose ne doit pas être fondé sur un unique résultat de laboratoire. La confrontation des données cliniques, épidémiologiques et des éléments apportés par le laboratoire est indispensable pour confirmer un diagnostic de néosporose.

La principale difficulté du diagnostic repose sur l'inexistence des manifestations cliniques lors de certaines transmissions *in utero* de *N. caninum* [512, 576, 709]. Néanmoins, compte tenu du tropisme génital de *N. caninum*, il pourrait être responsable d'une baisse de la fertilité dans le cheptel bovin et de la réduction de la population dans les réserves fauniques.

La détection d'anticorps par western blot dans les eaux fœtales témoignerait d'une infection avec lésions tissulaires [683]. En revanche, les méthodes immunoenzymatiques et immunofluorescentes sont peu spécifiques et peu sensibles sur les eaux fœtales [48, 297, 563, 678, 683, 777].

**Barr et al.** [48] se sont focalisés sur la relation entre l'histologie des organes fœtaux et la présence

d'anticorps anti – *N. caninum* dans les eaux fœtales. Ils en déduisent que plus l'avorton est âgé, plus il y a concordance séro - histologique. Ainsi, l'immunodéficiência fœtale serait la principale cause de la faible sensibilité de certaines méthodes sérologiques sur les eaux fœtales. En outre, l'avorton étant le plus souvent analysé tardivement, l'autolyse dégraderait ses anticorps [777].

Par ailleurs, *N. caninum* a été mis en évidence chez des veaux atteints de troubles neurologiques, en particulier dans les élevages où des avortements ont été observés. Dans ce cas, le diagnostic différentiel est délicat compte tenu du grand nombre de troubles neurologiques des jeunes bovins. Ainsi, la présence du parasite associée aux lésions tissulaires ont permis de confirmer l'infection parasitaire. Toutefois, l'utilisation de la sérologie chez le nouveau – né est limitée en raison de la présence des anticorps colostraux. Le coût du diagnostic est élevé et la recherche du parasite dans l'avorton reste exceptionnelle [194, 195, 237] (Tableau VII).

**Tableau VII** : Recherche de *N. caninum* dans les avortons de bovins (modifié d'après Dubey et al. [237])

Pays	Nbre de foetus	% d'animaux infectés (Outil diagnostic)	Références
Allemagne	135	12.6 (H, IHC), 21.6 (PCR)	[683]
Argentine	188	22.8 (H), 15.4 (IHC)	[515]
Australie	729	21.0 (H, IHC)	[94]
Brésil	161	23.0 (H, IHC)	[147]
corée	180	25 (H), 21.2 (H, PCR, IFI)	[401]
Espagne	80	31.3 (H), 10.7 (IFI, ELISA), 15.3 (PCR)	[584]
Etats - Unis	698	24.4 (H, IHC)	[16, 707]
	266	46.5 (H, IHC)	[18]
Iran	100	3 (IHC), 12 (H), 13 (PCR)	[609]
Mexique	211	34.5 (H), 19.4 (IHC)	[518]
Pays - Bas	2,053	17.0 (H, IHC)	[778, 780]
Suisse	242	21.0 (PCR)	[271, 637]
	223	16.1 (PCR)	[620]

H = histologie; IFI = Immunofluorescence; IHC = Immunohistochimie; PCR = Polymerase Chain Reaction.

#### 4.2 – Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle du troupeau

Le diagnostic de la maladie à l'échelle du troupeau est le plus souvent sollicité lors de l'observation d'une flambée d'avortements dans un élevage. Ainsi, la détermination de l'agent en cause et le mode de contamination de l'élevage est nécessaire pour mettre en place une méthode efficace de lutte [597].

La première étape consiste à préciser le contexte épidémiologique des avortements. Le praticien devra tenir compte de la conduite de l'élevage, du statut sanitaire de l'exploitation vis-à-vis des maladies infectieuses, du nombre d'avortements, de leur répartition dans le temps, des signes cliniques associés et de l'âge des avortons.

Dans un second temps, il pourra réaliser un sondage sérologique des animaux. C'est dans ce contexte que la sérologie trouve tout son intérêt pour estimer l'exposition de la population au parasite [572]. Il est intéressant de tester les ascendants, les descendants et collatéraux des vaches avortées, en particulier face à la suspicion d'une contamination verticale. La recherche des anticorps sur les animaux d'un même lot est utile lors d'une contamination horizontale. Enfin, si l'examen sérologique partiel du troupeau révèle la présence d'animaux séropositifs, il est intéressant de réaliser un dépistage sur tout le cheptel afin d'estimer le risque d'exposition du troupeau. En outre, lors de la présomption d'une contamination horizontale, il convient de réaliser un examen sérologique sur d'autres animaux de la ferme, en particulier le chien qui est une source potentielle d'ookystes. Toutefois, le résultat sérologique doit être interprété avec prudence, car la plupart des chiens excréteurs n'ont pas d'anticorps détectables par les techniques de routine [655]. Un résultat positif signifie donc que le chien a été exposé au parasite et qu'il a pu excréter des ookystes, alors qu'un chien séronégatif est un excréteur potentiel d'ookystes. Le statut sérologique des chiens n'est donc pas la méthode idéale pour l'identification des animaux excréteurs. Cependant, des anticorps spécifiques d'un antigène de haut poids moléculaires (152kDa) extraits d'une préparation de tachyzoïtes ont été mis en évidence chez des chiens excréteurs avec le western blot [655]. Le diagnostic de la néosporose est délicat puisque l'infection par *N. caninum* peut être asymptomatique.

## 5. Pronostic

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

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

## III – Prophylaxie

### 1 - Sanitaire

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

#### 1.1 - Prophylaxie sanitaire défensive

Les mesures de prophylaxie défensives visent à éviter l'infection d'un cheptel. Elle consiste en la prévention de la transmission horizontale dans un troupeau. Des mesures simples et peu onéreuses ont été proposées (**Figure 6**). Il s'agit :

- de limiter l'accès des chiens et de tout autre animal aux aires de stockages et de distribution des aliments [14, 237] ;
- de lutter contre les rongeurs et d'éviter la présence d'oiseaux sauvages dans les locaux d'élevage et de stockage des aliments [187, 189, 237] ;

- de distribuer de l'aliment sans moisissure au troupeau ;
- d'éviter l'abreuvement des animaux dans les cours d'eaux [564] ;
- d'introduire des animaux en bonne santé après une quarantaine dans un cheptel.

Ces mesures s'avèrent efficaces. Néanmoins, la présence des ookystes sporulés de *N. caninum* dans le sol, l'aliment et l'eau de boisson rendent cette approche difficile. Ainsi, les mesures offensives semblent plus réalistes.

## 1.2 - Prophylaxie sanitaire offensive

Les mesures de prophylaxie offensives consistent à éliminer l'agent infectieux d'un troupeau ou les animaux qui en sont porteurs (**Figure 6**). Sa mise en œuvre doit tenir compte du mode de contamination du cheptel.

### 1.2.1 – Prévention de la transmission horizontale

Cette mesure consiste à lutter contre l'infection d'un animal sain dans un troupeau infecté ou d'éviter la réinfection d'un troupeau. Ainsi, l'éleveur devrait :

- limiter l'accès de tout autre animal sur la litière, les aires de stockages et de distribution des aliments [14] ;
- détruire les avortons, le placenta ainsi que la litière contaminée [773] ;
- éviter l'ingestion d'avortons et du placenta par les potentiels hôtes définitifs (chiens, coyotes).

L'élimination des chiens dans un cheptel infecté ne paraît pas utile. En effet, en tant qu'hôte définitifs et/ou intermédiaire le chien n'excrète pas systématiquement les ookystes de *N. caninum* [190]. Des données épidémiologiques indiquent un risque accru d'infection par *N. caninum* après introduction d'un nouveau chien ou après la naissance d'une portée [189, 190]. Ainsi, la présence de chien dans une exploitation demeure un facteur de risque d'infection des bovins par *N. caninum*.

Bien que la transmission horizontale soit moins fréquente que la transmission verticale, elle semble nécessaire au maintien de l'infection [272]. Elle peut être interrompue d'une part, par la destruction des

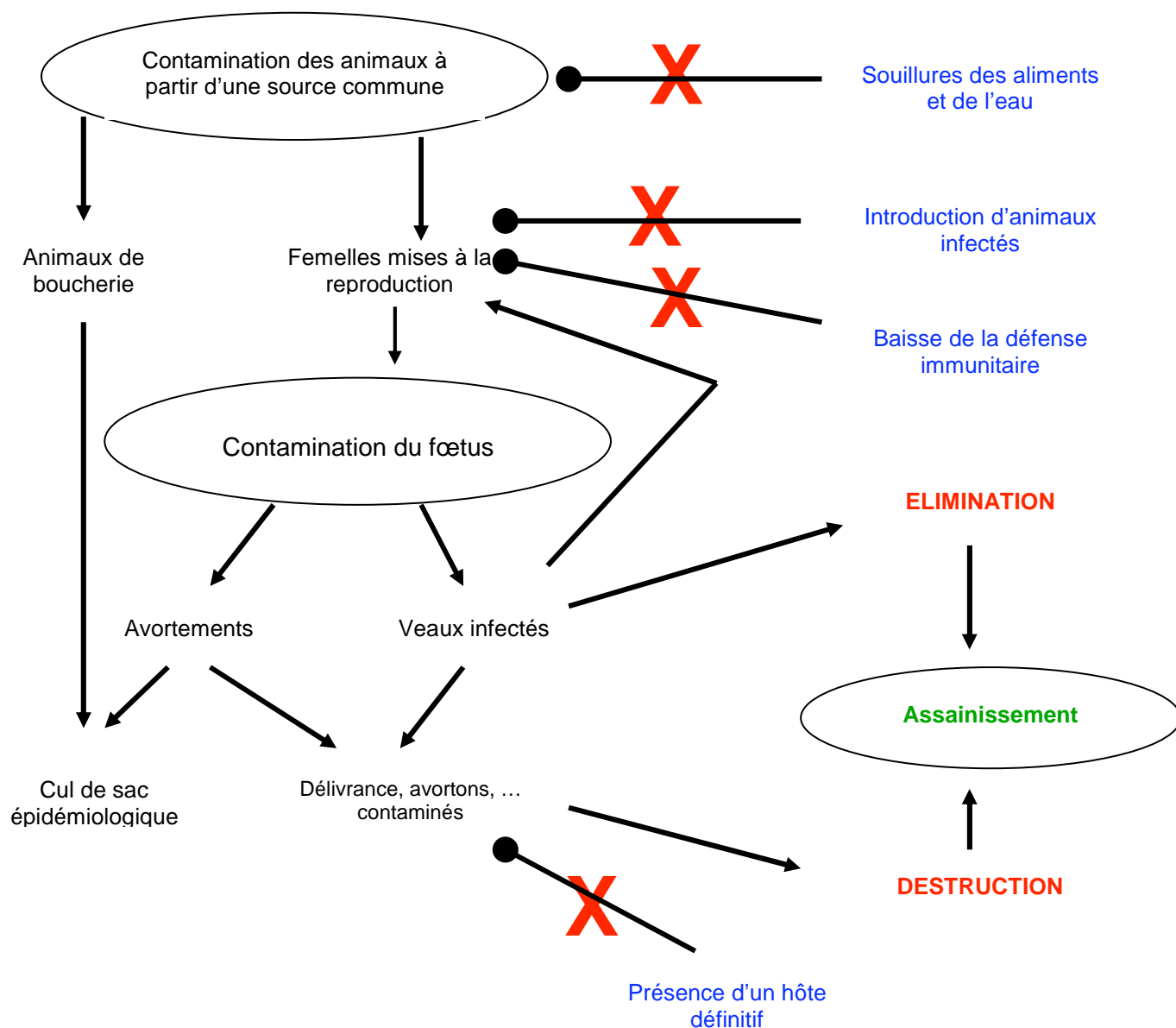
tachyzoïtes et des kystes à bradyzoïtes contenus dans le placenta, les eaux fœtales, les avortons, et d'autre part, par la réduction du contact entre les animaux et les ookystes contenus dans les matières fécales des hôtes définitifs de *N. caninum*.

### 1.2.2 – Prévention de la transmission verticale

La transmission verticale est la principale cause de la persistance de l'infection dans des troupeaux [171, 329]. La mesure de lutte la plus commode consisterait à la réforme de tous les animaux infectés. Pour des raisons financières et génétiques, elle semble peu adaptée aux élevages où une forte séroprévalence est observée [773]. Ainsi, il est judicieux de ne pas garder les veaux congénitalement infectés pour le renouvellement du troupeau dans ces élevages [773].

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

Le transfert d'embryons issus de donneuses séropositives aux receveuses séronégatives est un moyen de reproduction dans les fermes bovines séropositives de bonne génétique [35, 77, 425, 523, 711]. Bien que la mise en place de la transplantation embryonnaire représente un surcoût pour l'éleveur, elle lui permet de préserver la qualité génétique de son cheptel en produisant des animaux de renouvellement séronégatifs. Le maintien de ce statut est conditionné par l'élimination de toutes sources de contamination horizontale du cheptel. Compte tenu des différentes formes parasitaires, la prophylaxie sanitaire réduit la circulation de *N. caninum* dans un cheptel. Lors d'une recontamination du troupeau, les femelles nouvellement infectées ont significativement plus avorté que les femelles infectées chroniques. Ainsi, *N. caninum* induirait une immunité d'infestation chez la femelle gestante [369, 487, 767].



**Figure 6 :** Modalité d'assainissement d'un élevage contaminé par *N. caninum*

- X** Actions préventives à mettre en œuvre
- Facteurs favorisant la persistance de *N. caninum* dans l'élevage

## 2 - Médicale

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Le coût du traitement ainsi que la faculté des protozoaires à développer des résistances aux molécules thérapeutiques ont incité les chercheurs à proposer des protocoles vaccinaux [237, 368].

Pour mettre en évidence le mécanisme de protection du fœtus au cours de la gestation, plusieurs modèles ont été proposés notamment l'injection de tachyzoïtes vivants, des lysats de tachyzoïtes ou de

vecteurs viraux porteurs de séquences recombinantes de *N. caninum* (vaccins à ADN) [23, 32, 301, 278, 537, 623]. Ces modèles vaccinaux ont été testés chez la souris, le chien, la brebis et la vache.

## 2.1 – Souris

La souris a été l'espèce la plus utilisée [607]. Une réponse de type Th1 avec production d'interféron  $\gamma$  (INF  $\gamma$ ) et d'Interleukine 12 (IL-12) serait essentielle dans la prévention d'une néosporose expérimentale aiguë [71, 367, 397, 465, 538, 542, 700].

Dans un modèle murin, l'injection de tachyzoïtes de *N. caninum* et des anticorps anti-IL-4 avant la mise à la reproduction réduit le nombre de parasites transmis au fœtus *in utero* [441].

La souris BALB/C déficiente en INF $\gamma$ , a permis de comparer les réponses respectives en cytokines de profil Th1 et Th2 [536].

Dans l'infection aiguë à *N. caninum*, une augmentation de la production d'IL 10 a été observée chez les souris BALB/C (sensibles à l'infection) alors que chez les souris résistantes à l'infection, l'activation des mécanismes de défense immunitaire a induit la production d'INF $\gamma$  et d'IL-4. Des études ont montré que :

- des souris BALB/C immunisées avec un vaccin recombinant exprimant la protéine NcSRS2 [735], ont inhibé la production d'INF $\gamma$  et ont stimulé la production d'IL-4 par rapport aux animaux non vaccinés ;
- des cellules macrophagiques murines traitées par de l'INF $\gamma$  ou de l'IL-10 ont une viabilité réduites alors que l'IL-4 augmente la viabilité de ces cellules infectées par *N. caninum* et traitées avec de l'INF $\gamma$ .

Une injection de tachyzoïtes vivants a permis d'observer une transmission verticale de 1 à 8 % chez des souris vaccinées contre 75% chez les témoins non vaccinés. En revanche, l'utilisation de lysat de tachyzoïtes n'a réduit cette transmission verticale que de 15% [506].

Un modèle d'immunisation par utilisation des vaccins recombinants a été mis en évidence. Les principaux travaux ont porté sur le peptide NcSRS2 (Ncp43) impliqué dans l'adhésion et l'invasion

parasitaire [325, 328, 330, 735]. Les souris immunisées ont été moins infectées que les témoins [735]. Lors de stimulation *in vitro* de splénocytes par des antigènes de *N. caninum*, une activation de l'INF $\gamma$  a été observé [535, 537, 539]. En revanche, aucun changement dans la production d'IL-12 n'a été observé. La vaccination par utilisation du peptide recombinant NcSRS2 a activé les mécanismes de défense immunitaire, induisant ainsi la production d'anticorps de type IgG1 chez la souris immunisée [24, 133, 535, 537, 541, 543] et la réduction des infections cérébrales [735]. Par ailleurs, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> jouent un important rôle dans la prévention de l'infection. Ainsi, cet essai d'immunisation et de protection contre *N. caninum* accorde un rôle majeur aux IgG1 en début d'infection alors que la réponse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> agirait plutôt en fin d'infection. L'immunisation des souris pas ces vaccins recombinants inhibe la transmission verticale lors d'infection expérimentale [543]. Par conséquent, la taille de la portée et le taux de survie des souriceaux ont été plus élevés chez des souris infectées antérieurement vaccinées avec le peptide recombinant NcSRS2 comparé au témoin.

L'efficacité de la protéine recombinante NcSRS2 a été comparée à celle de la protéine recombinante NcSAG-1 (seule ou associée à NcSRS2) et à celle d'une vaccination par un ADN codant pour ces deux protéines [116]. Aucun des animaux vaccinés n'a développé des symptômes après l'infection expérimentale. En revanche, le taux d'ADN parasite a été plus faible chez les animaux vaccinés à l'ADN comparés aux animaux vaccinés avec les protéines recombinantes.

Une protéine de micronèmes recombinante (NcMIC3) a été testée dans un modèle murin [117]. Les souris ont été immunisées puis, infectées par injection intra péritonéale de  $2.10^6$  tachyzoïtes. L'efficacité de l'immunisation a été évaluée par observation des signes cliniques et par la recherche quantitative d'ADN parasite dans les tissus. Aucun animal n'a développé une néosporose clinique 21 jours après infection. De l'ADN parasite n'a été observé dans aucun autre tissu que l'encéphale. Ainsi, une protection partielle (75 %) a été observée chez des souris immunisées avec la protéine NcMIC3.

Une phosphoprotéine ribosomale Po de *N. caninum* (Nc Po) aurait 94,5% d'affinités avec la protéine Tg

Po de *T. gondii*. Cette protéine (Nc Po) pourrait être utilisée comme agent vaccinal dans le contrôle de la néosporose et de la toxoplasmose [791].

L'infection à *N. caninum* au cours de la gestation a des conséquences sur le fœtus en raison des possibilités de transmission verticale du parasite. Elle peut provoquer des avortements ou des pathologies du nouveau – né [472, 721]. Des preuves d'une protection vaccinale contre cette transmission trans-placentaire ont été établies chez la souris [310, 433, 506, 537, 543, 595].

## 2.2 – Chien

Il existe une similarité structurelle de la protéine de surface NcSRS2 entre *N. caninum* et le virus de l'herpès canin. Cette similitude antigénique a été utilisée dans la mise au point d'un vaccin recombinant contre l'herpès à virus canin qui protégerait le chien contre la néosporose. En effet, il stimule la production des anticorps anti – *N. caninum* [535].

## 2.3 – Brebis

Une double immunisation à 4 mois d'intervalle avec des tachyzoïtes de *N. caninum* a induit une réponse humorale chez plus de 80% de brebis. Par ailleurs, aucune trace d'ADN parasitaire n'a été observée chez 10 fœtus alors que des traces de lésions histologiques ont été rapportées chez tous les agneaux examinés (4/4) [549].

## 2.4 – Vache

*Neospora caninum* est un protozoaire, parasite intracellulaire qui provoque des avortements chez les bovins. L'infection fœtale *in utero* fait suite soit à une activation de l'infection latente chez la mère, soit à une consommation d'aliment contaminées par des ookystes de *N. caninum*. Le fœtus infectés peut être avorté ou naître contaminé. Les avortements surviennent le plus souvent dans le deuxième tiers de gestation [16, 18, 512, 709, 712].

Une immunisation avant la mise à la reproduction suivie d'une infection expérimentale au 140<sup>ème</sup> jour de gestation a réduit le taux d'avortement dans le cheptel [369]. Outre la protection contre la transmission vertical du parasite, une stimulation de l'immunité à médiation cellulaire avec une augmentation significative de la production d'INF $\gamma$  après l'infection ont été observées [23, 369].

Un vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués a obtenu une autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis (Neoguard®, Intervet USA). L'innocuité de ce vaccin commercial a été démontrée en élevage bovin [43]. Il permet d'obtenir une séroconversion vis-à-vis de *N. caninum* dans 76,6% des cas sans occasionner d'effets secondaires néfastes sur la production lactée ou sur la qualité de la viande des animaux immunisés. Ce vaccin réduit les avortements de 50% dans le troupeau [333, 633, 766]. Le vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués de *N. caninum* ne protège pas contre la transmission verticale dans un troupeau [22, 24, 25].

#### IV - Traitement

L'approche thérapeutique de la néosporose a été calquée sur celle de la toxoplasmose. L'efficacité des molécules a été prouvée sur des tachyzoïtes *in vitro* [439], puis des études *in vivo* ont porté sur des modèles de souris, de chiens et de bovins.

##### 1 – *In vitro*

Une quarantaine de principes actifs sans autorisation de mise sur le marché validé pour *N. caninum* ont été testés sur culture cellulaire dont la triméthoprime, la pyriméthamine, le décoquinate, le lasalocid/monensin, le nitazoxanide, le toltraruril, le ponazuril et certains thiazolides [164, 254, 438, 452]. Par ailleurs, l'artémisine, anti-coccidien dérivé de la pharmacopée végétale traditionnelle chinoise a été efficace sur des tachyzoïtes de *N. caninum in vitro* [402]. Des extraits alcooliques d'herbes médicinales asiatiques, autrefois utilisées comme antiparasitaires en médecine humaine, ont tué des tachyzoïtes de *N. caninum* en culture [787, 788]. La depudecine (0,5mg/ml) semble présenter une efficacité thérapeutique *in vitro* [420].

## 2 – In Vivo

### 2.1 – Souris

Le toltrazuril, le ponazuril, la sulfadiazine et l'amprolium ont inhibé la formation des lésions cérébrales chez des souris infectés par *N. caninum* [12, 296, 298, 442].

### 2.2 – Chien

Les sulfamides, la pyriméthamine, le toltrazuril et la clindamycine ont été prescrits à des chiens infectés par *N. caninum* présentant ou non des signes cliniques [40, 205, 227, 241, 307, 321, 370, 409, 426, 703]. Le décoquinatate est conseillé par le service de reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes aux chiennes gestantes, positives à *N. caninum* chez qui, des avortements et/ou des résorptions fœtales ont été observés. (Tableau VIII).

**Tableau VIII** : Posologie des médicaments recommandés pour le traitement de la néosporose canine

Molécules	Posologie	Rythme de traitement	Références
Clindamycine	11 à 22 mg/kg		
Sulfamidine - Triméthoprim	15 mg/kg	2 à 3 fois par jour pendant 4 à 6 semaines	[37, 205, 227, 241, 447, 601]
Pyriméthamine	1 mg/kg/jour		
Pyriméthamine - Sulfadiazine	0,25–0,5 mg/kg* ; 30mg/kg** /12 h pendant 2 à 4 semaines		[447]
Toltrazuril	20mg/kg	1 fois tous les 3 mois	[159]
Décoquinatate§	0,05 – 0,25 mg/kg	3 <sup>ème</sup> semaine de gestation jusqu'au terme	§

\* Pyriméthamine ; \*\* Sulfadiazine ; § Service Reproduction Ecole nationale vétérinaire de Nantes

Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable. Il dépend de la rapidité d'apparition des signes cliniques (très mauvais lors d'installation rapide en quelques jours) et du délai séparant l'apparition des signes cliniques et le début du traitement spécifique. Il est possible d'observer une récupération totale ou fonctionnelle chez environ 50% de chiens soumis à un traitement approprié, mais beaucoup d'entre eux conserveront une démarche anormale, une amyotrophie ou une scoliose thoracique [37]. Les cas de néosporose canine qui ont le plus de chance de guérison sont ceux qui présentent le moins de signes d'atteinte du

système nerveux central et qui sont traités très précocement après l'apparition des premiers signes cliniques.

Les molécules proposées blanchissent les animaux [241], réduisent la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements. En conséquence, elles améliorent le taux de fécondité des chiennes ainsi que le nombre de chiots sevrés.

### 2.3 – Bovins

Le décoquinate, le toltrazuril, la Sulfadiazine-Triméthoprine ont été testés chez des bovins.

Le décoquinate est un anticoccidien non antibiotique actif dès le premier stade de l'infestation par les coccidies. Il est prescrit pour la prévention des coccidioses chez le veau (0,5mg/kg) et chez l'agneau (1mg/kg). Chez la brebis (2mg/kg), il diminue l'expression clinique de la toxoplasmose [98].

Chez la vache, utilisé à la dose de 1 à 2 mg/kg pendant 2 mois à partir du 4<sup>ème</sup> mois de gestation, il réduit la transmission placentaire ainsi que le taux d'avortement à *N. caninum* [42, 388, 389]. Il est prescrit pour la prévention des avortements chez la génisse et chez la vache allaitante. Le temps d'attente est nul pour la viande et les abats. Néanmoins, du fait de l'absence d'un dossier sur les résidus dans le lait, il n'est pas recommandé chez la vache laitière.

Le toltrazuril - sulfone, actif contre *Toxoplasma*, *Sarcocystis* et *Theileria*, a traité (20mg/kg pendant 6 jours à partir du lendemain de l'infection) des veaux expérimentalement infectés par *N. caninum* [417].

Un protocole associant la Sulfadiazine-Triméthoprine (20mg/kg) au Toltrazuril (20mg/kg) a considérablement réduit le taux de séropositif (de 68% avant traitement à 0% après traitement) et le taux d'avortement (de 188 avortements avant le traitement à 9 avortements un an après le traitement) dans des élevages fortement infectés [150, 159].

La thérapie proposée blanchit les animaux, réduit la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements dans le cheptel. En effet, ces molécules sont actives sur les tachyzoïtes circulants et n'ont aucun effet sur les bradizoïtes enkystés dans les tissus des hôtes de *N. caninum* [241, 452].

## V - Coût de la néosporose

Des programmes de contrôle de la néosporose ont été développés au niveau national, régional dans plusieurs pays [237, 308, 311, 329, 555, 616, 710, 711]. Ces programmes ont pris en compte les rapports coût – bénéfice de la lutte, comparant ainsi le coût du diagnostic et des mesures de contrôle avec la réduction des pertes économiques dues à l'infection associée aux avortements à *N. caninum* [61, 316, 317, 427, 614, 615]. Néanmoins, aucune stratégie mondiale de contrôle de la néosporose n'a été mise en place, en raison de l'absence d'études épidémiologiques dans certaines régions notamment en Afrique. Ainsi, avant de s'engager dans un programme de contrôle de la néosporose, il est important de maîtriser l'épidémiologie régionale de la pathologie [237, 318, 390, 652].

### 1 - Pertes économiques dues à la néosporose bovine.

Les principales pertes économiques imputables à la néosporose bovine sont liées aux troubles de la reproduction notamment les avortements et l'allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante. En plus des coûts directs impliqués dans la perte du fœtus, la néosporose induit des coûts indirects comprenant les prestations cliniques vétérinaires, les frais du diagnostic et du traitement. Par ailleurs, l'infection à *N. caninum* serait une cause de réforme précoce [236, 555, 711, 718, 753] et de réduction de la production laitière des vaches [332, 708].

Le risque d'abattage d'une vache séropositive a été 1,4 à 1,9 fois supérieur à celui d'une vache séronégative [61, 154, 710, 715, 753], entraînant de pertes génétiques liées à la réforme précoce des animaux. Cependant, **Cramer et al.** [154] n'ont observé aucune différence entre les taux d'abattage des vaches séropositives et séronégatives. La taille de l'échantillon et la méthode d'étude influenceraient ce taux d'abattage.

La production laitière pourrait être affectée par une infection à *N. caninum* [332, 708, 710]. En effet, les vaches séropositives produisent moins de lait (2 à 4% par jour de lactation) que les séronégatives [332, 708]. Cependant, plusieurs études n'ont observé aucune influence de la séropositivité sur la production laitière [346, 730]. En revanche, une augmentation de la quantité de lait a été observée chez des

vaches séropositives [592, 634]. Néanmoins, elle n'a persisté que les 100 premiers jours qui ont suivi la flambée d'avortements dans les exploitations [61]. Ainsi, la physiopathogénie de *N. caninum* sur la production laitière reste un mystère.

De même, une réduction significative du gain pondéral post sevrage, du poids carcasse ainsi que de l'efficacité alimentaire a été observé chez des veaux de boucherie séropositifs [44, 46].

Des études ont estimé l'effet des pertes dues à une infection à *N. caninum* sur l'abattage [391, 427], le poids au sevrage [391], le gain moyen quotidien en période d'engraissement [46] et les performances de reproduction [753] dans des troupeaux allaitants.

La réduction de ces caractéristiques zootechniques ainsi que l'impact des stratégies de contrôle chez les bovins allaitants [427] et chez les bovins laitiers [58, 132, 316, 317, 615] ont été évaluées à :

- 35 millions de dollars US par an en Californie [54];
- 100 millions de dollars australiens par an en Australie et en Nouvelle - Zélande [611];
- 9,7 millions d'euros par an dans des troupeaux laitiers en Suisse [316, 317];
- 2304 dollars canadiens dans un troupeau de 50 vaches laitières au Canada [132];
- 2000 euros par an sur 24% du cheptel dans lequel des épidémies d'avortements ont été observées en hollande [58].

En général, le coût des soins a toujours été significativement plus élevé chez des animaux séropositifs.

Les pertes ont été estimées à 15,62 dollars américains [46].

Le mode de gestion des troupeaux, les différences dans la conception des études et les méthodes d'analyse expliqueraient les variations observées dans l'estimation des pertes dues la néosporose [237].

## **2 - Rendement des stratégies de lutte contre la néosporose bovine.**

Les avortements associés aux infections dues à *N. caninum* ont été influencés par plusieurs facteurs dans des élevages bovins laitiers et allaitants. En raison de la multitude de facteurs de risques [237, 390, 564], l'approche dans la stratégie de contrôle doit être régionale. Elle devrait être basée sur le

rapport coût – bénéfice de la lutte et tenir compte des paramètres tels que le type de spéculation, le mode de gestion des troupeaux, la voie de transmission, la biosécurité dans les exploitations agricole ainsi que les effets de l'infection sur les paramètres et performances de reproduction [237].

Ainsi, en cas de prédominance de la transmission verticale, l'idéal serait d'identifier et de reformer les animaux infectés ou réaliser au préalable, du transfert d'embryons des donneuses séropositives à haut potentiel génétiques aux receveuses séronégatives [35, 77, 425, 523, 711].

Lors d'une prédominance de la transmission horizontale, l'accent doit être mis sur la réduction des facteurs de risques d'infections en :

- empêchant l'accès des hôtes définitifs (chiens, coyotes) excréteurs d'ookystes responsables de l'entretien du cycle de *N. caninum* [721],
- détruisant toutes sources potentielles (avortons, placentas, aliments et litières contaminées) de formes parasitaires (Takyzoïtes, Kystes à bradyzoïtes, ookystes) de *N. caninum*.

Toutefois, la décision de la mesure de contrôle doit prendre en compte le coût et les risques qu'induiraient une infection.

Aux Etats – Unis, la reforme des femelles nées de vaches séropositives offre un meilleur rendement économique [427].

En Nouvelle – Zélande et en Australie, l'entretien de l'infection dans le troupeau a été le meilleur choix économique, à condition que la séroprévalence n'excède pas 10% sur une année ou 14% sur 5 ans.

Néanmoins, la vaccination [633, 766, 769] et la reforme [311] des infectés offriraient le meilleur choix économique en cas d'augmentation de la prévalence au sein du troupeau [615, 618].

En suisse, la néosporose a été enregistrée comme maladie à déclaration obligatoire depuis 2001 [317].

La prophylaxie est basée sur l'interdiction de la mise à la reproduction des animaux issus de vaches séropositives [316, 317].

---

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

**INCIDENCE DE LA PREVALENCE SEROLOGIQUE DE *NEOSPORA CANINUM* SUR LA REPRODUCTION  
DES ANIMAUX D'ELEVAGE AU SENEGAL**

---

# Chapitre I

---

## SEROPREVALENCE DE *NEOSPORA CANINUM* ET CONSEQUENCES SUR LES PARAMETRES DE REPRODUCTION DES VACHES LAITIERES DE DAKAR – SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST

---

**KAMGA – WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, KONE P.<sup>1</sup>, LAPO R.A.<sup>1</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, BAKOU S.N.<sup>1</sup>, PANGUI  
L.J.<sup>1</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup>, AKAKPO J.A.<sup>1</sup>, TAINTURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Inter-State School of Veterinary Sciences and Medicine of Dakar, P.O. Box 5077 Dakar – Senegal

<sup>2</sup>Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School, Atlanpole – La Chantrerie P.O. Box  
40706 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉Corresponding author: akwar2003@yahoo.fr

(Soumis pour publication à *Tropical animal health and production* 2009)

**Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from dakar - senegal, west africa**

**Abstract**

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its effects on reproductive parameters in cows in intensive dairy herds in Dakar. Randomised blood samples were taken for serology from 196 cows in 4 herds with a history of sporadic abortion. All of the sera were assayed for antibodies against *N. caninum*, *Candida guilliermondii*, *Coxiella burnetii*, and *Chlamydophila sp.* The associations between serostatus and reproductive parameters (abortion, number of inseminations to conception, and calving to conception interval) were assessed over a period of 5 years (2004 – 2008). The seroprevalence of *N. caninum* antibodies in dairy cattle was 17.9%. The local Gobra breed and crossbreeds had higher levels of *N. caninum* antibodies than exotic breeds ( $p < 0.05$ ). For the most recent pregnancies, seropositive cows required more inseminations to establish conception than seronegative cows ( $p < 0.05$ ). The results indicate that dairy cattle from Dakar are exposed to *N. caninum*. Neosporosis should therefore be systematically considered as a cause when the calving to conception interval is prolonged.

**Keywords :** Cows; *Neospora caninum*; *Coxiella burnetii*; *Chlamydophila sp.*; *Candida guilliermondii*; Reproductive parameters.

**Séroprévalence de *Neospora caninum* et conséquences sur les paramètres de reproduction chez les vaches laitières à Dakar – Sénégal, Afrique de l'ouest.**

**Résumé**

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets de la prévalence sérologique de *Neospora caninum* sur les paramètres de reproduction des vaches laitières en élevage intensif à Dakar. Elle a porté sur 196 vaches venant de 4 troupeaux dans lesquels, des avortements sporadiques sont observés. Tous les sérums prélevés (196) ont été analysés pour la recherche des anticorps anti *N. caninum*, *Candida guilliermondii*, *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila sp.* La relation entre le statut sérologique et les paramètres de reproduction (avortement, nombre d'inseminations par gestation, intervalle vêlage insémination fécondante) a été évaluée sur 5 ans (2004 – 2008). La prévalence sérologique de *N. caninum* chez ces bovins laitiers a été de 17,9%. La race locale Gobra et les métisses sont plus infectées que les races exotiques ( $p < 0.05$ ). Les vaches séropositives nécessitent plus d'inseminations par gestation que les séronégatives ( $p < 0.05$ ). Ces résultats indiquent que les bovins laitiers de Dakar sont infectés par *N. caninum*. Ainsi, la néosporose devrait systématiquement être prise en compte lors de l'allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante dans un troupeau.

**Mots clés :** vaches; *Neospora caninum*; *Coxiella burnetii*; *Chlamydophila sp.*; *Candida guilliermondii*; Paramètres de reproduction.

## Introduction

Neosporosis is a worldwide protozoan disease of cattle that has been associated with endemic, epidemic and sporadic abortions [194, 237, 311], and decreased milk production [708]. Abortion can occur at any stage of pregnancy; however, infected cows can also give birth to diseased, sub-clinically infected, or healthy calves [51, 237]. Early foetal death and foetal resorption have also been reported [196]. Several authors have used serological tests to demonstrate an increased risk of abortion amongst *N. caninum* positive cows. They observed that seropositive cows are more likely to abort than seronegative ones [29, 170, 237, 282, 411, 469, 575, 593, 709, 727].

Bovine neosporosis is a common problem in many countries with intensive dairy production [237]. Recent serological surveys indicate that *N. caninum* infection occurs in dairy cattle herds on all continents [169, 176, 188, 237, 384, 476, 564, 605].

Various methods have been proposed to control *N. caninum*; these include culling seropositive cows, controlling the access of dogs to cattle feed and foetal material, chemical control and attempts at vaccination [237].

In herds with a high rate of vertical transmission and a low rate of postnatal transmission, it has been suggested that *N. caninum* infection could be controlled by culling infected cattle or not breeding infected cattle, or a combination of the two [272, 616]. This is only practical in herds with a low prevalence of infection otherwise rates of culling would be too high. Nevertheless, this approach would prevent vertical transmission, and so in theory only a few new infections would occur from postnatal transmission.

There have been no previous studies into the prevalence of neosporosis in dairy farms in West Africa. The objective of this work was to assess the seroprevalence of *N. caninum* antibodies and its consequences on reproductive parameters in cows in an area of intensive dairy production in Dakar - Senegal. Several other abortive agents were investigated at the same time.

## Materials and methods

### *Study area and herd description*

The study was carried out at Dakar (Latitude 14°43N, Longitude 17°28W), located in the western region of Senegal in West Africa. It's in a tropical area with 2 seasons: dry from November to June, and raining from July to October with an average rainfall of  $500 \pm 50$  mm. The lowest temperatures ( $15^{\circ}$  -  $20^{\circ}$  C) were recorded between January and March. The remainder of the year, they fluctuate between 20 and  $40^{\circ}$ C.

The herds were mostly composed of exotic breeds [80.1% (157/196)] (Table 1). Cows were loose housed. Their diet was composed of green fodder, silage, rice bran, cotton seed and dairy cake. Water was available *ad lib*.

Calves were kept in calf rearing pens; when the heifers were ready for breeding, they were moved to a different site on the farm. All cows were bred by artificial insemination.

Using a database supplied by the veterinarian consultant of the herds and the farmers' own records, the abortion rate was calculated at 13.3% over 5 years (2004 – 2008). The sporadic abortions were observed over all the year. But, we noted that they increase during the rainy season, between August and October. At this period of year, the temperature is raised and can reach to  $40^{\circ}$  C. Cows were brucellosis-free and had been vaccinated against foot-and-mouth disease, anthrax and pasteurellosis. Furthermore, 44.9% of the animals were raised in herds and the remaining 55.1% had been purchased in Europe, Brazil and South Africa (1995 – 2000).

**Table 1:** Distribution of cattle breeds in the dairy herds.

Breed	Local Breeds	Exotic Breeds			Crossbreeds	Total	
	Gobra	Holstein	Jersey	Girolando	Total		Local X Exotic
Number	15	71	59	27	157	24	196
Percentages (%)	7.7	36.2	30.1	13.8	80.1	12.2	100

### **Serological sampling**

Each dairy farm was visited between 2007 and 2008 (one day per month) and blood samples were obtained randomly from 196 dairy cows. Blood samples were collected from the jugular vein using vacutainer tubes, stored for 1 to 2 hr at room temperature, and then centrifuged at 1500 x g for 10 minutes. The sera were stored at -20°C until used. They were assayed using competitive ELISA (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) for *N. caninum* antibodies, non-competitive ELISA (in-house technique, not available commercially) for *C. guillermondii*, and non-competitive ELISA (ELISACox - LSI, Lissieu - France) for *C. burnetii* and *Chlamydophila sp.*

All sera were analysed at the Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School (France). The variables were analyzed by the chi-square test, using the R-Commander software program. We considered a p – value < 0.05 as significant.

### **Data collection**

Data on breed, age of cows and reproductive parameters (abortions, number of inseminations to conception, calving to first service interval and calving to conception interval) were retrieved from the herd owners' records.

### **Reproductive parameters**

#### **Abortion investigation**

For each abortion, the serological status of the aborting cow to *N. caninum*, *C. guillermondii* (responsible for repeat breeding [699]), *C. burnetii*, and *Chlamydophila sp* was determined. Statistical analysis was performed by the chi-square test, using the R-Commander software program. We considered a p – value < 0.05 as significant.

### ***Number of inseminations to conception***

The DAIRY database was accessed and the number of services to conception was obtained for the two most recent pregnancies of each cow. Statistical analysis was performed using single factor ANOVA on the R-Commander software program. We considered a p – value < 0.05 as significant.

### ***Calving to conception interval***

The “calving to first service interval” and the “calving to conception interval” were also obtained from the database and subtracted from one another to give the “number of days from first service to conception”. Statistical analysis was performed using single factor ANOVA on the R-Commander software program. We considered a p – value < 0.05 as significant.

## **Results**

### ***Serology***

#### ***Neospora caninum* ELISA**

*N. caninum* antibodies were found in 17.9% (Table 2) of cattle and all four farms had seropositive animals. The local Gobra breed [53.3% (8/15)] and crossbreeds [25% (6/24)] had higher levels of *N. caninum* antibodies than exotic breeds [13.4 (21/157)] (p < 0.05).

However, there was no difference in the seroprevalence of *Neospora* infection among age groups (p > 0.05) (Table 3).

**Table 2:** Seroprevalence of *N. caninum* antibodies in different breeds

<i>N. c.</i> antibodies	Local Breeds	Exotic Breeds				Crossbreeds	Total
	Gobra	Holstein	Jersey	Girolando	Total	Local X Exotic	
Seropositive (%) <sup>*</sup>	8(53.3) <sup>a</sup>	10 (14.1) <sup>b</sup>	9(15.3) <sup>b</sup>	2(7.4) <sup>b</sup>	21(13.4)	6(25.0) <sup>a</sup>	35(17.9)
Seronegative	7	61	50	25	136	18	161
Total	15	71	59	27	157	24	196
p				p < 0.05			

<sup>\*</sup> Number in brackets: percentages of seropositive samples.

Values on the same line with different superscripts are significantly different (P < 0.05)

**Table 3:** Seroprevalence of *N. caninum* antibodies in different age groups of cows

Age (Years)	Seropositive number (%) <sup>*</sup>	Seronegative number	Total	p
2 – 5	16 (18.4)	71	87	
6 – 10	16 (15.5)	87	103	
> 10	3 (50)	3	6	
Total	35 (17.9)	161	196	> 0,05

<sup>\*</sup> Values in brackets: percentages of seropositive samples.

### ***Candida guilliermondii* ELISA**

The overall prevalence of *C. guilliermondii* antibodies in these cattle herds was 5.1% (10/196). Only four animals had antibodies to both *N. caninum* and *C. guilliermondii*.

### ***Coxiella burnetii* ELISA**

The prevalence of *C. burnetii* antibodies in these cattle herds was 3.6% (7/196). Three cows were positive for both *N. caninum* and *C. burnetii* antibodies.

### ***Chlamydophila sp.* ELISA**

Only six cows tested positive for antibodies to *Chlamydophila sp.*, giving an overall prevalence of 3.1% (6/196) in the study population. Two cows were positive for both *N. caninum* and *Chlamydophila sp.* antibodies.

**Reproductive parameters****Abortions**

Using a database supplied by the consultant veterinarian of the herds and the farmers' own records, we calculated an abortion rate of 13.3% over 5 years (2004 – 2008). 19.2% (5/26) of *N. caninum* seropositive cows aborted, while 17.6% (30/170) of *N. caninum* seronegative cows aborted (Table 4). In these herds, there was no significant risk of abortion with *N. caninum*, *C. guillermondii*, *Chlamydophila sp.* and *C. burnetii* ( $p > 0.05$ ).

**Table 4:** Seroprevalence of *N. caninum* antibodies in aborted and non - aborted cows

<i>N. caninum</i> antibodies	Abortion		Total	p
	Yes (%)	No (%)		
Positive	5 (19.2%)	21 (80.8%)	26	
Negative	30 (17.6%)	140 (82.4%)	170	
Total	35 (17.9%)	161 (82.1%)	196	> 0,05

**Number of inseminations to conception**

Analysis of the most recent pregnancies revealed that seropositive cows also required more inseminations prior to conception compared to seronegative ones ( $p < 0.05$ ). The breed and the age of cows did not interact with the number of inseminations prior to conception (Table 5 - 6).

**Table 5:** Number of inseminations to conception for *N. caninum*-infected in different cow breeds.

	Mean number of inseminations to conception		p	
	<i>N. caninum</i> positive	<i>N. caninum</i> negative		
Breeds of cows	Local (Gobra)	3.7 <sup>a</sup>	2.9 <sup>b</sup>	
	Local X Exotic	4.2 <sup>a</sup>	2.8 <sup>b</sup>	
	Exotic	3.6 <sup>a</sup>	1.9 <sup>b</sup>	
Mean number of inseminations in sample*		3.9 <sup>a</sup> (35)	2.1 <sup>b</sup> (161)	< 0.05

\* The number in brackets signifies the number of cows.

Values on the same line with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ )

**Table 6:** Number of inseminations to conception for *N. caninum*-infected in different age groups of cows

	Mean number of inseminations to conception		p	
	<i>N. caninum</i> positive	<i>N. caninum</i> negative		
Age of cows	2 – 5 years	3.6 <sup>a</sup>	1.8 <sup>b</sup>	
	6 – 10 years	4.0 <sup>a</sup>	2.7 <sup>b</sup>	
	> 10 years	3.8 <sup>a</sup>	2.4 <sup>b</sup>	
Mean number of inseminations in sample*		3.9 <sup>a</sup> (35)	2.1 <sup>b</sup> (161)	< 0.05

\* The number in brackets signifies the number of cows.

Values on the same line with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

### **Calving to conception interval**

An additional 28.9 days were required for conception to occur in *N. caninum* positive cows compared to seronegative cows ( $p < 0.05$ ).

### **Discussion**

This is the first report of *N. caninum* antibody testing in dairy cattle herds from Senegal. *N. caninum* antibodies were found in 17.9% of cattle and all farms had seropositive animals.

The prevalence of *N. caninum* antibodies in world dairy cattle populations ranges from 3.0% in an Irish study [500] to 64.5% in Argentina [737]. We found a prevalence of 53.3% in local breeds, 13.4% in exotic breeds and 25% in crossbreeds. Statistically, there was a significant difference in the prevalence of neosporosis among different breeds. There are indications from several countries that the seroprevalence of *N. caninum* differs according to the breed of cattle [57]. However, the differences observed might have been caused by differences in the management systems used for the different breeds and not by differences in breed-related susceptibility to infection [237]. In our study, the native Gobra breed and crossbreeds (Local X Exotic, product of artificial insemination) had higher levels of *N. caninum* antibodies than exotic breeds purchased in Europe, Brazil and South Africa from 1995 to 2000. The parents of local

cows have been bred in an extensive mode characterized by the research of natural pasture and water consumption of pond during the day. Thus, they would have been in contact with the parasitic forms of *N. caninum* and would have contaminated their descendants which are today, stabling cattle farms in the peri-urban of Dakar. The trans-placental passage and the possibility of repeated transmission to the offspring [19, 51, 576] would have maintained this protozoon in the herd of local breeds in the absence of any re-infection. Therefore, the use of local female race infected (53.3%) for the production of crossbreeds may explain the contamination of these latter (25%). Furthermore, the different sample sizes could have influenced the results because the majority of animals examined were exotic breeds.

Analysis of the database revealed an abortion rate of 13.3% over 5 years. Of the *N. caninum* seropositive cows 19.2% aborted while 17.6% of *N. caninum* seronegative cows aborted. These herds experienced sporadic abortions and there was no risk of abortion with *N. caninum*, *C. guillermondii*, *Chlamydophila sp.* or *C. burnetii*. In neosporosis, abortion is not systematic [19, 51] and infected cows can give birth clinically healthy calves, but carrying the parasite [512, 576, 709, 765]. Other risk factors including heat stress during the rainy season in Dakar could explain the prevalence of foetal losses in these breeding.

Several studies have demonstrated that seropositive cows are more likely to abort than seronegative cows [146, 170, 237, 282, 318, 384, 411, 469, 514, 575, 727, 762].

Moreover, a number of factors that have been identified as risk or protective factors for *N. caninum* infection in cattle also seem to influence the risk of *N. caninum*-associated foetal death and resorption [237].

*N. caninum* infected cows required more inseminations per confirmed pregnancy than their seronegative herd mates. With regard to the most recent pregnancies, seronegative cows were inseminated 2.1 times on the average while seropositive cows were inseminated 3.9 times. Significant difference was also observed in another similar study with seropositive cows requiring 3.7 inseminations in the most recent pregnancies, compared to 2.4 inseminations for seronegative cows [311]. Another study found that *N. caninum* infected

heifers had a 1.8 times greater chance of not conceiving after one insemination than their non-infected herd mates [530].

The higher number of services to conception may indicate that early foetal loss has occurred. *N. caninum* has been cited as a probable cause of early foetal death [237, 616, 750, 753]. *N. caninum* therefore lengthens the time from calving to conception in dairy herds. Indeed, analysis of the last pregnancy in the current study revealed that an additional 28.9 days were required for conception to occur in *N. caninum* positive cows compared to seronegative cows. This result could indicate that *N. caninum* is associated not only with abortion but also with early pregnancy losses [750, 753]. Hall *et al.* [311] evaluated this difference at 22.5 days. However, the calving to conception interval was not significantly affected by the serological status of the cows [311, 469, 634].

Our results indicate that dairy cattle from Dakar are exposed to *N. caninum*. Neosporosis should therefore be considered as a cause when the calving to conception interval is prolonged.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank veterinarian of the herds and all of the farmers who contributed data for this study. Furthermore, we would like to thank Professor Daniel Tainturier, head of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School (France), for allowing us to use their facilities and for providing technical assistance during the study.

## Chapitre II

---

### SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE ET CONSEQUENCES SUR LE TAUX DE REUSSITE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DANS LES TROUPEAUX BOVINS A DAKAR – SENEGAL

---

**KAMGA –WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, KONE P.<sup>1</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, BAKOU S.N.<sup>1</sup>, BOLY H.<sup>3</sup>, DIOP  
P.E.H.<sup>1</sup>, AKAKPO J.A.<sup>1</sup> et TAINTURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. BP : 5077 Dakar - Fann - Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole - La Chantrerie. BP : 40706 - 44307 Nantes Cedex 03 – France

<sup>3</sup>Université Polytechnique de Bobo – Dioulasso 01 BP : 1091 Bobo-Dioulasso 01 Burkina Faso

✉ Correspondant : Email : akwar2003@yahoo.fr

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (1) : 19 -22

**Séroprévalence de la neosporose et conséquences sur le taux de réussite de l'insémination artificielle dans les troupeaux bovins a Dakar – Sénégal**

**Résumé**

L'objectif de cette étude est d'évaluer les conséquences de la prévalence sérologique de *Neospora caninum* sur le taux de réussite de l'insémination artificielle dans des troupeaux bovins de la zone péri – urbaine de Dakar – Sénégal. Elle a été réalisée de janvier 2006 à mars 2009 sur 500 vaches âgées de 2 à 12 ans dont 360 de races exotiques/métisses et 160 de races locales élevées respectivement en mode intensif et semi – intensif. Les sérums ont été analysés pour la recherche des anticorps anti *N. caninum* avec le coffret ELISA compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A).

Une séroprévalence de *N. caninum* significativement plus élevée est observée chez les races locales (71,4%) comparée aux vaches exotiques (17,4%) et métisses (27,3%) ( $p < 0,05$ ).

Les vaches séropositives ont nécessité plus d'inséminations pour obtenir une gestation par rapport aux séronégatives, quel que soit la classe d'âge ( $p < 0,05$ ). Ainsi, cette étude révèle une réduction de la fertilité chez les vaches infectées par *N. caninum*.

**Mots-clés** : Bovins, *Neospora caninum*, Taux de réussite de l'insémination artificielle.

**Seroprevalence of neosporosis and consequences on the success rate of artificial insemination in cattle herds from Dakar – Senegal (West Africa)**

**Abstract**

The purpose of this study is to appraise the consequences of serologic prevalence of *Neospora caninum* on the success rate of artificial insemination in peri - urban cattle herds from Dakar - Senegal. It was conducted from January 2006 to March 2009 on 500 cows aged 2 to 12 years, including 360 exotic breeds / Métis and 160 local breeds respectively in intensive and semi-intensive modes. Sera were analyzed for the detection of antibodies against *N. caninum* by competitive ELISA multi - species kit (VMRD, Pulman – USA). Seroprevalence of *N. caninum* is significantly higher in local cows (71.4%) than exotic (17.4%) and crossbreeds (27.3%) cows ( $p < 0.05$ ). Seropositive cows required more inseminations to establish conception than seronegative cows, whatever the age ( $p < 0.05$ ). Thus, this study shows a reduction of fertility in *N. caninum* infected cows.

**Keywords** : Cattle, *Neospora caninum*, Success rate of artificial insemination

## Introduction

En Afrique subsaharienne, l'essor démographique est en inadéquation avec le disponible en lait et produits laitiers. Plusieurs facteurs entravent le développement de cette filière. En plus des facteurs alimentaire, génétique et socio - économique pré - existants, la néosporose pourrait être un facteur pathologique majeur qui freine l'intensification de la production laitière. La néosporose est une protozoose cosmopolite due à *Neospora caninum* morphologiquement proche de *Toxoplasma gondii* [81, 203] dont les manifestations cliniques sont caractérisées par les avortements et des maladies néonatales chez de nombreuses espèces domestiques et sauvages [237]. La néosporose est surtout responsable des troubles de la reproduction dans l'espèce bovine. Le chien et certains canidés ont été identifiés comme hôtes définitifs de *N. caninum* [237].

L'importance de la néosporose bovine est surtout économique [614] en raison de la fréquence des avortements chez les vaches infectées. Plusieurs études ont été initiées pour comprendre les mécanismes physiopathologiques qu'impliqueraient *N. caninum* dans la mort fœtale [8, 102, 202, 237, 467, 765].

Dans l'optique d'intensifier la production laitière, les gouvernements africains, dont celui du Sénégal, ont opté pour le développement de l'insémination artificielle. Son utilisation en milieu paysan reste confrontée à des taux de réussite relativement faible. Ainsi, il est opportun d'apprécier l'impact de certains agents pathogènes responsables de troubles de la reproduction sur la réussite de l'insémination artificielle dans l'espèce bovine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les conséquences de la séroprévalence de *N. caninum* sur le taux de réussite de l'insémination artificielle dans les troupeaux bovins de la zone péri – urbaine de Dakar – Sénégal.

## **Matériel et méthodes**

### **Milieu d'étude**

L'étude a été réalisée dans la ville Dakar et ses environs. La zone est située entre les isohyètes 400 et 600 mm. Le climat est de type sahélien. Il est caractérisé par une saison des pluies d'une durée variable (Juillet - Octobre) et d'une saison sèche (novembre à juin). Les températures les plus basses (15° - 20°C) sont enregistrées entre janvier et mars. Le reste de l'année, elles oscillent entre 20 et 40°C. Les précipitations sont très variables d'une année à l'autre et la pluviométrie moyenne annuelle est de 400 mm. La végétation est constituée de savane boisée, arbustive et herbacée. Le pâturage naturel est abondant en saison pluvieuse et se compose de graminées et de légumineuses.

### **Animal**

L'étude a été réalisée de janvier 2006 à mars 2009 sur 500 vaches âgées de 2 à 12 ans (Tableau I). La répartition des animaux (2 lots) est fonction du mode de conduite des troupeaux, les vaches des lots 1 et 2 étant entretenues respectivement en mode intensif et semi intensif. Les animaux sélectionnés ont été identifiés à l'aide de boucles auriculaires et toutes les informations les concernant ont été enregistrées sur des fiches individuelles. Ces vaches ont régulièrement été suivies par le vétérinaire responsable de l'exploitation (Elevage intensif), les vétérinaires privés inséminateurs (Elevage semi intensif), le Service de Reproduction de l'Ecole vétérinaire de Dakar (Elevage intensif et semi intensif). Par ailleurs, les registres de gestion des différents troupeaux nous ont permis de nous imprégner de l'historique de chaque vache. De l'analyse de ces registres, il en ressort que les différents troupeaux ont été régulièrement vaccinés contre les principales maladies de la région. Un programme de prophylaxie a été mis en œuvre dans tous ces troupeaux intensifs et semi intensifs sélectionnés notamment le déparasitage interne, externe et la lutte contre les trypanosomoses.

### **Lot 1 : Elevages intensifs**

Le lot 1 est constitué de 360 vaches (Tableau I) dont 305 de races exotiques et 55 métisses (produit de l'insémination artificielle des vaches locales avec la semence de taureaux de race exotique) en stabulation libre dans des fermes péri – urbaines de Dakar.

Le troupeau initial de vaches exotiques a été importé d'Europe, d'Afrique du Sud et du Brésil. Toutes les femelles sont inséminées sur chaleurs naturelles avec de la semence de races équivalentes importées d'Europe.

Les animaux sont nourris à l'enclos au foin, à l'ensilage et à l'aliment bétail commercial toute l'année. L'eau potable est distribuée *ad – libitum*. Des chiens de fermes sont présents dans les exploitations ; des animaux sauvages notamment le chat tigré, des chiens errants et des volailles en divagation séjournent occasionnellement dans ces élevages.

### **Lot 2 : Elevages semi intensifs**

Le lot 2 est constitué de 140 vaches locales (Tableau I) en semi stabulation dans des fermes péri – urbaines de Dakar.

Les vaches sélectionnées sont reconnues comme meilleures laitières du troupeau par les éleveurs et ont participé aux campagnes nationales d'insémination artificielle initiées par le Projet d'Appui à l'Élevage au Sénégal (PAPEL). Les inséminations sont réalisées sur chaleurs induites avec un protocole associant la spirale vaginale (PRID<sup>ND</sup>) à la prostaglandine F<sub>2α</sub> et à la « Pregnant Mare Serum Gonadotrophin » (PMSG).

Ces femelles sont conduites en mode semi intensif caractérisé par la recherche du pâturage naturel pendant la journée. Les animaux retournent dans les enclos au coucher du soleil où ils sont complémentés avec de l'aliment bétail commercial avant la traite. L'abreuvement se fait dans des mares au cours de la pâture.

### **Diagnostic de gestation**

Le diagnostic précoce de non gestation est réalisé par observation des chaleurs entre le 18<sup>ème</sup> et le 25<sup>ème</sup> jour post-insémination. La gestation est confirmée par palpation transrectale à partir du 45<sup>ème</sup> jour post insémination. Les vaches non gestantes sont re-inséminées.

### **Collecte des données**

L'âge des animaux, le mode de gestion des troupeaux et les performances de reproduction notamment le nombre d'inséminations par gestation ont été enregistrés sur des fiches individuelles.

### **Prélèvement de sang**

Au cours du suivi, un prélèvement de sang sur tube sec est réalisé sur chaque femelle à la veine jugulaire. Le sang total prélevé est conservé 1 à 2 heures à température ambiante, puis centrifugé à 3500 tours par minute pendant 10 minutes. Ainsi, 500 sérums sont conservés à -20°C jusqu'à l'analyse sérologique. La recherche des anticorps anti *N. caninum* est réalisée avec le coffret ELISA compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A). Tous les sérums ont été analysés au laboratoire de sérologie du Service de Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (France).

### **Analyses statistiques**

Les résultats sérologiques et la relation entre le sérostatut des vaches et le nombre d'inséminations par gestation ont été analysés respectivement par le test de khi – deux et l'ANOVA à un facteur avec le logiciel R-Commander (R version 2.6.2; Copyright (C) 2008). La différence est statistiquement significative lorsque la valeur de  $p < 0,05$  [13].

## Résultats

### Sérologie

La séroprévalence de *N. caninum* a significativement été plus élevée chez les vaches de races locales conduites en mode semi – intensif (71,4%) comparée aux vaches exotiques (17,4%) et métisses (27,3%) conduites en mode intensif ( $p < 0,05$ ) (Tableau I).

**Tableau I** : Description de l'échantillon et séroprévalence de *Neospora caninum*.

	Race	Statut sérologique des vaches ( <i>N. caninum</i> )		Total
		Positif (%) <sup>a</sup>	Négatif (%)	
Exotique	Girolando	9 (20,45)	35 (79,55)	44
	Jersiaise	23 (20,18)	91 (79,82)	114
	Holstein	21 (14,29)	126 (85,71)	147
<b>Total race exotique</b>		<b>53 (17,38<sup>a</sup>)</b>	<b>252 (82,62)</b>	<b>305</b>
Exotique X Locale	Métisse	15 (27,27 <sup>a</sup> )	40 (72,73)	55
Locale	Gobra	83 (74,77)	28 (25,23)	111
	Maure	17 (58,62)	12 (41,38)	29
<b>Total race locale</b>		<b>100 (71,43<sup>b</sup>)</b>	<b>40 (28,57)</b>	<b>140</b>
<b>TOTAL</b>		<b>168 (33,60)</b>	<b>332 (66,40)</b>	<b>500</b>

<sup>a</sup>Les chiffres de la même colonne indexés de lettres différentes sont significativement différents

### Sérologie et nombre d'inséminations par gestation

#### Sérologie et système d'élevage

L'analyse des résultats sérologiques indique une augmentation significative du nombre d'inséminations par gestation chez les vaches séropositives de races exotiques en stabulation (*N. caninum* positive 3,1 IA/gestation contre *N. caninum* négative 1,8 IA/gestation) et chez les vaches de races locales semi transhumantes (*N. caninum* positive 4,1 IA/gestation contre *N. caninum* négative 2,4 IA/gestation) ( $p < 0,05$ ) (Tableau II).

## Sérologie et classe d'âge

Au sein de chaque classe d'âge, le nombre moyen d'inséminations par gestation a toujours été significativement plus élevé chez les vaches séropositives de races exotiques et de races locales par rapport aux séronégatives ( $p < 0,05$ ) (Tableau II).

**Tableau II** : Effet du sérostatut (*N. caninum*) des vaches sur le nombre moyen d'inséminations par gestation.

	Nombre moyen d'inséminations par gestation					
	Vaches Exotiques		Vaches Métisses		Vaches Locales	
	Sérostatut des vaches ( <i>N. caninum</i> )					
Age (années)	Positives (N = 53)	Négatives (N = 252)	Positives (N = 15)	Négatives (N = 40)	Positives (N = 100)	Négatives (N = 40)
2 - 5	1,9 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>	3,6 <sup>b</sup>	2,1 <sup>a</sup>
6 - 10	2,9 <sup>a</sup>	1,7 <sup>b</sup>	1,9 <sup>b</sup>	2,1 <sup>b</sup>	3,7 <sup>a</sup>	1,9 <sup>b</sup>
>10	3,4 <sup>a</sup>	2,4 <sup>b</sup>	3,3 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	4,9 <sup>c</sup>	3,5 <sup>a</sup>
Nombre moyen d'IA/Gestation	3,1 <sup>a</sup>	1,8 <sup>b</sup>	2,5 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	4,1 <sup>c</sup>	2,4 <sup>b</sup>
P	<0,05		>0,05		<0,05	

Les chiffres de la même ligne indexés de lettres différentes sont significativement différents

## Discussion

### Sérologie

Cette étude met en évidence, la présence de *N. caninum* dans les troupeaux intensifs et semi intensifs péri-urbains de Dakar. Tous les troupeaux sont contaminés [123, 610]. Cependant, la séroprévalence de *N. caninum* est significativement plus élevée chez les vaches semi-transhumantes, que chez celles qui vivent en stabulation libre dans des élevages laitiers de Dakar. Ainsi, le mode de conduite de l'élevage a une influence sur la séroprévalence de cette protozoose [57]. En effet, les animaux transhumants ont une forte probabilité d'être en contact avec les ookystes excrétés par les hôtes définitifs [237] notamment les chiens errants dont la séroprévalence a été évalué à 17,1% dans ces zones d'élevage [Kamga Waladjo, Observations personnelles]. Les conditions climatiques tropicales favorables à la sporulation et la survie de ces ookystes constituent un facteur de risque d'infection des

bovins par *N. caninum* [467, 621, 651]. La contamination horizontale se ferait par ingestion de ces ookystes sur le pâturage et/ou à partir de l'eau de boisson [564].

Quant aux troupeaux en stabulation permanente, la présence de chiens de fermes [59, 148, 187, 477, 572, 651, 652, 744], le séjour occasionnel de vecteurs mécaniques des ookystes notamment les volailles [561], la densité animale dans ces élevages [45, 47, 641], le faible taux de renouvellement du cheptel [57], l'utilisation du foin et de l'ensilage pour l'alimentation des animaux [45] pourraient expliquer cette séroprévalence chez les vaches de races exotiques (17,38%) dont le statut sérologique à l'importation est inconnu. Néanmoins, compte tenu du caractère cosmopolite de *N. caninum* [237], les troupeaux naisseurs de vaches importées d'Europe, d'Afrique du Sud et du Brésil auraient pu être contaminés. Ainsi, la transmission trans-placentaire du parasite, l'alimentation des veaux au colostrum [148] et l'auto production des génisses de remplacement [45] auraient contribué à la persistance de *N. caninum* dans les troupeaux. En plus de ces facteurs de risque précédemment identifiés, l'utilisation de femelles locales fortement infectées (71,43%) pour la production de métisses est un facteur de risque d'infection par *N. caninum*.

### **Sérologie et nombre d'inséminations par gestation**

La séropositivité de *N. caninum* dans les élevages péri-urbains de Dakar est associée à une augmentation du nombre moyen d'inséminations par gestation chez les vaches exotiques en stabulation permanentes et chez les vaches de races locales semi transhumantes.

L'influence de la séropositivité à *N. caninum* sur le nombre d'inséminations pour qu'une gestation soit constatée a été observée dans des élevages bovins laitiers [311, 693]. En effet, Hall *et al.* [311] ont remarqué que des vaches séropositives à *N. caninum* ont nécessité 4,0 inséminations par gestation contre 2,2 inséminations chez les séronégatives. Par ailleurs, des génisses positives à *N. caninum* ont 1,8 fois plus de chance de demeurer non gestante après une insémination comparées aux séronégatives [530]. Cependant, Björkman *et al.* [86] n'ont observé aucune influence de la séropositivité sur le nombre d'inséminations dans des troupeaux.

Le plus grand nombre d'inséminations requis pour concevoir peut s'expliquer par une augmentation du taux de mortalité embryonnaire chez les vaches séropositives [718]. **Hall et al.** [311] ont observé un retard de 22,5 jours dans la conception des vaches séropositives, comparées aux séronégatives. Toutefois, cette différence n'est pas significative. **Hobson et al.** [347] ont remarqué une corrélation positive entre l'infection à *N. caninum* et le taux de retour en chaleurs après insémination. Ainsi, en plus des avortements, *N. caninum* serait impliqué dans les mortalités embryonnaires chez la vache [530, 747, 750, 753]. En conséquence, l'accessibilité des hôtes définitifs aux produits infectieux issus de ces avortements précoces entretiendrait le cycle de *N. caninum* dans l'exploitation.

L'observation des chaleurs reste difficile en raison du caractère silencieux de celles – ci chez les races locales. En absence de moyen de diagnostic précoce de gestation notamment l'échographie, la confirmation de la gestation par palpation transrectale à partir du 45<sup>ème</sup> jour post insémination allongerait davantage l'intervalle entre vêlage chez les vaches infectées par *N. caninum*. Toutefois, des études épidémiologiques n'ont observé aucune preuve que *N. caninum* soit responsable de mortalités embryonnaires précoces dans le cheptel [86, 384, 469, 470, 634].

Chez les métis produits de l'insémination artificielle, le nombre d'insémination par gestation n'a pas été influencé par la séropositivité. En effet, le métissage stimulerait la production des « pregnancy – associated glycoproteins » (PAG), hormone impliquée dans le maintien de la gestation [466]. Ainsi, des auteurs ont remarqué que l'utilisation de la semence de bovins à viandes réduit le risque d'avortements dus à *N. caninum* dans des troupeaux bovins laitiers séropositifs [470, 471]. Toutefois, *N. caninum* n'a pas affecté la concentration plasmatique de PAG chez des bovins infectés chroniques [466].

## CONCLUSION

Cette étude a mis en évidence, des anticorps sériques témoins d'une infection par *N. caninum* dans les troupeaux bovins intensifs et semi intensifs péri urbains de Dakar au Sénégal. Elle a par ailleurs révélé une influence du statut sérologique des femelles sur le nombre d'inséminations nécessaire pour obtenir une gestation.

## Chapitre III

---

### EFFET DE LA SEROPREVALENCE DE *NEOSPORA CANINUM* ET *TOXOPLASMA GONDII* SUR LES PARAMETRES DE REPRODUCTION DES OVINS ET DES CAPRINS A DAKAR – SENEGAL

---

**KAMGA WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, KONE P.<sup>1</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup>, AKAKPO J.A.<sup>1</sup> et  
TAINTURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. BP : 5077 Dakar - Fann - Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole - La Chantrerie. BP : 40706 - 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉Correspondant : Email : akwar2003@yahoo.fr

(Soumis pour publication à *Dakar Médical* 2009)

**Effet de la séroprévalence de *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sur les paramètres de reproduction des ovins et des caprins à Dakar – Sénégal**

**Résumé**

Le but de cette étude était d'évaluer les effets de la séroprévalence de *N. caninum* et de *T. gondii* sur les paramètres de reproduction des petits ruminants domestiques à Dakar. Les sérums de 50 chèvres élevées en mode extensif et de 100 brebis dont 50 moutons de case et 50 moutons d'un élevage ont été analysés pour la recherche des anticorps anti – *N. caninum* (ELISA compétitif) et anti – *T. gondii* (ELISA indirect). La séroprévalence de ces protozoaires a été significativement plus élevée dans le troupeau ovin comparé aux moutons de case ( $p < 0,05$ ). Les taux d'anticorps de *N. caninum* et de *T. gondii* ont respectivement été de 12 et de 20 % dans l'échantillon de 50 chèvres. La prolificité a été meilleure dans le troupeau d'ovins et de caprins séronégatifs ( $p < 0,05$ ). Ces protozooses auraient d'une part, un impact économique dans ces élevages en raison des troubles de la reproduction qu'elles sont susceptibles d'induire et d'autre part, un impact sanitaire comme source potentielle de contamination humaine lors de la consommation de lait cru et de viandes insuffisamment cuites.

**Mots-clés** : Ovins, Caprins, *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Paramètres de reproduction.

**Effect of the seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* for reproductive parameters of sheep and goats in Dakar – Sénégal**

**Abstract**

The purpose of this study was to assess the effects of the seroprevalence of *N. caninum* and *T. gondii* on the reproductive parameters of domestic small ruminants in Dakar. Sera from 50 goats in extensive breeding and 100 sheep including 50 sheep house and 50 sheep farm were analyzed for the detection of antibodies against *N. caninum* (competitive ELISA) and *T. gondii* (indirect ELISA). The seroprevalence of these protozoa were significantly higher in the flock of sheep compared with sheep house ( $p < 0.05$ ). The antibodies levels of *N. caninum* and *T. gondii* were respectively 12 and 20 per cent in the sample of 50 goats. Prolificacy was better in the seronegative flock of sheep and goats ( $p < 0.05$ ). These protozoosis would have an economic impact in these farms because they are likely to induce reproductive disorders. Furthermore, the consumption of raw milk and inadequately cooked meat of these animals would be a potential source of human contamination.

**Keywords** : Sheep, Goats, *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Reproductive parameters.

## Introduction

*Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sont deux protozoaires cosmopolites morphologiquement proches [81, 203] dont les manifestations cliniques sont caractérisées par les avortements et des pathologies néonatales chez de nombreuses espèces domestiques et sauvages [237]. La néosporose est essentiellement une pathologie bovine, le chien et certains canidés ont été identifiés comme hôtes définitifs de *N. caninum*. Quant à la toxoplasmose, elle est essentiellement une pathologie humaine et des petits ruminants domestiques (caprins et ovins), les félidés sont hôtes définitifs de *T. gondii* [237]. Des cas de néosporose ont été décrits chez des petits ruminants domestiques [50, 145, 199, 230]. Les rares manifestations cliniques observées ont été similaires à celles décrites chez les bovins et dans la toxoplasmose chez les petits ruminants. Ainsi, des avortements, des mortalités néonatales [50, 199, 201, 207, 230, 479] et des naissances de nouveau-nés chétifs [145] ont été enregistrés dans des troupeaux séropositifs. Néanmoins, la prévalence des avortements suites à l'infection à *N. caninum* est faible [102, 323]. Les lésions observées sont semblables à celles rencontrées dans l'espèce bovine ; mais, peu de recherches sérologiques ont été réalisées [125, 252]. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'incidence de *N. caninum* et de *T. gondii* sur les paramètres de reproduction des petits ruminants domestiques à Dakar – Sénégal.

## Matériel et méthodes

### Milieu d'étude

L'étude a été réalisée dans la ville Dakar et ses environs, situés en zone sahélienne entre les isohyètes 400 et 600 mm. Le climat de type sahélien est caractérisé par une saison des pluies d'une durée variable (Juillet - Octobre) et d'une saison sèche (novembre à juin). Les températures les plus basses (15° - 20°C) sont enregistrées entre janvier et mars. Le reste de l'année, elles oscillent entre 20 et 40°C. Les précipitations sont très variables d'une année à l'autre et la pluviométrie moyenne annuelle

est de 400 mm. La végétation est constituée de savane boisée, arbustive et herbacée. Le pâturage naturel est abondant en saison pluvieuse et se compose de graminées et de légumineuses.

### Animal

L'étude a été réalisée de 2006 à 2008 et a porté sur 150 femelles ovines (100) et caprines (50) âgées de 8 mois à 5 ans (Tableau I).

**Tableau I** : Répartition des femelles en fonction des classes d'âge

	Ovins						Caprins		
	Case			Elevage			≤ 1an	1-3ans	> 3ans
	≤ 1an	1-3ans	> 3ans	≤ 1an	1-3ans	> 3ans			
Effectif/classe d'âge*	23	15	12	22	17	11	13	15	22
Total	50			50			50		

\* : âge des animaux en 2006, au début de l'étude.

### Ovins

100 brebis réparties en 2 lots ont été constituées. Le lot 1 est composé de 50 brebis en stabulation « moutons de case » derrière les villas de fonctionnaires ou de commerçants dans la ville de Dakar. 30 propriétaires d'animaux possédant en moyenne 3 ovins ont été suivis. Le lot 2 est composé de 50 brebis en stabulation dans une exploitation bovine laitière située dans la zone des niayes, à 55 Km de Dakar. Les femelles en chaleurs sont saillies avec des béliers du troupeau (Lot 1 et 2) ou de l'élevage voisin (Lot 1). Aucun diagnostic précoce de gestation n'est réalisé. Les animaux ont été nourris au foin et à l'aliment bétail commercialisé. L'eau potable a été distribuée *ad libitum*. Par ailleurs, des chiens de fermes sont présents dans l'exploitation abritant le lot 2 et des animaux sauvages notamment le chat tigré, des chiens errants et des volailles en divagation séjournent occasionnellement dans cette exploitation. Ces animaux ont régulièrement été suivis par le service de reproduction de l'Ecole vétérinaire de Dakar (Sénégal).

### **Caprins**

Le lot de 50 chèvres est élevé en mode extensif, en divagation toute l'année. Le pâturage naturel est abondant en saison pluvieuse et se compose de graminées et de légumineuses. Ils s'abreuvent au cours de la pâture dans des mares. Les animaux retournent dans des enclos jouxtant les concessions au coucher du soleil. Les saillies se font le plus souvent au pâturage, à l'insu des propriétaires d'animaux. Les animaux sont occasionnellement suivis par le service de reproduction de l'Ecole vétérinaire de Dakar.

### **Collecte des données**

Le mode de conduite des élevages ainsi que les paramètres de reproduction (fertilité et prolificité) ont été enregistrés.

### **Prélèvement de sang**

Au cours du suivi, un prélèvement de sang sur tube sec a été réalisé sur chaque femelle dans la veine jugulaire. Le sang total prélevé a été conservé 1 à 2 heures à température ambiante, puis centrifugé à 3500 tours par minute pendant 10 minutes. 150 sérums ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse sérologique. La recherche des anticorps a été réalisée avec le coffret ELISA compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) pour *N. caninum* et le coffret ELISA indirect multi – espèces (ID Screen® Toxoplasmosis, ID VET, Montpellier - France) pour *T. gondii*. Tous les sérums ont été analysés au laboratoire de sérologie du service de reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (France).

### **Analyses statistiques**

L'incidence du mode d'élevage sur le sérostatut des ovins ainsi que la relation entre le statut sérologique des animaux et les paramètres de reproduction ont été évaluées par le test de khi 2 avec le logiciel R-Commander. La différence est statistiquement significative lorsque la valeur de  $p < 0,05$ .

## Résultats

### Sérologie

Aucun anticorps anti – *N. caninum* et *T. gondii* n'a été observé dans les troupeaux de moutons de case. Par contre, les brebis en stabulation dans l'élevage situé à 55 km de Dakar ont été positives à *N. caninum* (62%) et à *T. gondii* (16%). La taille du troupeau a une influence sur le statut sérologique des femelles ovines de l'échantillon ( $p < 0,05$ ). Quant aux caprins, le taux de séropositif à *N. caninum* et à *T. gondii* a respectivement été de 12% et de 20% (Tableau II).

**Tableau II** : Séroprévalence de *N. caninum* et *T. gondii* dans les échantillons d'ovins et de caprins

Anticorps		Ovins		Caprins
		Case	Elevage	
<i>N. caninum</i>	Positif	0 (0%)	31 (62%)	6 (12%)
	Négatif	50 (100%)	19 (38%)	44 (88%)
	Total	50	50	50
	p	p<0,05		-
<i>T. gondii</i>	Positif	0 (0%)	8 (16%)	10 (20%)
	Négatif	50 (100%)	42 (84%)	40 (80%)
	Total	50	50	50
	p	p<0,05		-

### Paramètres de reproduction

L'analyse des résultats montre une meilleure fertilité des ovins d'élevage séronégatifs à *N. caninum* ( $p < 0,05$ ) (Tableau III). En conséquence, les femelles séronégatives à *N. caninum* (caprins et ovins d'élevage) et à *T. gondii* (caprins) ont été plus prolifiques que leurs consœurs séropositives ( $p < 0,05$ ) (Tableau IV).

**Tableau III** : Effet du statut sérologique des animaux sur leur fertilité.

Anticorps		Fertilité (%)		
		Ovins		Caprins
		Case	Elevage	
<i>N. caninum</i>	Positif	-	116	117
	Négatif	136	153	132
	p	-	p<0,05	p>0,05
<i>T. gondii</i>	Positif	-	138	160
	Négatif	136	129	123
	p	-	p>0,05	p<0,05

**Tableau IV** : Effet du statut sérologique des animaux sur leur prolificité.

Anticorps		Prolificité (%)		
		Ovins		Caprins
		Case	Elevage	
<i>N. caninum</i>	Positif	-	125	128
	Négatif	127	133	176
	p	-	p<0,05	p<0,05
<i>T. gondii</i>	Positif	-	125	139
	Négatif	127	129	178
	p	-	p>0,05	p<0,05

## Discussion

La séroprévalence de *N. caninum* et de *T. gondii* dans l'échantillon de moutons de case élevés en petit troupeau dont la taille moyenne est de 3 animaux est nulle. Par contre, dans l'élevage mixte bovins – ovins, elle a été de 62% pour *N. caninum* et de 16% pour *T. gondii*. La taille du troupeau a une influence sur le sérostatut des animaux de nos échantillons. Les troupeaux ovins de Dakar sont confinés en case, nourris avec du foin et de l'aliment bétail industriel, abreuvés avec de l'eau potable. Bien que la gestion de l'eau et de l'alimentation soit similaire dans les 2 lots d'ovins, les brebis du lot 2 ont été positives à *N. caninum* et à *T. gondii* probablement en raison du séjour permanent de chiens ou occasionnel de chiens errants, de chats tigrés et de volailles dans l'exploitation. Ces animaux

participent en tant qu'hôtes définitifs et/ou intermédiaires au cycle évolutif de ces apicomplexa. Les canidés (chiens) et les félidés (chats) sont respectivement hôtes définitifs de *N. caninum* et de *T. gondii*, responsables de la transmission horizontale des parasites à des animaux d'élevage. Par ailleurs, la séroprévalence de *N. caninum* dans le troupeau bovin qui jouxte les ovins du lot 2 a été évaluée à 11,9% [**Kamga-Waladjo, communications personnelles**]. Le taux d'anticorps anti - *T. gondii* chez les ovins a varié de 11 à 55% au Sénégal [**173, 570, 738**], de zéro à 99% sur d'autres continents [**93, 629**]. Il est difficile de comparer les résultats obtenus en raison des différences dans les tests sérologiques et dans les méthodes d'étude.

Aucune étude n'a concerné la recherche de *N. caninum* chez les petits ruminants en Afrique de l'ouest. Sur d'autres continents, la séroprévalence de *N. caninum* a été faible. 1 à 10% chez les ovins et 1 à 6% chez les caprins [**237, 257, 629**].

Le mode extensif de gestion des troupeaux caprins serait la principale cause d'un contact avec *N. caninum* (12%) et *T. gondii* (20%). Le comportement alimentaire des caprins (consommation naturelle de broussailles) se traduit en général par des niveaux d'infestation plus faibles que chez les ovins. Ainsi, l'échantillon de caprins a été moins infecté malgré le perpétuel contact d'une part, avec les agents de dissémination de ces protozoaires notamment les mares d'eaux et la microflore du sol et d'autre part, avec des hôtes de ces parasites au pâturage.

Les manifestations cliniques de ces protozooses sont inhabituelles chez les petits ruminants, l'éleveur n'est pas alarmé et les éventuels avortons sont rarement soumis au laboratoire pour des recherches diagnostiques. Cependant, ils sont le plus souvent inquiétés par des troubles de la reproduction observés dans les troupeaux. Ce souci a été la principale cause de la sollicitation du service de reproduction de l'école vétérinaire. Ainsi, l'échantillon d'ovins de la ferme séropositifs à *N. caninum* a été moins prolifique et moins fertile. Chez les caprins, la prolificité des séropositifs à ces protozoaires a été affectée. En conséquence, *N. caninum* et *T. gondii* pourraient induire des résorptions embryonnaires chez des petits ruminants infectés.

Ces protozooses auraient d'une part, un impact économique dans ces élevages en raison des troubles de la reproduction qu'elles sont susceptibles d'induire et d'autre part, un impact sanitaire comme source potentielle de contamination humaine lors de la consommation de lait cru et de viandes insuffisamment cuites.

### **Conclusion**

Cette étude a mis en évidence, des anticorps sériques témoins d'une infection à *N. caninum* et à *T. gondii* chez des petits ruminants domestiques au Sénégal. Par ailleurs, elle a révélé une influence du statut sérologique des femelles sur les performances de reproduction dans les échantillons testés.

## Chapitre IV

---

### **NEOSPORA CANINUM ET CONSEQUENCES SUR LES CARACTERISTIQUES DE REPRODUCTION CHEZ LES TRUIES EN DIVAGATION AU SENEGAL, AFRIQUE DE L'OUEST**

---

**KAMGA – WALADJO A.R.<sup>1,2, ✉</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, BAKOU S.N.<sup>1</sup>, BOLY H.<sup>3</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup> et TAINURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Inter–States School of Veterinary Sciences and Medicine of Dakar, P.O. Box 5077 Dakar – Senegal

<sup>2</sup>Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School, Atlanpole – La Chantrerie P.O.  
Box 40706 44307 Nantes Cedex 03 – France

<sup>3</sup>Polytechnic University of Bobo Dioulasso – 01 P.O. Box 1091 Bobo-Dioulasso 01 – Burkina Faso

✉Corresponding author: akwar2003@yahoo.fr

*Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2009, 4(5) : 263-266

***Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive characteristics in wandering sows from senegal, west africa**

**Abstract**

The aim of this study was to assay *Neospora caninum* antibodies and assess their consequences in terms of reproductive characteristics in wandering sows from Senegal, West Africa. Sera of sixty (60) sows were assayed for antibodies against *N. caninum*. The associations between serostatus and reproductive characteristics were assessed over a period of 3 years (2006 – 2008). 58.3% of sera were positive to *N. caninum* antibodies. Some reproductive disorders as age of sow at first birth, annual number of deliveries and stillbirths were significantly associated with serostatus of *N. caninum* ( $P < 0.05$ ). Results of this preliminary study indicate a higher prevalence of *N. caninum* in wandering sows from Senegal and there appeared to be an association between reproductive disorders and seropositivity. Thus, neosporosis may explain the lower reproductive performance in species from Africa. This has to be taken in account in epidemiology and impact of this new disease in African sows.

**Keywords :** Wandering sows; *Neospora caninum*; Reproductive characteristics; Senegal.

***Neospora caninum* et conséquences sur les caractéristiques de reproduction chez les truies en divagation au Sénégal, Afrique de l'ouest.**

**Résumé**

L'objectif de cette étude est d'évaluer les conséquences de la prévalence sérologique de *Neospora caninum* sur les caractéristiques de reproduction des truies en divagation du Sénégal, Afrique de l'Ouest. Soixante truies ont été utilisées pour la recherche des anticorps anti *N. caninum*. La relation entre le statut sérologique et les caractéristiques de reproduction a été évaluée sur une période de 3 ans (2006 – 2008). 58,3% de sérums ont été positifs à *N. caninum*. L'âge de la truie à la première mise bas, le nombre annuel de mise bas par truie et la viabilité des porcelets ont significativement été affectés chez les femelles séropositives ( $P < 0.05$ ). Ces résultats préliminaires indiquent que la prévalence élevée de *N. caninum* semble induire des troubles de la reproduction chez les truies errantes au Sénégal. Ainsi, l'infection à *N. caninum* pourrait expliquer les faibles performances des espèces africaines. Ce facteur doit être pris en compte dans l'épidémiologie et l'impact de cette nouvelle maladie chez des truies en Afrique.

**Mots clés :** Truies en divagation; *Neospora caninum*; Caractéristiques de reproduction; Sénégal.

## Introduction

Neosporosis is a worldwide protozoan disease of marine and land mammal species, responsible for substantial reproductive disorders like abortion, neonatal mortality and stillbirth [237, 311]. This protozoan has been misdiagnosed as *Toxoplasma gondii* and is now well described as a specific *Neospora caninum* [203]. Many studies have been undertaken to understand the physiopathology of the disease on the foetal death [8, 102, 202, 765]. The impact of the reproductive disorders has been evaluated on the economic losses in cattle [614].

For other species like domestic pigs (*Sus scrofa f. domestica*), there is now a great interest to investigate and evaluate the impact of this protozoonosis on reproductive performance. In West Africa, pig reproduction is very important for breeding and need to evaluate the prevalence of *N. caninum* and understand the consequences on the reproduction performance.

The aim of this study was to assay *N. caninum* antibodies and assess their consequences on reproductive characteristics in wandering sows from Senegal.

## Materials and methods

The study was carried out at Kaolack (Latitude 14°08N, Longitude 16°04W), located in the central – western region of Senegal in West Africa. It's in a tropical area with 2 seasons: dry from November to June, and raining from July to October with an average rainfall of  $650 \pm 50$  mm.

Sixty (60) local sows (*Sus scrofa f. domestica*) aged from 5 to 26 months were used for this study. The sows were identified and reared in a traditional manner with table scraps as feeds and drinks from the river. The animals were under veterinary control and any clinical signs of specific disease or pathology were registered.

The study was performed during 3 years (2006-2008) by recording the reproductive performances and parameters.

### **Serological sampling**

Blood samples were collected by puncture of the auricular vein using vacutainer tubes without anticoagulant, stored for 1 to 2 hr at room temperature, and then centrifuged at 1500 x g for 10 minutes. The sera obtained were stored at -20°C. They were assayed using competitive ELISA Multi-species test (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) for *N. caninum* antibodies as previously described and tested by **Baszler et al.** [68].

All sera were subjected to the same procedure at the Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School in France.

### **Reproductive characteristics**

Reproductive parameters were evaluated by annual number of deliveries, age of first service and age of first birth. All parameters were registered for each sow identified. The reproductive performances were defined from the number of piglets and number of stillbirths obtained annually per each sow.

### **Statistical analysis**

The serology results and reproduction characteristics were analyzed by the chi-square test, using the R-Commander software program (R version 2.6.2; Copyright (C) 2008). The correlation between seropositivity and age of sows or reproductive characteristics was considered statistically significant at  $p < 0.05$  [13].

### **Results**

Sera analysis of 60 wandering sows indicated 58.3% of seropositivity against *N. caninum* antibodies (Table 1). The age of first service was more than 8 months in 61.7% of sows. Among infected females, 77.1% had an age at first birth greater than or equal to 12 months. In general, 82.9% of sows farrowed

1.7 times a year. The serostatus of the sows had an influence on age at first farrowing and on the annual number of deliveries ( $P < 0.05$ ) (Table 2).

**Table 1:** Seroprevalence of *N. caninum* antibodies among different age\* groups of wandering sows in Senegal

Age (Month)	Seropositive No (%)	Seronegative No	Total	p
< 10	15 (42.9%)	7 (28%)	22	
10 – 24	13 (37.1%)	10 (40%)	23	
> 24	7 (20%)	8 (32%)	15	
Total (%)	35 (58.3%)	25 (41.7%)	60	> 0,05

\* Age of sows in January 2006

The number of piglet per sow was less than 5 in 57.1% of females infected by *N. caninum*. More than two stillborn piglets were recorded in 62.8% of infected females. The stillbirth incidence was influenced by the serostatus of the sows ( $P < 0.05$ ) (Table 2).

**Table 2:** Relationships among seroprevalence of *N. caninum* antibodies and reproductive characteristics in wandering sows in Senegal

<i>N. caninum</i> Antibodies	Reproductive parameters						Reproductive performances					
	First service (Month)		First birth (Month)		Annual Number of deliveries/sow		Number of piglets/sow			Number of stillbirths/sow		
	< 8	≥ 8	< 12	≥ 12	≤ 1.7	> 1.7	< 5	5 – 7	> 7	< 1	1 – 2	> 2
Positive (n = 35)	13 (37.1%)	22 (62.9%)	8 (22.9%)	27 (77.1%)	29 (82.9%)	6 (17.1%)	20 (57.1%)	9 (25.7%)	6 (17.2%)	5 (14.3%)	8 (22.9%)	22 (62.8%)
Negative (n = 25)	10 (40%)	15 (60%)	19 (76%)	6 (24%)	15 (60%)	10 (40%)	9 (36%)	7 (28%)	9 (36%)	7 (28%)	13 (52%)	5 (20%)
Total (n = 60)	23 (38.3%)	37 (61.7%)	27 (45%)	33 (55%)	44 (73.3%)	16 (26.7%)	29 (48,3%)	16 (26,7%)	15 (25%)	12 (20%)	21 (35%)	27 (45%)
P	> 0,05		< 0,05		< 0,05		> 0,05			< 0,05		

## Discussion

*Neospora caninum* antibodies were found in sera sows from Senegal in West Africa. In another study, *N. caninum* was observed in 18.1% of wild boars (*sus scrofa*) in the Czech Republic [63]. In domestic pig (*Sus scrofa f. domestica*) breeding farms, *N. caninum* antibodies were observed in 3% of sows [161, 782] and 8.8% of aborted sows [323]. The higher seroprevalence (58.3%) in our study was probably related to the management of local sows such as wandering and drinking from rivers and using table scraps. In this mode of breeding, animals wander daily to research food and water to drink. Thus, they have a high probability of being in contact with parasitic forms of this protozoan which maintain its horizontal transmission. **Ould-Amrouche et al.** [564] noted that, the use of ponds rather than well or public water supply for drinking water was found to be a risk factor for *N. caninum* infection in dairy cattle. *N. caninum* Antibodies were highlighted in wandering dogs (17.1%) from Dakar, in the western region of Senegal (Kamga - Waladjo, personal observations). The infection by *Neospora* oocysts shed by wander dogs or other definitive hosts [237] may explain the transmission to these wandering sows. The serostatus of the sows had an influence on age at first farrowing and on the annual number of deliveries. Furthermore, the stillbirth incidence was influenced by the serostatus of the sows. It's the first report of *N. caninum* antibodies detected in wandering sows in Senegal.

Although the number of animals studied was small, results of this preliminary study indicate a higher prevalence of *N. caninum* in wandering sows in Senegal, and there appeared to be an association between reproductive characteristics and *N. caninum* seropositivity. Further epidemiological studies are needed to better assess the impact of *N. caninum* on reproductive disorders in wandering and farms sows.

## Acknowledgements

The authors thank all of the farmers for their collaboration on this study. We are grateful to Professor Daniel Tainturier, head of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School (France) for providing technical assistance during the study.

## Chapitre V

---

**NEOSPORAS CANINUM ET TOXOPLASMA GONDII CHEZ LES LIONS (*PANTHERA LEO*) AU SENEGAL,  
AFRIQUE DE L'OUEST**

---

**KAMGA-WALADJO A.R.<sup>1,2, ✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, KONE P.<sup>1</sup>, LAPO R.A.<sup>1</sup>, DOMBOU E.<sup>1</sup>, CHATAGNON G.<sup>2</sup>, BAKOU  
S.N.<sup>1</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup>, PANGUI L.J.<sup>1</sup>, TAINURIER D.<sup>2</sup> et AKAKPO J.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Inter – States School of Veterinary Sciences and Medicine of Dakar, P.O. Box 5077 Dakar – Fann, Senegal

<sup>2</sup>Nantes national veterinary school, Atlanpole – La Chantrerie P.O. Box 40706 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉Correspondence: akwar2003@yahoo.fr

*Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2009, 4(6) : 346-349

***Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in lion (*Panthera leo*) from Senegal, West Africa**

**Abstract**

The prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* were investigated in seven lions (*Panthera leo*) from Hann's zoo of Dakar – Senegal. Seven sera samples were examined for antibodies against *Neospora caninum* [*Neospora caninum* antibodies test kit, cELISA (VMRD, Pullman USA)] and *Toxoplasma gondii* [ID Screen® Toxoplasmosis Indirect ELISA]. All sera were positives to *Neospora caninum* antibodies whereas 3 for 7 (42.86%) were positives to *Toxoplasma gondii*. Serological results indicate a common exposure to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* among lions (*Panthera leo*) from zoo in Senegal.

**Key words :** Lion (*Panthera leo*), *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Senegal.

***Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* chez les lions (*Panthera leo*) au Sénégal, Afrique de l'Ouest**

**Résumé**

La prévalence sérologique de *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* a été évaluée chez 7 lions (*Panthera leo*) du parc zoologique de Hann à Dakar – Sénégal. Le sérum de ces lions a été analysé pour la recherche des anticorps anti *Neospora caninum* [*Neospora caninum* antibody test kit, cELISA (VMRD, Pullman USA)] et *Toxoplasma gondii* [ID Screen® Toxoplasmosis Indirect ELISA]. Tous les sérums sont positifs à *Neospora caninum* contre 42,86% de positif à *Toxoplasma gondii*. Ces résultats sérologiques indiquent une exposition des lions du zoo du Sénégal aux protozoaires *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii*.

**Mots clés :** Lion (*Panthera leo*), *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Sénégal.

## Introduction

*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* are two closely related apicomplexan parasites with a worldwide distribution. Both parasites have indirect life cycles with carnivores as their definitive hosts, i.e. felines in the case of *T. gondii* [201] and canids in the case of *N. caninum* [292, 488].

After sexual recombination within the definitive host, the parasites are excreted as infective oocysts and can cause infection in a wide range of intermediate host species. *T. gondii*, which can cause serious disease in humans, seems to be common in wild animals, especially canids. Accordingly, canids may be important in the sylvatic cycle of this parasite [338].

Prior 1984, *N. caninum* was misidentified as *T. gondii*, but since its original description in dogs [81, 203], a large number of studies showed this presence among several domestic and wild species [152, 237].

Neosporosis is especially important in cattle, where the infection can cause neonatal mortality and abortion in pregnant cows as well as paralysis in newborn calves [237].

Since reports of neosporosis in African wildlife are limited to East and Southern Africa [129, 265], host range and epidemiology of neosporosis in African wild animals are largely unknown.

The aim of this study was to essay *N. caninum* and *T. gondii* antibodies in lion (*Panthera leo*) from Hann's zoo of Dakar – Senegal.

## Materials and methods

Seven sera samples were obtained from three adult's lions (two male and one female born in 2003) and four cub's lions born July 31, 2006 (*Panthera leo*) from zoo of Hann Dakar – Senegal in October 2007.

Feeding ration for seven lions was composed to uncooked meat beef and donkey. The animals were under veterinary control and any clinical signs of specific disease or pathology were registered.

Individual animals were anesthetized using ketamine (Imalgène®, Merial Lyon – France: 6-7mg/kg IM) and xylazine (Rompun® Bayer Paris – France: 1-2 mg/kg IM).

Blood samples were collected from the external saphen veins using vacutainer tubes, stored for 1 to 2 h at room temperature and then centrifuged at 1500 x g for 10 min.

The sera were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . They were assayed for antibodies against *N. caninum* and *T. gondii* by *N. caninum* antibodies multi-species test kit, cELISA (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A.) [68, 680] and ID Screen® Toxoplasmosis Indirect ELISA multi-species test (ID VET - veterinary diagnostic kits, Montpellier – France).

All sera were analysed at the serology Laboratory of the Department of Reproduction Pathology of Nantes national veterinary school in France.

## Results

Sera analysis of seven lions indicated that all are positive to *N. caninum* antibodies. The couple of lion and their four cubs were positives to *N. caninum*.

*T. gondii* antibodies were detected in 3 of 7 lions (42.86%) (Table 1). Female lion and two cub's lions were positives to *T. gondii*.

**Table 1:** Serological results of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* of lions (*Panthera leo*) from zoo in Senegal.

Species	Sample size	Number of positive (%)	
		<i>N. caninum</i> antibodies <sup>a</sup>	<i>T. gondii</i> antibodies <sup>b</sup>
Lion ( <i>Panthera leo</i> )	7	7 (100%)	3 (42.86%)

<sup>a</sup> *Neospora caninum* antibodies test kit, cELISA (VMRD Inc, Pullman, U.S.A).

<sup>b</sup> ID Screen® Toxoplasmosis Indirect ELISA (ID VET).

## Discussion

This is the first report of *T. gondii* and *N. caninum* antibodies detected in lions (*Panthera leo*) from captive felids in Senegal.

Serological results indicate a common exposure to *N. caninum* (100%) and *T. gondii* (42.86%) among lions.

In addition, the couple of lion and their four cubs were positives to *N. caninum*.

In comparison with other similar study, no antibody [0% (0/2)] of *N. caninum* was observed in Czeck – slovak [664] whereas antibodies were observed at 16.6% (3/18) in Southern Africa [129], 20% (2/10) in USA [687] and 55% (11/20) in Kenya – East Africa [265].

With *T. gondii* which definitive hosts are felids, we found a prevalence of 42.86%. In another similar study, the authors observed 100% (2/2) of positives in Czeck – slovak [664] whereas antibodies were observed at 80% (8/10) in USA [687] and 51.8% (14/27) in Brazil [673].

These prevalences are difficult to compare due to differences between serological tests used. Within a single test, the cut-off value of positivity is sometimes different. Nevertheless, the detection of specific antibodies in wild carnivores is a good indicator of the presence of these parasites in the environment.

Most of the studies (*N. caninum*) used Indirect Fluorescence Antibody Test (IFAT) which have 93% of sensitivity and 96% of specificity [759]. Compared to cELISA (VMRD, Pullman USA), a disadvantage of IFAT was the use of specific species conjugates [428, 664]. In contrast, the cELISA *N. caninum* antibodies test (VMRD, Pullman USA) was used for several species [680] as felids. VMRD *N. caninum* test had a better specificity (99%) and a lower sensibility (89%) than IFAT. In addition, reproducibility of this competitive ELISA was excellent [759].

We think about two hypotheses for the source of contamination. First of all, neonatal transmission could have occurred because the couple of tested lion and their four cubs aged 15 months were positives to *N. caninum*. Secondly, the uncooked meat feeding ration could be another source of infection. *N. caninum*

Antibodies were highlighted in local cows (71.4%) from Dakar, in the western region of Senegal (Kamga - Waladjo, personal observations).

To confirm our suspicion, **Dubey *et al.* [237]**; **Sedlák and Bártová [664]** have shown that, definitive and intermediate host of both protozoan (*N. caninum* and *T. gondii*) may be infected by ingestion of water or food contaminated with oocysts, by ingestion of tissue cysts or by transplacental transmission.

The results of this study indicate that, lion (*Panthera leo*) from Hann's zoo of Dakar – Senegal have more exposure to *N. caninum* (100%) than to *T. gondii* (42.86%). Our data confirm assumption of a sylvatic cycle of *N. caninum*. Further researches are needed to evaluate the effect of the infection on the health status and conservation of some vulnerable African wild species. Moreover, it is necessary to follow these animals for the identification of parasites at autopsy of lions through direct detection.

### **Acknowledgements**

We are gratefully acknowledged to Professor Daniel Tainturier, head of the Department of Reproduction Pathology of Nantes National Veterinary School (France) for providing technical assistance during the study.

## Chapitre VI

---

***NEOSPORA CANINUM* ET *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ DES GLOBICEPHALES (*GLOBICEPHALA MACRORHYNCHUS*) ECHOUES SUR LA PLAGE DE YOFF A DAKAR, AFRIQUE DEL'OUEST**

---

**A.R. KAMGA – WALADJO<sup>1,2,✉</sup>, P. KONE<sup>1</sup>, O.B. GBATI<sup>1</sup>, M. KADJA – WONOU<sup>1</sup>, Y. KANE<sup>1</sup>, G.S. NTEME – ELLA<sup>1</sup>, G. CHATAGNON<sup>2</sup>, Y.Y. KABORET<sup>1</sup>, S.N. BAKOU<sup>1</sup>, P.E.H. DIOP<sup>1</sup>, D. TAINURIER<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Inter-State School of Veterinary Sciences and Medicine of Dakar, P.O. Box 5077 Dakar – Senegal

<sup>2</sup>Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School, Atlanpole – La Chantrerie P.O. Box 40706 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉ Corresponding author: akwar2003@yahoo.fr

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (2) : 99 - 100

***Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar, West Africa**

**Abstract**

The aim of this study was to test *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar. Five sera were examined for these antibodies with *N. caninum* antibody Multi-species test kit, cELISA (VMRD, Pullman USA) and ID Screen® Toxoplasmosis Indirect ELISA. All sera were positive to *N. caninum* antibodies whereas 2 of 5 (40%) were positive to *T. gondii*. Serological results indicate a common exposure to *N. caninum* and *T. gondii* among short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*).

**Keywords :** *Globicephala macrorhynchus*; *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii*; Senegal.

***Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* chez des globicéphales (*Globicephala macrorhynchus*) échoués sur la plage de Yoff à Dakar, Afrique de l'Ouest**

**Résumé**

L'objectif de cette étude est de rechercher des anticorps anti *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* chez des globicéphales (*Globicephala macrorhynchus*) échoués sur la page de Yoff à Dakar. Le sérum de cinq animaux a été analysé avec un coffret cELISA *N. caninum* multi – espèces (VMRD, Pullman USA) et ID Screen® Toxoplasmosse ELISA Indirect. Tous les sérums sont positifs à *N. caninum* tandis que 2 animaux sur 5 (40%) sont positifs à *T. gondii*. Ces résultats indiquent une exposition des mammifères marins notamment les globicéphales (*Globicephala macrorhynchus*) aux protozoaires *N. caninum* et *T. gondii*.

**Mots clés :** *Globicephala macrorhynchus*; *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii*; Sénégal.

## Introduction

*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* are two closely related apicomplexan parasites with a worldwide distribution. Both parasites have very similar in structure and life cycle. However, they have two important differences: (i) neosporosis is primarily a disease of cattle, and dogs and related caned are definitive hosts of *N. caninum* [242, 292, 488], whereas (ii) toxoplasmosis is primarily a disease of humans, sheep, and goats, and felids are the only definitive hosts of *T. gondii* [201]. After sexual recombination within the definitive host, the parasites are excreted as infective oocysts and can cause infection in a wide range of intermediate host species. These *N. caninum* oocysts can sporulated, persist in the ponds or rivers water whose consumption was identified as a factor that increased the infection risk [564]

Since its first recognition in dogs to Norway [81] and the description of the new genus and species *N. caninum* by Dubey *et al.* in 1988 [203], neosporosis has emerged as a serious disease of cattle and dogs worldwide.

Several studies have highlighted *N. caninum* and *T. gondii* among marine and land mammals species [237]. As yet, there is no report of natural exposure of these parasites in short-finned pilot whale.

The objective of this work was to test *N. caninum* and *T. gondii* antibodies in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar.

## Material and methods

Sera were obtained from five short - finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar (Senegal - West Africa).

Blood samples were stored for 1 to 2 hr at room temperature, and then centrifuged at 1500 x g for 10 minutes. The sera were stored at -20°C until they were assayed using competitive ELISA Multi-species test (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) for *N. caninum* antibodies, and indirect ELISA Multi-species test (ID Screen® Toxoplasmosis, ID VET, Montpellier - France) for *T. gondii* antibodies.

Antibody titers were expressed as percent inhibition ( $\% I = [(Mean\ Negative\ Control\ O.D. - Sample\ O.D.) / Mean\ Negative\ Control\ O.D.] \times 100$ ) for *N. caninum*, and as percent Sample/Positive ( $\%S/P = [Sample\ O.D. / Mean\ Positive\ Control\ O.D.] \times 100$ ) for *T. gondii*. The sample is positive if  $\%I \geq 30\%$  or  $\%S/P > 40\%$ .

All sera were analysed at the Serology Laboratory of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School (France).

## Results

All sera were positive to *N. caninum* antibodies whereas 2 of 5 (40%) of animals were positive to *T. gondii* antibodies (Table 1).

**Table 1:** *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar

Sample	Antibodies					
	<i>N. caninum</i>			<i>T. gondii</i>		
	O.D.	% inhibition	Interpreting	O.D.	%Sample/Positive	Interpreting
1	0.472	58.92	Positive	0.253	32.90	Negative
2	0.499	56.57	Positive	0.201	26.14	Negative
3	0.387	66.32	Positive	0.454	59.04	Positive
4	0.412	64.14	Positive	0.351	45.64	Positive
5	0.449	60.92	Positive	0.207	26.92	Negative
P.C.	0.338			0.769		
N.C.	1.149	Positive if $\%I \geq 30\%$		0.194	Positive if $\%S/P > 40\%$	
% Positive		100%			40%	

P.C. = Mean of the Positive Control; N.C. = Mean of the Negative Control; O.D. = Optical Density.

## Discussion

This is the first report of *N. caninum* and *T. gondii* antibodies testing in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*).

Serological results indicate a common exposure to *N. caninum* (100%) and *T. gondii* (40%) among these *Globicephala macrorhynchus*.

In another studies, some authors observed *N. caninum* antibodies in several marine species as walruses (6%), sea otters (19%), harbor seals (3.5 - 8%), sea lions (3.7%), ringed seals (12.5%), bearded seals (12.5%), Spotted seals (7%), dolphins (91%), and Killer whale (12.5%) in United States [242] and Japan [278, 551].

*T. gondii* antibodies were observed in sea otters (60 - 77%), harbor seals (16%), sea lions (42%), ringed seals (16%), bearded seals (50%), spotted seals (11.1%), dolphins (98%), and walruses (6%) in United States [242, 504].

These seroprevalence data suggests that oocysts shed by the definitive hosts of *N. caninum* and *T. gondii* may contaminate water and therefore the marine life [242, 505]. Thus, the use of ponds rather than well or public water supply for drinking water was found to be a risk factor for *N. caninum* [564] and *T. gondii* infection in land mammals' species [179, 193].

The knowledge of risk factors for land mammals' species to acquire *N. caninum* or *T. gondii* infection is important for the development and implementation of measures to control these diseases.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank Professor Daniel Tainturier, head of the Department of Reproductive Pathology of Nantes National Veterinary School (France) for allowing us to use their facilities and for providing technical assistance during the study.

## Chapitre VII

---

### SEROPREVALENCE DE LA NEOSPOROSE CANINE (*NEOSPORA CANINUM*) DANS LES REGIONS DE DAKAR ET THIES DU SENEGAL

---

**KAMGA WALADJO A.R.<sup>1,2,✉</sup>, GBATI O.B.<sup>1</sup>, KONE P.<sup>1</sup>, DOMBOU E. <sup>1</sup>, SENE M.<sup>1</sup>, AMIRAT BRIAND L.<sup>2</sup>,  
BENCHARIF D.<sup>2</sup>, AKAKPO J.A.<sup>1</sup>, PANGUI L.J.<sup>1</sup>, DIOP P.E.H.<sup>1</sup> et TAINURIER D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. BP : 5077 Dakar - Fann - Sénégal.

<sup>2</sup>Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Atlanpole - La Chantrerie. BP : 40706 - 44307 Nantes Cedex 03 – France

✉ Correspondant : Email : akwar2003@yahoo.fr

*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2008, 6 (3-4) : 155 - 179

## Séroprévalence de la néosporose canine (*Neospora caninum*) dans les régions de Dakar et Thiès du Sénégal

### Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer la prévalence sérologique de *N. caninum* chez 162 chiens dont 74 de Dakar et 88 de Thiès avec un coffret ELISA compétition (VMRD, Pulman – USA). La séroprévalence est de 14,2%. Elle est de 11,6% chez les chiens domestiques contre 17,1% chez les chiens errants ( $p>0,05$ ). Les chiens errants de Thiès (20%) et les chiens domestiques de Dakar (15,1%) sont les plus infectés ( $p<0,05$ ). Le sexe, l'âge et la race n'influencent pas ces résultats ( $p>0,05$ ). Ces chiens peuvent contaminer les pâturages et les mares d'eau par les oocystes qu'ils sont susceptibles d'excréter dans le milieu extérieur. Les animaux de rentes (bovins et petits ruminants) conduits principalement en mode extensif et semi – intensif dans ces zones se trouvent ainsi exposés aux infections par *N. caninum*.

**Mots-clés** : Chien, *Neospora caninum*, Sénégal

### Seroprevalence of neosporosis (*Neospora caninum*) in Dakar and Thies regions of Sénégal

#### Abstract

The purpose of this study is to appraise the serologic prevalence of *N. caninum* in 162 dogs from Dakar (74) and Thies (88) with a competitive ELISA Kit (VMRD, Pulman – USA). The seroprevalence of *N. caninum* is 14.2%. It is 11.6% in domestics dogs to 17.1% in wanders dogs ( $p>0.05$ ). Wanders dogs from Thies (20%) and domestics dogs from Dakar (15.1%) are higher infected ( $p<0.05$ ). Sex, age and breed do not influence these results ( $p>0.05$ ). These dogs may contaminate pasture and water ponds by oocysts shedding. Thus, the animals (cattle and small ruminants) lead mainly in extensive and semi - intensive modes in these areas are exposed to the infection by *N. caninum*.

**Keywords** : Dog, *Neospora caninum*, Senegal.

## Introduction

*Neospora caninum* est un protozoaire cosmopolite qui présente une similarité morphologique et biologique avec *Toxoplasma gondii* [81, 203]. La néosporose est principalement une maladie bovine, le chien et certains canidés ont été identifiés comme hôtes définitifs de *N. caninum* [203, 488]. Les manifestations cliniques de cette protozoose sont caractérisées par des avortements et des troubles néonataux chez de nombreuses espèces domestiques et sauvages [237].

Plusieurs études ont évalué la séroprévalence de *N. caninum* dans la population canine afin de préciser son rôle dans l'entretien de cette protozoose chez les espèces de rente [237]. Ces études n'ont jamais concerné la population canine en Afrique du Centre et de l'Ouest où l'élevage des animaux de rente notamment les bovins, les ovins, les caprins et les porcins, se fait principalement en mode extensif caractérisé par la recherche quotidienne d'aliment dans la nature et l'abreuvement dans des mares, rivières ou points d'eau communautaires. Ce mode d'élevage constitue un facteur de risque d'infection par les ookystes de *N. caninum* disséminés par des chiens infestés excréteurs dans la nature [564].

L'objectif de cette étude est d'évaluer la prévalence sérologique de *N. caninum* dans la population canine des régions de Dakar et Thiès du Sénégal.

## Matériel et méthodes

### Milieu d'étude

L'étude a été réalisée en milieu rural et urbain des régions de Dakar et Thiès, situé en zone sahélienne entre les isohyètes 400 et 600 mm. Le climat, de type sahélien est caractérisé par une saison des pluies d'une durée variable (Juillet - Octobre) et d'une saison sèche (novembre à juin). Les températures les plus basses (15° - 20°C) sont enregistrées entre janvier et mars. Le reste de l'année, elles oscillent entre 20° et 40°C. Les précipitations sont très variables d'une année à l'autre et la pluviométrie moyenne annuelle est de 400 mm. La végétation est constituée de savane boisée, arbustive et herbacée. Le pâturage naturel est abondant en saison pluvieuse et se compose de

graminées et de légumineuses. Ce couvert végétal hivernal incite les éleveurs démunis, à conduire leurs animaux sur ce pâturage naturel souvent en compagnie de chiens de berger.

Le chien est un animal domestique qui occupe une place de choix dans la plupart des foyers tant ruraux (compagnon de chasse et de berger, chien de garde, compagnon de jeux) que citadins (chien de garde, chien policier, compagnon de jeux). En 2001, la direction de l'élevage avait estimé la population de chiens au Sénégal à 1 million. Ces chiens sont majoritairement de race locale (60%). Les 40% restants sont de races exotiques et métis détenus par les sociétés de gardiennage, la police, la gendarmerie et des propriétaires locaux ou expatriés [665].

### **Animal**

L'étude a été réalisée de 2007 à 2009 sur 162 chiens dont 86 domestiques et 76 errants occasionnels âgés de 3 mois à 10 ans, admis en consultation dans des cliniques vétérinaires des régions de Dakar et de Thiès (Tableau I). A chaque consultation, les animaux ont été identifiés (Nom, race, sexe, âge du chien et adresse du propriétaire) et des informations portant sur le mode de vie des chiens (domestique ou errant), leurs origines et leurs modes d'alimentation ont été enregistrées.

Les chiens domestiques sont suivis (Soignés, vaccinés), nourris avec les restes de cuisine et occasionnellement, avec de la viande fraîche ou insuffisamment cuite d'ânes, d'équins ou de bovins. Ils fuguent pendant les saisons de saillie et à cette occasion, peuvent se nourrir sur des dépotoirs. Les chiens errants se distinguent en errants occasionnels et en errants permanents. Les errants occasionnels ont un domicile, passent la majeure partie de la journée dans la rue, se nourrissent sur des dépotoirs et quelquefois, par le maître qui assure leur suivi sanitaire. Ils sont le plus souvent en contact avec les chiens errants permanents qui n'ont ni maîtres, ni domiciles et se nourrissent essentiellement dans la rue où ils vivent [6]. En zone rurale, le mode d'élevage des animaux de rente prédispose ces carnivores à consommer les placentas et les avortons. L'abreuvement se fait dans les

mares pour les chiens errants et à partir d'adduction d'eau pour les chiens domestiques. Seuls les chiens domestiques et errants occasionnels suivis par des vétérinaires sont retenus pour cette étude.

### **Prélèvement de sang**

A chaque première consultation, un prélèvement de sang sur tube sec est réalisé sur chaque animal à la veine saphène externe ou interne. Le sang total prélevé est conservé 1 à 2 heures à température ambiante, puis centrifugé à 3500 tours par minute pendant 10 minutes. Cent soixante deux (162) sérums prélevés sont conservés à -20°C jusqu'à analyse sérologique. La recherche des anticorps est réalisée avec le coffret ELISA *N. caninum* compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) dont le protocole a été décrit par **Baszler et al.** [68]. Tous les sérums ont été analysés au laboratoire de sérologie du service de Microbiologie, Pathologie Infectieuse et Immunologie (MIPI) de l'Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar.

### **Analyses statistiques**

L'incidence des facteurs de risques identifiés (provenance, sexe, âge et race des chiens) sur le statut sérologique des chiens domestiques et errants a été évaluée par le test de khi deux avec le logiciel R-Commander. La différence est statistiquement significative lorsque la valeur de  $p < 0,05$ .

### **Résultats**

Des anticorps anti – *N. caninum* sont mis en évidence sur 23 des 162 chiens testés, soit une séroprévalence de 14,2%. Ces anticorps sont observés sur 11,6% (10/86) chiens domestiques et sur 17,1% (13/76) de chiens errants ( $p > 0,05$ ) (Tableau I). Les chiens errants de Thiès sont plus infectés que les chiens domestiques tandis qu'à Dakar les chiens domestiques sont les plus infectés ( $p < 0,05$ ). Le sexe, l'âge et la race n'influencent pas la prévalence sérologique dans la population canine étudiée ( $p > 0,05$ ) (Tableau I).

**Tableau I** : Effet de la provenance, du sexe, de l'âge et de la race sur la séroprévalence de la néosporose canine dans les régions de Dakar et de Thiès - Sénégal

Données épidémiologiques	Effectifs	% de chiens séropositifs à <i>N. caninum</i>			p
		Errants* (N = 76)	Domestiques (N = 86)	Total (N = 162)	
<b>Provenance</b>					
Dakar	74	9,5%	15,1%	13,5%	
Thiès	88	20%	6,3%	14,8%	< 0,05
<b>Sexe</b>					
Femelle	50	22,7%	7,1%	14%	
Mâle	112	14,8%	14%	15,2%	> 0,05
<b>Age (année)</b>					
≤ 1	21	0%	8,3%	4,8%	
]1 – 5[	81	17,1%	11,1%	13,8%	> 0,05
≥ 5	60	21,9%	14,3%	18,3%	
<b>Race</b>					
Locale	136	17,3%	10%	14%	
Exotique	23	0%	13,6%	13,1%	
Métis	3	0%	33,3%	33,3%	
<b>Total</b>	<b>162</b>	<b>17,1%</b>	<b>11,6%</b>	<b>14,2%</b>	<b>&gt; 0,05</b>

\*chiens errants occasionnels qui ont un domicile et qui passent la majeure partie de la journée dans la rue.

## Discussion

La prévalence sérologique de *N. caninum* dans la population canine est plus élevée chez les chiens errants de Thiès (20%) et chez les chiens domestiques de Dakar (15,1%). Elle est influencée par le mode de vie des chiens. Aucune étude antérieure n'a évalué la séroprévalence de cette protozoose chez ces carnivores en Afrique du centre et de l'Ouest. Dans les populations canines des régions tropicales d'Afrique australe et d'Amérique du Sud, la prévalence sérologique de *N. caninum* a varié de 0 à 58,9% chez des chiens errants, domestiques, de chenils et de fermes [20, 21, 33, 38, 118, 180, 237, 258, 286, 386, 511]. Cette prévalence reste difficile à comparer en raison d'une part, des différences dans le mode d'échantillonnage, dans le mode de vie des chiens et les caractéristiques du test sérologique utilisé et d'autre part, de la possibilité d'excrétion d'ookystes de *N. caninum* par des

chiens séronégatifs [237, 447]. Néanmoins, la population canine nourrit à la viande crue au domicile du propriétaire ou sur des dépotoirs est la plus exposée. Ainsi, les chiens errants des zones rurales sont plus infectés que les chiens domestiques en raison de la forte probabilité de consommer des avortons ou des placentas infestés par *N. caninum* [67, 138, 258, 263, 480, 571, 647, 776]. Ces animaux, potentiels excréteurs d'ookystes sont susceptibles de contaminer les pâturages, les cours d'eau et en conséquence, les mammifères terrestres et marins [3, 237, 564]. Dans notre étude, les conditions climatiques tropicales favorables à la sporulation et la survie de ces ookystes de *N. caninum* constituent un facteur de risque supplémentaire d'infection [621, 651] ; en raison de la prédominance des élevages de type extensifs et semi – intensifs. Ainsi, une séroprévalence de 71,4% est mise en évidence dans ces élevages bovins péri – urbains de Dakar [**Kamga waladjo, observations personnelles**]. Le mode d'entretien du bétail caractérisé par la recherche quotidienne du pâturage naturel et par l'abreuvement dans des mares infestés par les ookystes de *N. caninum* concourt à la contamination des animaux [564]. La présence de chiens et la densité canine sont des facteurs de risque d'infection des animaux d'élevage [148, 189, 651, 652, 744].

Le sexe, l'âge et la race n'influencent pas le statut sérologique dans notre population canine. Des études antérieures n'ont observé aucune association entre les variables sexe-race et la séroprévalence de *N. caninum* dans des populations canines [138]. En revanche, une augmentation significative de la prévalence sérologique de *N. caninum* avec l'âge a été observée par plusieurs auteurs [20, 120, 138, 258, 263, 557, 571]. Toutefois, cette association a significativement été mise en évidence chez des chiens de ferme, ce qui indique qu'une exposition postnatale est plus fréquente dans ce groupe de carnivore. Ainsi, le mode de vie des chiens conditionnerait la prévalence de *N. caninum* dans la population canine.

En raison des avortements que cette protozoose est susceptible d'induire chez la vache, il serait intéressant de tester tous les chiens qui vivent dans des élevages infectés par *N. caninum*. Dans ces conditions, la séropositivité canine à *N. caninum* confirme un contact avec le parasite. En revanche, un

chien séronégatif est une bombe épidémiologique car peut être excréteur d'ookystes de *N. caninum*. Ainsi, l'élimination des chiens de ferme ne présente aucun intérêt. Il est important d'une part, de détruire les avortons et les placentas qui peuvent être consommés par ces carnivores et d'autre part, d'éviter la contamination des mangeoires et des stocks d'aliments par les chiens et par les autres canidés et mustélidés domestiques ou sauvages. Ces mesures de prophylaxie sanitaire sont faciles à mettre en œuvre dans des zones à risque où l'impact de la néosporose sur la reproduction des animaux d'élevage est perceptible.

### **Conclusion**

Cette étude a mis en évidence, des anticorps sériques témoins d'une infection à *N. caninum* dans la population canine des régions de Dakar et de Thiès du Sénégal. Elle a par ailleurs, révélé une influence du mode de vie des chiens notamment la consommation des viandes crues sur leur statut sérologique.

---

## DISCUSSION GENERALE

---

Les connaissances épidémiologiques des maladies animales décrites dans les pays développés doivent orienter les chercheurs des pays émergents et des pays pauvres dans le choix des stratégies de lutte. Les mesures applicables dans les pays du Nord en raison du respect de la biosécurité en élevage et du bien être animal sont difficiles à mettre en œuvre Afrique au Sud du Sahara. En effet, l'élevage dans cette zone est dominé par des pratiques ancestrales caractérisées par la transhumance et la thésaurisation du cheptel. Le mode extensif et semi – intensif prépondérant dans ces pratiques d'élevages concourent à l'entretien de nombreuses maladies dont la néosporose.

Ainsi, cette étude a voulu rechercher les anticorps anti *N. caninum* chez des animaux d'élevage, domestiques, en captivité et marins au Sénégal. Puis il a été question d'évaluer les effets de la prévalence sérologique sur les performances de reproduction des animaux de rente avant de rechercher quelques sources potentielles dudit protozoaire.

En réponse à ces préoccupations, une mise en évidence des anticorps témoins d'une infection par *N. caninum* a été effectuée chez les bovins (chapitre 1 et 2), ovins, caprins (chapitre 3), porcins (chapitre 4), lions (chapitre 5), mammifères marins (Globicéphales) (chapitre 6) et chiens (chapitre 7). Puis, l'étude a évalué les conséquences de la prévalence sérologique sur la reproduction des bovins, ovins, caprins et porcins. Le mode de vie de ces animaux a orienté le travail vers la recherche des facteurs de risques d'infection par *N. caninum*.

## **1. Principaux résultats**

Cette étude a mis en évidence, des anticorps témoins d'une infection par *N. caninum* chez des bovins, ovins, caprins, porcins, lions, globicéphales et chiens.

A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a évalué la séroprévalence de cette protozoose chez des espèces animales d'élevage, domestiques, marines ou en captivité en Afrique du Centre et de l'Ouest.

Dans une population de chiens errants et domestiques des régions de Dakar et Thiès, la séroprévalence de *N. caninum* est évaluée à 14,2%. Les chiens errants de Thiès sont plus infectés (20%) que les chiens domestiques tandis qu'à Dakar les chiens domestiques sont les plus infectés (15,1%) ( $p < 0,05$ ). Ces chiens notamment les errants de Thiès et de Dakar sont quelquefois en contact avec les bovins chez qui, la prévalence sérologique est significativement plus élevée chez les vaches locales semi – transhumantes (71,4%), par rapport à leurs congénères de races exotiques (17,4%) et métisses (27,3%) en stabulations dans des fermes laitières péri – urbaines de Dakar ( $p < 0,05$ ). Dans des troupeaux intensifs en stabulation permanente, la prévalence sérologique est significativement plus élevée chez des vaches locales (53,3%) et métisses (25%) que chez les vaches de races exotiques (13,4%) importées d'Europe, d'Afrique du Sud et du Brésil ( $p < 0,05$ ). Les vaches séropositives nécessitent plus d'inséminations par gestation que des vaches séronégatives, quel que soit la classe d'âge ( $p < 0,05$ ).

Chez les petits ruminants, la séroprévalence est significativement plus élevée dans le troupeau ovin par rapport aux « moutons de case » ( $p < 0,05$ ). Elle est de 12% chez des chèvres transhumantes. La prolificité est meilleure dans le troupeau d'ovins et de caprins séronégatifs ( $p < 0,05$ ).

Une prévalence sérologique de 58,3% est observée chez des porcs en divagation. Elle se traduit par une première mise bas tardive des truies, une réduction du nombre annuel de mise bas par truie et du taux de viabilité des porcelets à la naissance ( $P < 0,05$ ).

Dans la recherche des sources éventuelles du parasite, une analyse d'une part, des sérums de lion (*Panthera leo*) nourris avec de la viande bovine non cuite et d'autre part, des sérums de globicéphales (*Globicephala macrorhynchus*), mammifères marins a été effectué. Ainsi, sept lions dont un couple adultes et leurs quatre lionceaux en captivité au parc forestier et zoologique de Hann (Dakar – Sénégal) sont tous positifs à *N. caninum*. Par ailleurs, des anticorps anti *N. caninum* témoin d'une infection de l'eau de mer sont observés chez 5 globicéphales échoués sur la place de Yoff à Dakar – Sénégal.

## 2. Séroprévalence de la néosporose chez les animaux d'élevage au Sénégal

Cette étude a mis en évidence, des anticorps, témoins d'une infection à *N. caninum* dans des troupeaux intensifs (bovins et ovins), des troupeaux semi – intensifs (bovins) et dans des troupeaux extensifs (caprins et porcins). La néosporose est présente chez toutes les espèces animales de rente au Sénégal, quel que soit le mode d'élevage.

### 2.1 Bovins

La séroprévalence de *N. caninum* est significativement plus élevée chez les vaches semi-transhumantes, par rapport à celles qui sont en stabulation libre dans des élevages laitiers péri – urbains de Dakar. Ainsi, le mode de conduite de l'élevage influence la prévalence sérologique de cette protozoose dans les troupeaux bovins [57]. En effet, les animaux transhumants ont une forte probabilité de s'infecter à partir des ookystes de *N. caninum* excrétés par les hôtes définitifs [237] notamment les chiens errants dont la séroprévalence a été évaluée à 17,1% dans ces zones d'élevage.

Quant aux troupeaux en stabulation permanente, la présence de chiens de fermes [148, 187, 477, 572, 651, 652, 744], le séjour occasionnel de vecteurs mécaniques des ookystes notamment la volaille [561], la densité animale dans ces élevages [45, 47, 641], le faible taux de renouvellement du cheptel [57], l'utilisation du foin et de l'ensilage pour l'alimentation des animaux [45] pourraient expliquer l'infection des vaches de races exotiques (17,38%), dont le statut sérologique à l'importation est inconnu. Néanmoins, compte tenu du caractère cosmopolite de *N. caninum* [237], les troupeaux naisseurs de vaches exotiques importées d'Europe, d'Afrique du Sud et du Brésil auraient pu être contaminés. Ainsi, la transmission transplacentaire du parasite, l'alimentation des veaux au colostrum [148] et l'auto production des génisses de remplacement [45] auraient contribué à la persistance de *N. caninum* dans les troupeaux. En plus de ces facteurs de risque précédemment identifiés, l'utilisation de femelles locales fortement infectées (71,43%) pour la production de métisses est un facteur de risque d'infection à *N. caninum*. C'est ainsi que les produits de l'insémination artificielle de ces vaches locales en

stabulation dans des fermes laitières sont deux fois plus infectés (25%) que leurs congénères de races exotiques (13,4%) dont les modes de gestion sont identiques.

## 2.2 Petits Ruminants

Le suivi vétérinaire se traduisant par l'utilisation régulière des sulfamides pour le traitement des coccidioses digestives pourrait expliquer l'absence d'anticorps, témoins d'une infection aussi bien par *N. caninum* que par *T. gondii* dans les petits élevages de « moutons de case » à Dakar [241, 452].

Néanmoins, des preuves d'une infection par *N. caninum* sont mis en évidence chez des ovins (62%) en stabulation dans une ferme bovine infestée (11,9%) et chez les caprins élevés en mode extensif (12%).

En raison de l'absence des données sur la prévalence de *N. caninum* en Afrique de l'Ouest et du Centre, des comparaisons sont faites avec les petits ruminants des zones tropicales d'Amérique du sud où elle varie de 1 à 29% chez les ovins et de 1 à 6% chez les caprins [4, 237, 257, 629, 679, 724].

Le mode extensif de gestion des troupeaux pourrait expliquer cette prévalence élevée chez les caprins (12%). Le comportement alimentaire des caprins (consommation naturelle de broussailles) se traduit en général par des niveaux d'infestation plus faibles que chez les ovins. Ainsi, l'échantillon de caprins est moins infecté que les ovins, malgré le perpétuel contact d'une part, avec les agents de dissémination du protozoaire notamment les mares d'eaux et la microflore du sol et d'autre part, avec les hôtes du parasite sur le pâturage.

## 2.3 Porcins

La séroprévalence élevée (58,3%) chez les porcins serait probablement liée au mode de vie des animaux notamment la divagation. Dans ce mode d'élevage, les animaux errent quotidiennement, se nourrissent sur des dépotoirs et s'abreuvent dans des mares [564]. Ainsi, la transmission horizontale est maintenue par le perpétuel contact avec les formes parasitaires du parasite.

En général, les animaux de rente sont principalement conduits en mode semi – intensif et extensif. Ils sont quotidiennement exposés aux maladies dont la néosporose. En effet, la présence permanente de chiens errants, hôte définitif excréteur d'ookystes de *N. caninum* concourt à la contamination des dépotoirs, des pâturages et des cours d'eau, source d'alimentation et d'abreuvement des animaux de rente [237]. Les conditions climatiques tropicales favorables à la sporulation et la survie de ces ookystes de *N. caninum* représentent un facteur supplémentaire de risque d'infection des bovins [621, 651].

La présence des anticorps anti – *N. caninum* chez les mammifères marins notamment les globicéphales est une preuve de contamination marine par les ookystes de *N. caninum* d'origine canine.

La contamination horizontale des espèces de rente se ferait par ingestion de ces ookystes sur le pâturage et/ou dans l'eau de boisson [564]. Par ailleurs, le passage trans-placentaire des tachyzoïtes de *N. caninum* entretient cette protozoose chez les espèces à risque.

### **3. Conséquences de la prévalence sérologique de *Neospora caninum* sur la reproduction des animaux d'élevage au Sénégal**

#### **3.1. Bovins**

La séropositivité de *N. caninum* dans les élevages péri – urbains de Dakar est associée à une augmentation du nombre moyen d'inséminations par gestation chez les vaches exotiques en stabulation permanente et chez les vaches de races locales semi transhumantes. Cette observation a été faite dans des élevages bovins laitiers [311, 693]. En effet, **Hall et al.** [311] remarquent que des vaches séropositives à *N. caninum* nécessitent 4 inséminations par gestation contre 2,2 inséminations chez les séronégatives. Par ailleurs, des génisses positives à *N. caninum* ont 1,8 fois plus de chance de demeurer non gestante après une insémination comparées aux séronégatives [530]. Cependant, **Björkman et al.** [86] n'observent aucune influence de la séropositivité sur le nombre d'inséminations dans des troupeaux.

Le plus grand nombre d'inséminations requis pour concevoir peut s'expliquer par une augmentation du taux de mortalité embryonnaire chez les vaches séropositives [718]. Ainsi, les femelles séropositives en stabulation dans des élevages péri – urbains de Dakar nécessitent 28,9 jours supplémentaires pour concevoir par rapport à leurs congénères séronégatives. **Hall et al. [311]** observent un retard de 22,5 jours dans la conception des vaches séropositives, par rapport aux séronégatives. Toutefois, cette différence n'est pas significative.

**Hobson et al. [347]** remarquent que l'infection à *N. caninum* et le taux de retour en chaleurs après insémination sont positivement corrélés. Ainsi, en plus des avortements, *N. caninum* serait impliqué dans les mortalités embryonnaires chez la vache [530, 747, 750, 753]. En conséquence, l'accessibilité des hôtes définitifs notamment les chiens errants aux produits infectieux issus de ces avortements précoces entretiendrait le cycle de *N. caninum* dans l'exploitation.

L'observation des chaleurs reste difficile en raison du caractère silencieux de celles – ci chez les races locales. En absence de moyen de diagnostic précoce de gestation notamment l'échographie, la confirmation de la gestation par palpation transrectale à partir du 45<sup>ème</sup> jour post insémination allongerait davantage l'intervalle entre vêlage chez les vaches infectées. Toutefois, des études épidémiologiques ne rapportent aucune preuve de la responsabilité de *N. caninum* dans la mortalité embryonnaire précoce chez les bovins [86, 384, 469, 470, 634].

Chez les métis produits de l'insémination artificielle, la séropositivité n'influence pas le nombre d'inséminations par gestation. En effet, le métissage stimulerait la production des « pregnancy – associated – glycoproteins » (PAG), hormone impliquée dans le maintien de la gestation [466]. Ainsi, des auteurs ont remarqué que l'utilisation de la semence de bovins à viandes réduit le risque d'avortements dus à *N. caninum* dans des troupeaux bovins laitiers séropositifs [10, 470, 471]. Toutefois, la concentration plasmatique de PAG reste inchangée quel que soit le statut sérologique des femelles à *N. caninum* [466].

### 3.2. Petits ruminants

Les manifestations cliniques de cette protozoose sont inhabituelles chez les petits ruminants. L'éleveur n'est pas alarmé et les éventuels avortons sont rarement soumis au laboratoire pour des recherches diagnostiques. Cependant, ils sont le plus souvent inquiétés par des troubles de la reproduction observés dans les troupeaux. Ce souci a été la principale cause de la sollicitation du service de reproduction de l'école vétérinaire de Dakar. Ainsi, l'échantillon d'ovins de la ferme séropositif à *N. caninum* est moins prolifique et moins fertile. Chez les caprins, la prolificité des séropositifs est affectée. En conséquence, par analogie aux bovins, *N. caninum* pourrait induire des résorptions embryonnaires chez des petits ruminants infectés [530, 747, 750, 753].

### 3.3. Porcins

Cette étude nous a permis d'observer que la séropositivité à *N. caninum* retarde l'âge à la première mise bas des truies. Par ailleurs, le nombre annuel de mise bas par truie et le nombre de porcelets viables à la naissance sont plus faibles chez les truies séropositives (58,3%) en comparaison à leurs congénères séronégatives. Ainsi, par analogie aux ruminants, *N. caninum* de par son tropisme génital, aurait une incidence sur la reproduction des truies et la viabilité des porcelets à la naissance [51, 102, 202, 237, 765]

En résumé, l'infection par *N. caninum* a des répercussions sur la reproduction des espèces de rente, quel que soit le mode de vie des animaux. Elles sont plus marquées chez les animaux de rente élevés en mode semi – intensif, que chez les bovins en stabulation permanente dans des exploitations péri – urbaines de Dakar. La forte prévalence de la néosporose dans les troupeaux semi – intensifs et extensifs ferait de cette maladie, une cause supplémentaire jusqu'à présent ignorée, responsable des faibles performances de reproduction observées chez les races locales en Afrique. Elles se traduisent par une première mise bas tardive des femelles, un allongement de l'intervalle entre mise bas, une

réduction de la fertilité, de la fécondité, de la prolificité et de la viabilité des fœtus à la naissance chez les animaux d'élevage. Ainsi, la néosporose occasionne un déficit économique énorme dans ces troupeaux en raison des pertes fœtales insidieuses et de l'allongement de l'intervalle mise bas – insémination fécondante qu'elle est susceptible d'induire chez ces animaux de rente.

#### 4. Mode d'entretien de la néosporose au Sénégal

Des anticorps, témoins d'une infection à *N. caninum* ont été mis en évidence chez toutes les espèces animales analysées. Chez le chien, la séroprévalence est comparable à celle obtenue dans les populations canines des régions tropicales d'Afrique australe et d'Amérique du Sud où elle a varié de 0 à 58,9% chez des chiens errants, domestiques, de chenils et de fermes [20, 21, 33, 38, 118, 180, 237, 258, 286, 386, 511]. Cette prévalence sérologique reste difficile à comparer en raison d'une part, des différences dans le mode d'échantillonnage, dans le mode de vie des chiens et les caractéristiques du test sérologique utilisé et d'autre part, de la possibilité d'excrétion d'ookystes de *N. caninum* par des chiens séronégatifs [237, 447]. Néanmoins, la population canine nourrit à la viande crue au domicile du propriétaire ou sur des dépotoirs est la plus exposée. Ainsi, les chiens errants des zones rurales sont toujours plus infectés que les chiens domestiques en raison de la forte probabilité de consommer des avortons ou des placentas infestés par *N. caninum* [67, 138, 258, 263, 480, 571, 647, 776]. Ces animaux potentiels excréteurs d'ookystes sont susceptibles de contaminer les pâturages, les cours d'eau et en conséquence, les mammifères terrestres et marins [3, 237, 564]. Dans notre étude, les conditions climatiques tropicales favorables à la sporulation et la survie de ces ookystes constituent un facteur de risque d'infection des animaux de rentes par *N. caninum* [621, 651] en raison de la prédominance des modes d'élevage de type extensif et semi – intensif dans lesquels, la séroprévalence de la néosporose bovine reste élevée (71,4%). Ce mode d'entretien du bétail est favorable à la contamination horizontale par ingestion des ookystes de *N. caninum* sur le pâturage et/ou à partir de l'eau de boisson [564]. La mise en évidence des anticorps témoins de l'infection par *N. caninum* chez

des espèces marines [242, 278, 551] et les globicéphales confirme l'assertion d'Ould-Amrouche *et al.* [564]. La présence de chiens et la densité canine sont des facteurs de risque d'infection des animaux d'élevage [148, 187, 651, 652, 744].

Certains hôtes intermédiaires de *N. caninum* notamment les lions ne jouent pas un important rôle dans l'épidémiologie de la néosporose en raison de leurs positions dominantes dans le règne animal. D'autre part, ils sont hôtes intermédiaires du parasite, donc incapable de contaminer l'environnement. Ainsi, ils s'infectent lors d'ingestion de viande crue contenant des formes parasitaires de *N. caninum* et le transmettent à leurs descendances par la voie trans-placentaire.

Le mode de vie des animaux d'élevage est favorable à la contamination horizontale dont l'association à la transmission verticale, concourent à l'entretien de *N. caninum* chez toutes les espèces à risque. Le chien joue un rôle fondamental dans l'épidémiologie de cette protozoose parce que ses matières fécales contiennent des ookystes qui sporulent dans le milieu extérieur et sont très résistants aux agents de destruction physique et chimique.

## 5. Perspectives de lutte contre la néosporose au Sénégal

La néosporose est une protozoose cosmopolite dont l'impact économique a été évalué en élevage bovin [614, 718]. En raison des avortements qu'elle est susceptible d'induire chez la vache, il serait intéressant de tester tous les chiens qui vivent dans des élevages bovins infectés. Dans ces conditions, la séropositivité canine à *N. caninum* confirme un contact avec le parasite. En revanche, un chien séronégatif est une bombe épidémiologique car peut être excréteur d'ookystes de *N. caninum*. Ainsi, pour réduire l'infection à un taux acceptables, il serait nécessaire d'améliorer les conditions d'élevage et de vie des animaux.

L'efficacité des mesures de prévention des transmissions horizontale et verticale [59] est conditionnée par la modernisation de l'élevage en Afrique au Sud du Sahara.

### 5.1. Prévention de la transmission horizontale

La possibilité d'excrétion des ookystes par des chiens séronégatifs rends difficile, l'interprétation de la sérologie. Le chien restant le principal facteur de risque d'infection [203], il est important d'éliminer les chiens errants qui en plus de la néosporose, sont des réservoirs de la rage et constituent la source principale de contagion des autres espèces animales et de l'homme. Il est opportun de réduire le nombre de chiens de ferme et de limiter l'accès des chiens et des vecteurs mécaniques d'ookystes notamment la volaille à l'eau potable, aux stocks d'aliments et aux mangeoires dans les exploitations de rente.

La lutte contre les mustélidés domestiques et sauvages est nécessaire en raison d'une part, de leurs rôles comme vecteurs mécaniques des ookystes et d'autre part, de la possibilité de contamination des prédateurs dont les chiens par les formes parasitaires contenues dans les tissus des rongeurs infectés. Par ailleurs, l'éleveur doit détruire systématiquement les avortons et les placentas, potentiels porteurs de formes parasitaires de *N. caninum* et responsables de la contamination horizontale des carnivores.

### 5.2. Prévention de la transmission verticale

La prévention de la transmission verticale passera par la réduction de la prévalence au sein des populations à risque. Ainsi, il est opportun de moderniser les élevages puis, de réaliser des dépistages systématiques et la mise en quarantaine des animaux avant introduction dans un troupeau. L'autorité compétente doit interdire la mise à la reproduction des femelles séropositives, le cas échéant, la réforme est nécessaire. Le transfert d'embryons de donneuses séropositives aux receveuses séronégatives reste le seul outil de valorisation des femelles de haut potentiel génétique. Par ailleurs, le traitement des femelles séropositives gravides peut être envisagé pour réduire la contamination fœtale et par conséquent, les pertes fœtales à *N. caninum*.

Ces mesures de prophylaxie sanitaire sont faciles à mettre en œuvre dans des zones à risque où l'impact de la néosporose sur la reproduction des animaux d'élevage est perceptible [614, 718].

## 6. Risque sanitaire de la néosporose

*Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sont deux protozoaires cosmopolites qui présentent des similitudes morphologiques et biologiques [81, 203]. Les manifestations cliniques de ces protozooses sont caractérisées par des avortements et des maladies néonatales chez de nombreuses espèces domestiques et sauvages [237]. La néosporose pourrait par analogie à la toxoplasmose être considéré comme une zoonose mineure. En effet, des anticorps témoins d'une infection à *N. caninum* ont été mis en évidence dans la population humaine [299, 459, 533, 717]. En raison de la prévalence de l'infection chez les espèces de rente dont la viande peut être porteuse de kystes à bradyzoïtes et compte tenu de la cohabitation entre les populations humaines et canines, potentielles excrétrices d'ookystes de *N. caninum*, l'infection de l'homme est à craindre. Cette contamination se ferait principalement par consommation de la viande saignante, par manipulation de la viande crue, et des matières fécales de chiens. En conséquence, la prévention de l'infection materno – fœtale doit inciter les femmes enceintes à éviter la consommation de viande insuffisamment cuite, du lait cru non pasteurisé et à se laver soigneusement les mains après la manipulation de la viande crue, des matières fécales de chien ou de la terre sur laquelle des chiens ont pu déféquer. Les fruits et légumes doivent être bien lavés avant consommation. Ces mesures préventives sont également valables pour les patients immunodéprimés. Le risque sanitaire de la néosporose étant réel, il est conseillé de prendre soins des chiens et d'éviter qu'ils errent dans la ville. Les matières fécales de ces chiens domestiques doivent être déversées dans les fosses d'aisances tous les jours, avant la sporulation des ookystes.

La lutte contre les mouches et les blattes est nécessaire afin d'éviter qu'ils transportent les ookystes de *N. caninum* sur la nourriture destinée à la consommation humaine.

La Prévention de l'infection des chiens consiste en leurs alimentations avec de la viande cuite ou de la viande congelée. En effet, la conservation de la viande par congélation à – 20°C au moins 24 heures détruit les bradyzoïtes de *N. caninum* contenus dans les kystes musculaires [437].

Par ailleurs, un dépistage systématique est nécessaire chez des femmes qui font des fausses couches à répétitions ainsi que chez des patients immunodéprimés qui présentent des lésions nerveuses dites de « Toxoplasmose cérébrale » diagnostiquée par imagerie médicale. En raison de la méconnaissance de la prévalence de cette protozoose dans la population humaine, l'épreuve sérologique reste l'outil essentiel qui permettra d'anticiper la prise en charge des patients à risque, infectés par cette coccidiose opportuniste.

---

## CONCLUSION GENERALE

---

La néosporose est une infection parasitaire due à un protozoaire, *Neospora caninum*. Le parasite infecte le plus souvent des animaux à sang chaud. Mais la néosporose est tout d'abord une maladie responsable des avortements dans l'espèce bovine. Les canidés dont le chien domestique sont hôtes définitifs du parasite.

La présente étude confirme le caractère cosmopolite de *N. caninum* en mettant en évidence au Sénégal, ses anticorps témoins d'une infection chez des bovins, ovins, caprins, porcins, lions, globicéphales et chiens. Par ailleurs, le mode de vie des espèces de rente est favorable à une contamination horizontale dont l'association à la transmission verticale, concourent à l'entretien de *N. caninum* chez toutes les espèces à risque. En conséquence, cette infection a des répercussions sur la reproduction des espèces de rente, quel que soit le type d'élevage. Ainsi, la néosporose est cause d'un déficit économique énorme dans ces troupeaux en raison des pertes fœtales insidieuses, de la réduction de la fertilité, de la fécondité, de la prolificité et de la viabilité des fœtus à la naissance qu'elle est susceptible d'induire chez ces animaux d'élevage.

Le chien joue un rôle fondamental dans l'épidémiologie de la néosporose parce que ses matières fécales contiennent des ookystes qui sporulent dans le milieu extérieur et sont très résistants aux agents de destruction physique et chimique.

Des mesures de prophylaxie sanitaire notamment la suppression des sources du parasite sont faciles à mettre en œuvre dans des zones à risque où l'impact de la néosporose sur la reproduction des animaux d'élevage est perceptible. Ces mesures peuvent être conseillées chez l'homme en raison du risque sanitaire de la néosporose.

La méconnaissance de la prévalence de cette protozoose dans la population humaine interpelle les médecins, à réaliser un dépistage systématique chez des femmes qui présentent des fausses couches à répétitions ainsi que chez des patients immunodéprimés. Cette épreuve sérologique reste l'outil essentiel, nécessaire pour l'anticipation de la prise en charge des patients infectés par ce protozoaire opportuniste.

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] AGERHOLM J.S.; WILLADSEN C.M.; NIELSEN T.K.; GIESE S.B.; HOLM E.; JENSEN L. et AGGER J.F., 1997. Diagnostic studies of abortion in Danish dairy herds. *Zentralbl Veterinarmed A*, **44** (9-10):551-558
- [2] AGUADO-MARTÍNEZ A.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; ARNAIZ-SECO I.; INNES E. et ORTEGA-MORA L.M., 2005. Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **17**:442–450.
- [3] AGUIAR D.M.; CAVALCANTE G.T.; RODRIGUES A.A.R.; LABRUNA M.B.; CAMARGO L.M.A.; CAMARGO E.P. et GENNARI S.M., 2006. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Vet. Parasitol.*, **142**:71–77.
- [4] AGUIAR D.M.; CHIEBAO D.P.; RODRIGUES A.A.R.; CAVALCANTE G.T.; LABRUNA M.B. et GENNARI S.M., 2004. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Monte Negro County, RO, Brazilian Western Amazon. *Arq. Inst. Biol.*, **7**:616–618
- [5] AHN H.J.; KIM S.; KIM D.Y. et NAM H.W., 2003. ELISA detection of IgG antibody against a recombinant major surface antigen (Nc-p43) fragment of *Neospora caninum* in bovine sera. *Korean J. Parasitol.*, **41**:175–177.
- [6] AKAKPO A.J.; NDIAYE A.L. et SALUZZO J.F., 1984. La rage en Afrique de l'Ouest : un problème de santé publique d'actualité. *Médecine d'Afrique Noire*, **31** (5):275-282.
- [7] AKTAS F.; VURAL G. et SEZEN I.Y., 2007. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Gebze, Turkey. *Indian Vet. J.*, **84**:419-420
- [8] ALMERÍA S.; DE MAREZ T.; DAWSON H.; ARAUJO R.; DUBEY J.P. et GASBARRE L.C., 2003. Cytokine gene expression in dams and fetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. *Parasite Immunol.*, **25** (7):383-392
- [9] ALMERÍA S.; FERRER D.; PABÓN M.; CASTELLÀ J. et MAÑAS S., 2002. Renard roux (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **107**:287–294.
- [10] ALMERIA S.; LOPEZ-GATIUS F.; GARCIA-ISPIERTO I.; NOGAREDA C.; BECH-SABAT G.; SERRANO B.; SANTOLARIA P.; YANIZ J.L., 2009. Effects of crossbreed pregnancies on the abortion risk of *Neospora caninum*-infected dairy cows. *Vet. Parasitol.*, **163** :323–329
- [11] ALMERÍA S.; VIDAL D.; FERRER D.; PABÓN M.; FERNÁNDEZ-DE-MERA M.I.G.; RUIZ-FONS F.; ALZAGA V.; MARCO I.; CALVETE C.; LAVIN S.; GORTAZAR C.; LÓPEZ-GATIUS F. et DUBEY J.P., 2007. Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain. *Vet. Parasitol.*, **143**:21–28.
- [12] AMMANN P.; WALDVOGEL A.; BREYER I.; ESPOSITO M.; MÜLLER N. et GOTTSTEIN B. 2004. The role of B- and T-cell immunity in toltrazuril-treated C57BL/6 WT,  $\mu$ MT and nude mice experimentally infected with *Neospora caninum*. *Parasitol. Res.*, **93**:178–187
- [13] ANCELLE T., 2006. Statistique épidémiologique. 2<sup>nd</sup> édition. Collection Sciences fondamentales, Maloine Paris – 300p.
- [14] ANDERSON B.C., 2000. Contamination of feedstuffs caused by farm dogs. *J Am Vet Med Assoc.*, **217** (9) : 1294-1299
- [15] ANDERSON M.L.; ANDRIANARIVO A.G. et CONRAD P.A., 2000. Neosporosis in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **60–61**:417–431.

- [16] ANDERSON M.L.; BLANCHARD P.C.; BARR B.C.; DUBEY J.P.; HOFFMAN R.L. et CONRAD P.A., 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **198**:241–244.
- [17] ANDERSON T.; DEJARDIN A.; HOWE D.K.; DUBEY J.P. et MICHALSKI M.L., 2007. *Neospora caninum* antibodies detected in midwestern white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) by Western blot and ELISA. *Vet. Parasitol.*, **145**:152–155.
- [18] ANDERSON M.L.; PALMER C.W.; THURMOND M.C.; PICANSO J.P.; BLANCHARD P.C.; BREITMEYER R.E.; LAYTON A.W.; MCALLISTER M.; DAFT B.; KINDE H.; READ D.H.; DUBEY J.P.; CONRAD P.A. et BARR B.C., 1995. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **207**:1206–1210.
- [19] ANDERSON M.L.; REYNOLDS J.P.; ROWE J.D.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.E.; BARR B.C. et CONRAD P.A., 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. Infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **210**:1169–1172.
- [20] ANDREOTTI R.; OLIVEIRA J.M.; ARAUJO E.; SILVA E.; OSHIRO L.M. et MATOS M.F.C., 2006. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande; Mato Grosso do Sul; Brazil. *Vet. Parasitol.*, **135**:375–379.
- [21] ANDREOTTI R.; PINCKNEY R.D.; PIRES P.P. et SILVA E.A.E., 2004. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **13**:129–131.
- [22] ANDRIANARIVO A.G.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; GARDNER I.A.; REYNOLDS J.P.; CHOROMANSKI L. et CONRAD P.A., 2005. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.*, **96**:24–31.
- [23] ANDRIANARIVO A.G.; BARR B.C.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W. et CONRAD P.A., 2001. Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. *Parasitol. Res.*, **87** (10) : 817-825
- [24] ANDRIANARIVO A.G.; CHOROMANSKI L.; MCDONOUGH S.P.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1999. Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J. Parasitol.*, **29**(10):1613-1625
- [25] ANDRIANARIVO A.G.; ROWE J.D.; BARR B.C.; ANDERSON M.L.; PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W.; CHOROMANSKI L.; LOUI C.; GRACE A. et CONRAD P.A., 2000. A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./ i.m. experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.*, **30**:985–990.
- [26] ANTONY A. et WILLIAMSON N.B., 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, **51**:232–237.
- [27] ARMENGOL R.; PABÓN M.; ADELANTADO C.; LÓPEZ-GATIUS F. et ALMERÍA S., 2006. First report of *Neospora caninum* abortion in a beef cow-calf herd from Andorra; Europe. *J. Parasitol.*, **92**:1361–1362.
- [28] ARMENGOL R.; PABÓN M.; SANTOLARIA P.; CABEZÓN O.; ADELANTADO C.; YÁNIZ J.; LÓPEZ-GATIUS F. et ALMERÍA S., 2007. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in cow-calf herds in Andorra and risk factors associated with seropositivity. *J. Parasitol.*, **93**:1029-1032

- [29] ATKINSON R.A.; COOK R.W.; REDDAKLIFF L.A.; ROTHWELL J.; BROADY K.W.; HARPER P.A.W. et ELLIS J.T., 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Aust. Vet. J.*, **78**:262–266.
- [30] ATKINSON R.A.; HARPER P.A.W.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2000. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol. Today* **16**:110–114.
- [31] ATKINSON R.A.; RYCE C.; MILLER C.M.; BALU S.; HARPER P.A. et ELLIS J.T., 2001. Isolation of *Neospora caninum* genes detected during a chronic murine infection. *Int J Parasitol.*, **31**(1):67-71
- [32] AUGUSTINE P.C.; BARTA J.R.; INNES L. et MULLER N., 2001. Chasing coccidia-new tools enter the race. *Trends Parasitol.*, **17**(11):509-511
- [33] AZEVEDO S.S.; BATISTA C.S.A.; VASCONCELLOS S.A.; AGUIAR D.M.; RAGOZO A.M.A.; RODRIGUES A.A.R.; ALVES C.J. et GENNARI S.M., 2006. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba; northeast region of Brazil. *Res. Vet. Sci.*, **79**:51–56.
- [34] BAE J.S.; KIM D.Y.; HWANG W.S.; KIM J.H.; LEE N.S. et NAM H.W., 2000. Detection of IgG antibody against *Neospora caninum* in cattle in Korea. *Korean J. Parasitol.*, **38**:245–249.
- [35] BAILLARGEON P.; FECTEAU G.; PARÉ J.; LAMOTHE P. et SAUVÉ R., 2001. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **218**:1803–1806.
- [36] BAÑALES P.; FERNANDEZ L.; REPISO M.V.; GIL A.; DARGATZ D.A. et OSAWA T., 2006. A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay. *Vet. Parasitol.*, **139**:15–20.
- [37] BARBER J.S., 1998. Neosporose canine. *Waltham Focus*. **8**:25-29
- [38] BARBER J.S.; GASSER R.B.; ELLIS J.; REICHEL M.P.; MCMILLAN D. et TREES A.J., 1997. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. *J. Parasitol.*, **83**:1056–1058.
- [39] BARBER J.S.; HOLMDAHL O.J.M.; OWEN M.R.; GUY F.; UGGLA A. et TREES A.J., 1995. Characterization of the first European isolate of *Neospora caninum*. *Parasitology*, **111**:563–568.
- [40] BARBER J.S., et TREES A.J., 1996. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.*, **139**(18):439-443
- [41] BARBER J.S.; VAN HAM L.; POLIS I. et TREES A.J., 1997. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Belgian dogs. *J. Small Anim. Pract.*, **38**:15–16.
- [42] BARICCO G.; COLOMBO N.; RICHARD A. et TAINURIER D., 2002. Utilisation du décoquinat à la posologie de 1 mg/kg pendant 2 mois dans un élevage allaitant atteint de néosporose pour réduire l'incidence des avortements. Observation clinique. *Renc. Rech. Ruminants.*, **9**:47
- [43] BARLING K.S.; LUNT D.K.; GRAHAM S.L. et CHOROMANSKI L.J., 2003. Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef feedlot steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **222**(5):624-627
- [44] BARLING K.S.; LUNT D.K.; SNOWDEN K.F.; THOMPSON J.A., 2001. Association of serologic status for *Neospora caninum* and postweaning feed efficiency in beef steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **219**:1259–1262.
- [45] BARLING K.S.; McNEILL J.W.; PASCHAL J.C.; MCCOLLUM III F.T.; CRAIG T.M.; ADAMS L.G. et THOMPSON J.A., 2001. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas; USA *Prev. Vet. Med.*, **52**:53–61.

- [46] BARLING K.S.; McNEILL J.W.; THOMPSON J.A.; PASCHAL J.C.; McCOLLUM E.T.; CRAIG T.M. et ADAMS L.G., 2000. Association of serologic status for *Neospora caninum* with post weaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **217**:1356–1360.
- [47] BARLING K.S.; SHERMAN M.; PETERSON M.J.; THOMPSON J.A.; MCNEILL J.W.; CRAIG T.M. et ADAMS L.G., 2000. Spatial associations among density of cattle; abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **217**:1361–1365.
- [48] BARR B.C.; ANDERSON M.L.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1995. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.*, **137**(24):611 – 613
- [49] BARR B.C.; ANDERSON M.L.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1991. *Neospora-like* protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet. Pathol.*, **28** (2):110-116.
- [50] BARR B.C.; ANDERSON M.L.; WOODS L.W.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1992. *Neospora-like* protozoal infections associated with abortion in goats. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **4**:365–367.
- [51] BARR B.C.; CONRAD P.A.; BREITMEYER R.; SVERLOW K.; ANDERSON M.L.; REYNOLDS J.; CHAUVET A.E.; DUBEY J.P. et ARDANS A.A., 1993. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: Four case (1990-1992). *J. A. Vet. Med. Ass.*, **202**:113-117
- [52] BARR B.C.; CONRAD P.A.; DUBEY J.P. et ANDERSON M.L., 1991. *Neospora-like* encephalomyelitis in a calf: pathology; ultrastructure; and immunoreactivity. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **3**(1):39-46
- [53] BARR B.C.; CONRAD P.A.; SVERLOW K.W.; TARANTAL A.F. et HENDRICKX A.G., 1994. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *Lab. Investig.*, **71**:236–242.
- [54] BARR B.C.; DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; REYNOLDS J.P. et WELLS S.J., 1998. Neosporosis: its prevalence and economic impact. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.*, **20**:1–16.
- [55] BARR B.C.; ROWE J.D.; SVELOW K.W.; BONDURANT R.H.; ARDANS A.A.; OLIVIER M.N. et CONRAD P.A., 1994. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J. vet. Diag. investig.*, **6**:207-215
- [56] BARTA J.R. et DUBEY J.P., 1992. Characterization of anti-*Neospora caninum* hyperimmune rabbit serum by western blot analysis and immunoelectron microscopy. *Parasitol. Res.*, **78**(8):689-694
- [57] BARTELS C.J.M.; ARNAIZ-SECO J.I.; RUIZ-SANTA-QUITERA A.; BJÖRKMAN C.; FRÖSSLING J.; VON BLUMRÖDER D.; CONRATHS F.J.; SCHARES G.; VAN MAANEN C.; WOUDA W. et ORTEGA-MORA L.M., 2006. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. *Vet. Parasitol.*, **137**:17–27.
- [58] BARTELS C.J.M.; HOGEVEEN H.; VAN SCHAİK G.; WOUDA W. et DIJKSTRA T., 2006. Estimated economic losses due to *Neospora caninum* infection in dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics; SVEPM Ann. Meet., Exeter University, Devon, United Kingdom. p191-201.
- [59] BARTELS C.J.M.; HUIJINK I.; BEIBOER M.L.; VAN SCHAİK G.; WOUDA W.; DIJKSTRA T. et STEGEMAN A., 2007. Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Vet. Parasitol.*, **148**:83–92

- [60] BARTELS C.J.M.; VAN MAANEN C.; VAN DER MEULEN A.M.; DIJKSTRA T. et WOUDA W., 2005. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Vet. Parasitol.*, **131**:235–246.
- [61] BARTELS C.J.M.; VAN SCHAIK G.; VELDHUISEN J.P.; VAN DEN BORNE B.H.P.; WOUDA W. et DIJKSTRA T., 2006. Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling; reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics. *Prev. Vet. Med.*, **77**:186–198.
- [62] BARTELS C.J.M.; WOUDA W. et SCHUKKEN Y.H., 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*, **52**:247–257.
- [63] BÁRTOVÁ E.; SEDLÁK K. et LITERÁK I., 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, **142**:150–153.
- [64] BASSO W.; HERRMANN D.C.; CONRATHS F.J.; PANTCHEV N.; GLOBOKAR VRHOVEC M. et SCHARES G., 2009. First isolation of *Neospora caninum* from the faeces of a dog from Portugal. *Vet. Parasitol.*, **159**:162-166
- [65] BASSO W.; SCHARES S.; BÄRWALD A.; HERRMANN D.C.; CONRATHS F.J.; PANTCHEV N.; GLOBOKAR VRHOVEC M. et SCHARES G., 2009. Molecular comparison of *Neospora caninum* oocyst isolates from naturally infected dogs with cell culture-derived tachyzoites of the same isolates using nested polymerase chain reaction to amplify microsatellite markers. *Vet. Parasitol.*, **160**:43-50
- [66] BASSO W.; VENTURINI L.; VENTURINI M.C.; HILL D.E.; KWOK O.C.H.; SHEN S.K. et DUBEY J.P., 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol.*, **87**:612–618.
- [67] BASSO W.; VENTURINI L.; VENTURINI M.C.; MOORE P.; RAMBEAU M.; UNZAGA J.M.; CAMPERO C.; BACIGALUPE D. et DUBEY J.P., 2001. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms; dairy farms; and from urban areas of Argentina. *J. Parasitol.*, **87**:906–907.
- [68] BASZLER T.V.; ADAMS S.; VANDER-SCHALIE J.; MATHISON B.A. et KOSTOVIC M., 2001. Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *J. Clin. Microbiol.*, **39**:3851–3857.
- [69] BASZLER T.V.; GAY L.J.C.; LONG M.T. et MATHISON B.A., 1999. Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. *J. Clin. Microbiol.*, **37**:4059–4064.
- [70] BASZLER T.V.; KNOWLES D.P.; DUBEY J.P.; GAY J.M.; MATHISON B.A. et McELWAIN T.F., 1996. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, **34**:1423–1428.
- [71] BASZLER T.V.; McELWAIN T.F. et MATHISON B.A., 2000. Immunization of BALB/c mice with killed *Neospora caninum* tachyzoite antigen induces a type 2 immune response and exacerbates encephalitis and neurological disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **7**(6):893-898
- [72] BEECH J. et DODD D.C., 1974. *Toxoplasma-like* encephalomyelitis in the horse. *Vet. Pathol.*, **11** (1):87-96
- [73] BECKERS C.J.; WAKEFIELD T. et JOINER K.A., 1997. The expression of *Toxoplasma* proteins in *Neospora caninum* and the identification of a gene encoding novel rhoptry protein. *Molecular and biochemical Parasitology*, **89**:209-223.
- [74] BERGERON N.; FECTEAU G.; PARÉ J.; MARTINEAU R. et VILLENEUVE A., 2000. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. *Can. Vet. J.*, **41**:464–467.

- [75] BERGERON N.; FECTEAU G.; VILLENEUVE A.; GIRARD C. et PARÉ J., 2001. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **97**:145–152.
- [76] BERGERON N.; GIRARD C.; PARÉ J.; FECTEAU G.; ROBINSON J. et BAILLARGEON P., 2001. Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **13**: 173–175.
- [77] BIELANSKI A.; ROBINSON J. et PHIPPS-TODD B., 2002. Effect of *Neospora caninum* on *in vitro* development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. *Vet. Rec.*, **150**:316–318.
- [78] BIYIKOGLU G.; ONCEL T. et BAGCI O., 2005. Serological survey of *Neospora caninum* infection. *Indian Vet. J.*, **82**:345–346.
- [79] BJERKÅS I. et DUBEY J.P., 1991. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma-like* parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet. Scand.*, **32** (3):407-410
- [80] BJERKÅS I.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1994. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **1**:214–221.
- [81] BJERKÅS I.; MOHN S.F. et PRESTHUS J., 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.*, **70**:271–274.
- [82] BJÖRKMAN C.; ALENIUS S.; EMANUELSSON U. et UGGLA A., 2000. *Neospora caninum* and bovine virus diarrhea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet. J.*, **159**:201–206.
- [83] BJÖRKMAN C.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; CONRATHS F.J.; MATTSSON J.G.; ORTEGA-MORA L.M.; SAGER H. et SCHARES G., 2006. *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. *Vet. Parasitol.*, **140**:273–280.
- [84] BJÖRKMAN C. et HEMPHILL A., 1998. Characterization of *Neospora caninum* iscom antigens using monoclonal antibodies. *Parasite Immunol.*, **20** (2):73-80
- [85] BJÖRKMAN C.; HOLMDAHL O.J.M. et UGGLA A., 1997. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. *Vet. Parasitol.*, **68**:251–260.
- [86] BJÖRKMAN C.; JOHANSSON O.; STENLUND S.; HOLMDAHL O.J.M. et UGGLA A., 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **208**:1441–1444.
- [87] BJÖRKMAN C. et LUNDEN A., 1998. Application of iscom antigen preparations in ELISAs for diagnosis of *Neospora* and *Toxoplasma* infections. *Int. J. Parasitol.*, **28**(1):187-193
- [88] BJÖRKMAN C.; LUNDEN A.; HOLMDAHL J.; BARBER J.; TREES A.J. et UGGLA A., 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunol.*, **16** (12):643-648
- [89] BJÖRKMAN C.; LUNDÉN A. et UGGLA A., 1994. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. *Acta Vet. Scand.*, **35**:445–447.
- [90] BJÖRKMAN C.; McALLISTER M.M.; FRÖSSLING J.; NÄSLUND K.; LEUNG F. et 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. Investig.*, **15**:3–7.
- [91] BJÖRKMAN C.; NÄSLUND K.; STENLUND S.; MALEY S.W.; BUXTON D. et UGGLA A., 1999. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **11**:41–44.

- [92] BJÖRKMAN C et UGGLA A., 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1497–1507.
- [93] BLEWET D.A. et WATSON W.A., 1983. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. *Br. Vet. J.*, **139**:546–555.
- [94] BOULTON J.G.; GILL P.A.; COOK R.W.; FRASER G.C.; HARPER P.A.W. et DUBEY J.P., 1995. Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust. Vet. J.*, **72**:119–120.
- [95] BREGOLI M.; GIOIA C.; STEFANO N.; MARIAPIA C. et CLAUDIO P., 2006. Serological survey of *Neospora caninum* in free-ranching wild ruminants. *Vet. Arh.*, **76**:S111–S115.
- [96] BRESCIANI K.D.S.; GENNARI S.M.; SERRANO A.C.M.; RODRIGUES A.A.R.; UENO T.; FRANCO L.G.; PERRI S.H.V. et AMARANTE A.F.T., 2007. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitol. Res.*, **100**:281–285.
- [97] BRYAN L.A.; GAJADHAR A.A.; DUBEY J.P. et HAINES D.M., 1994. Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp. protozoan. *Can. Vet. J.*, **35**:111–113.
- [98] BUXTON D.; BREBNER J.; WRIGHT S.; MALEY S.W.; THOMSON K.M. et MILLARD K., 1996. Decoquinate and the control of experimental ovine toxoplasmosis. *Vet. Rec.*, **138**:434–436.
- [99] BUXTON D.; CALDOW G.L.; MALEY S.W.; MARKS J.; INNES E.A., 1997. Neosporosis and bovine abortion in Scotland. *Vet. Rec.* **141**:649–651.
- [100] BUXTON D.; MALEY S.W.; PASTORET P.P.; BROCHIER B. et INNES E.A., 1997. Examination of Renard rouxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Rec.*, **141**:308–309.
- [101] BUXTON D.; MALEY S.W.; THOMSON K.M.; TREES A.J. et INNES E.A., 1997. Experimental infection of non-pregnant sheep with *Neospora caninum*. *J. Comp. Pathol.*, **117**:1–16.
- [102] BUXTON D.; MALEY S.W.; WRIGHT S.; THOMSON K.M.; RAE A.G. et INNES E.A., 1998. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *J. Comp. Pathol.*, **118**:267–279.
- [103] BUXTON D.; McALLISTER M.M.; DUBEY J.P., 2002: The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology*, **18**(12):546–552.
- [104] BUXTON D.; WRIGHT S.; MALEY S.W.; RAE AG.; LUNDEN A; et INNES E.A., 2001. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. *Parasite Immunol.*, **23** (2) : 85–91
- [105] CABAJ W.; CHOROMANSKI L.; RODGERS S.; MOSKWA B.E. et MALCZEWSKI A., 2000. *Neospora caninum* infections in aborting dairy cows in Poland. *Acta Parasitol.*, **45**:113–114.
- [106] CABAJ W.; MOSKWA B.; PASTUSIAK K. et GILL J., 2005. Antibodies to *Neospora caninum* in the blood of European bison (*Bison bonasus bonasus* L.) living in Poland. *Vet. Parasitol.*, **128**:163–168.
- [107] CAETANO-DA-SILVA A.; FERRE I.; ADURIZ G.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; DEL-POZO I.; ATXAERANDIO R.; REGIDOR-CERRILLO J.; UGARTE-GARAGALZA C. et ORTEGA-MORA L.M., 2004. *Neospora caninum* infection in breeder bulls: seroprevalence and comparison of serological methods used for diagnosis. *Vet. Parasitol.*, **124**:19–24.
- [108] CAETANO-DA-SILVA A.; FERRE I.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; NAVARRO V.; ADURIZ G.; UGARTE-GARAGALZA C. et ORTEGA-MORA L.M., 2004. Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. *Theriogenology*, **62**:1329–1336.

- [109] CAMPERO C.M.; ANDERSON M.L.; CONOSCIUTO G.; ODRIÓZOLA H.; BRETSCHEIDER G. Et POSO M.A., 1998. *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet Rec.*, **143** (8):228 – 229
- [110] CAMPERO C.M.; MOORE D.P.; LAGOMARSINO H.; ODEÓN A.C.; CASTRO M. et VISCA H., 2003. Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. *J. Vet. Med. B*, **50**:458–460.
- [111] CAMPERO C.M.; PÉREZ A.; MOORE D.P.; CRUDELI G.; BENITEZ D.; DRAGHI M.G.; CANO D.; KONRAD J.L. et ODEÓN A.C., 2007. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) on four ranches in Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.*, **150**:155–158
- [112] CANADA N.; CARVALHEIRA J.; MEIRELES C.S.; CORREIA DA COSTA J.M. et ROCHA A., 2004. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. *Theriogenology*, **62**:1229– 1235.
- [113] CANADA N.; MEIRELES C.S.; FERREIRA P.; DA COSTA J.M.C. et ROCHA A., 2006. Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporosis. *Vet. Parasitol.*, **139**:109–114.
- [114] CANADA N.; MEIRELES C.S.; MEZO M.; GONZÁLEZ-WARLETA M.; CORREIA DA COSTA J.M.; SREEKUMAR C.; HILL D.E.; MISKA K.B. et DUBEY J.P., 2004. First isolation of *Neospora caninum* from an aborted bovine fetus in Spain. *J. Parasitol.*, **90**:863–864.
- [115] CANADA N.; MEIRELES C.S.; ROCHA A.; SOUSA S.; THOMPSON G.; DUBEY J.P.; ROMAND S.; THULLIEZ P. et CORREIA DA COSTA J.M., 2002. First Portuguese isolate of *Neospora caninum* from an aborted fetus from a dairy herd with endemic neosporosis. *Vet. Parasitol.*, **110**:11–15.
- [116] CANNAS A.; NAGULESWARAN A.; MÜLLER N.; EPERON S.; GOTTSTEIN B. et HEMPHILL A., 2003. Vaccination of mice against experimental *Neospora caninum* infection using NcSAG1 and NcSRS2-based recombinant antigens and DNA vaccines. *Parasitology*, **126**:303-312
- [117] CANNAS A.; NAGULESWARAN A.; MÜLLER N.; GOTTSTEIN B. et HEMPHILL A., 2003. Reduced cerebral infection of *Neospora caninum*-infected mice after vaccination with recombinant microneme protein NcMIC3 and ribi adjuvant. *J. Parasitol.*, **89**(1):44-50.
- [118] CAÑÓN-FRANCO W.A.; BERGAMASCHI D.P.; LABRUNA M.B.; CAMARGO L.M.A.; SOUZA S.L.P.; SILVA J.C.R.; PINTER A.; DUBEY J.P. et GENNARI S.M., 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **115**:71–74.
- [119] CAÑÓN-FRANCO W.A.; YAI L.E.O.; SOUZA S.L.P.; SANTOS L.C.; FARIAS N.A.R.; RUAS J.; ROSSI F.W.; GOMES A.A.B.; DUBEY J.P. et GENNARI S.M., 2004. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids; *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. *Vet. Parasitol.*, **123**:275–277.
- [120] CAPELLI G.; NARDELLI S.; DI REGALBONO A.F.; SCALA A. et PIETROBELLI M., 2004. Sero-epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in north-eastern Italy. *Vet. Parasitol.*, **123**:143–148.
- [121] CARRENO R.A.; SCHNITZIER B.E.; JEFFRIES A.C.; TENTER A.M.; JONHSON A.M. et BARTA J.R., 1998. Phylogenetic analysis of coccidia based on 18s rDNA sequence comparison indicates that *Isospora* most closely related to *Toxoplasma* and *Neospora*. *J. Eukaryotic Microbiology*, **45**(2):184-188

- [122] CHAHAN B.; GATURAGA I.; HUANG X.; LIAO M.; FUKUMOTO S.; HIRATA H.; NISHIKAWA Y.; SUZUKI H.; SUGIMOTO C.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; IGARASHI I.; MIKAMI T. et XUAN X., 2003. Serodiagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle by enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant truncated NcSAG1. *Vet. Parasitol.*, **118**:177–185.
- [123] CHANLUN A.; EMANUELSON U.; FRÖSSLING J.; AIUMLAMAI S. et BJÖRKMAN C., 2007. A longitudinal study of seroprevalence and seroconversion of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in northeast Thailand. *Vet. Parasitol.*, **146**:242–248
- [124] CHANLUN A.; NÄSLUND K.; AIUMLAMAI S. et BJÖRKMAN C., 2002. Use of bulk milk for detection of *Neospora caninum* infection in dairy herds in Thailand. *Vet. Parasitol.*, **110**:35–44.
- [125] CHARTIER C.H.; BAUDRY C.; LOSSON B.; DE MEERSCHAM F.; ROMAND S. et THULLIEZ P., 2000. La néosporose chez la chèvre: résultat de deux enquêtes sérologiques dans l'ouest de la France. *Point Vét.*, **31** (209):433-437
- [126] CHÁVEZ-VELÁSQUEZ A.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; CASAS-ASTOS E.; ROSADIO-ALCÁNTARA R.; SERRANO-MARTÍNEZ E. et ORTEGA-MORA L.M., 2004. First report of *Neospora caninum* infection in adult alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*). *J. Parasitol.*, **90**:864–866.
- [127] CHEADLE M.A.; LINDSAY D.S. et BLAGBURN B.L., 1999. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs. *Vet. Parasitol.*, **85**:325–330.
- [128] CHEADLE M.A.; LINDSAY D.S.; ROWE S.; DYKSTRA C.C.; WILLIAMS M.A.; SPENCER J.A.; TOIVIO-KINNUCAN M.A.; LENZ S.D.; NEWTON J.C.; ROLSMA M.D. et BLAGBURN B.L., 1999. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1537–1543.
- [129] CHEADLE M.A.; SPENCER J.A. et BLACKBURN B.L., 1999. Seroprevalences of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in non-domestic felids from southern Africa. *J. Zoo Wildl. Med.*, **30**:248–251.
- [130] CHEAH T.S.; MATTSSON J.G.; ZAINI M.; SANI R.A.; JAKUBEK E.B.; UGGLA A. et CHANDRAWATHANI P., 2004. Isolation of *Neospora caninum* from a calf in Malaysia. *Vet. Parasitol.*, **126**:263–269.
- [131] CHERMETTE R. et MARQUER A., 2000. *Neospora caninum* : un nouveau parasite ? *Point Vét.*, **208**:285-290.
- [132] CHI J.; VANLEEUWEN J.A.; WEERSINK A. et KEEFE G.P., 2002. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum*. *Prev. Vet. Med.*, **55**:137–153.
- [133] CHOROMANSKI L. et BLOCK W., 2000. Humoral immune responses and safety of experimental formulations of inactivated *Neospora* vaccines. *Parasitol. Res.*, **86**(10):851-853
- [134] CIARAMELLA P.; CORONA M.; CORTESE L.; PIANTEDOSI D.; SANTORO D.; DI LORIA A. et RIGATO R., 2004. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Vet. Parasitol.*, **123**:11–15.
- [135] COLE R.A.; LINDSAY D.S.; BLAGBURN B.L.; DUBEY J.P., 1995. Vertical transmission of *Neospora Caninum* in mice. *J. Parasitol.*, **81**: 730-732.
- [136] COLE R.A.; LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et BLAGBURN B.L., 1993. Detection of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **5** (4):579-584
- [137] COLE R.A.; LINDSAY D.S.; DUBEY J.P.; TOIVIO-KINNUCAN M.A. et BLAGBURN B.L., 1994. Characterization of a

- murine monoclonal antibody generated *against Neospora caninum* tachyzoites by use of western blot analysis and immunoelectron microscopy. *Am. J. Vet. Res.*, **55** (12):1717-1722
- [138] COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; GÓMEZ-BAUTISTA M.; MIRÓ G.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; PEREIRA-BUENO J.; FRISUELOS C. et ORTEGA-MORA L.M., 2008. Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog populations in Spain. *Vet. Parasitol.*, **152**: 148-151
- [139] COLLANTES-FERNANDEZ E.; ZABALLOS A; ALVAREZ-GARCIA G. et ORTEGA-MORA L.M., 2002. Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **40**:1194-1198.
- [140] COLLERY P.M., 1995. *Neospora* encephalomyelitis in a calf. *Vet. Rec.*, **137**(2):52.
- [141] CONRAD P.A.; BARR B.C.; SVERLOW K.W.; ANDERSON M.; DAFT B.; KINDE H.; DUBEY J.P.; MUNSON L. et ARDANS A., 1993. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine foetuses. *Parasitology*, **106**:239–249.
- [142] CONRAD P.A.; SVERLOW K.; ANDERSON M.; ROWE J.; BONDURANT R.; TUTER G.; BREITMEYER R.; PALMER C.; THURMOND M.; ARDANS A.; DUBEY J.P.; DUHAMEL G. et BARR B., 1993. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **5**:572–578.
- [143] CONRATHS F.J.; BAUER C. et BECKER W., 1996. Nachweis von Antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Kühen in hessischen Betrieben mit Abort- und Fruchtbarkeitsproblemen. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **103**:221–224.
- [144] CONRATHS F.J.; SCHARES G.; TCHERNYCHOVA G. et BESSONOV O.A.S., 2000. Seroepidemiological evidence for bovine neosporosis and *Neospora caninum*- associated abortions in the Russian Federation. *Int. J. Parasitol.*, **30**: 890–891.
- [145] CORBELLINI L.G.; COLODEL E.M. et DRIEMEIER D., 2001. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **13**:416–419.
- [146] CORBELLINI L.G.; DRIEMEIER D.; CRUZ C.F.E.; GONDIM L.F.P. et WALD V., 2002. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet. Parasitol.*, **103**:195–202.
- [147] CORBELLINI L.G.; PESCADOR C.A.; FRANTZ F.; WUNDER E.; STEFFEN D.; SMITH D.R. et DRIEMEIER D., 2006. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *Vet. J.*, **172**:114–120.
- [148] CORBELLINI L.G.; SMITH D.R.; PESCADOR C.A.; SCHMITZ M.; CORREA A.; STEFFEN D.J. et DRIEMEIER D., 2006. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.*, **74**:130–141.
- [149] ÇOŞKUN S.Z.; AYDYN L. et BAUER C., 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in domestic dogs in Turkey. *Vet. Rec.* **146**:649.
- [150] COSOROABĂ I. et CHITIMIA L., 2006. Neosporoza bovinelor. *Scientia Parasitologica*, **1-2**:55-66
- [151] COSTA G.H.N.; CABRAL D.D.; VARANDAS N.P.; SOBRAL E.A.; BORGES F.A. et CASTAGNOLLI K.C., 2001. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. *Semina*, **22**:61–66.

- [152] COSTA K.S.; SANTOS S.L.; UZÉDA R.S.; PINHEIRO A.M.; ALMEIDA M.A.; ARAÚJO F.R.; MCALLISTER M.M. et GONDIM L.F., 2008. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.*, **38**: 157-159.
- [153] COX B.T.; REICHEL M.P. et GRIFFITHS L.M., 1998. Serology of a *Neospora* abortion outbreak on a dairy farm in New Zealand: a case study. *N. Z. Vet. J.*, **46**:28–31.
- [154] CRAMER G.; KELTON D.; DUFFIELD T.F.; HOBSON J.C.; LISSEMORE K.; HIETALA S.K. et PEREGRINE A.S., 2002. *Neospora caninum* serostatus and culling of Holstein cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **221**:1165–1168.
- [155] CRINGOLI G.; CAPUANO F.; VENEZIANO V.; ROMANO L.; SOLIMENE R.; BARBER J.S. et TREES A.J., 1996. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in dog sera. *Parassitologia*, **38**:282.
- [156] CRINGOLI G.; RINALDI E.; CAPUANO F.; BALDI L.; VENEZIANO V. et CAPELLI G., 2002. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. *Vet. Parasitol.*, **106**:307–313.
- [157] CRUZ-VÁZQUEZ C.; MEDINA-ESPARZA L.; MARENTES A.; MORALES-SALINAS E. et GARCIA-VÁZQUEZ Z., 2008. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.*, **157**:139-143
- [158] CUDDON P.; LIN D.S.; BOWMAN D.D.; LINDSAY D.S.; MILLER T.K.; DUNCAN I.D.; DELAHUNTA A.; CUMMINGS J.; SUTER M.; COOPER B.; KING J.M. et DUBEY J.P., 1992. *Neospora caninum* infection in English springer spaniel littermates: diagnostic evaluation and organism isolation. *J. Vet. Intern. Med.*, **6**:325–332.
- [159] CUTERI V.; PREZIUSO S.; ATTILI A.; TRALDI G.; GUERRA M.; NISOLI L. et LULLA D., 2005. Application of a new therapeutic protocol against *Neospora caninum*-induced abortion in cattle: a field study. *J. An. Vet. Ad.*, **4**:510-514
- [160] DAFT B.M.; BARR B.C.; COLLINS N. et SVERLOW K., 1997. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. *Equine Vet. J.*, **29**(3):240-243
- [161] DAMRIYASA I.M.; BAUER C.; EDELHOFER R.; FAILING K.; LIND P.; PETERSEN E.; SCHARES G.; TENTER A.M.; VOLMER R. et ZAHNER H., 2004. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse; Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*; *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet. Parasitol.*, **126**:271–286.
- [162] DANNATT L., 1997. *Neospora caninum* antibody levels in an endemically infected dairy herd. *Cattle Practice*, **5**:335–337.
- [163] DANNATT L.; GUY F. et TREES A.J., 1995. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Vet Rec.*, **137**(22):566-567
- [164] DARIUS A.K.; MEHLHORN H. et HEYDORN A.O., 2004. Effects of toltrazuril and ponazuril on the fine structure and multiplication of tachyzoites of the NC-1 strain of *Neospora caninum* (a synonym of *Hammondia heydorni*) in cell cultures. *Parasitol. Res.*, **92**:453–458.
- [165] DAVIS S.W. et DUBEY J.P., 1995. Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. *J. Parasitol.*, **81**:882–886.
- [166] DAVISON H.C.; FRENCH N.P. et TREES A.J., 1999. Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. *Vet. Rec.*, **144**:547–550.
- [167] DAVISON H.C.; GUY C.S.; MCGARRY J.W.; GUY F.; WILLIAMS D.J.L.; KELLY D.F. et TREES A.J., 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res. Vet. Sci.*, **70**:163–168.

- [168] DAVISON H.C.; GUY F.; TREES A.J.; RYCE C.; ELLIS J.T.; OTTER A.; JEFFREY M.; SIMPSON V.R. et HOLT J.J., 1999. In vitro isolation of *Neospora caninum* from a stillborn calf in the United Kingdom. *Res. Vet. Sci.*, **67**:103–105.
- [169] DAVISON H.C.; OTTER A. et TREES A.J., 1999. Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British herds. *Vet. Rec.*, **144**:547-550.
- [170] DAVISON H.C.; OTTER A. et TREES A.J., 1999. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1189–1194.
- [171] DAVISON H.C.; OTTER A. et TREES A.J., 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1683–1689.
- [172] DE BRAGANCA K.; PESCHKLA B.; PETERS B. et SEITZ H.M., 1996. How long does obligate intracellular parasite *Toxoplasma gondii* survive in cell free medium? *Proceeding of the 10<sup>th</sup> Japanese-German Cooperative Symposium on Protozoan Disease*. September 11 -15 Hannover, Germany.
- [173] DECONINCK P.; PANGUI L.J.; AKAKPO J.; GARROUSTE A.; OUATTARA L.; ROGER F.; TIBAYRENC R. et DORCHIES PH., 1996. Prévalence de la toxoplasmose chez les petits ruminants en Afrique tropicale : résultats d'une enquête séro-épidémiologique sur 1042 animaux. *Rev. Méd. Vét.*, **147**:377-378.
- [174] DE MAREZ T.; LIDDELL S.; DUBEY J.P.; JENKINS M.C. et GASBARRE L., 1999. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1647–1657.
- [175] DE MEERSCHMAN F.; FOCANT C.; BOREUX R.; LECLIPTEUX T. et LOSSON B., 2000. Cattle neosporosis in Belgium: a case-control study in dairy and beef cattle. *Int. J. Parasitol.*, **30**:887–890.
- [176] DE MEERSCHMAN F.; SPEYBROECK N.; BERKVENS D.; RETTIGNER C.; FOCANT C.; LECLIPTEUX T.; CASSART D. et LOSSON B., 2002. Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology*, **58**:933–945.
- [177] DE MELO C.B.; LEITE R.C.; DE SOUZA G.N. et LEITE R.C., 2001. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **10**:67–74.
- [178] DE MELO C.B.; LEITE R.C.; LOBATO Z.I.P. et LEITE R.C., 2004. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpes virus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **119**:97–105.
- [179] DE MOURA L.; BAHIA-OLIVEIRA L.M.G.; WADA M.Y.; JONES J.L.; TUBOI S.H.; CARMO E.H.; RAMALHO W.M.; CAMARGO N.J.; TREVISAN R.; GRAÇA R.M.T.; DA SILVA A.J.; MOURA I.; DUBEY J.P. et GARRETT D.O., 2006. Waterborne outbreak of toxoplasmosis; Brazil; from field to gene. *Emerg. Infect. Dis.*, **12**:326–329.
- [180] DE OLIVEIRA J.M.; MATOS M.F.C.; OSHIRO L.M. et ANDREOTTI R., 2004. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **13**:155–158.
- [181] DESMONTS D. et REMINGTON J.S., 1980. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J. Clin. Microbiol.*, **11**:562-568.
- [182] DE SOUZA S.L.P.; GUIMARÃES J.S.; FERREIRA F.; DUBEY J.P. et GENNARI S.M., 2002. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Parana, Brazil. *J. Parasitol.*, **88**:408–409.

- [183] DE SOUZA L.M.; NASCIMENTO A.A.; FURUTA P.I.; BASSO L.M.S.; SILVEIRA D.M. et COSTA A.J., 2001. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. *Semina*, **22**:39–48.
- [184] DE YANIZ M.G.; MOORE D.P.; ODEÓN A.C.; CANO A.; CANO D.B.; LEUNDA M.R. et CAMPERO C.M., 2007. Humoral immune response in pregnant heifers inoculated with *Neospora caninum* tachyzoites by conjunctival route. *Vet. Parasitol.*, **148**:213–218
- [185] DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; BJÖRKMAN C. et WOUDA W., 2002. A high rate of seroconversion for *Neospora caninum* in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. *Vet. Parasitol.*, **109**:203–211.
- [186] DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; EYSKER M.; BEIBOER M.L. et WOUDA W., 2003. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Vet. Parasitol.*, **110**:161–169.
- [187] DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; EYSKER M.; HESSELINK J.W.; et WOUDA W., 2002. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet. Parasitol.*, **105**:99–104.
- [188] DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; EYSKER M. et WOUDA W., 2001. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Int. J. Parasitol.*, **31**:209–215.
- [189] DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; HESSELINK J.W. et WOUDA W., 2002. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Vet. Parasitol.*, **105**:89–98.
- [190] DIJKSTRA T.; EYSKER M.; SCHARES G.; CONRATHS F.J.; WOUDA W. et BARKEMA H.W., 2001. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.*, **31**:747–752.
- [191] DIJKSTRA T.; LAM T.J.G.M.; BARTELS C.J.M.; EYSKER M. et WOUDA W., 2008. Natural postnatal *Neospora caninum* infection in cattle can persist and lead to endogenous transplacental infection. *Vet. Parasitol.*, **152**:220–225
- [192] DI LORENZO C.; VENTURINI C.; CASTELLANO C.; VENTURINI L.; UNZAGA J.M. et BACIGALUPE D., 1997. Detección de anticuerpos anti-*Neospora caninum* y anti-*Toxoplasma gondii* en perros de área urbana. *Rev. Med. Vet.*, **78**:325–326.
- [193] DUBEY J.P., 2004. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. *Vet. Parasitol.*, **126**:57–72.
- [194] DUBEY J.P., 2003. Neosporosis in cattle. *J. Parasitol.*, **89**(Suppl.):S42–S46.
- [195] DUBEY J.P., 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, **41**:1–16.
- [196] DUBEY J.P., 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol.*, **84**(3-4):349-367
- [197] DUBEY J.P., 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **214**:1160–1163.
- [198] DUBEY J.P., 1989. Congenital neosporosis in a calf. *Vet Rec.*, **125**(19):486.
- [199] DUBEY J.P.; ACLAND H.M. et HAMIR A.N., 1992. *Neospora caninum* (apicomplexa) in a stillborn goat. *J. Parasitol.*, **78**:532–534.
- [200] DUBEY J.P.; BARR B.C.; BARTA J.R.; BJERKÅS I.; BJÖRKMAN C.; BLAGBURN B.L.; BOWMAN D.D.; BUXTON D.; ELLIS J.T.; GOTTSTEIN B.; HEMPHILL A.; HILL D.E.; HOWE D.K.; JENKINS M.C.; KOBAYASHI Y.; KOUDELA B.; MARSH A.E.; MATTSSON J.G.; McALLISTER M.M.; MODRÝ D.; OMATA Y.; SIBLEY L.D.; SPEER C.A.; TREES A.J.; UGGLA A.; UPTON S.J.; WILLIAMS D.J.L. et LINDSAY D.S., 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int. J. Parasitol.*, **32**:929–946.

- [201] DUBEY J.P. et BEATTIE C.P., 1988. Toxoplasmosis of Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida. 220p.
- [202] DUBEY J.P.; BUXTON D. et WOUUDA W., 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Pathol.*, **134**:267–289.
- [203] DUBEY J.P.; CARPENTER J.L.; SPEER C.A.; TOPPER M.J. et UGGLA A., 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **192**:1269–1285.
- [204] DUBEY J.P. et DE LAHUNTA A., 1993. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. *Appl. Parasitol.*, **34**(4):229-233.
- [205] DUBEY J.P.; DOROUGH K.R.; JENKINS M.C.; LIDDELL S.; SPEER C.A.; KWOK O.C.H. et SHEN S.K., 1998. Canine neosporosis: clinical signs; diagnosis; treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int. J. Parasitol.*, **28**:1293–1304.
- [206] DUBEY J.P.; HARTLEY W.J. et LINDSAY D.S., 1990. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **197** (8):1043-1044
- [207] DUBEY J.P.; HARTLEY W.J.; LINDSAY D.S. et TOPPERT M.J., 1990. Fatal Congenital *Neospora caninum* Infection in a Lamb. *J. Parasitol.*, **76**(1):127-130
- [208] DUBEY J.P.; HATTEL A.L.; LINDSAY D.S. et TOPPER M.J., 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **193**:1259–1263.
- [209] DUBEY J.P.; HILL D.E.; LINDSAY D.S.; JENKINS M.C.; UGGLA A. et SPEER C.A., 2002. *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni* are separate species. *Trends Parasitol.*, **18**:66–69
- [210] DUBEY J.P.; HOLLIS K.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H.; HUNGERFORD L.; ANCHOR C. et ETTER D., 1999. High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int. J. Parasitol.*, **29**:1709–1711.
- [211] DUBEY J.P.; JANOVITZ E.B. et SKOWRONEK A.J., 1992. Clinical neosporosis in a 4-week-old Hereford calf. *Vet. Parasitol.*, ; **43**(1-2):137-141
- [212] DUBEY J.P.; JENKINS M.C.; ADAMS D.S.; McALLISTER M.M.; ANDERSON-SPRECHER R.; BASZLER T.V.; KWOK O.C.H.; LALLY N.C.; BJÖRKMAN C. et UGGLA A., 1997. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Parasitol.*, **83**:1063–1069.
- [213] DUBEY J.P.; KERBER C.E. et GRANSTROM D.E., 1999. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*; *Toxoplasma gondii*; and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **215**:970–972.
- [214] DUBEY J.P.; KOESTNER A. et PIPER R.C., 1990. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **197**:857–860.
- [215] DUBEY J.P.; LIDDELL S.; MATTSON D.; SPEER C.A.; HOWE D.K. et JENKINS M.C., 2001. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. *J. Parasitol.*, **87**:345–353.
- [216] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 2000. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. *Parasitol. Res.*, **86**:165–168.
- [217] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, **67**:1–59.
- [218] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1993. Neosporosis. *Parasitology Today.*, **9** (12):452-458
- [219] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1990. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J. Vet. Diagn Invest.*, **2**(3):230-

- [220] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1990. Neosporosis in dogs. *Vet Parasitol.*, **36**(1-2):147-151
- [221] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1989. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **50**:1578–1579.
- [222] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1989. Fatal *Neospora caninum* infection in kittens. *J. Parasitol.*, **75**(1):148-151
- [223] DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1989. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J. Parasitol.*, **75**(5):765-771
- [224] DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; ADAMS D.S.; GAY J.M.; BASZLER T.V.; BLAGBURN B.L.; THULLIEZ P., 1996. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, **57**:329–336.
- [225] DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; HILL D.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H.; SILVA J.C.R.; OLIVEIRA-CAMARGO M.C. et GENNARI S.M., 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. *J. Parasitol.*, **88**:1251–1252.
- [226] DUBEY J.P.; MANSFIELD K.; HALL B.; KWOK O.C.H. et THULLIEZ P., 2008. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*) and mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). *Vet. Parasitol.*, **156**:310-313
- [227] DUBEY J.P.; METZGER F.L.J.; HATTEL A.L.; LINDSAY D.S. et FRITZ D.L., 1995. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with climpamycine. *Vet. Dermatol.*, **6**:37-43
- [228] DUBEY J.P.; MILLER S.; LINDSAY D.S.; TOPPER M.J., 1990. *Neospora caninum*-associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **2**:66-69
- [229] DUBEY J.P.; MITCHELL S.M.; MORROW J.K.; RHYAN J.C.; STEWART L.M.; GRANSTROM D.E.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; SAVILLE W.J. et LINDSAY D.S., 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*; *Sarcocystis neurona*; and *Toxoplasma gondii* in wild horses from central Wyoming. *J. Parasitol.*, **89**: 716–720.
- [230] DUBEY J.P.; MORALES J.A.; VILLALOBOS P.; LINDSAY D.S.; BLAGBURN B.L. et TOPPER M.J., 1996. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **208**:263–265.
- [231] DUBEY J.P. et PORTERFIELD M.L., 1990. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J. Parasitol.*, **76**(5):732-734
- [232] DUBEY J.P. et PORTELLFIELD M.L., 1986. *Toxoplasma-like* sporozoa in an aborted equine fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **188** (11):1312-1313
- [233] DUBEY J.P.; RIGOLET J.; LAGOURETTE P.; GEORGE C.; LONGEART L. et LeNET J.L., 1996. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *J. Parasitol.*, **82**:338–339.
- [234] DUBEY J.P.; ROMAND S.; HILALI M.; KWOK O.C.H. et THULLIEZ P., 1998. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *Int. J. Parasitol.*, **28**:527– 529.
- [235] DUBEY J.P.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H.; SHEN S.K. et GAMBLE H.R., 1999. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *J. Parasitol.*, **85**:968–969.
- [236] DUBEY J.P. et SCHARES G., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.*, **141**:1–34.
- [237] DUBEY J.P.; SCHARES G.; ORTEGA-MORA L.M., 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev.*, **20**:323–367.

- [238] DUBEY J.P.; SREEKUMAR C.; KNICKMAN E.; MISKA K.B.; VIANNA M.C.B.; KWOK O.C.H.; HILL D.E.; JENKINS M.C.; LINDSAY D.S. et GREENE C.E., 2004. Biologic, morphologic, and molecular characterization of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *Int. J. Parasitol.*, **34**:1157–1167.
- [239] DUBEY J.P. et THULLIEZ P., 2005. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals. *J. Parasitol.*, **91**:1217–1218.
- [240] DUBEY J.P.; VENTURINI M.C.; VENTURINI L.; MCKINNEY J. et PECORARO M., 1999. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*; *Toxoplasma gondii*; and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.*, **86**:59–62.
- [241] DUBEY J.P.; VIANNA M.C.B.; KWOK O.C.H.; HILL D.E.; MISKA K.B.; TUO W.; VELMURUGAN G.V.; CONORS M. et JENKINS M.C., 2007. Neosporosis in Beagle dogs: Clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **149**:158–166
- [242] DUBEY J.P.; ZARNKE R.; THOMAS N.J.; WONG S.K.; VAN BONN W.; BRIGGS M.; DAVIS J.W.; EWING R.; MENSEA M.; KWOK O.C.H.; ROMAND S. et THULLIEZ P., 2003. *Toxoplasma gondii*; *Neospora caninum*; *Sarcocystis neurona*; and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet. Parasitol.*, **116**:275–296.
- [243] DUBINSKY P.; REITEROVA K.; MOSKWA B.; BOBAKOVA M.; DURECKO R. et CABAJ W., 2006. *Neospora caninum* as a potential cause of abortions in dairy cows. *Slov. Vet. Cas.*, **31**:175–177.
- [244] DUFFIELD T.F.; PEREGRINE A.S.; MCEWEN B.J.; HIETALA S.K.; BAGG R. et DICK P., 2001. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in 25 Ontario dairy herds and its association with periparturient health and production. *Bovine Pract.*, **35**:8–12.
- [245] DYER R.M.; C. JENKINS M.; KWOK O.C.H.; DOUGLAS L.W. et DUBEY J.P., 2000. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Vet. Parasitol.*, **90**:171–181.
- [246] EDELHOFER R.; OESCHENBERGER K.; PESCHKE R.; SAGER H.; NOWORTNY N.; KOLODZIEJEK J.; TEWS A.; DONEUS G. et PROSL H., 2003 : First PCR-confirmed report of a *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Austria. *Vet Rec.*, **152**(15):471-473
- [247] ELENI C.; CROTTI S.; MANUALI E.; COSTARELLI S.; FILIPPINI G.; MOSCATI L. et MAGNINO S., 2004. Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus. *Vet. Parasitol.*, **123**:271–274.
- [248] ELLIS J.T., 1998. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, **28**:1053–1060.
- [249] ELLIS J.T.; AMOYAL G.; RYCE C.; HARPER P.A.W.; CLOUGH K.A.; HOMAN W.L. et BRINDLEY P.J., 1998. Comparison of the large subunit ribosomal DNA of *Neospora* and *Toxoplasma* and development of a new genetic marker for their differentiation based on the D2 domain. *Mol. Cell. Probes.*, **12**:1–13.
- [250] ELLIS J.; LUTON K.; BAVERSTOCK P.R.; BRINDLEY P.J.; NIMMO K.A. et JOHNSON A.M., 1994. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol. Bioch. Parasitol.*, **64** (2):303-311
- [251] ELLIS J.T.; McMILLAN D.; RYCE C.; PAYNE S.; ATKINSON R. et HARPER P.A.W., 1999. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1589–1596.

- [252] ENGLAND I.V.; WALDELAND H.; ANDRESEN O.; LOKEN T., BJÖRKMAN C. et BJERKÅS I., 1998. Foetal loss in dairy goats: an epidemiological study in 22 herds. *Small Rum. Res.*, **30**:37-48
- [253] EPERON S.; BRONNIMANN K.; HEMPHILL A. et GOTTSTEIN B., 1999. Susceptibility of B-cell deficient C57BL/6 (micro MT) mice to *Neospora caninum* infection. *Parasite Immunol.*, **21**(5):225-236
- [254] ESPOSITO M.; STETTLER R.; MOORES S.L.; PIDATHALA C.; MÜLLER N.; STACHULSKI A.; BERRY N.G.; ROSSIGNOL J.F. et HEMPHILL A., 2005. In Vitro Efficacies of Nitazoxanide and Other Thiazolides against *Neospora caninum* Tachyzoites Reveal Antiparasitic Activity Independent of the Nitro Group. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **49**:3715–3723.
- [255] EYMANN J.; HERBERT C.A.; COOPER D.W. et DUBEY J.P., 2006. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) from urban Sydney, Australia. *J. Parasitol.*, **92**:267–272.
- [256] EZIO F. et ANNA T., 2003. Antibodies to *Neospora caninum* in European brown hare (*Lepus europaeus*). *Vet. Parasitol.*, **115**:75–78.
- [257] FARIA E.B.; GENNARI S.M.; PENA H.F.J.; ATHAYDE A.C.R.; SILVA M.L.C.R. et AZEVEDO S.S., 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
- [258] FERNANDES B.C.T.M.; GENNARI S.M.; SOUZA S.L.P.; CARVALHO J.M.; OLIVEIRA W.G. et CURY M.C., 2004. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **123**:33–40.
- [259] FERRARI A.; DONOFRIO G.; DELLEPIANE M.; CABASSI C.S.; BIGLIARDI E. et CAVIRANI S., 1997. Anticorpi verso *Neospora caninum* in bovine da latte con aborto a carattere enzootico. *Atti Soc. Ital. Buiatria*, **29**:223–227.
- [260] FERRE I.; ADURIZ G.; DEL-POZO I.; REGIDOR-CERRILLO J.; ATXAERANDIO R.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; HURTADO A.; UGARTE-GARAGALZA C. et ORTEGA-MORA L.M., 2005. Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. *Theriogenology*, **63**:1504–1518.
- [261] FERROGLIO E.; GUISO P.; PASINO M.; ACCOSSATO A. et TRISCIUOGLIO A., 2005. Antibodies to *Neospora caninum* in stray cats from north Italy. *Vet. Parasitol.*, **131**:31–34.
- [262] FERROGLIO E.; PASINO M.; ROMANO A.; GRANDE D.; PREGEL P. et TRISCIUOGLIO A., 2007. Evidence of *Neospora caninum* DNA in wild rodents. *Vet. Parasitol.*, **148**:346–349
- [263] FERROGLIO E.; PASINO M.; RONCO F.; BENÀ A.; TRISCIUOGLIO A., 2007. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural dogs in north-west Italy. *Zoonoses Public Health*, **54**:135-139.
- [264] FERROGLIO E. et ROSSI L., 2001. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in wild ruminants from the Italian Alps. *Vet. Rec.*, **148**:754–755.
- [265] FERROGLIO E.; WAMBWA E.; CASTIELLO M.; TRISCIUOGLIO A.; PROUTEAU A.; PRADERE E.; NDUNGU S. et DE MENEGHI D., 2003. Antibodies to *Neospora caninum* in wild animals from Kenya, East Africa. *Vet. Parasitol.*, **118**:43–49.
- [266] FIGLIUOLO L.P.C.; KASAI N.; RAGOZO A.M.A.; DE PAULA V.S.O.; DIAS R.A.; SOUZA S.L.P. et GENNARI S.M., 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **123**:161–166.

- [267] FIGLIUOLO L.P.C.; RODRIGUES A.A.R.; VIANA R.B.; AGUIAR D.M.; KASAI N. et GENNARI S.M., 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Res.*, **55**:29–32.
- [268] FIGUEREDO L.A.; DANTAS-TORRES F.; BENTO DE FARIA E.; GONDIM L.F.P.; SIMÕES-MATTOS L.; BRANDÃO-FILHO S.P. et MOTA R.A., 2008. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Vet. Parasitol.*, **157**:9–13
- [269] FIORETTI D.P.; PASQUAI P.; DIAFERIA M.; MANGILI V. et ROSIGNOLI L., 2003. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *J. Vet. Med. B*, **50**:399–404.
- [270] FIORETTI D.P.; ROSIGNOLI L.; RICCI G.; MORETTI A.; PASQUALI P. et POLIDORI G.A., 2000. *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. *J. Vet. Med. B*, **47**:47–53.
- [271] FISCHER I.; FURRER K.; AUDIGÉ L.; FRITSCHÉ A.; GIGER T.; GOTTSTEIN B. et SAGER H., 2003. Von der Bedeutung der bovinen Neosporose beim Abortgeschehen in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, **145**:114–123.
- [272] FRENCH N.P.; CLANCY D.; DAVISON H.C. et TREES A.J., 1999. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1691–1704.
- [273] FRITZ D.; GEOGE. C. et DUBEY. J.P., 1997. *Neospora caninum*: Associated nodular dermatitis in a middle-aged dog. *Canine Practice*, **22**(4):21-24.
- [274] FRÖSSLING J.; BONNETT B.; LINDBERG A. et BJÖRKMAN C., 2003. Validation of a *Neospora caninum* iscom ELISA without a gold standard. *Prev. Vet. Med.*, **57**:141-153.
- [275] FRÖSSLING J.; LINDBERG A. et BJÖRKMAN C., 2006. Evaluation of an iscom ELISA used for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Prev. Vet. Med.*, **74**:120–129.
- [276] FRÖSSLING J.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 2005. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Vet. Parasitol.*, **128**:209–218.
- [277] FUCHS N.; SONDA S.; GOTTSTEIN B. et HEMPHILL A., 1998. Differential expression of cell surface and dense granule-associated *Neospora caninum* proteins in tachyzoites and bradyzoites. *J. Parasitol.*, **84** (4):753-758
- [278] FUJII K.; KAKUMOTO C.; KOBAYASHI M.; SAITO S.; KARIYA T.; WATANABE Y.; XUAN X.; IGARASHI I. et SUZUKI M., 2007. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Seals around Hokkaido; Japon. *J. Vet. Med. Sci.*, **69**:393-398.
- [279] FUJII T.U.; KASAI N.; NISHI S.M.; DUBEY J.P. et GENNARI S.M., 2001. Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Vet. Parasitol.*, **99**:331–334.
- [280] GAFFARI A.; GIACOMETTI M.; TRANQUILLO V.M.; MAGNITO S.; CORDIOLI P. et LANFRANCHI P., 2006. Serosurvey of roe deer; chamois; and domestic sheep in the central Italian Alps. *J. Wildl. Dis.*, **42**:685–690.
- [281] GARCÍA-VÁZQUEZ Z.; CRUZ-VÁZQUEZ C.; MEDINA-ESPINOZA L.; GARCÍA-TAPIA D. et CHAVARRIA-MARTINEZ B., 2002. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.*, **106**:115–120.
- [282] GARCÍA-VÁZQUEZ Z.; ROSARIO-CRUZ R.; RAMOS-ARAGON A.; CRUZ-VAZQUEZ C. et MAPES-SANCHEZ G., 2005. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Vet. Parasitol.*, **134**:61–65.

- [283] GATURAGA I.; CHAHAN B.; XUAN X.; HUANG X.; LIAO M.; FUKUMOTO S.; HIRATA H.; NISHIKAWA Y.; TAKASHIMA Y.; SUZUKI H.; FUJISAKI K. et SUGIMOTO C., 2005. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle by enzyme-linked immunosorbent assay with truncated NcSR2 expressed in *Escherichia coli*. *J. Parasitol.*, **91**:191–192.
- [284] GENNARI S.M.; CAÑÓN-FRANCO W.A.; FEITOSA M.M.; IKEDA F.A.; LIMA F.R.A. et AMAKU M., 2006. Presence of anti-*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, **43**:613–615.
- [285] GENNARI S.M.; RODRIGUES A.A.R.; VIANA R.B. et CARDOSO E.C., 2005. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the northern region of Brazil. *Vet. Parasitol.*, **134**:169–171.
- [286] GENNARI S.M.; YAI L.E.O.; S.N.R. D'ÁURIA; CARDOSO S.M.S.; KWOK O.C.H.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 2002. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **106**:177–179.
- [287] GIRALDI J.H.; BRACARENSE A.P.F.R.L.; VIDOTTO O.; TUDURY E.A.; NAVARRO T. et BATISTA T.N., 2002. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. *Semina*, **23**:9–14.
- [288] GONDIM L.F.P.; GAO L. et McALLISTER M.M., 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasitol.*, **88**:1159–1163.
- [289] GONDIM L.F.P.; McALLISTER M.M.; ANDERSON-SPRECHER R.C.; BJÖRKMAN C.; LOCK T.F.; FIRKINS L.D.; GAO L. et FISCHER W.R., 2004. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. *J. Parasitol.*, **90**:1394–1400.
- [290] GONDIM L.F.P.; McALLISTER M.M. et GAO L., 2005. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Vet. Parasitol.*, **134**:33–39.
- [291] GONDIM L.F.P.; McALLISTER M.M.; MATEUS-PINILLA N.E.; PITT W.C.; MECH L.D. et NELSON M.E., 2004. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J. Parasitol.*, **90**:1361–1365.
- [292] GONDIM L.F.P.; McALLISTER M.M.; PITT W.C. et ZEMLIKA D.E., 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **34**:159–161.
- [293] GONDIM L.F.P.; PINHEIRO A.M.; SANTOS P.O.M.; JESUS E.E.V.; RIBEIRO M.B.; FERNANDES H.S.; ALMEIDA M.A.O.; FREIRE S.M.; MEYER R. et McALLISTER M.M., 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog; and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet. Parasitol.*, **101**:1–7.
- [294] GONDIM L.F.P.; SARTOR I.F.; HASEGAWA M. et YAMANE I., 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **86**:71–75.
- [295] GONZALEZ L.; BUXTON D.; ATXAERANDIO R.; ADURIZ G.; MALEY S.; MARCO J.C. et CUERVO L.A., 1999. Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. *Vet. Rec.*, **144**(6):145-150
- [296] GOTTSTEIN B.; EPERON S.; DAI W.J.; CANNAS A.; HEMPHILL A. et GREIF G., 2001. Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol. Res.*, **87**(1):43-48
- [297] GOTTSTEIN B.; HENTRICH B.; WYSS R.; THÜR B.; BUSATO A.; STÄRK K.D.C. et MÜLLER N., 1998. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int. J. Parasitol.*, **28**:679–691.

- [298] GOTTSTEIN B.; RAZMI G.R.; AMMANN P.; SAGER H. et MÜLLER N., 2005. Toltrazuril treatment to control diaplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice. *Parasitology*, **130**:41–48.
- [299] GRAHAM D.A.; CALVERT V.; WHYTE M. et MARKS J., 1999. Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection. *Vet. Rec.*, **144**:672–673.
- [300] GRAHAM D.A.; SMYTH J.A.; McLAREN E. et ELLIS W.A., 1996. Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: serological examination for evidence of *Neospora caninum* infection. *Vet. Rec.*, **139**(21):523-524
- [301] GREIF G.; HARDER A. et HABERKORN A., 2001. Chemotherapeutic approaches to protozoa: Coccidia-current level of knowledge and outlook. *Parasitol. Res.*, **87**(11):973-975.
- [302] GREIG B.; ROSSOW D.K.; COLLINS J.E.; DUBEY J.P., 1995. *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **206**(7):1000-1001
- [303] GUARINO A.; FUSCO G.; SAVINI G.; DI FRANCESCO G. et CRINGOLI G., 2000. Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. *Vet. Parasitol.*, **91**:15–21.
- [304] GUIMARÃES J.S.; SOUZA S.L.P.; BERGAMASCHI D.P. et GENNARI S.M., 2004. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **124**:1–8.
- [305] GUPTA G.D.; LAKRITZ J.; KIM J.H.; KIM D.Y.; KIM J.K. et MARSH A.E., 2002. Seroprevalence of *Neospora*; *Toxoplasma gondii*; and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Vet. Parasitol.*, **106**:193–201.
- [306] GUY C.S.; WILLIAMS D.J.L.; KELLY D.F.; McGARRY J.W.; GUY F.; BJÖRKMAN C.; SMITH R.F. et TREES A.J., 2001. *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet. Rec.*, **149**:443–449.
- [307] HABERKORN A., 1996. Chemotherapy of human and animal coccidiosis: state and perspectives. *Parasitol. Res.*, **82**(3):193-199
- [308] HADDAD J.P.A.; DOHOO I.R. et VANLEEWEN J.A., 2005. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle - a Canadian perspective. *Can. Vet. J.*, **46**:230–243.
- [309] HAERDI C.; HAESSIG M.; SAGER H.; GREIF G.; STAUBLI D. et GOTTSTEIN B., 2006. Humoral immune reaction of newborn calves congenitally infected with *Neospora caninum* and experimentally treated with toltrazuril. *Parasitol. Res.*, **99**:534–540.
- [310] HALDORSON G.J.; MATHISON B.A.; WENBERG K.; CONRAD P.A.; DUBEY J.P.; TREES A.J.; YAMANE I. et BASZLER T.V., 2005. Immunisation with native surface protein NcSRS2 induces a Th2 immune response and reduces congenital *Neospora caninum* transmission in mice. *Int. J. Parasitol.*, **35**:1407–1415.
- [311] HALL C.A.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2005. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.*, **128**:231- 241.
- [312] HAMILTON C.M.; GRAY R.; WRIGHT S.E.; GANGADHARIN B.; LAURENSEN K. et INNES E.A., 2005. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Renard rouxes (*Vulpes vulpes*) from around the United Kingdom. *Vet. Parasitol.*, **130**:169–173.
- [313] HAMIR A.N.; TORNQUIST S.J.; GERROS T.C.; TOPPER M.J. et DUBEY J.P., 1998. *Neospora caninum*-associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Parasitol.*, **79**:269-274

- [314] HARKINS D.; CLEMENTS D.N.; MALEY S.; MARKS J.; WRIGHT S.; ESTEBAN I.; INNES E.A. et BUXTON D., 1998. Western blot analysis of the IgG responses of ruminants infected with *Neospora caninum* and with *Toxoplasma gondii*. *J. Comp. Pathol.*, **119** (1):45-55
- [315] HASEGAWA M.Y.; SARTOR I.F.; OLIVEIRA CANAVESSI A.M. et PINCKNEY R.D., 2004. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle and in farm dogs from Avaré Region of São Paulo, Brazil. *Semina*, **25**:45–50.
- [316] HÄSLER B.; REGULA G.; STÄRK K.D.C.; SAGER H.; GOTTSTEIN B. et REIST M., 2006. Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy cattle in Switzerland. *Prev. Vet. Med.*, **77**:230–253.
- [317] HÄSLER B.; STÄRK K.D.C.; SAGER H.; GOTTSTEIN B. et REIST M., 2006. Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. *Prev. Vet. Med.*, **77**: 254–283.
- [318] HÄSSIG M. et GOTTSTEIN B., 2002. Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms. *Vet. Rec.*, **150**:538–542.
- [319] HÄSSIG M.; SAGER H.; REITT K.; ZIEGLER D.; STRABEL D. et GOTTSTEIN B., 2003. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. *Vet. Parasitol.*, **117**: 213–220.
- [320] HATTEL A.L.; CASTRO M.D.; GUMMO J.D.; WEINSTOCK D.; REED J.A et DUBEY J.P., 1998. Neosporosis-associated bovine abortion in Pennsylvania. *Vet. Parasitol.*, **74**(2-4):307-313
- [321] HAY W.H.; SHELL L.G.; LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1990. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **197**:87–89.
- [322] HELMAN R.G.; STAIR E.L.; LEHENBAUER T.W.; RODGERS S. et SALIKI J.T., 1998. *Neosporal* abortion in Oklahoma cattle with emphasis on the distribution of brain lesions in aborted fetuses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **10**(3):292-295
- [323] HELMICK B.; OTTER A.; MCGARRY J. et BUXTON D., 2002. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res. Vet. Sci.*, **73**:187–189.
- [324] HEMPHILL A., 1999. The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv. Parasitol.*, **43**:47-104
- [325] HEMPHILL A., 1996. Subcellular localization and functional characterization of Nc-p43, a major *Neospora caninum* tachyzoite surface protein. *Infect. Immun.*, **64** (10):4279-4287
- [326] HEMPHILL A.; FUCHS N.; SONDA S. et HEHL A., 1999. The antigenic composition of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **29**(8):1175-1188
- [327] HEMPHILL A.; GAJENDRAN N.; SONDA S.; FUCHS N.; GOTTSTEIN B.; HENTRICH B. et JENKINS M., 1998. Identification and characterisation of a dense granule-associated protein in *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.*, **28**(3):429-438
- [328] HEMPHILL A. et GOTTSTEIN B., 1996. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol. Res.*, **82**(6):497-504
- [329] HEMPHILL A.; GOTTSTEIN B.; CONRATHS F.J.; DE MEERSCHMAN F.; ELLIS J.T.; INNES E.A.; McALLISTER M.M.; ORTEGA-MORA L.M.; TENTER A.M.; TREES A.J.; UGGLA A.; WILLIAMS D.J.L. et WOUDA W., 2000. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **30**:877–924.
- [330] HEMPHILL A.; GOTTSTEIN B. et KAUFMANN H., 1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, **112**:183-197

- [331] HERNANDEZ J.; RISCO C. et DONOVAN A., 2002. Risk of abortion associated with *Neospora caninum* during different lactations and evidence of congenital transmission in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **221**:1742–1746.
- [332] HERNANDEZ J.; RISCO C. et DONOVAN A., 2001. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **219**:632–635.
- [333] HEUER C.; NICHOLSON C.; RUSSEL D. et WESTON J., 2004. Field study in dairy cattle from New Zealand. *Vet. Parasitol.*, **125**:137–146.
- [334] HEYDORN A.O. et MEHLHORN H., 2002. A re-evaluation of *Neospora* and *Hammondia* spp. *Trends Parasitol.*, **18**(6):246-246
- [335] HEYDORN A.O. et MEHLHORN H., 2002. *Neospora caninum* is an invalid species name: an evaluation of facts and statements. *Parasitol. Res.*, **88**(2):175-184
- [336] HIETALA S.K. et THURMOND M.C., 1999. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1669–1676.
- [337] HILALI M.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H. et DUBEY J.P., 1998. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. *Vet. Parasitol.*, **75**:269–271.
- [338] HILL D. et DUBEY J.P., 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol. Infect.*, **8**: 634–640.
- [339] HILL D.E.; LIDDELL S.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 2001. Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally-infected dogs using the polymerase chain reaction. *J. Parasitol.*, **87**(2):395-398.
- [340] HO M.S.Y.; BARR B.C.; MARSH A.E.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; TARANTAL A.F.; HENDRICKX A.G.; SVERLOW K.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1996. Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small subunit rRNA sequence probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, **34**:1203–1208.
- [341] HO M.S.Y.; BARR B.C.; ROWE J.D.; ANDERSON M.L.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.; MARSH A.E. et CONRAD P.A., 1997. Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *J. Parasitol.*, **83**:508-514.
- [342] HO M.S.; BARR B.C.; TARANTAL A.F.; TARANTAL A.F.; LAI L.T. Y.; HENDRICKX A.G.; MARSH A.E.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1997. Detection of *Neospora* from tissues of experimentally infected Rhesus Macaques by PCR and specific DNA probe hybridization. *J. clinic. Microbiol.*, **35**(7):1740-1745.
- [343] HOANE J.S.; GENNARI S.M.; DUBEY J.P.; RIBEIRO M.G.; BORGES A.S.; YAI L.E.O.; AGUIAR D.M.; CAVALCANTE G.T.; BONESI G.L. et HOWE D.K., 2006. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Vet. Parasitol.*, **136**:155–159.
- [344] HOANE J.S.; YEARGAN M.R.; STAMPER S.; SAVILLE W.J.; MORROW J.K.; LINDSAY D.S. et HOWE D.K., 2005. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. *J. Parasitol.*, **91**:446–452.
- [345] HOAR B.R.; RIBBLE C.S.; SPITZER C.C.; SPITZER P.G. et JANZEN E.D., 1996. Investigation of pregnancy losses in beef cattle herds associated with *Neospora* sp. Infection. *Gan. Vet. J.*, **37**(6):364-366

- [346] HOBSON J.C.; DUFFIELD T.F.; KELTON D.; LISSEMORE K.; HIETALA S.K.; LESLIE K.E.; McEWEN B.; CRAMER G. et PEREGRINE A.S., 2002. *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **221**:1160–1164.
- [347] HOBSON J.C.; DUFFIELD T.F.; KELTON D.; LISSEMORE K.; HIETALA S.K.; LESLIE K.E.; McEWEN B. et PEREGRINE A.S., 2005. Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. *Vet. Parasitol.*, **127**:177–188.
- [348] HOLMDAHL J.; BLORKMAN C.; STENLUND S. et UGGLA A., 1997. Bovine *Neospora* and *Neospora caninum*: one and the same. *Parasitol. Today*, **13**:40–41.
- [349] HOLMDAHL O.J.M. et MATTSSON J.G., 1996. Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by in vitro amplification of the internal transcribed spacer 1. *Parasitology*, **112**:177–182.
- [350] HORNOK S.; EDELHOFER R.; FOK É.; BERTA K.; FEJES P.; RÉPÁSI A. et FARKAS R., 2006. Canine neosporosis in Hungary: screening for seroconversion of household; herding and stray dogs. *Vet. Parasitol.*, **137**:197–201.
- [351] HORNOK S.; EDELHOFER R. et HAJTOS I., 2006. Seroprevalence of neosporosis in beef and dairy cattle breeds in Northeast Hungary. *Acta Vet. Hung.*, **54**:485–491.
- [352] HORNOK S.; EDELHOFER R.; JOACHIM A.; FARKAS R.; BERTA K.; RÉPÁSI A.; LAKATOS B., 2008. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection of cats in Hungary. *Acta Vet Hung.*, **56**:81–8.
- [353] HORNOK S.; NÄSLUND K.; HAJTÓS I.; TANYI J.; TEKES L.; VARGA I.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 1998. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in bovine post-abortion blood samples from Hungary. *Acta Vet. Hung.*, **46**:431–436.
- [354] HOWE D.K.; CRAWFORD A.C.; LINDSAY D. et SIBLEY L.D., 1998. The p29 and p35 immunodominant antigens of *Neospora caninum* tachyzoites are homologous to the family of surface antigens of *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.*, **66**(11):5322–5328
- [355] HOWE D.K.; MERCIER C.; MESSINA M. et SIBLEY L.D., 1997. Expression of the *Toxoplasma gondii* genes in the closely related apicomplexan *Neospora caninum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **89**:29–36.
- [356] HOWE D.K. et SIBLEY L.D., 1997. Development of molecular genetics for *Neospora caninum*: a complementary system to *Toxoplasma gondii*. *Methods*. **13**(2):123–133.
- [357] HOWE D.K.; TANG K.; CONRAD P.A.; SVERLOW K.; DUBEY J.P. et SIBLEY L.D., 2002. Sensitive and specific identification of *Neospora caninum* infection of cattle based on detection of serum antibodies to recombinant Ncp29. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **9**:611–615.
- [358] HUANG C.C.; YANG C.H.; WATANABE Y.; LIAO Y.K. et OOI H.K., 2004. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). *Vet. Res.*, **35**:283–290.
- [359] HUGHES J.M.; WILLIAMS R.H.; MORLEY E.K.; COOK D.A.N.; TERRY R.S.; MURPHY R.G.; SMITH J.E. et HIDE G., 2006. The prevalence of *Neospora caninum* and co-infection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations. *Parasitology*, **132**:29–36.
- [360] HULDT G., 1981. Serodiagnosis of parasitic infection. *Parasitology*, **82**:49–55.
- [361] HUONG L.T.T.; LJUNGSTRÖM B.L.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 1998. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet. Parasitol.*, **75**:53–57.

- [362] HUR K.; KIM J.H.; HWANG W.S.; HWANG E.K.; JEAN Y.H.; LEE B.C.; BAE J.S.; KANG Y.B.; YAMANE I. et KIM D.Y., 1998. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in Korean dairy cattle by indirect immunofluorescent antibody assay. *Korean J. Vet. Res.*, **38**:859–866.
- [363] HŮRKOVÁ L.; HALOVA D. et MODRÝ D., 2005. The prevalence of *Neospora caninum* antibodies in bulk milk of dairy herds in the Czech Republic: a case report. *Vet. Med., (Czech)* **50**:549–552.
- [364] HŮRKOVÁ L. et MODRÝ D., 2006. PCR detection of *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* in brains of wild carnivores. *Vet. Parasitol.*, **137**:150–154.
- [365] ILLANES O.; MOORE A; PRINGLE J. et SAINDON A., 1994. *Neospora-induced* congenital myelitis and polyradiculoneuritis in a one-month-old Holstein calf. *Can. Vet. J.*, **35**(10):653-654
- [366] INNES E.A.; ANDRIANARIVO A.G.; BJÖRKMAN C.; WILLIAMS D.J.L. et CONRAD P.A., 2002. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.*, **18**:497–504.
- [367] INNES E.A.; PANTO W.R.M.; MARKS J.; HOLMDAHL J. et BUXTON D., 1995. Interferon Gamma inhibits, the intracellular multiplication of *Neospora caninum*, as shown by incorporation of H<sub>3</sub> uracil. *J. comp. Pathol.*, **113**:95-100.
- [368] INNES E.A. et VERMEULEN A.N., 2006. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*; *Toxoplasma* and *Neospora*. *Parasitology.*, **133** Suppl:S145-68.
- [369] INNES E.A.; WRIGHT S.E.; MALEY S.; RAE A.; SCHOCK A.; KIRVAR E.; BARTLEY P.; HAMILTON C.; CAREY I.M. et BUXTON D., 2001. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, **31**:1523–1534.
- [370] JACOBSON L.S. et JARDINE J.E., 1993. *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **64**(1):47-51
- [371] JAKUBEK E.B.; BRÖJER C.; REGNERSEN C.; UGGLA A.; SCHARES G. et BJÖRKMAN C., 2001. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Swedish Renard rouxes (*Vulpes vulpes*). *Vet. Parasitol.*, **102**:167–172.
- [372] JAKUBEK E.B.; FARKAS R.; PÁLFI V. et MATTSSON J.G., 2007. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Hungarian Renard rouxes (*Vulpes vulpes*). *Vet. Parasitol.*, **144**:39–44.
- [373] JAKUBEK E.B.; LUNDÉN A. et UGGLA A., 2006. Seroprevalences in *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. *Vet. Parasitol.*, **138**:194–199.
- [374] JAKUBEK E.B. et UGGLA A., 2005. Persistence of *Neospora caninum* specific immunoglobulin G antibodies in bovine blood and lung tissue stored at room temperature. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **17**:458–460.
- [375] JARDINE J.E., 1996. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Vet. Parasitol.*, **62** (3-4):231-240
- [376] JARDINE J.E. et LAST R.D., 1995. The prevalence of neosporosis in aborted bovine fetuses submitted to the Allerton Regional Veterinary Laboratory. *Onderstepoort J. Vet. Res.* **62**(3):207-209
- [377] JARDINE J.E. et WELLS B.H., 1995. Bovine neosporosis in Zimbabwe. *Vet. Rec.*, **137**(9):223-223
- [378] JENKINS M.C., 2001. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, **101**(3-4):291-310

- [379] JENKINS M.C.; BASZLER T.; BJÖRKMAN C.; SCHARES G. et WILLIAMS D., 2002. Diagnosis and sero-epidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int. J. Parasitol.*, **32**:631–636.
- [380] JENKINS M.C.; ELLIS J.T.; LIDDELL S.; RYCE C.; MUNDAY B.L.; MORRISON D.A. et DUBEY J.P., 1999. The relationship of *Hammondia hammondi* and *Sarcocystis mucosa* to other heteroxenous cyst-forming coccidia as inferred by phylogenetic analysis of the 18S SSU ribosomal DNA sequence. *Parasitology*, **119**:135-142
- [381] JENKINS M.C.; FETTERER R.; SCHARES G.; BJÖRKMAN C.; WAPENAAR W.; McALLISTER M. et DUBEY J.P., 2005. HPLC purification of recombinant NCGRA6 antigen improves enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.*, **131**:227–234.
- [382] JENKINS M.C.; PARKER C.; HILL D.; PINCKNEY R.D. et DUBEY J.P., 2007. *Neospora caninum* detected in wild rodents. *Vet. Parasitol.*, **143**:161–165.
- [383] JENKINS M.C.; WOUDA W. et DUBEY J.P., 1997. Serological response over time to recombinant *Neospora caninum* antigens in cattle after a neosporosis-induced abortion. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **4**(3):270-274
- [384] JENSEN A.M.; BJÖRKMAN C.; KJELDSEN A.M.; WEDDERKOPP A.; WILLADSEN C.; UGGLA A. et LIND P., 1999. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, **40**:151–163.
- [385] JENSEN L.; JENSEN T.K.; LIND P.; HENRIKSEN S.A.; UGGLA A.; BILLE-HANSEN V., 1998. Experimental porcine neosporosis. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, **106**:475-482.
- [386] JESUS E.E.V.; SANTOS P.O.M.; BARBOSA M.V.F.; PINHEIRO A.M.; GONDIM L.F.P.; GUIMARÃES J.E. et ALMEIDA M.A.O., 2006. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia-Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, **43**:5–10.
- [387] JOLLEY W.R.; McALLISTER M.M.; McGUIRE A.M.; WILLS R.A., 1999: Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Vet. Parasitol.*, **82**:251-257.
- [388] JOURNEL C.; CHATAGNON G.; MARTIN D.; RICHARD A. et TAINTURIER D., 2000. Prévention des avortements et des infections foetales dus à *Neospora caninum* chez les génisses : essais de traitement pendant la gestation avec du décoquinat à la posologie de 2mg/kg/jour. *Renc. Rech. Ruminants*. **7**:105.
- [389] JOURNEL C. et PITEL P.H., 2001. La lutte contre la neosporose en élevage bovin. *Point Vét.*, **32**: 38-39
- [390] JOURNEL C.; TAINTURIER D.; PITEL P.H. et CHATAGNON G., 1999. *Neospora caninum* : étude d'un élevage contaminé, quelques hypothèses de contamination. *Point Vét.*, **30**:397 – 404.
- [391] KASARI T.R.; BARLING K. et McGRANN J.M., 1999. Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. *Bovine Pract.*, **33**:113–120.
- [392] KASHIWAZAKI Y.; GIANNEECHINI R.E.; LUST M. et GIL J., 2004. Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. *Vet. Parasitol.*, **120**:139–144.
- [393] KASHIWAZAKI Y.; PHOLPARK S.; CHAROENCHAI A.; POLSAR C.; TEEVERAPANYA S. et PHOLPARK M., 2001. Postnatal neosporosis in dairy cattle in northeast Thailand. *Vet. Parasitol.*, **94**:217–220.
- [394] KAUFMANN H.; YAMAGE M.; RODITI I.; DOBBELAERE D.; DUBEY J.P.; HOLMDAHL O.J.M.; TREES A. et GOTTSTEIN B., 1996. Discrimination of *Neospora caninum* from *Toxoplasma gondii* and other apicomplexan parasites by hybridization and PCR. *Mol. Cell. Probes*, **10**:289–297.

- [395] KEEFE G.P. et VANLEEUEWEN J.A., 2000. *Neospora* then and now: prevalence of *Neospora caninum* in maritime Canada. *Can. Vet. J.*, **41**:864–866.
- [396] KHAITSA M.L.; BARIGYE R.; DYER N.W.; DOETKOTT D.M. et FOSTER J.R., 2006. Serologic and other diagnostic evidence of *Neospora caninum* presence in North Dakota beef herds. *Bovine Pract.*, **40**:51–56.
- [397] KHAN I.A.; SCHWARTZMAN J.D.; FONSEKA S. et KASPER L.H., 1997. *Neospora caninum*: Role for immune cytokines in host immunity. *Exp. Parasitol.*, **85**:24-34.
- [398] KIM J.H.; HWANG E.K.; SOHN H.J.; JEAN Y.H.; YOON S.S. et KIM D.Y., 1998. Repeated bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Korea. *Korean J. Vet. Res.*, **38**:853–858.
- [399] KIM J.H.; KANG M.S.; LEE B.C.; HWANG W.S.; LEE C.W.; SO B.J.; DUBEY J.P. et KIM D.Y., 2003. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and Raton-laveur dogs in Korea. *Korean J. Parasitol.*, **41**:243–245.
- [400] KIM J.H.; LEE J.K.; HWANG E.K. et KIM D.Y., 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean native beef cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**:941–943.
- [401] KIM J.H.; LEE J.K.; LEE B.C.; PARK B.K.; YOO H.S.; HWANG W.S.; SHIN N.R.; KANG M.S.; JEAN Y.H.; YOON H.J.; KANG S.K. et KIM D.Y., 2002. Diagnostic survey of bovine abortion in Korea: with special emphasis on *Neospora caninum*. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**:1123–1127.
- [402] KIM J.T.; PARK J.Y.; SEO H.S.; OH H.G.; NOH J.W.; KIM J.H.; KIM D.Y. et YOUN H.J., 2002. In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **103**(1-2):53-63.
- [403] KIM J.H.; SOHN H.J.; HWANG E.K.; HWANG W.S.; HUR K.; JEAN Y.H.; LEE B.C.; RHEE J.C.; KANG Y.B.; YAMANE I. et KIM D.J., 1998. In vitro isolation of a bovine *Neospora* in Korea. *Korean J. Vet. Res.*, **38**:139–145.
- [404] KIM J.H.; SOHN H.J.; HWANG W.S.; HWANG E.K.; JEAN Y.H.; YAMANE I. et KIM D.Y., 2000. In vitro isolation and characterization of bovine *Neospora caninum* in Korea. *Vet. Parasitol.*, **90**:147-154.
- [405] KLEIN F.; HIETALA S.K.; BERTHET H.; VERY P. et GRADINARU D., 1997. *Neospora caninum*: enquête sérologique sur les avortements des bovins normands et charolais. *Point Vet.*, **28**:1283–1286.
- [406] KLEIN B.U. et MÜLLER E., 2001. Seroprävalenz von Antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Hunden mit und ohne klinischem Neosporoseverdacht in Deutschland. *Prakt. Tierarzt*, **82**:437–440.
- [407] KLEIN F.; OULD-AMROUCHE A.; OSDOIT C.; TOURATIER A.; et SANAA M., 2000. *Neospora caninum*: une enquête séroépidémiologique dans l'Orne. *Bull. GTV*, **7**:41–45.
- [408] KLIGLER E.B.; SHKAP V.; BANETH G.; MILDENBERG Z. et STEINMAN A., 2007. Seroprevalence of *Neospora* spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. *Vet. Parasitol.*, **148** :109–113
- [409] KNOWLER C. et WHEELER S.J., 1995. *Neospora caninum* infection in three dogs. *J. Small Anim. Pract.*, **36**(4):172-177
- [410] KOBAYASHI Y.; YAMADA M.; OMATA Y.; KOYAMA T.I.; SAITO A.; MATSUDA T.; OKUYAMA K.; FUJIMOTO S.; FURUOKA H. et MATSUI T., 2001. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. *J. Parasitol.*, **87**(2):434-436
- [411] KOIWAI M.; HAMAOKA T.; HARITANI M.; SHIMIZU S. et KIMURA K., 2005. Proportion of abortions due to neosporosis among dairy cattle in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **67**:1173–1175.

- [412] KOIWAI M.; HAMAOKA T.; HARITANI M.; SHIMIZU S.; TSUTSUI T.; ETO M. et YAMANE I., 2005. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan. *Vet. Parasitol.*, **130**:15-18.
- [413] KOIWAI M.; HAMAOKA T.; HARITANI M.; SHIMIZU S.; ZENIYA Y.; ETO M.; YOKOYAMA R.; TSUTSUI T.; KIMURA K. et YAMANE I., 2006. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. *Vet. Parasitol.*, **135**:175–179.
- [414] KOUDELA B.; SVOBODA M.; BJÖRKMAN C. et UGGLA A., 1998. Neosporosis in dogs: the first case report in the Czech Republic. *Vet. Med. Czech.*, **43**:51–54.
- [415] KOYAMA T.; KOBAYASHI Y.; OMATA Y.; YAMADA M.; FURUOKA H.; MAEDA R.; MATSUI T.; SAITO A. et MIKAMI T., 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. *J. Parasitol.* **87**:1486–1488.
- [416] KRAMER L.; DE RISIO L.; TRANQUILLO V.M.; MAGNINO S. et GENCHI C., 2004. Analysis of risk factors associated with seropositivity to *Neospora caninum* in dogs. *Vet. Rec.*, **154**:692–693.
- [417] KRITZNER S.; SAGER H.; BLUM J.; KREBBER R.; GREIF G. et GOTTSTEIN B., 2002. An explorative study to assess the efficacy of toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, **1**:4.
- [418] KUL O.; KABAKCI N.; YILDIZ K.; ÖCAL N.; KALENDER H. et İLKME N.A., 2009. *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. *Vet. Parasitol.*, **159**:69-72
- [419] KURTDEDE A.; KUPLULU S.; URAL K.; CINGI C.C.; GUZEL M.; KARAKURUM M.C. et HAYDARDEDEOGLU A.E., 2006. Serodiagnosis of bovine neosporosis with immunocomb assay in Ankara region. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, **53**:207–209.
- [420] KWON H.J.; KIM J.H.; KIM M.; LEE; J.K.; HWANG W.S. et KIM D.Y., 2003. Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. *Vet. Parasitol.*, **112**(4):269-276
- [421] KYAW T.; VIRAKUL P.; MUANGYAI M. et J. SUWIMONTEERABUTR. 2004. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. *Vet. Parasitol.*, **121**:255–263.
- [422] LALLY N.C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1996. Development of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora caninum* 14–3–3 gene. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **75**:169–178.
- [423] LALLY N.C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1996. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzymelinked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **3**:275–279.
- [424] LALLY N.C.; JENKINS M.C.; LIDDELL S. et DUBEY J.P., 1997. A dense granule protein (NCDG1) gene from *Neospora caninum*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **87** (2):239-243
- [425] LANDMANN J.K.; JILLELLA D.; O'DONOGHUE P.J. et MCGOWAN M.R., 2002. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust. Vet. J.*, **80**:502–503.
- [426] LA PERLE K.M.; DEI PIERO F.; CARR R.F.; HARRIS C. et STROMBERG P.C., 2001. Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive therapy. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **13**(3):252-255
- [427] LARSON R.L.; HARDIN D.K. et PIERCE V.L., 2004. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **224**:1597–1604.

- [428] LASRI S.; DE MEERSCHMAN F.; RETTIGNER C.; FOCANT C. et LOSSON B., 2004. Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. *Vet. Parasitol.*, **123**:25–32.
- [429] LATHE C.L., 1994. *Neospora caninum* in British dogs. *Vet. Rec.*, **134**:532.
- [430] LEHENBAUER T.W.; RODGERS S.J.; HELMAN R.G. et SALIKI J.T., 1998. Epidemiology of *Neospora caninum* infection in Oklahoma beef and dairy cattle. Proc. 31st Ann. Conv. Am. Assoc. *Bovine Pract.*, **31**:225.
- [431] LEMBERGER K.Y.; GONDIM L.F.P.; PESSIER A.P.; MCALLISTER M.M. et KINSEL M.J., 2005. *Neospora caninum* infection in a free-ranching Raton-laveur (*Procyon lotor*) with concurrent canine distemper virus infection. *J. Parasitol.*, **91**:960–961.
- [432] LIAO M.; ZHANG S.; XUAN S.; ZHANG G.; HUANG X.; IGARASHI I. et FUJISAKI K., 2005. Development of rapid immunochromatographic test with recombinant NcSAG1 for detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **12**:885–887.
- [433] LIDDELL S.; JENKINS M.C.; COLLICA C.M. et DUBEY J.P., 1999. Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination. *J. Parasitol.*, **85**:1072–1075.
- [434] LIDDELL S.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1999. A competitive PCR assay for quantitative detection of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1583–1587.
- [435] LIDDELL S.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1999. Vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/c mice determined by polymerase chain reaction detection. *J. Parasitol.*, **85**(3):550-555
- [436] LIDDELL S.; LALLY N.C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1998. Isolation of the cDNA encoding a dense granule associated antigen (NCDG2) of *Neospora caninum*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **93** (1):153-158
- [437] LINDSAY D.S.; BLAGBURN B.L. et DUBEY J.P., 1992. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *J. Parasitol.*, **78**:70–72.
- [438] LINDSAY D.S.; BUTLER J.M. et BLAGBURN B.L., 1997. Efficacy of decoquinate against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet. Parasitol.*, **68**:35-40.
- [439] LINDSAY D.S.; BUTLER J.M.; RIPPEY N.S. et BLAGBURN N.L., 1996. Demonstration of synergistic effects of sulphonamide and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.*, **57**:68-72.
- [440] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 2000. Canine neosporosis. *J. Vet. Parasitol.*, **14**(1):1-11.
- [441] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1990. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J. Parasitol.*, **76**:410–413.
- [442] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P. 1990. Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, **76**(2):177-179
- [443] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1989. Evaluation of anti-coccidial drugs' inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. *J. Parasitol.*, **75**(6):990-992
- [444] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1989. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am. J. Vet. Res.*, **50**(11):1981-1983
- [445] LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1989. *In vitro* development of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) from dogs. *J. Parasitol.*, **75**(1):163-165

- [446] LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et DUNCAN R.B., 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **82**:327–333.
- [447] LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et McALLISTER M., 1999. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, **21**:317-321
- [448] LINDSAY D.S.; DUBEY J.P.; UPTON S.J. et RIDLEY R.K., 1990. Serological prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Kansas. *J. Helminthol. Soc. Wash.*, **57**:86–88.
- [449] LINDSAY D.S.; KELLY E.J.; MCKOWN R.; STEIN F.J.; PLOZER J.; HERMAN J.; BLAGBURN B.L. et DUBEY J.P., 1996. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *J. Parasitol.*, **82**:657–659.
- [450] LINDSAY D.S.; LENZ S.D.; COLE R.A.; DUBEY J.P. et BLAGBURN B.L., 1995. Mouse model for central nervous system *Neospora caninum* infections. *J. Parasitol.*, **81**:313–315.
- [451] LINDSAY D.S.; LITTLE S.E. et DAVIDSON W.R., 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, from the Southeastern United States. *J. Parasitol.*, **88**:415–417.
- [452] LINDSAY D.S.; RIPPEY N.S.; COLE R.A.; PARSONS L.C.; DUBEY J.P.; TIDWELL R.R. et BLAGBURN B.L., 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am. J. Vet. Res.*, **55**(7):976-981
- [453] LINDSAY D.S.; RIPPEY N.S.; SARTIN T.A.; DUBEY J.P. et BLAGBURN B.L., 1995. Abortions; fetal death; and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, **56** (9); 1176-1180.
- [454] LINDSAY D.S.; RITTER D.M. et BRAKE D., 2001. Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. *J. Parasitol.*, **87**:909–911.
- [455] LINDSAY D.S.; SPEER C.A.; TOIVIO-KINNUCAN M.A.; DUBEY J.P. et BLAGBURN B.L., 1993. Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Vet. Res.*, **54**(1):103-106
- [456] LINDSAY D.S.; SPENCER J.; RUPPRECHT C.E. et BLAGBURN B.L., 2001. Prevalence of agglutinating antibodies to *Neospora caninum* in Raton-laveurs, *Procyon lotor*. *J. Parasitol.*, **87**:1197–1198.
- [457] LINDSAY D.S.; WESTON J.L. et LITTLE S.E., 2001. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Renard grises (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina. *Vet. Parasitol.*, **97**:159–164.
- [458] LIU J.; CAI J.Z.; ZHANG W.; LIU Q.; CHEN D.; HAN J.P.; LIU Q.R., 2008. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in yaks (*Bos grunniens*) in Qinghai, China. *Vet. Parasitol.*, **152**:330-332.
- [459] LOBATO J.; SILVA D.A.O.; MINEO T.W.P.; AMARAL J.D.H.F.; SEGUNDO G.R.S.; COSTA-CRUZ J.M.; FERREIRA M.S.; BORGES A.S. et MINEO J.R., 2006. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clin. Vaccine Immunol.*, **13**:84–89.
- [460] LOCATELLI-DITTRICH R.; DITTRICH J.R.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO JOINEAU M.E.; ANTUNES J.; PINCKNEY R.D.; DECONTO I.; HOFFMANN D.C.S. et THOMAZ-SOCCOL V., 2006. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. *Vet. Parasitol.*, **135**:215–221.

- [461] LOCATELLI-DITTRICH R.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU M.E.; PINCKNEY R.D.; DE SOUSA R.S.; LEITE L.C. et THOMAZ-SOCCOL V., 2003. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. *Vet. Rec.*, **153**:366–367.
- [462] LOCATELLI-DITTRICH R.; SOCCOL V.T.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU M.E.; VINNE R. et PINCKNEY R.D., 2001. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. *J. Parasitol.*, **87**: 1493–1494.
- [463] LOCATELLI-DITTRICH R.; THOMAZ-SOCCOL V.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU M.E.; VANDER VINNE R. et PINCKNEY R.D., 2004. Isolamento de *Neospora caninum* de feto bovino de rebanho leiteiro no Paraná. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **13**:103–109.
- [464] LOCATELLI-DITTRICH R.; THOMAZ SOCCOL V.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU M.E.; VAN DER VINNE R.; SILVA R.; LEITE L.C. et PINCKNEY R., 2001. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras e bezerros no estado do Paraná. *Arch. Vet. Sci.*, **6**:37–41.
- [465] LONG M.T.; BASZLER T.V. et MATHISON B.A., 1998. Comparison of intracerebral parasite load, lesion development, and systemic cytokines in mouse strains infected with *Neospora caninum*. *J. Parasitol.*, **84**(2):316-320
- [466] LÓPEZ-GATIUS F.; GARBAYO J.M.; SANTOLARIA P.; YÁNIZ J.L.; ALMERÍA S.; AYAD A.; DE SOUSA N.M. et BECKERS J.F., 2007. Plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) concentrations during gestation in *Neospora* infected dairy cows. *Theriogenology*, **67**:502–508.
- [467] LÓPEZ-GATIUS F.; GARCÍA-ISPIERTO I.; SANTOLARIA P.; YÁNIZ J.L.; LÓPEZ-BÉJAR M.; NORGAREDA C. et ALMERÍA S., 2005. Relationship between rainfall and *Neospora caninum*-associated abortion in two dairy herds in a dry environment. *J. Vet. Med. B*, **52**:147–152.
- [468] LÓPEZ-GATIUS F.; LÓPEZ-BÉJAR M.; MURUGAVEL K.; PABÓN M.; FERRER D. et ALMERÍA S., 2004. *Neospora*-associated abortion episode over a 1-year period in a dairy herd in north-east Spain. *J. Vet. Med. B*, **51**:348–352.
- [469] LÓPEZ-GATIUS F.; PABÓN M. et ALMERÍA S., 2004. *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, **62**:606–613.
- [470] LÓPEZ-GATIUS F.; SANTOLARIA P. et ALMERÍA S., 2005. *Neospora caninum* infection does not affect the fertility of dairy cows in herds with high incidence of *Neospora* - associated abortions. *J. Vet. Med. B*, **52**:51–53.
- [471] LÓPEZ-GATIUS F.; SANTOLARIA P.; YÁNIZ J.L.; GARBAYO J.M. et ALMERÍA S., 2005. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora* seropositive dairy cows. *J. Vet. Med. B*, **52**:88–92.
- [472] LÓPEZ-PÉREZ I.C.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; AGUADO-MARTÍNEZ A.; RODRÍGUEZ-BERTOS A. et ORTEGA-MORA L.M., 2008. Influence of *Neospora caninum* infection in BALB/c mice during pregnancy in post-natal development. *Vet. Parasitol.*, **155**:175-183
- [473] LOUIE K.; SVERLOW K.W.; BARR B.C.; ANDERSON M.L. et CONRAD P.A., 1997. Cloning and characterization of two recombinant *Neospora* protein fragments and their use in serodiagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **4**:692–9.
- [474] LUNDEN A.; MARKS J.; MALEY S.W. et INNES; E.A., 1998. Cellular immune responses in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*. *Parasite Immunol.*, **20**(11):519-526
- [475] MAGNINO S.; VIGO P.G.; BANDI C.; BAZZOCCHI C.; FABBI M. et GENCHI C., 2000. Small-subunit rDNA sequencing of the Italian bovine *Neospora caninum* isolate (NC-PVI strain). *Parassitologia*, **42**:191–192.

- [476] MAGNINO S.; VIGO P.G.; FABBI M.; COLOMBO M.; BANDI C. et GENCHI C., 1999. Isolation of a bovine *Neospora* from a newborn calf in Italy. *Vet. Rec.*, **144**:456.
- [477] MAINAR-JAIME R.C.; THURMOND M.C.; BERZAL-HERRANZ B. et HIETALA S.K., 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet. Rec.*, **145**:72–75.
- [478] MALEY S.W.; BUXTON D.; THOMSON K.M.; SCHRIEFER C.E.S. et INNES E.A., 2001. Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1-year study. *Vet. Parasitol.*, **96**:1–9.
- [479] MALIK M.A.; DEESEN D.W. et CRUZ A., 1990. Toxoplasmosis in sheep in northeastern United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **196**:263–265.
- [480] MALMASI A.; HOSSEININEJAD M.; HADDADZADEH H.; BADI A. et BAHONAR A., 2007. Serologic study of anti-*Neospora caninum* antibodies in household dogs and dogs living in dairy and beef cattle farms in Tehran, Iran. *Parasitol. Res.*, **100**:1143-1145.
- [481] MARCO I.; FERROGLIO E.; LÓPEZ-OLVERA J.R.; MONTANÉ J. et LAVÍN S., 2008. High seroprevalence of *Neospora caninum* in the red fox (*Vulpes vulpes*) in the Pyrenees (NE Spain). *Vet. Parasitol.*, **152**:321-324.
- [482] MARQUER A. et CHERMETTE R., 2000. La néosporose chez les bovins. *Point Vét.*, **31**:293-298
- [483] MARSH A.E.; BARR B.C.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1998. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.*, **84**:983–991.
- [484] MARSH A.E.; BARR B.C.; SVERLOW K.; HO M.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1995. Sequence analysis and comparison of ribosomal DNA from bovine *Neospora* to similar coccidial parasites. *J. Parasitol.*, **81**:530–535.
- [485] MARSH A.E.; HOWE D.K.; WANG G.; BARR B.C.; CANNON N. et CONRAD P.A., 1999. Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen; SAG1 and SRS2. *Int. J. Parasitol.*, **29**(10):1575-1582
- [486] MASUDA T.; KOBAYASHI Y.; MAEDA R.; OMATA Y., 2007. Possibility of *Neospora caninum* infection by venereal transmission in CB-17 scid mice. *Vet. Parasitol.*, **149**:130–133
- [487] McALLISTER M.M.; BJÖRKMAN C.; ANDERSON-SPRECHER R. et ROGERS D.G., 2000. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **217**:881–887.
- [488] McALLISTER M.M.; DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; JOLLEY W.R.; WILLS R.A. et McGUIRE A.M., 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **28**:1473–1478.
- [489] McALLISTER M.; HUFFMAN E.M.; HIETALA S.K.; CONRAD P.A.; ANDERSON M.L. et SALMAN M.D., 1996. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **8**:355–357.
- [490] McALLISTER M.M.; JOLLEY W.R.; WILLS R.A.; LINDSAY D.S.; McGUIRE A.M. et TRANAS J.D., 1998. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, **59**:441–444.
- [491] McALLISTER M.M.; PARR YLLEY S.F.; WEISS L.M.; WELCH V.J. et McGUIRE A.M., 1996. An immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen (BAG5) in *Toxoplasma gondii*-infected tissues cross-reacts with a *Neospora caninum* bradyzoite antigen. *J. Parasitol.*, **82**(2):354-355
- [492] McALLISTER M.M.; WALLACE R.L.; BJÖRKMAN C.; GAO L. et FIRKINS L.D., 2005. A probable source of *Neospora caninum* infection in an abortion outbreak in dairy cows. *Bovine Pract.*, **39**:69–74.

- [493] McCANN M.C.; ANDREW J.; VYSE A.J.; SALMON R.L.; THOMAS D.; WILLIAMS D.J.L.; McGARRY J.W.; PEBODY R. et TREES A.J., 2008. Lack of Serologic Evidence of *Neospora caninum* in Humans, England. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**:978-980.
- [494] McDOLE M.G.; et GAY J.M., 2002. Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. *Vet. Parasitol.*, **105**:257–260.
- [495] McGARRY J.W.; GUY F.; TREES A.J.; WILLIAMS D.J.L.; DAVISON H.C. et BJÖRKMAN C., 2000. Validation and application of an inhibition ELISA to detect serum antibodies to *Neospora caninum* in different host species. *Int. J. Parasitol.*, **30**:880–884.
- [496] McGUIRE A.M.; McALLISTER M.M.; JOLLEY W.R. et ANDERSON-SPRECHER R.C., 1997. A protocol for the production of *Neospora caninum* tissue cysts in mice. *J. Parasitol.*, **83**(4):647-651.
- [497] McGUIRE A.M.; McALLISTER M.; WILLS R.A. et TRANAS J.D., 1999. Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columba livia*) and zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1525-1529.
- [498] McINNES L.M.; IRWIN P.; PALMER D.G. et RYAN U.M., 2006. In vitro isolation and characterization of the first canine *Neospora caninum* isolate in Australia. *Vet. Parasitol.*, **137**:355–363.
- [499] McINNES L.M.; RYAN U.M.; O'HANDLEY R.; SAGER H.; FORSHAW D.; PALMER D.G., 2006. Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum. *Vet. Parasitol.*, **142**:207–213
- [500] McNAMEE P.T.; TREES A.J.; GUY F.; MOFFETT D. et KILPATRICK D., 1996. Diagnosis and prevalence of neosporosis in cattle in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, **138**:419–420.
- [501] MELÉNDEZ J.A.S.; GARCÍA J.J.M.; RAMOS J.J.Z.; VALDÉS V.M.R.; VIDAL G.H.; ARANDA G.D.; ROMERO R.R.; ALEJO L.C.G. et RAMÍREZ R.Á., 2005. Frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ganado bovino del noreste de México. *Vet. Méx.*, **36**:303–311.
- [502] MELO C.B.; LEITE R.C.; LEITE F.S.C. et LEITE R.C., 2002. Serological surveillance on South American wild canids for *Neospora caninum*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **54**:444–447.
- [503] MELO D.P.G.; SILVA A.C.; ORTEGA-MORA L.M.; BASTOS S.A. et BOAVENTURA C.M., 2006. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **15**:105–109.
- [504] MILLER M.A.; CONRAD P.; JAMES E.R.; PACKHAM P.; TOY-CHOUTKA S.; MURRAY M.J.; JESSUP D. et GRIGG M., 2008. Transplacental toxoplasmosis in a wild southern sea otter (*Enhydra lutris nereis*). *Vet. Parasitol.*, **153**:12–18
- [505] MILLER M.A.; GARDNER I.A.; KREUDER C.; PARADIES D.M.; WORCESTER K.R.; JESSUP D.A.; DODD E.; HARRIS M.D.; AMES J.A.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 2002 Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int. J. Parasitol.*, **32**:997-1006.
- [506] MILLER C.M.D.; QUINN H.; RYCE C.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2005. Reduction in transplacental transmission of *Neospora caninum* in outbred mice by vaccination. *Int. J. Parasitol.*, **35**:821–828.
- [507] MILLER C.M.D.; QUINN H.E.; WINDSOR P.A. et ELLIS J.T., 2002. Characterization of the first Australian isolate of *Neospora caninum* from cattle. *Aust. Vet. J.*, **80**:620–625.

- [508] MINEO T.W.P.; ALENIUS S.; NÄSLUND K.; MONTASSIER H.J. et BJÖRKMAN C., 2006. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in Brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **15**:188–192.
- [509] MINEO T.W.P.; CARRASCO A.O.T.; MARCIANO J.A.; WERTHER K.; PINTO A.A. et MACHADO R.Z., 2009. Pigeons (*Columba livia*) are a suitable experimental model for *Neospora caninum* infection in birds. *Vet. Parasitol.*, **159**:149-153
- [510] MINEO T.W.P.; SILVA D.A.O.; COSTA G.H.N.; VON ANCKEN A.C.B.; KASPER L.H.; SOUZA M.A.; CABRAL D.D.; COSTA A.J. et MINEO J.R., 2001. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in veterinary hospital from Brazil. *Vet. Parasitol.*, **98**:239–245.
- [511] MINEO T.W.P.; SILVA D.A.O.; NASLUND K.; BJÖRKMAN C.; UGGLA A. et MINEO J.R.. 2004. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **56**:414–417.
- [512] MOEN A.R.; WOUDA W.; MUL M.F.; GRAAT E.A.M. et VAN WERVEN T., 1998. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology*, **49**:1301–1309.
- [513] MOORE D.P., 2005. Neosporosis in South America. *Vet. Parasitol.*, **127**:87–97.
- [514] MOORE D.P.; CAMPERO C.M.; ODEÓN A.C.; CHAYER R. et BIANCO M.A., 2003. Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina. *J. Vet. Med. B*, **50**:304–308.
- [515] MOORE D.P.; CAMPERO C.M.; ODEÓN A.C.; POSSO M.A.; CANO D.; LEUNDA M.R.; BASSO W.; VENTURINI M.C. et SPÄTH E., 2002. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol.*, **107**:303–316.
- [516] MOORE D.P.; DRAGHI M.G.; CAMPERO C.M.; CETRÁ B.; ODEÓN A.C.; ALCARAZ E. et SPÄTH E.A.J., 2003. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in beef bulls in six counties of the Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.*, **114**:247–252.
- [517] MOORE D.P.; REGIDOR-CERRILLO J.; MORRELL E.; POSO M.A.; CANO D.B.; LEUNDA M.R.; LINSCHINKY L.; ODEÓN A.C.; ODRIÓZOLA E.; ORTEGA-MORA L.M. et CAMPERO C.M., 2008. The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Vet. Parasitol.*, **156**: 163-167
- [518] MORALES E.; TRIGO F.J.; IBARRA F.; PUENTE E. et SANTACRUZ M., 2001. Neosporosis in Mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J. Comp. Pathol.*, **125**:58–63.
- [519] MORALES E.; TRIGO F.J.; IBARRA F.; PUENTE E. et SANTACRUZ M., 2001. Seroprevalence study of bovine neosporosis in Mexico. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **13**:413–415.
- [520] MORÉ G.; PARDINI L.; BASSO W.; MARÍN R.; BACIGALUPE D.; AUAD G.; VENTURINI L. et VENTURINI M.C., 2008. Seroprevalence of *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. *Vet Parasitol.*, **155**:158-160.
- [521] MORGAN U.M.; DEPLAZES P.; FORBES D.A.; SPANO F.; HERTZBERG H.; SARGENT K.D.; ELLIOT A. et THOMPSON R.C., 1999. Sequence and PCR-RFLP analysis of the internal transcribed spacers of the rDNA repeat unit in isolates of *Cryptosporidium* from different hosts. *Parasitology*, **118**:49-58

- [522] MOSKWA B.; CABAJ W.; PASTUSIAK K. et BIEN J., 2003. The suitability of milk in detection of *Neospora caninum* infection in cows. *Acta Parasitol.*, **48**:138–141.
- [523] MOSKWA B.; GOZDZIK K.; BIEN J. et CABAJ W., 2008. Studies on *Neospora caninum* DNA detection in the oocytes and embryos collected from infected cows. *Vet. Parasitol.*, **158**:370-5
- [524] MOSKWA B.; PASTUSIAK K.; BIEN J. et CABAJ W., 2007. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitol. Res.*, **100**:633–636.
- [525] MUGRIDGE N.B.; MORRISON D.A.; HECKEROTH A.R.; JOHNSON A.M. et TENTER A.M., 1999. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, **29**(10):1545-1556
- [526] MÜLLER N.; SAGER H.; HEMPHILL A.; MEHLHORN H.; HEYDORN A.O. et GOTTSTEIN B., 2001. Comparative molecular investigation of Nc5-PCR amplicons from *Neospora caninum* NC-1 and *Hammondia heydorni*-Berlin-1996. *Parasitol. Res.*, **87**:883–885.
- [527] MÜLLER N.; VONLAUFEN N.; GIANINAZZI C.; LEIB S.L. et HEMPHILL A., 2002. Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue. *J. Clin. Microbiol.*, **40**:252–255.
- [528] MÜLLER N.; ZIMMERMANN V.; HENTRICH B. et GOTTSTEIN B., 1996. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *J. Clin. Microbiol.*, **34**:2850–2852.
- [529] MUNHOZ A.D.; FLAUSINO W.; SILVA R.T.; ALMEIDA C.R.R. et LOPES C.W.G., 2006. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **15**:101–104.
- [530] MUÑOZ-ZANZI C.A.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 2004. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology*, **61**:1085–1099.
- [531] MURPHY T.M.; WALOCHNIK J.; HASSL A.; MORIARTY J.; MOONEY J.; TOOLAN D.; SANCHEZ-MIGUEL C.; O'LOUGHLIN A. et McAULIFFE A., 2007. Study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* and molecular evidence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* infections in red foxes (*Vulpes vulpes*) in rural Ireland. *Vet. Parasitol.*, **146**:227–234
- [532] NAGULESWARAN A.; HEMPHILL A.; RAJAPAKSE R.P.V.J. et 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.
- [533] NAM H.W.; KANG S.W. et CHOI W.Y., 1998. Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. *Korean J. Parasitol.*, **36**:269–275.
- [534] NIETFELD J.C.; DUBEY J.P.; ANDERSON M.L.; LIBAL M.C.; YAEGER M.J. et NEIGER R.D., 1992. *Neospora*-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**(2):223-226
- [535] NISHIKAWA Y.; IKEDA H.; FUKUMOTO S.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IOTSUKA H. et MIKAMI T., 2000. Immunization of dogs with a canine herpesvirus vector expressing *Neospora caninum* surface protein, NcSRS2. *Int. J. Parasitol.*, **30**(11):1167-1171
- [536] NISHIKAWA V.; INOUE N.; MAKALA L. et NAGASAWA H., 2003. A role for balance of interferon-gamma and

- interleukin-4 production in protective immunity against *Neospora caninum* infection. *Vet. Parasitol.*, **116**(3):175-184
- [537] NISHIKAWA Y.; INOUE N.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Protective efficacy of vaccination by recombinant vaccinia virus against *Neospora caninum* infection. *Vaccine*, **19**:1381-1390
- [538] NISHIKAWA Y.; IWATA A.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Comparison of the growth inhibitory effects of canine IFN-alpha, -beta and -gamma on canine cells infected with *Neospora caninum* tachyzoites. *J. Vet. Med. Sci.*, **63**(4):445-448
- [539] NISHIKAWA Y.; KOUSSAKA Y.; FUKUMOTO S.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2000. Delivery of *Neospora caninum* surface protein; NcSRS2 (Nc-p43), to mouse using recombinant vaccinia virus. *Parasitol. Res.*, **86**(11):934-939
- [540] NISHIKAWA Y.; KOUSSAKA Y.; TRAGOOLPUA K.; XUAN X.; MAKALA L.; FUJISAKI K.; MIKAMI T. et NAGASAWA H., 2001. Characterization of *Neospora caninum* surface protein NcSRS2 based on baculovirus expression system and its application for serodiagnosis of *Neospora* infection. *J. Clin. Microbiol.*, **39**:3987-3991.
- [541] NISHIKAWA Y.; MIKAMI T. et NAGASAWA H., 2002. Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**(1):1-5
- [542] NISHIKAWA Y.; MISHIMA M.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Interferon-gamma-induced apoptosis in host cells infected with *Neospora caninum*. *Parasitology*, **123**: 25-31
- [543] NISHIKAWA Y.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/c mice by recombinant vaccinia virus carrying NcSRS2 gene. *Vaccine*, **19**(13-14):1710-1716
- [544] NOGAREDA C.; LÓPEZ-GATIUS F.; SANTOLARIA P.; GARCÍA-ISPIERTO I.; BECH-SÀBAT G.; PABÓN M.; MEZO M.; GONZALEZ-WARLETA M.; CASTRO-HERMIDA J.A.; YÁNIZ J. et ALMERIA S., 2007. Dynamics of anti-*Neospora caninum* antibodies during gestation in chronically infected dairy cows. *Vet. Parasitol.*, **148**:193-199
- [545] OBENDORF D.L.; MURRAY N.; VELDHUIS G.; MUNDAY B.L. et DUBEY J.P., 1995. Abortion caused by neosporosis in cattle. *Aust. Vet. J.*, **72**(3):117-118
- [546] ODIN M. et DUBEY J.P., 1993. Sudden death associated with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **203**(6):831-833.
- [547] OGAWA L.; FREIRE R.L.; VIDOTTO O.; GONDIM L.F.P. et NAVARRO I.T., 2005. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **57**:312-316.
- [548] OGINO H.; WATANABE E.; WATANABE S.; AGAWA H.; NARITA M.; HARITANI M. et KAWASHIMA K., 1992. Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J. Comp. Pathol.*, **107**(2):231-237
- [549] O'HANDLEY R.M.; MORGAN S.A.; PARKER C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 2003. Vaccination of ewes for prevention of vertical transmission of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, **64**(4):449-452
- [550] OKEOMA C.M.; WILLIAMSON N.B.; POMROY W.E.; STOWELL K.M. et GILLESPIE L.M., 2004. Isolation and molecular characterization of *Neospora caninum* in cattle in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, **52**:364-370.

- [551] OMATA Y.; UMESHITA Y.; WATARAI M.; TACHIBANA M.; SASAKI M.; MURATA K. et YAMADA T.K., 2006. Investigation for presence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella* species infection in killer whales (*Orcinus orca*) mass-stranded on the coast of Shiretoko, Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **68**:523–526.
- [552] ONCEL T. et BIYIKOGLU G., 2003. Neosporosis in dairy cattle in Sakarya, Turkey. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, **22**:87–89.
- [553] OOI H.K.; HUANG C.C.; YANG C.H. et LEE S.H., 2000. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle. *Vet. Parasitol.*, **90**:47–55.
- [554] ORTEGA Y.R.; TORRES M.P. et MENA K.D., 2007. Presence of *Neospora caninum* specific antibodies in three dairy farms in Georgia and two in Texas. *Vet. Parasitol.*, **144**:353–355.
- [555] ORTEGA-MORA L.M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA A. et GÓMEZ-BAUTISTA M., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta Parasitol.*, **51**:1–14.
- [556] ORTEGA-MORA L.M.; FERRE I.; DEL POZO I.; CAETANO DA SILVA A.; COLLANTES- FERNÁNDEZ E.; REGIDOR-CERRILLO J.; UGARTE-GARAGALZA C. et ADURIZ G., 2003. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Vet. Parasitol.*, **117**:301–308.
- [557] ORTUÑO A.; CASTELLA J. et ALMERIA S., 2002. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Spain. *J. Parasitol.*, **88**:1263–1266.
- [558] OSAWA T.; WASTLING J.; ACOSTA L.; ORTELLADO C.; IBARRA J. et INNES E.A., 2002. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. *Vet. Parasitol.*, **110**:17–23.
- [559] OSAWA T.; WASTLING J.; MALEY S.; BUXTON D. et INNES E.A., 1998. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera; bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet. Parasitol.*, **79**:19–34.
- [560] OSORO K.; ORTEGA-MORA L.M.; MARTÍNEZ A.; SERRANO-MARTÍNEZ E.; FERRE I., 2009. Natural breeding with bulls experimentally infected with *Neospora caninum* failed to induce seroconversion in dams. *Theriogenology*, **71** (4) 639–642
- [561] OTRANTO D.; LLAZARI A.; TESTINI G.; TRAVERSA D.; DI REGALBONO A.F.; BADAN M. et CAPELLI G., 2003. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Vet. Parasitol.*, **118**:7–18.
- [562] OTTER A.; JEFFREY M.; GRIFFITHS I.B. et DUBEY J.P., 1995. A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales. *Vet. Rec.*, **136**:602-606.
- [563] OTTER A.; WILSON B.W.; SCHOLLES S.F.E.; JEFFREY M.; HELMICK B. et TREES A.J., 1997. Results of a survey to determine whether *Neospora caninum* is a significant cause of ovine abortion in England and Wales. *Vet. Rec.*, **140**:175–177.
- [564] OULD-AMROUCHE A.; KLEIN F.; OSDOIT C.; MOHAMED H.O.; TOURATIER A.; SANAA M. et MIALOT J.P., 1999. Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.*, **30**:531–538.
- [565] OWEN M.R.; CLARKSON M.J. et TREES A.J., 1998. Diagnosis of toxoplasma abortion in ewes by polymerase chain reaction. *Vet. Rec.*, **142**:445–448
- [566] PABÓN M.; LÓPEZ-GATIUS F.; GARCÍA-ISPIERTO I.; BECH-SÀBAT G.; NOGAREDA C. et ALMERÍA S., 2007. Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in dairy cows: A 3-year study. *Vet. Parasitol.*, **147**:40–46
- [567] PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W.; CONRAD P.A.; LOOMIS E.F.; ROWE J.D.; ANDERSON M.L.; MARSH A.E.; CRAY C. et BARR B.C., 1998. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development; optimization; and

- comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **5**:467–473.
- [568] PALAVICINI P.; ROMERO J.J.; DOLZ G.; JIMÉNEZ A.E.; HILL D.E. et J.P. DUBEY, 2007. Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. *Vet. Parasitol.*, **149**:265–270
- [569] PAN Y.; JANSEN G.B.; DUFFIELD T.F.; HIETALA S.; KELTON D.; LIN C.Y. et PEREGRINE A.S., 2004. Genetic susceptibility to *Neospora caninum* infection in Holstein cattle in Ontario. *J. Dairy Sci.*, **87**:3967–3975.
- [570] PANGUI L.J.; LAHAMDI A. et SAMB F., 1993. Utilisation de l'IFI et de l'ELISA dans une enquête sérologique de la toxoplasmose chez le mouton « de case » à Dakar – Sénégal. *Rec. Méd. Vét.*, **169**:45-46.
- [571] PARADIES P.; CAPELLI G.; TESTINI G.; CANTACESSI C.; TREES A.J. et OTRANTO D., 2007. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. *Vet. Parasitol.*, **145**:240-244.
- [572] PARÉ J.; FECTEAU G.; FORTIN M. et MARSOLAIS G., 1998. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **213**:1595–1598.
- [573] PARÉ J.; HIETALA S.K. et THURMOND M.C., 1995. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **7**:352–359.
- [574] PARÉ J.; HIETALA S.K. et THURMOND M.C., 1995. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **7**(2):273-275
- [575] PARÉ J.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.*, **83**:82–87.
- [576] PARÉ J.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can. J. Vet. Res.*, **60**:133–139.
- [577] PARÉ J.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1994. Congenital *Neospora* infection in dairy cattle. *Vet. Rec.*, **134**:531–532.
- [578] PARISH S.M.; MAAG-MILLER L.; BESSER T.E.; WEIDNER J.P.; McELWAIN T.; KNOWLES D.P. et LEATHERS C.W., 1987. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **191**(12):1599-1600.
- [579] PATITUCCI A.N.; PERÉZ M.J.; CARCAMO C.M. et BAEZA L., 2004. Presencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. *Arch. Med. Vet.*, **36**:203–206.
- [580] PATITUCCI A.N.; PERÉZ M.J.; ISRAEL K.F. et ROZAS M.A., 2000. Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX región de Chile. *Arch. Med. Vet.*, **32**:209–214.
- [581] PATITUCCI A.N.; PHIL M.; PEREZ M.J.; ROZAS M.A. et ISRAEL K.F., 2001. Neosporosis canina: presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Arch. Med. Vet.*, **33**:227–232.
- [582] PAYNE S. et ELLIS J., 1996. Detection of *Neospora caninum* DNA by the polymerase chain reaction. *Int. J. Parasitol.*, **26**:347–351.
- [583] PENA J.H.J.; SOARES R.M.; RAGOZO A.M.A.; MONTEIRO R.M.; YAI L.E.O.; NISHI S.M. et GENNARI S.M., 2007. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Vet. Parasitol.*, **147**:61-66.

- [584] PEREIRA-BUENO J.; QUINTANILLA-GOZALO A.; PÉREZ-PÉREZ V.; ESPI-FELGUEROSO A.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E. et ORTEGA-MORA L.M., 2003. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Vet. Parasitol.*, **111**:143–152.
- [585] PEREIRA-BUENO J.; QUINTANILLA-GOZALO A.; SEIJAS-CARBALLEDO A.; COSTAS E. et ORTEGA-MORA L.M., 2000. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody fluctuations. *Int. J. Parasitol.*, **30**:906–909.
- [586] PERI S.; HARRUS S.; SATUCHNE C.; YAKOBSON B. et HAINES D., 1998. Cutaneous neosporosis in a dog in Israel. *Vet. Parasitol.*, **79**(3):257-261
- [587] PESCADOR C.A.; CORBELLINI L.G.; OLIVEIRA E.C.; RAYMUNDO D.L. et DRIEMEIER D., 2007. Histopathological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses. *Vet. Parasitol.*, **150**:159–163
- [588] PETERS M.; LÜTKEFELS E.; HECKEROTH A.R. et SCHARES G., 2001. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int. J. Parasitol.*, **31**:1144–1148.
- [589] PETERS M.; WAGNER F. et SCHARES G., 2000. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitol. Res.*, **86**:1–7.
- [590] PETERS M.; WOHLSEIN P.; KNIERIEM A. et SCHARES G., 2001. *Neospora caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). *Vet. Parasitol.*, **97**:153–157.
- [591] PETERSEN E.; LEBECH M.; JENSEN L.; LIND P.; RASK M.; BAGGER P.; BJÖRKMAN C. et UGGLA A., 1999. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. *Emerg. Infect. Dis.*, **5**:278–280.
- [592] PFEIFFER D.U.; WILLIAMSON N.B. et REICHEL M.P., 2000. Long-term serological monitoring as a tool for epidemiological investigation of *Neospora caninum* infection in a New Zealand dairy herd; p. 616–618. Proceedings of the 9th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Breckenridge, CO.
- [593] PFEIFFER D.U.; WILLIAMSON N.B.; M.P. REICHEL; WICHTEL J.J. et TEAGUE W.R. 2002. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand. *Prev. Vet. Med.*, **54**:11–24.
- [594] PIERGILI; FIORETTI O.; PASQUALI P.; DIAFERIA M.; MANGILI V. et ROSIGNOLI L., 2003. *Neospora caninum* Infection and Congenital Transmission: Serological and parasitological Study of Cows up to the Fourth Gestation. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, **50**(8):399-404
- [595] PINITKIATISAKUL S.; MATTSSON J.G.; WIKMAN M.; FRIEDMAN M.; BENGTTSSON K.L.; STAHL S. et LUNDEN A., 2005. Immunisation of mice against neosporosis with recombinant NcSRS2 iscoms. *Vet. Parasitol.*, **129**:25–34.
- [596] PITEL P.H.; LINDSAY D.S.; CAURE S.; ROMAND S.; PRONOST S.; GARGALA G.; MITCHELL S.M.; HARY C.; THULLIEZ P.; FORTIER G. et BALLEST J.J., 2003. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora* by serum antibodies in healthy French horses from two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. *Vet. Parasitol.*, **111**:1–7.
- [597] PITEL P.H.; PRONOST S.; CHATAGNON G.; TAINTURIER D.; FORTIER G. et BALLEST J.J., 2001. Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet. Parasitol.*, **102**:269–277.

- [598] PITEL P.H.; PRONOST S.; LEGENDRE M.F.; CHATAGNON G.; TAINTURIER D. et FORTIER G., 2000. Infection des bovins par *Neospora caninum*: deux années d'observations dans l'Ouest de la France. *Point Vet.*, **31**:53-58.
- [599] PITEL P.H.; PRONOST S.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; FORTIER G. et BALLEET J.J., 2001. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. *Equine Vet. J.*, **33**:205-207.
- [600] PITEL P.H.; ROMAND S.; PRONOST S.; FOUCHER N.; GARGALA G.; MAILLARD K.; THULLIEZ P.; COLLOBERT-LAUGIER C.; TAINTURIER D.; FORTIER G. et BALLEET J.J., 2003. Investigation of *Neospora* sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. *Vet. Parasitol.*, **118**:1-6.
- [601] PLUYE A., 1999. Un cas de néosporose chez un chiot. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **34**:597-602.
- [602] QUINN H.E.; MILLER C.M.D. et ELLIS J.T., 2004. The cell-mediated immune response to *Neospora caninum* during pregnancy in the mouse is associated with a bias towards production of interleukin-4. *Int. J. Parasitol.*, **34**:723-732.
- [603] QUINN H.E.; MILLER C.M.; RYCE C.; WINDSOR P.A. et ELLIS J.T., 2002. Characterization of an outbred pregnant mouse model of *Neospora caninum* infection. *J. Parasitol.*, **88**(4):691-696
- [604] QUINTANILLA-GOZALO A.; PEREIRA-BUENO J.; SEIJAS-CARBALLEDO A.; COSTAS E. et ORTEGA-MORA L.M., 2000. Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *Int. J. Parasitol.*, **30**:900-906.
- [605] QUINTANILLA-GOZALO A.; PEREIRA-BUENO J.; TABARÉS E.; INNES E.A.; GONZÁLEZ-PANIELLO R. et ORTEGA-MORA L.M., 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1201-1208.
- [606] RAGOZO A.M.A.; PAULA V.S.O.; SOUZA S.L.P.; BERGAMASCHI D.P. et GENNARI S.M., 2003. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados Brasileiros. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **12**:33-37.
- [607] RAMAMOORTHY S.; DUNCAN R.; LINDSAY D.S. et SRIRANGANATHAN N., 2007. Optimization of the use of C57BL/6 mice as a laboratory animal model for *Neospora caninum* vaccine studies. *Vet. Parasitol.*, **145**:253-259
- [608] RASMUSSEN K. et JENSEN A.L., 1996. Some epidemiologic features of canine neosporosis in Denmark. *Vet. Parasitol.*, **62**:345-349.
- [609] RAZMI G.R.; MALEKI M.; FARZANEH N.; TALEBKHAN G.M. et FALLAH A.H., 2007. First report of *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Mashhad area. *Iran. Parasitol. Res.*, **100**:755-757.
- [610] RAZMI G.R.; MOHAMMADI G.R.; GARROSI T.; FARZANEH N.; FALLAH A.H. et MALEKI M., 2006. Seroepidemiology of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. *Vet. Parasitol.*, **135**:187-189.
- [611] REICHEL M.P., 2000. *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Aust. Vet. J.*, **78**:258-261.
- [612] REICHEL M.P., 1998. Prevalence of *Neospora* antibodies in New Zealand dairy cattle and dogs. *N. Z. Vet. J.*, **46**:38.
- [613] REICHEL M.P. et DRAKE J.M., 1996. The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *N. Z. Vet. J.*, **44**:151-154.
- [614] REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2008. Re-evaluating the economics of neosporosis control. *Vet. Parasitol.*, **156**:361-362.
- [615] REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2006. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet. Parasitol.*, **142**:23-34.

- [616] REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2002. Control options for *Neospora caninum* infections in cattle-current state of knowledge. *N. Z. Vet. J.*, **50**:86–92.
- [617] REICHEL M.P. et PFEIFFER D.U., 2002. An analysis of the performance characteristics of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. *Vet. Parasitol.*, **107**:197–207.
- [618] REICHEL M.P.; ROSS G.P. et McALLISTER M.M., 2008. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. *Vet. Parasitol.*, **151**:323–326
- [619] REITEROVÁ K.; ŠPILOVSKÁ S.; ANTOLOVÁ D. et DUBINSKÝ P., 2009. *Neospora caninum*, potential cause of abortions in dairy cows: The current serological follow-up in Slovakia. *Vet. Parasitol.*, **159**:1-6
- [620] REITT K.; HILBE M.; VOEGTLIN A.; CORBOZ L.; HAESSIG M. et POSPISCHIL A., 2007. Aetiology of bovine abortion in Switzerland from 1986 to 1995-a retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. *J. Vet. Med. A*, **54**:15–22.
- [621] RINALDI L.; FUSCO G.; MUSELLA V.; VENEZIANO V.; GUARINO A.; TADDEI R. et CRINGOLI G., 2005. *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. *Vet. Parasitol.*, **128**:219–230.
- [622] RINALDI L.; PACELLI F.; IOVANE G.; PAGNINI U.; VENEZIANO V.; FUSCO G. et CINGOLI G., 2007. Survey of *Neospora caninum* and bovine herpes virus 1 coinfection in cattle. *Parasitol. Res.*, **100**:359–364.
- [623] RITTER D.M.; KERLIN R.; SIBERT G. et BRAKE D., 2002. Immune factors influencing the course of infection with *Neospora caninum* in the murine host. *J. Parasitol.*, **88**:271-280.
- [624] ROBERTS C.W.; BREWER J.M. et ALEXANDER J., 1994. Congenital toxoplasmosis in the Balb/c mouse: prevention of vertical disease transmission and fetal death by vaccination. *Vaccine*, **12**(15):1389-1394
- [625] RODRIGUEZ I.; CHOROMANSKI L.; RODGERS S. et WEINSTOCK D., 2003. Survey of *Neospora caninum* antibodies in dairy and beef cattle from five regions of the United States. *Vet. Ther.*, **3**:396–401.
- [626] RODRIGUES A.A.R.; GENNARI S.M.; AGUIAR D.M.; SREEKUMAR C.; HILL D.E.; MISKA K.B.; VIANNA M.C.B. et DUBEY J.P., 2004. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Vet. Parasitol.*, **124**:139–150.
- [627] ROJO-MONTEJO S.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; REGIDOR-CERRILLO J.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; MARUGAN-HERNÁNDEZ V.; PEDRAZA-DÍAZ S.; BLANCO-MURCIA J.; PRENAFETA A. et ORTEGA-MORA L.M.; 2009. Isolation and characterization of a bovine isolate of *Neospora caninum* with low virulence. *Vet. Parasitol.*, **159**:7-16
- [628] ROMAND S.; THULLIEZ P. et DUBEY J.P., 1998. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.*, **84**:50–53.
- [629] ROMANELLI P.R.; FREIRE R.L.; VIDOTTO O.; MARANA E.R.M.; OGAWA L.; DE PAULA V.S.O.; GARCIA J.L. et NAVARRO I.T., 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms; Paraná State, Brazil. *Res. Vet. Sci.*, **82**:202–207.
- [630] ROMANO A.; TRISCIUOGLIO A.; GRANDE D. et FERROGLIO E., 2009. Comparison of two PCR protocols for the detection of *Neospora caninum* DNA in rodents. *Vet. Parasitol.*, **159**:159-161
- [631] ROMERO J.J. et FRANKENA K., 2003. The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rican dairy farms. *Vet. Parasitol.*, **114**:159–171.

- [632] ROMERO J.J.; PÉREZ E.; DOLZ G. et FRANKENA K., 2002. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialized Costa Rican dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, **53**:263–273.
- [633] ROMERO J.J.; PÉREZ E. et FRANKENA K., 2004. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Vet. Parasitol.*, **123**:149–159.
- [634] ROMERO J.J.; VAN BREDA S.; VARGAS B.; DOLZ G. et FRANKENA K., 2005. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology*, **64**:1928–1939.
- [635] SADREBAZZAZ A.; HADDADZADEH H.; ESMAILNIA K.; HABIBI G.; VOJGANI M. et HASHEMIFESHARAKI R., 2004. Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Vet. Parasitol.*, **124**:201–204.
- [636] SADREBAZZAZ A.; HADDADZADEH H. et SHAYAN P., 2006. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in camels (*Camelus dromedarius*) in Mashhad, Iran. *Parasitol. Res.*, **98**:600–601.
- [637] SAGER H.; FISCHER I.; FURRER K.; STRASSER M.; WALDVOGEL A.; BOERLIN P.; AUDIGÉ L. et GOTTSTEIN B., 2001. A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet. Parasitol.*, **102**:1–15.
- [638] SAGER H.; GLOOR M.; BJÖRKMAN C.; KRITZNER S. et 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.
- [639] SAGER H.; STEINER-MORET C.; MÜLLER N.; STAUBLI D.; ESPOSITO M.; SCHARES G.; HÄSSIG M.; STÄRK K. et GOTTSTEIN B., 2006. Incidence of *Neospora caninum* and other intestinal protozoan parasites in populations of Swiss dogs. *Vet. Parasitol.*, **139**:84–92.
- [640] SANCHEZ G.F.; MORALES E.; MARTINEZ M.J. et TRIGO J.F., 2003. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Can. J. Vet. Res.*, **67**:142–145.
- [641] SANDERSON M.W.; GAY J.M. et BASZLER T.V., 2000. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet. Parasitol.*, **90**:15–24.
- [642] SANTOLARIA P.; LOPEZ-GATIUS F.; YANIZ J.; GARCIA-ISPIERTO I.; NOGAREDA C.; BECH-SABAT G.; SERRANO B. et ALMERIA S., 2009. Early postabortion recovery of *Neospora* - infected lactating dairy cows. *Theriogenology*, doi:10.1016/j.theriogenology.2009.05.014
- [643] SARTOR I.F.; GARCIA FILHO A.; VIANNA L.C.; PITUCO E.M.; DAL PAI V. et SARTOR R., 2005. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, sp. *Arq. Inst. Biol.*, (São Paulo) **72**:413–418.
- [644] SARTOR I.F.; HASEGAWA M.Y.; CANAVESSI A.M.O. et PINCKNEY R.D., 2003. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. *Semina*, **24**:3–10.
- [645] SASAI K.; LILLEHOJ H.S.; HEMPHILL A.; MATSUDA H.; HANIOK J.V.; FUKATA T.; BABA E. et ARAKAWA A., 1998. A chicken anti-conoid monoclonal antibody identifies a common epitope which is present on motile stages of *Eimeria*, *Neospora* and *Toxoplasma*. *J. Parasitol.*, **84**(3):654-656
- [646] SAWADA M.; KONDO H.; TOMIOKA Y.; PARK C.H.; MORITA T.; SHIMADA A. et UMEMURA T., 2000. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet. Parasitol.*, **90**:247–252.

- [647] SAWADA M.; PARK C.H.; KONDO H.; MORITA T.; SHIMADA A.; YAMANE I. et UMEMURA T., 1998. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, **60**:853–854.
- [648] SAWADA M.; PARK C.H.; MORITA T.; SHIMADA A.; UMEMURA T. et HARITANI M., 1997. Pathological findings of nude mice inoculated with bovine *Neospora*. *J. Vet. Med. Sci.*, **59**(10):947-948
- [649] SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; SÖNDGEN P.; RAUSER M.; SCHRÖDER R.; PETERS M.; WURM R.; SELHORST T. et CONRATHS F.J., 2002. p38-avidity- ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet. Parasitol.*, **106**:293–305.
- [650] SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; WURM R.; RAUSER M.; CONRATHS F.J. et SCHROEDER C., 2004. Adaptation of a commercial ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk. *Vet. Parasitol.*, **120**:55–63.
- [651] SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; ZILLER M.; KLÖSS D.; SCHRODER R.; LABOHM R.; DRÄGER K.; FASEN W.; HESS R.G. et CONRATHS F.J., 2004. Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitology*, **129**:301–309.
- [652] SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; ZILLER M.; KLÖSS D.; WURM R.; RAUSER M.; LABOHM R.; DRÄGER K.; FASEN W.; HESS R.G. et CONRATHS F.J., 2003. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modeled by logistic regression. *Int. J. Parasitol.*, **33**:1631–1640.
- [653] SCHARES G.; CONRATHS F.J. et REICHEL M.P., 1999. Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1659–1667.
- [654] SCHARES G.; DUBREMETZ J.F.; DUBEY J.P.; BARWALD A.; LOYENS A. et CONRATHS F.J., 1999. *Neospora caninum*: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies. *Exp. Parasitol.*, **92**(2):109-119
- [655] SCHARES G.; HEYDORN A.O.; CÜPPERS A.; CONRATHS F.J. et MEHLHORN H., 2001. Cyclic transmission of *Neospora caninum*: serological findings in dogs shedding oocysts. *Parasitol. Res.*, **87**:873–877.
- [656] SCHARES G.; HEYDORN A.O.; CÜPPERS A.; CONRATHS F.J. et MEHLHORN H., 2001. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol. Res.*, **87**: 808–816.
- [657] SCHARES G.; HEYDORN A.O.; CÜPPERS A.; MEHLHORN H.; GEUE L.; PETERS M. et CONRATHS F.J., 2002. In contrast to dogs, Renard roux (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. *Parasitol., Res.* **88**:44–52.
- [658] SCHARES G.; PANTCHEV N.; BARUTZKI D.; HEYDORN A.O.; BAUER C. et CONRATHS F.J., 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.
- [659] SCHARES G.; PETERS M.; WURM R.; BÄRWALD A. et CONRATHS F.J., 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. *Vet. Parasitol.*, **80**:87–98.
- [660] SCHARES G.; RAUSER M.; SÖNDGEN P.; REHBERG P.; BÄRWALD A.; DUBEY J.P.; EDELHOFER R. et CONRATHS F.J., 2000. Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, **30**:1123–1130.

- [661] SCHARES G.; RAUSER M.; ZIMMER K.; PETERS M.; WURM R.; DUBEY J.P.; DE GRAAF D.C.; EDELHOFER R.; MERTENS C.; HESS G. et CONRATHS F.J., 1999. Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. *J. Parasitol.*, **85**:688–694.
- [662] SCHARES G.; WENZEL U.; MÜLLER T. et CONRATHS F.J., 2001. Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Parasitol.*, **31**:418–423.
- [663] SCOTT H.M.; SORENSEN O.; WU J.T.; CHOW E.Y.; MANNINEN K. et VANLEEUEWEN J.A., 2006. Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, *Neospora caninum*, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhea virus infection among dairy cattle and herds in Alberta and agroecological risk factors associated with seropositivity. *Can. Vet. J.*, **47**:981–991.
- [664] SEDLÁK K. et BÁRTOVÁ E., 2006. Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Vet. Parasitol.*, **136**: 223–231.
- [665] SÉNÉGAL RÉPUBLIQUE, 2002. Rapport technique sur l'opération "lutte contre la rage citadine". Direction de l'action sanitaire et sociale de la ville de Dakar. 15p.
- [666] SERRANO-MARTÍNEZ E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ A., RODRÍGUEZ-BERTOS A.; CASAS-ASTOS E.; RISCO-CASTILLO V.; ROSADIO-ALCANTARA R. et ORTEGA-MORA L.M., 2007. Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted fetuses from Peru. *Vet. Parasitol.*, **150**:39–45
- [667] SERRANO-MARTÍNEZ E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; RODRÍGUEZ-BERTOS A.; CASAS-ASTOS E.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ A. et ORTEGA-MORA L.M., 2004. *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*vicugna pacos*) and llamas (*llama glama*). *Vet. Rec.*, **155**:748–749.
- [668] SERRANO-MARTÍNEZ E.; FERRE I.; OSORO K.; ADURIZ G.; MATEOS-SANZ A.; MARTÍNEZ A.; ATXAERANDIO R.; HIDALGO C.O. et ORTEGA-MORA L.M., 2006. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Vet. Parasitol.*, **135**:197–203.
- [669] SERRANO-MARTÍNEZ E.; FERRE I.; OSORO K.; ADURIZ G.; MOTA R.A.; MARTÍNEZ A.; DEL-POZO I.; HIDALGO C.O. et ORTEGA-MORA L.M., 2007. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. *Theriogenology*, **67**:729–737.
- [670] SEVGILI M.; ALTAS M.G. et KESKIN O., 2005. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the province of Sanliurfa. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **29**:127–130.
- [671] SHIVAPRASAD H.L.; ELY R. et DUBEY J.P., 1989. A *Neospora*-like protozoon found in an aborted bovine placenta. *Vet. Parasitol.*, **34**:145–148.
- [672] SILVA D.A.O.; LOBATO J.; MINEO T.W.P. et MINEO J.R. 2007. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.*, **143**:234–244.
- [673] SILVA J.C.R.; OGASSAWARA S.; MARVULO M.F.V.; FERREIRA NETO J.S. et DUBEY J.P., 2001. *Toxoplasma gondii* antibodies in exotic wild felids from Brazilian zoos. *J. Zoo Wildl. Med.* **32**: 349–351.
- [674] SILVA D.A.O.; VITALIANO S.N.; MINEO T.W.P.; FERREIRA R.A.; BEVILACQUA E. et MINEO J.R., 2005. Evaluation of homologous, heterologous, and affinity conjugates from the serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*). *J. Parasitol.*, **91**: 1212–1216.

- [675] SIMPSON V.R.; MONIES R.J.; RILEY P. et CROMEY D.S., 1997. Foxes and neosporosis. *Vet. Rec.*, **141**:503.
- [676] ŠLAPETA J.R.; KOUDELA B.; VOTYPKA J.; MODRY O.; HOREJS R. Et LUKES J., 2002. Coprodiagnosis of *Hammondia heydorni* in dogs by PCR based amplification of ITS 1 rRNA: differentiation from morphologically indistinguishable oocysts of *Neospora caninum*. *Vet. J.*, **163**(2):147-154
- [677] ŠLAPETA J.R.; MODRÝ D.; KYSELOVÁ I.; HOŘEJŠ R.; LUKEŠ J. et KOUDELA B., 2002. Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. *Vet. Parasitol.*, **109**:157-167.
- [678] SLOTVED H.C.; JENSEN L. et LIND P., 1999. Comparison of the IFAT and iscom-ELISA response in bovine fetuses with *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.* **29**:1165-1174.
- [679] SOARES H.S.; AHID S.M.M.; BEZERRA A.C.D.S.; PENA H.F.J.; DIAS R.A. et GENNARI S.M., 2009. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **160**:211-214
- [680] SOBRINO R.; DUBEY J.P.; PABÓN M.; LINAREZ N.; KWOK O.C.; MILLÁN J.; ARNAL M.C.; LUCO D.F.; LÓPEZ-GATIUS F.; THULLIEZ P.; GORTÁZAR C.; ALMERÍA S., 2008. *Neospora caninum* antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol.*, **155**:190-197.
- [681] SOLDATI S.; KIUPEL M.; WISE A.; MAES R.; BOTTERON C. et ROBERT N., 2004. Meningoencephalomyelitis caused by *Neospora caninum* in a juvenile fallow deer (*Dama dama*). *J. Vet. Med. A*, **51**:280-283.
- [682] SONDA S.; FUCHS N.; CONNOLLY B.; FERNANDEZ P.; GOTTSTEIN B. et HEMPHILL A., 1998. The major 36 kDa *Neospora caninum* tachyzoite surface protein is closely related to the major *Toxoplasma gondii* surface antigen. *Mol. Bioch. Parasitol.*, **97**(1-2):97-108
- [683] SÖNDGEN P.; PETERS M.; BÄRWALD A.; WURM R.; HOLLING F.; CONRATHS F.J. et SCHARES G., 2001. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Vet. Parasitol.*, **102**:279-290.
- [684] SOTIRAKI S.; BROZOS C.; SAMARTZI F.; SCHARES G.; KIOSSIS E. et CONRATHS F.J., 2008. *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds detected by two antibody assays in individual milk samples. *Vet. Parasitol.*, **152**:79-84.
- [685] SOULSBY E.J.L., 1982. Helminths; Arthropods and Protozoa of domesticated Animals. Baillière Tindall. London. 809p.
- [686] SPEER C.A.; DUBEY J.P.; MCALLISTER M.M. et BLIXT J.A., 1999. Comparative ultrastructure of tachyzoites; bradyzoites; and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, **29**(10):1509-1519
- [687] SPENCER J.A.; HIGGINBOTHAM M.J. et BLAGBURN B.L., 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in captive and free-ranching nondomestic felids in the United States. *J. Zoo Wildl. Med.*, **34**(3):246-249
- [688] SPENCER J.A., WITHEROW A.K. et BLAGBURN B.L., 2000. A random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique that differentiates between *Neospora* species. *J. Parasitol.*, **86**(6):1366-1368
- [689] STASKA L.M.; MCGUIRE T.C.; DAVIES C.J.; LEWIN H.A. et BASZLER T.V., 2003. *Neospora caninum*-Infected Cattle Develop Parasite-Specific CD4(+) Cytotoxic T Lymphocytes. *Infect. Immun.*, **71**(6):3272-3279
- [690] STAUBLI D.; SANDRA NUNEZ S.; SAGER H.; SCHARES G.; GOTTSTEIN B., 2006. *Neospora caninum* immunoblotting improves serodiagnosis of bovine neosporosis. *Parasitol. Res.*, **99**:648-658.

- [691] STEINMAN A.; SHPIGEL N.Y.; MAZAR S.; KING R.; BANETH G.; SAVITSKY I. et SHKAP V., 2006. Low seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild canids in Israel. *Vet. Parasitol.*, **137**:155–158.
- [692] STENLUND S.; BJÖRKMAN C.; HOLMDAHL O.J.M.; KINDAHL H. et UGGLA A., 1997. Characterisation of a Swedish bovine isolate of *Neospora caninum*. *Parasitol. Res.*, **83**:214–219.
- [693] STENLUND S.; KINDAHL H.; MAGNUSSON U.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 1999. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **85**:227–234.
- [694] STENLUND S.; KINDAHL H.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 2003. A long-term study of *Neospora caninum* infection in a Swedish dairy herd. *Acta Vet. Scand.*, **44**:63–71.
- [695] STOESSEL Z.; TAYLOR L.F.; MCGOWAN M.R.; COLEMAN G.T. et LANDMANN J.K., 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* within central Queensland beef cattle. *Aust. Vet. J.*, **81**:165–166.
- [696] SUNDERMANN C.A. et ESTRIDGE B.H., 1999. Growth of and competition between *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in vitro. *Int. J. Parasitol.*, **29**(10):1725-1732
- [697] SUTEERAPARP P.; PHOLPARK S.; PHOLPARK M.; CHAROENCHAI A.; CHOMPOOCHAN T.; YAMANE I. et KASHIWAZAKI Y., 1999. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Vet. Parasitol.*, **86**:49–57.
- [698] SUTEU O.; LOSSON B.; OLTEAN M. et COZMA V., 2005. First serological survey for canine neosporosis in Romania. *Bul. Univ. Stiint. Agric. Med.*, **62**:591–592.
- [699] TAINTURIER D.; CHATAGNON G.; FIENI F.; BRUYAS J.F. et BATTUT I., 1995. Candida infection and reproductive efficiency in cow. *Rev. Méd. Vét.*, **146**:35-40.
- [700] TANAKA T.; HAMADA T.; INOUE N.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; SUZUKI N. et MIKAMI L., 2000. The raie of CD4(+) or CD8(+) T cells in the pratective immune response of BALB/c mice to *Neospora caninum* infection. *Vet Parasitol.*, **90** (3):183-191
- [701] TEIXEIRA W.C.; SILVA M.I.S.; PEREIRA J.G.; PINHEIRO A.M.; ALMEIDA M.A.O. et GONDIM L.F.P., 2006. Frequencia de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luís; Maranhão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **58**:685–687.
- [702] TENNENT-BROWN B.S.; POMROY W.E.; REICHEL M.P.; GRAY P.L.; MARSHALL T.S.; MOFFAT P.A.; ROGERS M.; DRISCOLL V.A.; REEVE O.F.; RIDLER A.L. et RITAVANEN S., 2000. Prevalence of *Neospora caninum* abtibodies in beef cattle in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, **48**:149–150.
- [703] THATE F.M. et LAANEN S.C., 1998. Successful treatment of neosporosis in an adult dog. *Vet. Q*, **20**:S113-S114
- [704] THILSTED J.P. et DUBEY J.P., 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **1**(3):205-209
- [705] THOMPSON G.; CANADA N.; DO CARMO TOPA M.; SILVA E.; VAZ F. et ROCHA A., 2001. First confirmed case of *Neospora caninum*-associated abortion outbreak in Portugal. *Reprod. Domest. Anim.*, **36**:309–312.
- [706] THORNTON R.N.; GAJADHAR A. et EVANS J., 1994. *Neospora* abortion epidemic in a dairy herd. *N. Z. Vet. J.*, **42**:190–191.
- [707] THURMOND M.C.; ANDERSON M.L. et BLANCHARD P.C., 1995. Secular and seasonal trends of *Neospora* abortion in California dairy cows. *J. Parasitol.*, **81**:364–367.

- [708] THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **210**:672–674.
- [709] THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.*, **58**:1381–1385.
- [710] THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, **57**:1559–1562.
- [711] THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1995. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. *Bovine Pract.*, **29**:60–63.
- [712] THURMOND M.C.; HIETALA S.K. et BLANCHARD P.C., 1997. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **9**:44–49.
- [713] TIEMANN J.C.H.; RODRIGUES A.A.R.; DE SOUZA S.L.P.; DUART J.M.B. et GENNARI S.M., 2005. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in Brazilian cervids kept in captivity. *Vet. Parasitol.*, **129**:341–343.
- [714] TIEMANN J.C.H.; SOUZA S.L.P.; RODRIGUES A.A.R.; DUARTE J.M.B. et GENNARI S.M., 2005. Environmental effect on the occurrence of anti- *Neospora caninum* antibodies in pampas-deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Vet. Parasitol.*, **134**:73–76.
- [715] TIWARI A.; VANLEEUEWEN J.A.; DOHOO I.R.; STRYHN H.; KEEFE G.P. et HADDAD J.P., 2005. Effects of seropositivity for bovine leukemia virus; bovine viral diarrhea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. *Vet. Microbiol.*, **109**:147–158.
- [716] TOOLAN D.P., 2003. *Neospora caninum* abortion in cattle - a clinical perspective. *Irish Vet. J.*, **56**:404–410.
- [717] TRANAS J.; HEINZEN R.A.; WEISS L.M. et McALLISTER M.M., 1999. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **6**:765–767.
- [718] TREES A.J.; DAVISON H.C.; INNES E.A. et WASTLING J.M., 1999. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1195–1200.
- [719] TREES A.J.; GUY F.; TENNANT B.J.; BALFOUR A.H. et DUBEY J.P., 1993. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England. *Vet. Rec.*, **132**:125–126.
- [720] TREES A.J.; McALLISTER M.M.; GUY C.S.; McGARRY J.W.; SMITH R.F. et WILLIAMS D.J.L., 2002. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. *Vet. Parasitol.*, **109**:147–154.
- [721] TREES A.J. et WILLIAMS D.J.L., 2005. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.*, **21**:558–561.
- [722] TREES A.J. et WILLIAMS D.J.L., 2000. Neosporosis in the United Kingdom. *Int. J. Parasitol.*, **30**:891–893.
- [723] UCHIDA Y.; IKE K.; KUROTAKI T.; TAKESHI M. et IMAI S., 2003. Susceptibility of Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*) to *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Med. Sci.*, **65**(3):401-403.
- [724] UENO T.E.H.; GONÇALVES V.S.P.; HEINEMANN M.B.; DILLI T.L.B.; AKIMOTO B.M.; DE SOUZA S.L.P.; GENNARI S.M. et SOARES R.M., 2009. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.*, **41**:547–552
- [725] UGGLA A. et BUXTON D., 1990. Immune responses to *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants:

- diagnosis and prospects for vaccination. *Rev. Sci. Tech.*, **4**:441-462
- [726] UGGLA A.; STENLUND S.; HOLMDAHL O.J.M.; JAKUBEK E.B.; THEBO P.; KINDAHL H. et BJÖRKMAN C., 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *Int. J. Parasitol.*, **28**:1467-1472.
- [727] VÁCLAVEK P.; KOUDELA B.; MODRÝ D. et SEDLÁK K., 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* in aborting dairy cattle in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, **115**:239-245.
- [728] VÁCLAVEK P.; SEDLÁK K.; HŮRKOVÁ L.; VODRÁKA P.; SEBESTA R. et KOUDELA B., 2007. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. *Vet. Parasitol.*, **143**:35-41.
- [729] VANLEEUVEN J.A.; FORSYTHE L.; TIWARI A. et CHARTIER R., 2005. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in dairy cattle in Saskatchewan. *Can. Vet. J.*, **46**:56-58.
- [730] VANLEEUVEN J.A.; KEEFE G.P. et TIWARI A., 2002. Seroprevalence and productivity effects of infection with bovine leukemia virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in maritime Canadian dairy cattle. *Bovine Pract.*, **36**:86-91.
- [731] VANLEEUVEN J.A.; TIWARI A.; PLAIZIER J.C. et WHITING T.L., 2006. Seroprevalences of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*; and *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in Manitoba. *Can. Vet. J.*, **47**:783-786.
- [732] VARANDAS; N.P.; RACHED P.A.; COSTA G.H.N.; SOUZA L.M.; CASTAGNOLLI K.C. et COSTA A.J., 2001. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. *Semina*, **22**:105-111.
- [733] VARCASIA A.; CAPELLI G.; RUIU A.; LADU M.; SCALA A. et BJÖRKMAN C., 2006. Prevalence of *Neospora caninum* infection in Sardinian dairy farms (Italy) detected by iscom ELISA on tank bulk milk. *Parasitol. Res.*, **98**:264-267.
- [734] VARDELEON D.; MARSH A.E.; THORNE J.G.; LOCH W.; YOUNG R. et JOHNSON P.J., 2001. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Vet. Parasitol.*, **95**:273-282.
- [735] VEMULAPALLI R.; SANAKKAYALA N.; GULANI J.; SCHURIG G.G.; BOYLE S.M.; LINDSAY D.S. et SRIRANGANATHAN N., 2007. Reduced cerebral infection of *Neospora caninum* in BALB/c mice vaccinated with recombinant *Brucella abortus* RB51 strains expressing *N. caninum* SRS2 and GRA7 proteins. *Vet. Parasitol.*, **148**:219-230
- [736] VENTURINI L.; DI LORENZO C.; VENTURINI C. et ROMERO J., 1995. Anticuerpos anti *Neospora* sp., en vacas que abortaron. *Vet. Arg.*, **12**:167-170.
- [737] VENTURINI M.C.; VENTURINI L.; BACIGALUPE D.; MACHUCA M.; ECHAIDE I.; BASSO W.; UNZAGA J.M.; DI LORENZO C.; GUGLIELMONE A.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1999. *Neospora caninum* infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1705-1708.
- [738] VERCRUYSSSE J., 1882. Diagnostic de la Toxoplasmose à Dakar (Sénégal) par Immunofluorescence indirecte. *Méd. Afr. Noire*, **29**:799-801.

- [739] VIANNA M.C.B.; SREEKUMAR C.; MISKA K.B.; HILL D.E. et DUBEY J.P., 2005. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Vet. Parasitol.*, **129**:253–257.
- [740] VILLALOBOS E.M.C.; UENO T.E.H.; DE SOUZA S.L.P.; CUNHA E.M.S.; LARA M.C.C.S.H.; GENNARI S.M. et SOARES R.M., 2006. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. *Vet. Parasitol.*, **142**:372–375.
- [741] VITALIANO S.N.; SILVA D.A.O.; MINEO T.W.P.; FERREIRA R.A.; BEVILACQUA E. et MINEO J.R., 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. *Vet. Parasitol.*, **122**:253–260.
- [742] VOGEL F.S.F.; ARENHART S. et BAUERMANN F.V., 2006. Anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos, ovinos e ubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural*, **36**:1948–1951.
- [743] VON BLUMRÖDER D.; SCHARES G.; NORTON R.; WILLIAMS D.J.L.; ESTEBAN-REDONDO I.; WRIGHT S.; BJÖRKMAN C.; FRÖSSLING J.; RISCO-CASTILLO V.; FERNÁNDEZ-GARCÍA A.; ORTEGA-MORA L.M.; SAGER H.; HEMPHILL A.; VAN MAANEN C.; WOUDA W. et CONRATHS F.J., 2004. Comparison and standardisation of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in bovines. *Vet. Parasitol.*, **120**:11–22.
- [744] VON BLUMRÖDER D.; STAMBUSCH R.; LABOHM R.; KLAWONN W.; DRÄGER K.; FASEN W.; CONRATHS F.J. et SCHARES G., 2006. Potential risk factors for the serological detection of *Neospora caninum*-infections in cattle in Rhineland-Palatinate (Germany). *Tierärztl. Prax. G*, **34**:141–147.
- [745] VONLAUFEN N.; GIANINAZZI C.; MULLER N.; SIMON F.; BJORKMAN C.; JUNGI T.W.; LEIB S.L. et HEMPHILL A., 2002. Infection of organotypic slice cultures from rat central nervous tissue with *Neospora caninum*: a fil alternative approach to study host-parasite interactions. *Int. J. Parasitol.*, **32**(5):533-542
- [746] VURAL G.; AKSOY E.; BOZKIR M.; KUÇUKAYAN U. et ERTURK A., 2006. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey. *Vet. Arh.*, **76**:343–349.
- [747] WALDNER C.L., 2005. Serological status for *Neospora caninum*; bovine viral diarrhea virus; and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Anim. Reprod. Sci.* **90**:219–242.
- [748] WALDNER C.L., 2002. Pre-colostral antibodies to *Neospora caninum* in beef calves following an abortion outbreak and associated fall weaning weights. *Bovine Pract.* **36**:81–85.
- [749] WALDNER C.L.; CUNNINGHAM G. et CAMPBELL J.R., 2004. Agreement between three serological tests for *Neospora caninum* in beef cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **16**:313–315.
- [750] WALDNER C.L.; HENDERSON J.; WU J.T.Y.; BREKER K. et CHOW E.Y.W., 2001. Reproductive performance of a cow-calf herd following a *Neospora caninum*-associated abortion epidemic. *Can. Vet. J.*, **42**:355–360.
- [751] WALDNER C.L.; HENDERSON J.; WU J.T.Y.; COUPLAND R. et CHOW E.Y.W., 2001. Seroprevalence of *Neospora caninum* in beef cattle in northern Alberta. *Can. Vet. J.*, **42**:130–132.
- [752] WALDNER C.L.; JANZEN E.D.; HENDERSON J. et HAINES D.M., 1999. Outbreak of abortion associated with *Neospora caninum* infection in a beef herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **215**:1485–1490.
- [753] WALDNER C.L.; JANZEN E.D. et RIBBLE C.S., 1998. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **213**:685–690.

- [754] WALDNER C.L.; WILDMAN B.K.; HILL B.W.; FENTON R.K.; PITTMAN T.J.; SCHUNICHT O.C.; JIM G.K.; GUICHON P.T. et BOOKER C.W., 2004. Determination of the seroprevalence of *Neospora caninum* in feedlot steers in Alberta. *Can. Vet. J.*, **45**:218–224.
- [755] WALSH C.P.; DUNCAN R.B.; ZAJAC A.M.; BLAGBURN B.L. et LINDSAY D.S. 2000. *Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils, and dogs. *Vet Parasitol.*, **92**(2):119-128
- [756] WALSH C.P.; VEMULAPALLI R.; SRIRANGANATHAN N.; ZAJAC A.M.; JENKINS M.C. et LINDSAY D.S., 2001. Molecular comparison of the dense granule proteins GRA6 and GRA7 of *Neospora hughesi* and *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, **31**(3):253-258
- [757] WANHA K.; EDELHOFER R.; GABLER-EDUARDO C. et PROSL H., 2005. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. *Vet. Parasitol.*, **128**:189–193.
- [758] WAPENAAR W.; BARKEMA H.W.; SCHARES G.; ROUVINEN-WATT K.; ZEIJLEMAKER L.; POORTER B.; O'HANDLEY R.M.; KWOK O.C.H. et DUBEY J.P., 2007. Evaluation of four serological techniques to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) in Prince Edward Island, Canada. *Vet. Parasitol.*, **145**:51–58.
- [759] WAPENAAR W.; BARKEMA H.W.; VANLEEUEWEN J.A.; McCLURE J.T.; O'HANDLEY R.M.; KWOK O.C.H.; THULLIEZ P.; DUBEY J.P. et JENKINS M.C., 2007. Comparison of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. *Vet. Parasitol.*, **143**:166–173.
- [760] WAPENAAR W.; JENKINS M.C.; O'HANDLEY R.M. et BARKEMA H.W., 2006. *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free ranging Red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) based on microscopic examination, PCR and DNA-sequencing. *J. Parasitol.*, **92**:1270–1274.
- [761] WEBER A.; ZETZMANN K. et EWINGMANN T., 2000. Vorkommen von Antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Kühen in nordbayerischen Beständen mit Abortproblemen. *Tierärztl. Umsch.*, **55**:28–29.
- [762] WESTON J.F.; WILLIAMSON N.B. et POMROY W.E., 2005. Associations between pregnancy outcome and serological response to *Neospora caninum* among a group of dairy heifers. *N. Z. Vet. J.*, **53**:142–148.
- [763] WIERZCHON M.; KATKIEWICZ M. et MARCINIAK K., 2006. Neosporosis occurrence in cattle. *Med. Weter.*, **62**:1041–1044.
- [764] WILLIAMS J.H.; ESPIE I.; VAN WILPE E. et MATTHEE A., 2002. Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. *Tydskr. S. Afr. Vet. Ver.*, **73**:38–43.
- [765] WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; MCGARRY J.W.; GUY F.; TASKER L.; SMITH R.F.; MACEACHERN K.; CRIPPS P.J.; KELLY D.F. et TREES A.J., 2000. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology*, **121**:347–358.
- [766] WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; SMITH R.F.; ELLIS J.; BJÖRKMAN C.; REICHEL M.P. et TREES A.J., 2007. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. *Infect. Immun.*, **75**:1343–1348.
- [767] WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; SMITH R.F.; GUY F.; MCGARRY J.W.; MCKAY J.S. et TREES A.J., 2003. First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, **33**:1059–1065.

- [768] WILLIAMS D.J.L.; McGARRY J.; GUY F.; BARBER J. et TREES A.J., 1997. Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. *Vet. Rec.*, **140**:328–331.
- [769] WILLIAMS D.J.L. et TREES A.J., 2006. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunol.*, **28**:61–67.
- [770] WOLF D.; SCHARES G.; CARDENAS O.; HUANCA W.; CORDERO A.; BÄRWALD A.; CONRATHS F.J.; GAULY M.; ZAHNER H. et BAUER C., 2005. Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*) and vicuñas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Vet. Parasitol.*, **130**:81–87.
- [771] WOLFE A.; HOGAN S.; MAGUIRE D.; FITZPATRICK C.; VAUGHAN L.; WALL D.; HAYDEN T.J. et MULCAHY G., 2001. Renard rouxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Vet. Rec.*, **149**:759–763.
- [772] WOODS L.W.; ANDERSON M.L.; SWIFT P.K. et SVERLOW K.W., 1994. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). *J. Vet. Diagn. Investig.*, **6**:508–510.
- [773] WOUDA W., 2000. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet. Q.*, **22**(2):71-74
- [774] WOUDA W.; BARTELS C.J.M. et MOEN A.R., 1999. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995–1997). *Theriogenology*, **52**:233–245.
- [775] WOUDA W.; BRINKHOF J.; VAN MAANEN C.; DE GEE A.L.W. et MOEN A.R., 1998. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: a comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **5**:711–716.
- [776] WOUDA W.; DIJKSTRA T.; KRAMER A.M.H.; VAN MAANEN C. Et BRINKHOF J.M.A., 1999. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1677–1682.
- [777] WOUDA W.; DUBEY J.P. et JENKINS M.C., 1997. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. *J. Parasitol.*, **83**(3):545-547
- [778] WOUDA W.; MOEN A.R.; DAMSMA A.; VISSER I.J.R. et VAN KNAPEN F., 1994. Lesions and parasites in aborted fetuses. Repeated transplacental transmission. *Proc. Meet. Eur. Soc. Vet. Pathol.*, **12**:29.
- [779] WOUDA W.; MOEN A.R. et SCHUKKEN Y.H., 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, **49**: 1311–1316.
- [780] WOUDA W.; MOEN A.R.; VISSER I.J.R. et VAN KNAPEN F., 1997. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **9**:180–185.
- [781] WU J.T.; DREGER S.; CHOW E.Y. et BOWLBY E.E., 2002. Validation of 2 commercial *Neospora caninum* antibody enzyme linked immunosorbent assays. *Can. J. Vet. Res.*, **66**:264–271.
- [782] WYSS R.; SAGER H.; MÜLLER N.; INDERBITZIN F.; KÖNIG M.; AUDIGÉ L. et GOTTSTEIN B., 2000. Untersuchungen zum Vorkommen von *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum* unter fleischhygienischen Aspekten. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **142** :95–108.
- [783] YAI L.E.; CANON-FRANCO W.A.; GERALDI V.C.; SUMMA M.E.; CAMARGO M.C.; DUBEY J.P.; et GENNARI S.M., 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of Sao Paulo, Brazil. *J. Parasitol.*, **89**(4):870-871.

- [784] YAMAGE M.; FLECHTNER O. et GOTTSTEIN B., 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally-infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *J. Parasitol.*, **82**:272–279.
- [785] YAMANE I.; KOKUHO T.; SHIMURA K.; ETO M.; SHIBAHARA T.; HARITANI M.; OUCHI Y.; SVERLOW K. et CONRAD P.A., 1997. In vitro isolation and characterization of a bovine *Neospora* species in Japan. *Res. Vet. Sci.*, **63**:77–80.
- [786] YAMANE I.; SHIBAHARA T.; KOKUHO T.; SHIMURA K.; HAMAOKA T.; HARITANI M.; CONRAD P.A.; PARK C.H.; SAWADA M. et UMEMURA T., 1998. An improved isolation technique for bovine *Neospora* species. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **10**:364–368.
- [787] YOUN H.J.; LAKRITZ J.; KIM D.V.; ROTTINGHAUS G.E. et MARSH A.E. 2003. Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, **116**(1):7-14
- [788] YOUN H.J.; LAKRITZ J.; ROTTINGHAUS G.E.; SEO H.S.; KIM D.Y.; CHO M.H. et MARSH A.E., 2004. Anti-protozoal efficacy of high performance liquid chromatography fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.*, **125**(3-4):409-414.
- [789] YU J.; LIU Q. et XIA Z., 2007. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. *Vet. Parasitol.*, **143**:79–85.
- [790] ZHANG W.; DENG C.; LIU Q.; LIU J.; WANG M.; TIAN K.G.; YU X.L.; HU D.M. 2007. First identification of *Neospora caninum* infection in aborted bovine fetuses in China. *Vet. Parasitol.* **149**:72–76.
- [791] ZHANG H.; LEE E.; LIAO M.; COMPAORE K.A.M.; ZHANG G.; KAWASE O.; FUJISAKI K.; SUGIMOTO C.; NISHIKAWA Y. et XUAN X., 2007. Identification of ribosomal phosphoprotein P0 of *Neospora caninum* as a potential common vaccine candidate for the control of both neosporosis and toxoplasmosis. *Mol. Bioch. Parasitol.*, **153**:141–148.

## WEBOGRAPHIE

- [792] GROUPEMENT DE DEFENSE SANITAIRE DE L'ALLIER, 2007. La néosporose : une parasitose bien mystérieuse. Site internet, [www.gdes03.fr](http://www.gdes03.fr) consulté 25 décembre 2006

---

**ANNEXE**

---

---

**PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS PERSONNELLES**

---

## 1. Publications

### P1. Etiologie, cycle évolutif et pathogénie de la néosporose.

**KAMGA-WALADJO A.R.**, GBATI O.B., BAKOU S.N., DOMBOU E., MUKAKAMUGIRE A., CHATAGNON G., DIOP P.E.H. et TAINTURIER D. *RASPA*, 2008, 6 (1) : 3-18

### P2. Séroprévalence de la neosporose et conséquences sur le taux de réussite de l'insémination artificielle dans les troupeaux bovins a Dakar – Sénégal

**KAMGA –WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., CHATAGNON G., BAKOU S.N., BOLY H., DIOP P.E.H., AKAKPO J.A. et TAINTURIER D. *RASPA*, 2008, 6 (1) : 19 - 22

### P3. Epidémiologie de la néosporose

**KAMGA-WALADJO A.R.**, BAKOU S.N., CHATAGNON G., BOLY H., DIOP P.E.H., AKAKPO J.A. et TAINTURIER D. *RASPA*, 2008, 6 (2) : 75 - 98

### P4. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) stranded on Yoff's coast of Dakar, West Africa

**KAMGA – WALADJO A.R.**, KONE P., GBATI O.B., KADJA – WONOU M., KANE Y., NTEME – ELLA G.S., CHATAGNON G., KABORET Y.Y., BAKOU S.N., DIOP P.E.H. et TAINTURIER D. *RASPA*, 2008, 6 (2) : 99 - 100

### P5. Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de la néosporose

**KAMGA WALADJO A.R.**, CHATAGNON G., AMIRAT BRIAND L., BENCHARIF D., DIOP P.E.H., et TAINTURIER D. *RASPA*, 2008, 6 (3-4) : 155 - 179

### P6. *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive characteristics in wandering sows from Senegal, West Africa.

**KAMGA-WALADJO A.R.**, CHATAGNON G., BAKOU S.N., BOLY H., DIOP P.E.H. et TAINTURIER D. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 2009, 4(5) : 263-266.

### P7. Séroprévalence de la néosporose canine (*Neospora caninum*) dans les régions de Dakar et Thiès du Sénégal

**KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., DOMBOU E., SENE M., AMIRAT BRIAND L., BENCHARIF D., AKAKPO J.A., PANGUI L.J., DIOP P.E.H. et TAINTURIER D. *RASPA*, 2009, 7 (1) : 3 - 6

### P8. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in lion (*Panthera leo*) from Senegal, West Africa

**KAMGA–WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., LAPO R.A., DOMBOU E., CHATAGNON G., BAKOU S.N., DIOP P.E.H., PANGUI L.J., TAINTURIER D. et AKAKPO J.A. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 2009, 4(6) : 346-349

**P9. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from dakar - senegal, west africa**

**KAMGA – WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., LAPO R.A., CHATAGNON G., BAKOU S.N., PANGUI L.J., DIOP P.E.H., AKAKPO J.A. et TAINTURIER D. (Soumis pour publication à Tropical animal health and production 2009)

**P10. Effet de la séroprévalence de *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* sur les paramètres de reproduction des ovins et des caprins à Dakar – Sénégal**

**KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., CHATAGNON G., DIOP P.E.H., AKAKPO J.A. et TAINTURIER D. (Soumis pour publication à Dakar Médical 2009)

**2. Communications**

**2.1. Communications orales**

**C1. Séroprévalence de la néosporose dans les élevages bovins laitiers au Sénégal.** In: «Symposium international de pathologies animales et de biotechnologies en sante animale en milieu tropical». Cotonou – EPAC, Université Abomey Calavi, 4 – 6 Février 2008.

**KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., BAKOU S.N., MUKAKANAMUGIRE A., DOMBOU E., CHATAGNON G., AKAKPO J.A., DIOP P.E.H., PANGUI L.J. et TAINTURIER D.

**C2. La nesoporose dans la faune sauvage au Sénégal.** In: « Quarantième anniversaire de l'EISMV » Dakar, 5 – 9 mai 2008.

**KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., BAKOU S.N., DOMBOU E., CHATAGNON G., AKAKPO J.A., DIOP P.E.H., PANGUI L.J. et TAINTURIER D.

**C3. Neosporosis in Senegalese wildlife P-275.** In “Proceeding of the 25<sup>th</sup> word Buiatrics congress”. Budapest, Hungary. 6 – 10 July 2008.

DOMBOU E., **KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., BAKOU S.N., MUKANAMUGIRE A., CHATAGNON G., AKAKPO J.A., DIOP P.E.H., PANGUI L.J. et TAINTURIER D.

**C4. Séroprévalence de la néosporose et ses conséquences sur les paramètres de reproduction dans les fermes laitières de la zone péri – urbaine de Dakar – Sénégal.** In: « XVII<sup>èmes</sup> Journées Médicales, Pharmaceutiques, Odontologiques et Vétérinaires » Dakar, 23 – 26 février 2009.

**KAMGA – WALADJO A.R.**, GBATI O.B., KONE P., LAPO R.A., MUKAKANAMUGIRE A., CHATAGNON G., BAKOU S.N., DIOP P.E.H., PANGUI L.J., TAINTURIER D. et AKAKPO J.A.

**C5. Séroprévalence de la néosporose et ses conséquences sur l'intervalle vêlage insémination fécondante dans les troupeaux bovins laitiers de Dakar – Sénégal.** In: « Séminaire biotechnologies – productions animales » Bobo Dioulasso, 26 – 30 octobre 2009.

**KAMGA – WALADJO A.R.**, CHATAGNON G., BAKOU S.N., BOLY H., DIOP P.E.H., et TAINTURIER D.

## **2.2. Posters**

**Po1. Les infections a *Neospora caninum*.** In: « Cinquantenaire de la société médicale d'Afrique noire de langue française de Dakar ». Dakar – Auditorium UCAD II, 28 novembre au 01 décembre 2007

**KAMGA WALADJO A.R.**, GBATI O.B., BAKOU S.N., AKAKPO J.A. DIOP P.E.H., PANGUI L.J. et TAINTURIER D.