

**ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT**

---

Année 2002

**EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE BOVINE  
EN FRANCE ET AU QUEBEC ;  
EVALUATION DES MOYENS DE LUTTE ACTUELS.**

THESE

pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement  
devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

Le

Par

**Fabrice, Pierre-Emile PAYOT**

Né le 5 mai 1977 à Villecresnes (Val de Marne)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil

Membres :

Directeur : Mme BRUGERE-PICOUX, Professeur à l'ENVA.

Assesseur : Mme CHASTANT-MAILLARD, Maître de Conférences à l'ENVA.

Invités :

Dr vet. FECTEAU, Dr vet. PARE,

Faculté de Médecine Vétérinaire, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

Dr vet. JOURNEL, Dynal, Loudéac (22), France.

# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>7</b>
---------------------	----------

## **Première partie :**

<b>Étude bibliographique sur <i>Neospora caninum</i>, la néosporose, son épidémiologie et les moyens de lutte existants.</b>	<b>8</b>
--	----------

<b>I. <i>Neospora caninum</i> et la néosporose : le parasite, son cycle de développement, sa pathogénie, les moyens diagnostiques</b>	<b>9</b>
A. Le parasite, son cycle de développement	9
1. Le parasite	9
2. Son cycle de développement	10
B. Sa pathogénie	13
1. Voies de contamination	13
(1) Contamination horizontale	13
(2) Transmission verticale	14
2. Lésions	15
C. Manifestations cliniques	15
1. Espèce bovine	15
(1) Chez les adultes, les avortements	16
(2) Chez les jeunes, des atteintes systémiques	17
2. Espèce équine	17
3. Espèce canine	17
D. La réponse immunitaire contre <i>Neospora caninum</i>	18
E. Le diagnostic de la néosporose chez les bovins	19
1. Les méthodes directes	19
(1) L'histologie	19
(2) L'immunohistochimie	19
(3) La PCR (Polymerase Chain Reaction)	20
2. Les méthodes indirectes	20
(1) L'immunofluorescence indirecte (IFI)	21
(2) La séroagglutination	21

(3)    L'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)	21
3.    Interprétation des résultats de sérologie	23
4.    Porter un diagnostic de néosporose	24
<b>II.    Épidémiologie de la néosporose bovine, impact économique et moyens de lutte actuels</b>	<b>25</b>
<b>A.    Épidémiologie de la néosporose bovine</b>	<b>25</b>
1.    Épidémiologie descriptive générale	25
2.    Épidémiologie analytique	25
(1)    Facteurs de risque de l'infection environnementaux	25
(2)    Facteurs de risque dus à la présence d'un hôte définitif	26
(3)    Facteurs de risque liés à des maladies concomitantes	27
<b>B.    Situation épidémiologique à travers le monde</b>	<b>27</b>
1.    Répartition géographique	27
2.    Situation épidémiologique en Europe	28
3.    Situation épidémiologique au Québec et au Canada	29
4.    Situation épidémiologique en France	31
<b>C.    Impact économique de la maladie</b>	<b>32</b>
1.    Nature des pertes économiques	32
(1)    Quelles sont ces pertes ?	32
(2)    A propos de la production laitière	32
(3)    Diminution de la valeur marchande des animaux	33
(4)    A propos de la réforme	33
2.    Évaluation des pertes	33
<b>D.    Moyens de lutte actuels et futurs</b>	<b>34</b>
1.    Les thérapeutiques possibles	34
2.    La vaccination est-elle envisageable ?	35
3.    Mesures de contrôle sanitaire	35
(1)    Élimination des animaux séropositifs	36
(2)    Transplantation embryonnaire	36
(3)    Élimination des avortons et placentas	36
(4)    Élimination des chiens	37
4.    Politique d'application des mesures sanitaires	37

**Deuxième partie :****Etude de la séroprévalence de la néosporose chez les bovins ayant avorté en France.****Etude de l'efficacité des mesures de lutte sanitaires 40**

<b>I. Enquête épidémiologique dans les laboratoires départementaux vétérinaires</b>	<b>41</b>
<b>A. Introduction</b>	<b>41</b>
<b>B. Matériel et méthodes</b>	<b>42</b>
1. Le questionnaire	42
(1) Le volume d'activité et les protocoles d'analyses	42
(2) Les résultats d'analyses de recherche de <i>Neospora</i>	42
(3) Les commémoratifs d'analyse	42
(4) Les informations départementales	43
2. Les interlocuteurs	43
<b>C. Résultats de l'enquête – Discussion</b>	<b>44</b>
1. Les buts ont-ils pu être atteints ?	44
2. Les différents laboratoires départementaux recherchant la néosporose	45
3. Les tests utilisés pour dépister la néosporose	45
4. Les principaux biais de l'étude	46
5. La séroprévalence de <i>N. caninum</i> dans les avortements bovins dans différents départements français	46
6. Des précisions sur l'épidémiologie de la néosporose	52
(1) Prévalence en fonction du type de production	52
(2) Les interactions entre agents pathogènes	52
(3) Le stade de gestation lors de l'avortement	53
7. Les différentes politiques de recherche et de contrôle appliquées	53
<b>D. Que penser de la prévalence actuelle de la néosporose en France ?</b>	<b>53</b>
<b>II. Étude sur l'efficacité des moyens de lutte appliquée dans le cadre de la prévention de la néosporose</b>	<b>55</b>

<b>A. Introduction</b>	<b>55</b>
<b>B. Matériel et méthodes</b>	<b>56</b>
1. Les groupes d'étude	56
2. Les données déjà existantes	56
3. Le questionnaire d'enquête	57
4. Les mesures de lutte appliquées dans chaque élevage	57
5. Les animaux prélevés et les prélèvements	58
6. Les analyses (recherche d'anticorps anti- <i>Neospora caninum</i> )	58
7. Le traitement statistique des données	58
<b>C. Résultats</b>	<b>59</b>
1. Variation du taux abortif en fonction de la prévalence de la néosporose	59
(1) Préalables	59
(2) Le taux d'avortement augmente avec la prévalence	59
2. Situation épidémiologique dans les trois élevages (efficacité des mesures de lutte)	61
(1) Rappels préalables	61
(2) Prévalence de la néosporose dans les élevages en décembre 1999 et en décembre 2000	62
(3) Importance des nouveaux cas	64
(4) Importance de la contamination horizontale	64
3. Application et efficacité des mesures de lutte	66
(1) Les mesures de lutte proposées	66
(2) L'impression des éleveurs	66
(3) Des difficultés à la mise en place des mesures de lutte	67
(4) La prévalence de la néosporose augmente malgré les mesures de lutte	69
<b>D. Discussion</b>	<b>69</b>
1. Une relation entre la prévalence de la néosporose et le taux d'avortement	69
2. La contamination horizontale est une évidence !	70
3. Les mesures de lutte proposées sont-elles efficaces ?	71
4. L'application des mesures de lutte, l'opinion des éleveurs	73
 <b>Conclusion générale</b>	 <b>74</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>76</b>
<b>Annexes</b>	<b>86</b>

## Table des illustrations

### Tableaux :

Tableau I : Situation épidémiologique de la néosporose en Europe.	28
Tableau II : Situation épidémiologique de la néosporose au Québec et au Canada.	29
Tableau III : Situation épidémiologique de la néosporose en France.	31
Tableau IV: Caractéristiques des tests sérologiques utilisés par les laboratoires départementaux vétérinaires dans le cadre du diagnostic de la néosporose.	45
Tableau V : Séroprévalence de la néosporose dans les avortements bovins dans les départements français.	48
Tableau VI : Prévalence au temps B et taux d'avortement des élevages durant l'année d'application des mesures de lutte	61
Tableau VII : Résultats des examens sérologiques des trois élevages :	62
Tableau VIII: Prévalence comparée de la néosporose dans 3 troupeaux sur un intervalle de 1 an après mise en place de mesures de lutte	63
Tableau IX : Statut des mères des nouveaux cas apparus dans chaque élevage.	65
Tableau X : Faible élimination de vaches séropositives, une part importante du renouvellement est effectué par des animaux séropositifs.	68

### Figures :

Figure 1: Cycle de développement de <i>Neospora caninum</i> .	12
Figure 2 : Politique de lutte contre <i>Neospora caninum</i> en fonction de la situation dans l'élevage.	38
Figure 3 : Carte de France de la séroprévalence de <i>Neospora caninum</i> dans les avortements bovins.	51
Figure 4 : Variation du taux d'avortement en fonction de la prévalence au temps B.	60
Figure 5 : Evolution de la prévalence de la néosporose.	63
Figure 6 : Incidence de la néosporose et contamination horizontale.	64
Figure 7 : Faible élimination des vaches séropositives, renouvellement par des vaches et génisses séropositives.	68

## Liste des abréviations :

HD : hôte définitif

HI : hôte intermédiaire

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

IgG : Immunoglobuline G

BVD : Bovine virus diarrhoea

IBR : Infectious bovine rhinotracheitis

BHV 4 : Bovine herpesvirus de type 4

ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay

PCR : Polymerase chain reaction

LVD : Laboratoire vétérinaire départemental

GDS : Groupement de défense sanitaire

Séro + : séropositif

BV : bovin

VL : vache laitière

VA : vache allaitante

ax : animaux

Nc : *Neospora caninum*

## **Introduction**

La néosporose bovine est une protozoose parasitaire à l'origine de symptômes nerveux sur les jeunes animaux, et surtout, d'avortements parfois épidémiques chez les adultes.

Le parasite et son implication dans les avortements bovins sont des découvertes récentes. Son pouvoir pathogène semble expliquer de nombreux cas d'avortement jusqu'alors inexpliqués.

Comme sa découverte est récente, les connaissances évoluent sans cesse et beaucoup d'inconnues demeurent quant à son cycle de développement, son épidémiologie et les méthodes de lutte possibles.

Face aux pertes économiques que cause ce parasite, on se doit de mieux le connaître pour mieux le combattre. Nous allons nous intéresser à l'état actuel de nos connaissances sur ce parasite. Les aspects épidémiologiques et les mesures de lutte seront détaillées. Nous insisterons surtout sur la situation dans différents pays dont la France et la province du Québec afin de noter d'éventuelles différences dans la répartition et l'impact de la maladie.

Nous présenterons ensuite les résultats de deux études personnelles.

La première a consisté à établir à partir des données des laboratoires départementaux vétérinaires, la séroprévalence de la néosporose en France. Jusqu'alors la situation française était largement inconnue. Une comparaison sera établie avec la situation au Québec afin de noter des différences dans la répartition et l'impact de la maladie.

La deuxième étude expérimentale permet de préciser l'efficacité des mesures sanitaires habituellement proposées parmi 9 troupeaux suivis. L'importance de la néosporose dans les avortements bovins (notamment épidémique) sera aussi étudiée. Enfin, la facilité d'application des mesures par les éleveurs sera approchée. Certaines données épidémiologiques concernant le mode de transmission du parasite seront confirmées également.

**Première partie :**  
**Étude bibliographique sur *Neospora caninum*,**  
**la néosporose, son épidémiologie**  
**et les moyens de lutte existants.**

# **I. *Neospora caninum* et la néosporose : le parasite, son cycle de développement, sa pathogénie, les moyens diagnostiques**

## **A. Le parasite, son cycle de développement**

### ***I. Le parasite***

*Neospora caninum* est un parasite protozoaire du groupe des Apicomplexa, responsable d'avortements chez les bovins. Apparenté aux coccidies, il a un cycle de développement comprenant un ou des hôtes définitifs et de nombreux hôtes intermédiaires (Dubey et Lindsay 1996 ; Brugère-Picoux et al. 1998 ; Chermette et Marquer 2000 a).

Isolé pour la première fois d'un jeune chiot en 1984 par Bjerkas, il a été formellement nommé et différencié en 1988 par Dubey (Dubey et Lindsay 1996 ; Brugère-Picoux et al. 1998). Tout d'abord reconnu comme parasite agent d'avortement et de syndrome parétique chez le chien, des organismes *Neospora*-like ont été isolés dans des avortons bovins dès 1989. Ces organismes et *Neospora caninum* furent officiellement identifiés comme étant identiques en 1996 par Jardine (Jardine 1996).

*Neospora caninum* est donc un apicomplexa. On retrouve dans ce groupe de protozoaires d'autres parasites connus parmi lesquels *Eimeria sp*, *Toxoplasma gondii* et *Sarcocystis neuronae*. On note une grande parenté entre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* notamment au stade tachyzoïte (Speer et al. 1999). Par ailleurs *Neospora* est retrouvé également dans l'espèce équine : il s'agit de *Neospora hughesi* qui a été différencié en 1996 (Marsh et al. 1996 ; Marsh et al. 1999 ; Pronost et al. 2000).

## 2. *Son cycle de développement*

*Neospora* a un cycle proche de *Toxoplasma*. On connaît des hôtes intermédiaires (HI) : bovins, équins ; le parasite connaît à ce stade une multiplication asexuée de ces formes infestantes : les tachyzoïtes. On suppose qu'il existe un ou des hôtes définitifs (HD) chez le(s)quel(s) le parasite se multiplie de manière sexuée et donne des formes de dissémination : les ookystes.

Les formes isolées le plus fréquemment sont les tachyzoïtes. Ce sont les formes de dissémination du parasite à l'intérieur de l'organisme parasité. Puis ces tachyzoïtes s'enkystent pour donner des kystes intracellulaires à bradyzoïtes. Les ookystes sont les formes excrétées par un hôte définitif, qui permettent la dissémination dans le milieu extérieur (Lindsay et al. 1999 a).

En 1998, Mc Allister a prouvé que le chien était un des hôtes définitifs de *Neospora caninum* (McAllister et al. 1998 ; Lindsay et al. 1999 b). Depuis, cette notion d'HD a été soumise à controverse. En effet, les chiens qui excrétaient les ookystes avaient été soumis à un traitement immunosuppresseur (dexaméthasone). Et bien que qu'il semble que le chien soit réellement un HD de *Neospora caninum*, on ne sait pas à partir de quand, ni combien de temps les chiens vont être excréteurs (Basso et al. 2001 ; Dijkstra et al. 2001). Pour preuve, il demeure quand même difficile de faire excréter des ookystes par des chiens sains (Bergeron et al. 2001 a) .

Parmi les hôtes intermédiaires du parasite, différentes espèces sont naturellement infectées (Dubey et al. 1996) parmi lesquelles les bovins, les équins (Marsh et al. 1996), les canidés (à la fois hôtes définitifs supposés et hôtes intermédiaires), les ovins (un seul cas rapporté), les gerbilles qui sont utilisées comme modèle en laboratoire (Dubey et al. 1996 ; Dubey et Lindsay 2000). Par contre, de nombreuses infections expérimentales ont été produites chez les ovins (McAllister et al. 1996 a), les caprins, les souris, le raton laveur (Dubey et Lindsay 1996), et le chat (Dubey et Lindsay 1989).

Concernant un éventuel danger zoonotique, en comparant avec *Toxoplasma gondii*, Barr et al (Barr et al. 1994 a) ont réussi à infecter expérimentalement des primates (non humains) ; un groupe a été inoculé par des tachyzoïtes in utero, l'autre par voie intraveineuse. On retrouvait les lésions histologiques sur les fœtus et les

placentas. On note que ces voies d'inoculation ne décrivent pas une possibilité « naturelle ». Cependant une étude anglaise (Graham et al. 1999) a repris l'étude sérologique de sérums tout venant et de sérums d'agriculteurs (population jugée à risque). Dans les 2 populations, on observe une forte séropositivité vis-à-vis de *T. gondii* et uniquement un bruit de fond de séropositivité à *N. caninum*. Ainsi l'éventuel pouvoir zoonotique du parasite semble relativement faible.

Les dernières données épidémiologiques permettent de proposer le cycle de *Neospora caninum* présenté dans la figure 1.

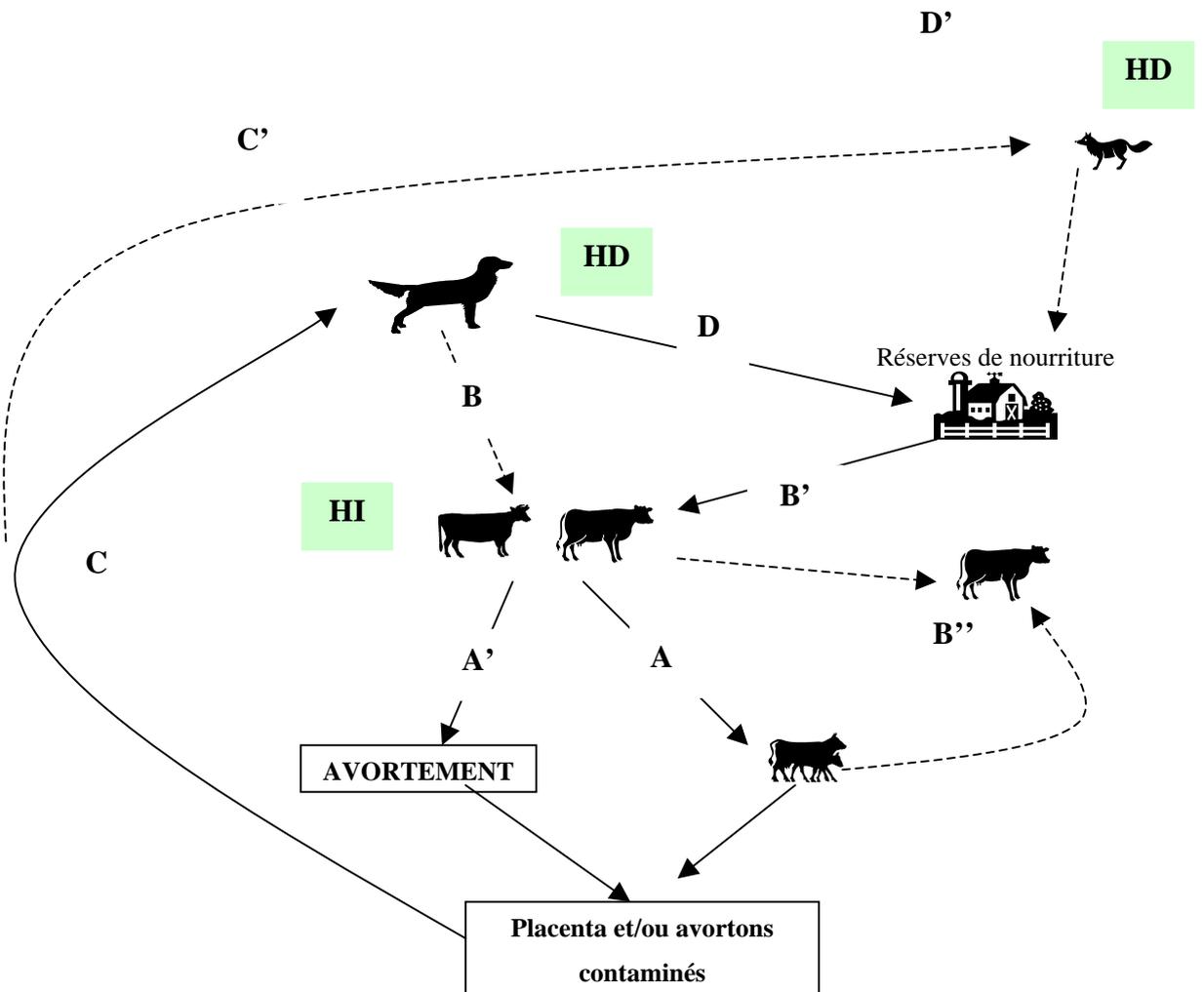
Il demeure beaucoup d'inconnues concernant le cycle de développement et l'épidémiologie du parasite (McAllister 1999). Ainsi on peut supposer que *Neospora* a un cycle sauvage avec pour hôte définitif des carnivores comme le coyote (Lindsay et al. 1996), le renard (Buxton et al. 1997 ; Lindsay et al. 2001) et le dingo (Barber et al. 1997). Récemment, des études sur le renard prouvent un peu plus son implication possible dans un cycle sauvage (Schaes et al. 2001). La participation des mustélidés, qui pouvaient faire partie de ces HD sauvages, a été définitivement exclue du cycle de *Neospora* (McAllister et al. 1999).

De nombreuses espèces d'oiseaux ont été testées et un seul colombiforme a développé expérimentalement une multiplication des tachyzoïtes, mais après inoculation intra péritonéale (McGuire et al. 1999). Une tentative d'inoculation par voie naturelle (*per os*) n'a donné aucune contamination des oiseaux inoculés (Baker et al. 1995). On semble donc pouvoir éliminer un risque de passage aviaire de *Neospora caninum*.

D'autre part, on ne connaît pas la résistance des ookystes de *Neospora sp.* dans le milieu extérieur. Or comme le font remarquer (Bowie et al. 1997) en 1997 pour *Toxoplasma*, organisme proche de *Neospora*, on retrouve fréquemment des tachyzoïtes ou des ookystes dans l'eau et des denrées alimentaires contaminées par des excréments d'hôtes définitifs (chat par exemple). Pour *Neospora*, on suppose déjà un risque infectieux pour les denrées contaminées, mais il faut aussi penser à l'eau de boisson des animaux (Anderson 2000).

**Figure 1: Cycle de développement de *Neospora caninum*.**

(centré sur les bovins comme hôtes intermédiaires)



A : transmission verticale de la mère à son veau.

A' : transmission verticale provoquant la mort du fœtus et l'avortement.

B : contamination horizontale des vaches et des jeunes veaux par l'hôte définitif (contact étroit) non prouvée.

B' : contamination horizontale par consommation de nourriture contaminée d'ookystes.

B'' : contamination horizontale entre bovins (ex : colostrum) (non prouvée).

C : contamination de l'hôte définitif par consommation de matériel infectant (avorton, placenta).

D : l'HD contamine les réserves alimentaires.

C'-D' : intervention d'un cycle sauvage (fortement supposée).

## **B. Sa pathogénie**

Les formes de résistance dans l'hôte sont les bradyzoïtes qui sont le plus souvent enkystés. La forme de contamination dans l'animal infecté, qui va permettre la « colonisation » de celui-ci, est le tachyzoïte. C'est contre celui-ci que seront dirigés la majorité des agents de la réponse immunitaire. Les ookystes sont les formes qui résistent dans le milieu extérieur (mais combien de temps ?), ils peuvent être directement infectieux après sporulation comme De Marez et al. l'ont prouvé sur les veaux (De Marez et al. 1999).

On se concentrera sur la pathogénie chez le bovin qui est le sujet de cette étude.

### ***1. Voies de contamination***

Il est désormais admis qu'il existe 2 modes de transmission de *Neospora* : verticale (de mères à filles) (Dubey et al. 1992 ; Barr et al. 1993) et horizontale (par les ookystes) (McAllister et al. 1998 ; Davison et al. 1999 b ; Hietala et Thurmond 1999). On reviendra plus loin sur les implications épidémiologiques de ces modes de transmission.

#### ***(1) Contamination horizontale***

Comme l'ont étudié De Marez et al. en 1999, les veaux ingèrent les ookystes qui sporulent dans le tube digestif libérant les tachyzoïtes, véritables formes infectieuses. Le niveau d'anticorps de type IgG1 et 2 augmentent dans les 2 à 4 semaines suivant l'ingestion comme après une réponse humorale normale. Deux mois et demi après, on retrouve des tachyzoïtes dans les organes habituellement atteints. Des foyers de nécrose se retrouvent dans le cœur, le système nerveux central (SNC), le foie, les reins. Les animaux sont alors séropositifs.

Il est important de noter qu'aucun cas de transmission horizontale chez l'adulte n'a, à ce jour, été prouvé malgré sa forte suspicion dans les cas d'avortements épidémiques.

D'autre part, une contamination post natale via le colostrum contaminé fait partie de la contamination horizontale ou de la transmission verticale suivant les auteurs (Uggla et al. 1998). Elle n'a pour le moment été prouvée que par inoculation expérimentale de tachyzoïtes dans le colostrum.

## (2) *Transmission verticale*

Elle a été prouvée pour la première fois chez les bovins en 1992 par reproduction expérimentale de cette transmission (Dubey et al. 1992). C'est en 1996 que *Neospora caninum* a été identifié comme responsable d'avortements chez les bovins (dus à *Neospora sp.*) (Bjorkman et al. 1996).

Au cours de la gestation, les concentrations en anticorps varient. Stenlund et al. (1999) mettent en évidence de fortes concentrations d'anticorps au 4<sup>ème</sup> et au 8<sup>ème</sup> mois. Elles correspondent à des baisses de l'immunité chez la vache. Ainsi il peut y avoir une réactivation du parasite (ou une sensibilité accrue aux infections extérieures) à ces périodes de la gestation.

Les tachyzoïtes, alors de nouveau en dispersion, vont se diriger notamment vers le placenta et passer la barrière qu'il constitue pour contaminer le fœtus. En 1996 déjà, ces variations de concentration en anticorps étaient reliées au risque d'avortement (Pare et al. 1997). Ainsi, le pic à 4 mois est préférentiellement associé à des avortements et celui observé à 8 mois entraînera plus d'animaux positifs sains. Une vache séropositive aura 3 fois plus de risque d'avorter qu'une vache saine. Toutefois il semble que la vache développe une immunité et qu'ainsi une vache positive a moins de chance d'avorter lors d'une réinfestation (et non une réactivation) (McAllister et al. 2000).

Cette transmission verticale est très efficace car dans près de 95 % des cas, la descendance d'une vache infestée est contaminée par *Neospora* (Bjorkman et al. 1996 ; Pare et al. 1996 ; Pare et al. 1997 ; Brugère-Picoux et al. 1998).

## **2. Lésions**

Les tachyzoïtes se développent dans les cellules de l'animal puis sont libérés à la faveur d'une destruction de celles-ci (Dubey et Lindsay 1996). Ainsi on retrouve des foyers de nécrose non suppurative dans le tissu nerveux, le myocarde, les reins puis de manière moins fréquente dans le foie et les poumons (Barr et al. 1994 b). On retrouve alors des lésions non pathognomoniques de myocardite, pneumonie interstitielle, d'hépatite (Anderson et al. 2000).

Parfois les fœtus peuvent être momifiés. On peut aussi suspecter des mortalités en dessous de 3 mois de gestation et de la mortalité embryonnaire due à *Neospora* (Anderson et al. 2000 ; Waldner et al. 2001).

Le placenta des vaches positives ayant ou non avorté présente aussi des lésions de nécrose et parfois des tachyzoïtes sont mis en évidence dans ce tissu. Même si leur concentration semble faible (Bergeron et al. 2000), leur nombre semble suffisant pour induire une contamination chez le chien (Dijkstra et al. 2001).

## **C. Manifestations cliniques**

On se concentrera sur l'espèce bovine mais deux espèces fréquemment infectées naturellement seront développées : les espèces canine et équine.

### **1. Espèce bovine**

*Neospora caninum* peut se retrouver chez les adultes et chez les jeunes animaux (Dubey et Lindsay 1996 ; Anderson et al. 2000). On ne sait toujours pas à ce jour si des adultes peuvent être contaminés par des ookystes.

(1) *Chez les adultes, les avortements*

Chez l'adulte, la néosporose provoque des avortements sans autre signe de complication. Les avortements s'étalent entre 3 et 9 mois de gestation, sachant qu'ils se regroupent autour de 4 à 5 mois (Dubey et Lindsay 1996 ; Brugère-Picoux et al. 1998 ; Anderson et al. 2000). L'avortement se déroule sans autre complication clinique. Cependant, la vache ne démarre pas sa lactation. Parfois on peut avoir plusieurs avortements successifs sur un même animal.

Deux modèles d'avortements dus à *Neospora* ont pu être différenciés : les avortements peuvent être endémiques dans l'élevage ou avoir lieu dans un contexte épidémique (Hietala et Thurmond 1999).

Dans le premier cas, les avortements sont sporadiques dans un troupeau, avec moins de 10 % d'avortements annuels. On est en face d'une transmission verticale de mère en filles, sur une ou plusieurs familles infestées dans lesquelles des avortements apparaissent (Hietala et Thurmond 1999 ; Journel et Pitel 2001 b). Dans près de 90% des cas une mère infestée donnera naissance à une fille infestée (Schaes et al. 1999 b ; Bergeron et al. 2000). Certains auteurs ajoutent qu'à elle seule, cette transmission verticale peut suffire au maintien de la prévalence de *N. caninum* dans un troupeau (Schaes et al. 1999 b). Toutefois un modèle mathématique de l'infection montre qu'il faut un minimum de contamination horizontale au sens de la contamination par un hôte définitif contaminant le milieu et par du colostrum contaminé (French et al. 1999). Cette dernière est parfois incluse dans la transmission verticale par d'autres auteurs (Hietala et Thurmond 1999), mais on ne peut pas réellement la comparer à une transmission foeto-maternelle, d'autant plus qu'elle n'est encore qu'une hypothèse.

Dans le deuxième cas (contexte épidémique), de nombreux avortements se produisent à des stades à peu près identiques de gestation en quelques mois. On se trouve en face de taux d'avortement dépassant 30% sur une courte période (Thurmond et al. 1997 ; Journel et al. 1999 ; Anderson et al. 2000). On parle alors souvent de contamination horizontale dans ces élevages (par un colostrum contaminé ou par un hôte définitif ayant disséminé des ookystes dans le milieu) (Uggla et al. 1998 ; Anderson et al. 2000 ; Dijkstra et al. 2001). Il est prouvé que les veaux peuvent être contaminés par voie orale par des ookystes et/ou des tachyzoïtes (Uggla et al. 1998 ; De

Marez et al. 1999). Ces animaux deviennent porteurs de *N. caninum* et auront plus de chances d'avorter lors de leur future gestation. De plus, ils font perdurer le parasite dans l'élevage.

## (2) *Chez les jeunes, des atteintes systémiques*

Chez certains jeunes veaux infectés *in utero*, on voit se développer des symptômes de méningoencéphalomyélite avec une ataxie marquée. Parfois on peut aussi observer des symptômes nerveux comme l'ataxie des postérieurs qui est progressivement ascendante (Barr et al. 1993 ; Dubey et Lindsay 1996 ; Anderson et al. 2000). Ces cas restent rares, sont plus fréquemment observés dans les élevages à forte séroprévalence.

## 2. *Espèce équine*

Chez les équins, la néosporose est une myéloencéphalite à protozoaire. Les chevaux présentent les symptômes suivants : ataxie, faiblesse musculaire, diminution du tonus de la queue (Marsh et al. 1996). Cette maladie peut être due à différents protozoaires du groupe des apicomplexa : *Neospora hughesii*, *Sarcocystis neuronae* et *Toxoplasma gondii* (Marsh et al. 1996 ; Marsh et al. 1999 ; Pronost et al. 2000).

C'est en effet un autre genre de *Neospora* qui est incriminé dans la myéloencéphalite à protozoaire équine.

## 3. *Espèce canine*

Chez le chien, on retrouve les mêmes modes avérés de transmission que chez le bovin. Par contre, la manifestation clinique majeure n'est pas l'avortement mais les symptômes nerveux chez de jeunes chiots (Dubey et Lindsay 1996 ; Peters et al. 2000). Les chiots sont donc les plus touchés et meurent jeunes s'ils sont atteints. Ils développent immédiatement une méningoencéphalomyélite ou une ataxie progressive des postérieurs qui gagne peu à peu tout l'animal (Dubey et Lindsay 1996 ; Peters et al.

2000). Des troubles oculaires, cutanés, pulmonaires peuvent être également associés à la néosporose. Ils peuvent être présents avec les symptômes nerveux classiques.

#### **D. La réponse immunitaire contre *Neospora caninum***

La réponse de l'organisme contre *N. caninum* est humorale mais majoritairement cellulaire. L'activité du système immunitaire semble n'être dirigée que contre les tachyzoïtes qui sont les formes de dispersion. Comme de nombreux protozoaires, les kystes de bradyzoïtes ne sont pas immunogènes et ils sont « tolérés » dans l'organisme (Tizard 2000). Suite à une infection à *N. caninum*, on observe la synthèse de différentes interleukines. La réponse est donc majoritairement à médiation cellulaire initiée par l'interféron  $\gamma$  et l'interleukine 4. Il existe aussi une réponse humorale où des IgG 1 et IgG 2 sont majoritairement synthétisées. Néanmoins, les expériences d'inoculation chez les veaux démontrent qu'une réponse immunitaire n'est pas forcément associée à une efficacité immunitaire (De Marez et al. 1999 ; Anderson et al. 2000). Ainsi, de nombreux veaux réagissent à l'infection mais sont incapables de la juguler.

De nombreuses inconnues demeurent. Ainsi on ne sait pas si une vache séropositive développe suffisamment son système immunitaire pour empêcher un passage vertical à son fœtus lors d'une autre contamination. Surtout, on ne sait réellement pas si une vache séropositive a été seulement en contact avec le parasite et est immunisée contre une réinfestation, ou si elle est contaminée et héberge alors *Neospora* (McAllister et al. 2000).

## **E. Le diagnostic de la néosporose chez les bovins**

On va ici décrire les différentes méthodes directes et indirectes permettant d'établir le diagnostic de la néosporose. On verra quelles sont les limites de ces tests notamment ce qu'on est en droit d'en conclure à l'échelle de l'individu et du troupeau.

On s'est cependant limité aux méthodes rencontrées et couramment utilisées dans les laboratoires départementaux français.

### **1. Les méthodes directes**

Les méthodes qui demeurent des tests de laboratoire de recherche comme l'immunoblot ne seront pas développées ici. Cette méthode devient la méthode de référence pour le diagnostic direct, mais n'est encore utilisée que dans les laboratoires de recherche.

#### **(1) L'histologie**

L'histologie est une méthode sûre de diagnostic direct de *Neospora caninum* mais elle a comme inconvénient que les kystes, bradyzoïtes et tachyzoïtes sont souvent peu nombreux et il faut des histologistes expérimentés pour interpréter les prélèvements.

#### **(2) L'immunohistochimie**

Sur une coupe histologique, on fait incuber des anticorps anti *Neospora* qui vont se fixer sur les tachyzoïtes le plus souvent. Ces anticorps sont des sérums issus de lapins expérimentalement infectés par le parasite. Un antisérum antilapin, lié à un complexe enzymo chimique comme l'avidine biotine ou la peroxydase, est mis en contact avec le prélèvement. Puis on laisse agir le substrat de l'enzyme ce qui entraîne une coloration des tachyzoïtes. Malheureusement, il existe des risques de réactions croisées avec *T. gondii* (Anderson et al. 1994 ; Sundermann et al. 1997).

### (3) *La PCR (Polymerase Chain Reaction)*

La PCR semble une méthode appelée à se développer. Elle permet de détecter les tachyzoïtes dans les pièces prélevées sans aucune transformation. Ces méthodes se sont développées surtout depuis 1996. Différentes amorces ont été testées et retenues (Payne et Ellis 1996 ; Anderson et al. 2000).

Sur des prélèvements comme le foie, l'encéphale ou le cœur, on obtient une spécificité de 100 % (Ho et al. 1996 ; Ho et al. 1997). Aucune réaction croisée avec *T. gondii* n'est notée, à la différence des autres méthodes.

Le seuil de détection du nombre de pathogènes est 5000 tachyzoïtes par gramme de cerveau (Lally et al. 1996 a), ce qui correspond à une faible quantité. Toutefois on n'a aucune certitude de la quantité minimale retrouvée chez des animaux atteints.

La PCR devient de plus en plus employée pour le diagnostic direct de la néosporose. En France, elle est mise en application notamment au laboratoire vétérinaire départemental du Calvados (Pitel et al. 2000). Ses deux inconvénients essentiels sont son coût qui demeure élevé et la diminution de sa sensibilité sur les pièces autolysées, ce qui est souvent le cas des avortons.

Cette technique serait intéressante pour le diagnostic de la néosporose chez les carnivores ainsi que pour la recherche des ookystes dans les fèces (Lally et al. 1996 a).

## 2. *Les méthodes indirectes*

Il s'agit de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-*Neospora*.

L'inconvénient des méthodes indirectes était les réactions croisées qui existaient entre les anticorps (Ac) anti *T. gondii* et ceux anti *N. caninum*. Sur les antigènes (Ag) utilisés au début, dans ces manipulations, les Ag pariétaux de *T. gondii* et de *N. caninum* présentaient une homologie de près de 50 % (Howe et Sibley 1999). Mais progressivement, les Ag ont été mieux identifiés et purifiés (Atkinson et al. 2000).

### (1) *L'immunofluorescence indirecte (IFI)*

C'est la première des méthodes sérologiques mises au point pour détecter *Neospora caninum* dans différentes espèces dont les bovins. Elle permet une mesure quantitative du titre présent chez l'animal testé (Conrad et al. 1993 ; Barr et al. 1995). C'est aussi la méthode de référence pour étalonner d'autres tests comme certains ELISA (voir plus loin).

Les anticorps contre *N. caninum* sont détectés par fluorescence après fixation sur des antigènes. Il faut cependant être habitué à interpréter les fluorescences obtenues, qui doivent entourer complètement les parasites. On considère que le bovin est infecté lorsque le taux d'Ac dépasse le seuil de 1/640<sup>ème</sup> (Pare et al. 1995 a).

Des études comparatives sur les caractéristiques de l'IFI montrent qu'elle a une spécificité proche de 100 % (Pare et al. 1995 a). Depuis ce résultat est à nuancer par les progrès de l'ELISA (cf. infra).

### (2) *La séroagglutination*

C'est une méthode dont le principal intérêt est qu'elle est adaptable à toutes les espèces. Les anticorps spécifiques à chaque espèce que sont les IgM sont scindés par une incubation à la chaleur en IgG. Ce sont eux qui sont détectés par le test (Romand et al. 1998 ; Bjorkman et Ugglä 1999).

L'agglutination est un test sensible et spécifique qui permet aussi de quantifier un taux d'Ac.

### (3) *L'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)*

Le principe de l'ELISA est la fixation des Ac à des Ag fixés au fond d'une cupule. Puis on fait incuber des Ac anti Ac de bovins sur lesquels est fixé un colorant

enzymo-activable. Ainsi, après action de l'enzyme, on mesure une densité optique plus ou moins importante reliée à une concentration plus ou moins forte d'Ac dans le sérum à tester.

Au milieu des années 90 apparaissent les premiers tests ELISA pour détecter *Neospora*. Ce sont des tests qui ont une bonne sensibilité et une bonne spécificité (86 % et 96,5 % pour celui de Pare et al. (1995 b). On leur reproche un risque de réactions croisées et de moins bonnes caractéristiques par rapport à l'IFI.

L'avantage de l'ELISA est que ce test est facilement automatisable et on peut alors effectuer les tests en grand nombre (gain de coût et de rapidité) (Pare et al. 1995 b; Schares et al. 1999 a).

Plusieurs améliorations des tests ELISA ont été apportées dans le but d'augmenter leur sensibilité et leur spécificité. Ainsi certains ELISA utilisent des Ag monoclonaux (Jenkins et al. 1997), parfois recombinants (Lally et al. 1996 b) ou intégrés à des complexes immunostimulants améliorant la présentation de l'Ag à l'Ac cible (Bjorkman et Uggla 1999). Il n'existe alors plus de risque de réactions croisées.

Récemment, en 1999, Bjorkman et al. ont développé un ELISA averse qui permet de différencier avec une bonne précision, une infection précoce d'une infection tardive. Les anticorps, sécrétés précocement suite à une primo-infection, ont une moindre capacité de liaison à l'Ag que des Ac dits « matures », qui vont se lier plus rapidement et en plus grand nombre à l'antigène parasitaire. Les anticorps précoces ont une plus faible spécificité pour les Ag de *N. caninum*. Si on mesure la vitesse de liaison de tous ces Ac, on obtiendra une forte avidité pour des infections installées et une faible avidité pour des primo infections (Bjorkman et al. 1999). La vitesse de liaison est comparée avec celle d'animaux infectés expérimentalement depuis plus ou moins longtemps. Ce test a donc pour intérêt de permettre de « dater » une infection.

L'ELISA devient la méthode de sérodiagnostic de plus en plus utilisée. Ses qualités intrinsèques concurrencent l'IFI. Sa rapidité, son automatisation et le nombre d'échantillons traités par unité de temps, sont d'autres atouts de l'ELISA. De plus, en atelier laitier, des tests sur le lait ayant une corrélation de 95% avec le sérum sont en développement (Bjorkman et al. 1997).

### 3. *Interprétation des résultats de sérologie*

Un résultat sérologique est pratique et fort intéressant sur un animal ayant avorté mais plusieurs auteurs s'accordent pour dire qu'une unique sérologie positive ne signifie que peu de chose : l'animal est porteur du parasite mais ce n'est pas forcément lui ou lui seul, l'agent étiologique de l'avortement (Anderson et al. 1994 ; Dubey et al. 1997 ; Anderson et al. 2000 ; McAllister et al. 2000). D'autre part, on peut observer parfois des phases de masquage des Ac notamment en péripartum. Ainsi, lorsqu'on fait une enquête épidémiologique dans un cadre d'avortement, il faut effectuer deux prélèvements à 21 jours d'intervalle minimum pour mettre en évidence une séroconversion éventuelle (Dubey et Lindsay 1996 ; Stenlund et al. 1999 ; McAllister et al. 2000).

Dans les élevages atteints de néosporose, on ne connaît pas de façon certaine s'il y a une relation entre forte prévalence de l'infection et fort taux d'avortement. Toutefois, les animaux séropositifs ont en moyenne 3 à 5 fois plus de risque d'avorter que des animaux indemnes (Pare et al. 1997 ; Wouda et al. 1999). Mais actuellement, on n'a aucune corrélation entre la concentration en Ac et le risque d'avortement (Pare et al. 1995 b; Schares et al. 1999 b).

Chez le fœtus, les méthodes de diagnostic directes sont à privilégier, les résultats donnés par la sérologie ayant un niveau de certitude trop faible (Wouda et al. 1997). On peut tout de même effectuer des examens sérologiques sur les liquides de la caillette du fœtus et sur le sang fœtal (Barr et al. 1995). Dans ce cas, les seuils de positivité doivent être adaptés, c'est-à-dire diminués (Densité optique de 0,25 contre 0,45 chez l'adulte, dans les ELISA).

La sérologie prend tout son intérêt lorsqu'on se place dans un contexte épidémiologique. Elle est très utile pour mener à bien des études de séroprévalence. Dans ce cas les résultats auront une bonne précision si on interprète à l'échelle du troupeau (Pare et al. 1998). Mais plusieurs enquêtes font état de simple bilan de sérologie parmi une population choisie (les vaches ayant avorté par exemple) (Klein 1997 ; Keefe et VanLeeuwen 2000 ; Waldner et al. 2001). Elles permettent d'avoir une première vision quelque peu sous estimée de la situation avant les études prospectives.

#### 4. Porter un diagnostic de néosporose

Une seule sérologie ne signifie rien sur un animal ayant avorté (cf. supra). Lorsqu'on dispose des pièces de l'avortement, on doit effectuer en même temps un diagnostic direct soit sur l'avorton, soit sur le placenta. Le placenta contient beaucoup moins de tachyzoïtes que l'avorton : la valeur de ce premier échantillon est donc moins bonne (Bergeron et al. 2001 b).

D'autre part, le contexte épidémiologique que constituent les circonstances de l'avortement, et le nombre de ceux-ci sont autant d'indices qui font plus ou moins suspecter la néosporose. Ainsi le nombre d'avortements dans l'élevage, son statut sanitaire vis-à-vis des maladies infectieuses, les signes cliniques associés à l'avortement, l'âge des avortons doivent être recueillis pour mieux préciser le contexte de l'avortement.

Enfin de nombreux laboratoires de diagnostic qui ont fait entrer la néosporose dans le diagnostic différentiel des avortements tiennent compte de ces difficultés d'interprétation. Ainsi, en France, dans de nombreux laboratoires départementaux et GDS (Groupement de Défense Sanitaire), on suspecte fortement la responsabilité de *Neospora caninum* (sérologie positive) lorsque les recherches des autres agents d'avortement sont négatives (IBR, Chlamydies, Salmonelles, champignons, BVD...) (Berger 1999 ; Moreau 2000).

Cependant, *N. caninum* semble pouvoir induire l'avortement en coopération avec d'autres pathogènes tels que le virus BVD (Bjorkman et al. 2000) (cf. infra).

## II. Épidémiologie de la néosporose bovine, impact économique et moyens de lutte actuels

### A. Épidémiologie de la néosporose bovine

#### 1. *Épidémiologie descriptive générale*

*Neospora caninum* est fréquemment isolé dans les cas d'avortement bovin. Sa répartition est mondiale. On estime sa prévalence moyenne mondiale proche de 15 à 20% des cas d'avortements. Dans les populations saines, dans différents pays, sa prévalence avoisine les 5 % (Anderson et al. 2000).

Dans le cas des avortements, on n'arrive à trouver une cause que dans 50 % des cas. Avec la néosporose, on peut expliquer 25 % de ceux-ci. Cependant, on ne peut jamais incriminer *Neospora* de façon certaine sans mise en évidence du parasite chez l'avorton (cf. supra). En effet, la vache avortée peut être porteuse du parasite, sans qu'il soit forcément responsable de l'avortement. On avance seulement le fait qu'une vache séropositive a 3 à 5 fois plus de risques d'avorter qu'une vache séronégative.

Face à une telle importance dans les avortements, de nombreux pays font la recherche quasi systématique de *Neospora* lors d'avortement au même titre que l'IBR, le BVD, les chlamydies, la Fièvre Q, le BHV 4...(Anderson et al. 1994).

Les manifestations cliniques, les voies de transmission de la néosporose ont déjà été décrites dans la partie précédente.

#### 2. *Épidémiologie analytique*

##### (1) *Facteurs de risque de l'infection environnementaux*

On a d'abord mis en évidence et recherché *N. caninum* chez la vache laitière mais on l'a récemment incriminé dans des élevages allaitants avec troubles de la

reproduction. La prévalence y est plus faible que dans les élevages laitiers mais l'infection semble avoir tout de même un impact sur la production. Waldner et al. soulèvent le problème des pertes au stade embryonnaire potentiellement causées par *N. caninum* (Klein 1997 ; Quintanilla-Gozalo et al. 1999 ; Waldner et al. 2001).

La prévalence plus faible dans les élevages infectés allaitants que dans les élevages laitiers se retrouve notamment en Espagne : 18% contre 37% en sérologies individuelles (Quintanilla-Gozalo et al. 1999). On suppose alors que la plus forte concentration animale et le mode de distribution de l'alimentation (mélangeuse, silo) favorise la dissémination des formes infectieuses du parasite (ookystes, tachyzoïtes). Néanmoins, aucune étude n'a réellement vérifié des cas de contamination des stocks de nourriture et d'eau, alors que ce sont des modes d'infection prouvés pour *T. gondii* qui est proche de *N. caninum*. (McAllister et al. 1996 a; Bowie et al. 1997 ; Anderson 2000).

## (2) Facteurs de risque dus à la présence d'un hôte définitif

Le chien a été reconnu comme un hôte définitif de *Neospora caninum* en 1998, résultat qui a été confirmé en 1999 (McAllister et al. 1998 ; Lindsay et al. 1999 b).

La présence d'un chien dans l'élevage a souvent été reconnue comme un facteur de risque dans les élevages (McAllister et al. 1996 a ; Pare et al. 1998 ; Anderson 2000). Dans ces études, on retrouve une association significative entre risque abortif et présence du chien. On reviendra donc sur les implications de cette liaison dans les mesures sanitaires à prendre.

Mais tout n'est pas si simple puisqu'on suppose aussi l'existence d'un cycle complexe du parasite non pas avec un seul hôte définitif, mais avec plusieurs. Des études ont montré qu'il existait des traces sérologiques de *Neospora* chez le renard, le coyote et le dingo (Barber et Trees 1996 ; Lindsay et al. 1996 ; Buxton et al. 1997; Schares et al. 2001). Récemment, un passage vertical a été suspecté chez le renard (Scharès et al. 2001).

Ces faits se rapprochent des observations empiriques faites dans certains élevages infectés, où des fèces de renard ont été retrouvées dans les ensilages.

### (3) *Facteurs de risque liés à des maladies concomitantes*

Les avortements bovins ont de multiples causes. Les causes infectieuses sont aussi nombreuses et on retrouve parfois plusieurs pathogènes associés (*Coxiella* - *Chlamydia*, BVD-IBR...) (Anderson et al. 1994). D'apparentes associations entre de tels pathogènes et *Neospora* ont aussi été relevées. Mais celle qui est la plus intéressante est l'association *Neospora* - virus BVD. Le virus de la BVD est un pestivirus qui induit un état d'immunosuppression chez les animaux infectés, en plus de son pouvoir pathogène propre sur le fœtus.

*Neospora* et le virus BVD sont fréquemment associés. Dans une étude suédoise, 62,5% des vaches avortées séropositives à *Neospora* étaient en plus séropositives pour le BVD (Bjorkman et al. 2000).

On suppose qu'il existe des réactivations du parasite pendant la vie de la vache. Ces phases seraient dues à des périodes de plus faible immunité (Pare et al. 1997 ; Stenlund et al. 1999 ; Hemphill et Gottstein 2000). La gestation ou le passage d'un virus provoquant une immunosuppression, comme le BVD, pourraient être à l'origine de ces phases.

## **B. Situation épidémiologique à travers le monde**

### **1. Répartition géographique**

La néosporose bovine est une maladie mondialement répandue. On la retrouve dans divers pays : Etats-Unis (Anderson et al. 1995 ; Jenkins et al. 2000), les pays européens, Zimbabwe, Nouvelle-Zélande, Canada, Brésil...(Yaeger et al. 1994 ; Dubey et Lindsay 1996 ; Marquer 1999 ; Keefe et VanLeeuwen 2000).

Les manifestations cliniques sont les mêmes dans les différentes régions. Elles correspondent à celles qui ont été développées dans la partie clinique.

## 2. Situation épidémiologique en Europe

Il existe différentes études de séroprévalence ou de simple rapport de cas dans de nombreux pays d'Europe. Ces situations prouvent la localisation ubiquiste de *N. caninum*. Elles seront présentées dans le tableau I.

**Tableau I : Situation épidémiologique de la néosporose en Europe.**

Séro + = séropositif, BV= bovin, VL= vache laitière, VA= vache allaitante, ax= animaux, Nc= *Neospora caninum*.

Pays	Auteurs de l'étude	Année	Type d'étude	Nombre d'individus	Résultats
Europe	(Hemphill et Gottstein 2000)	2000	Revue		Présence en France, Russie, Danemark, Suisse, Suède, Espagne, Pays-Bas, Grande Bretagne, Belgique,
Danemark	(Jensen et al. 1999)	1999	Cas/Témoins	31 troupeaux (16 statut inconnu, 15 séro +)	74 % de troupeaux séro+ (23/31)
Espagne	(Quintanilla-Gozalo et al. 1999)	1999	Étude de séroprévalence	749 troupeaux (498 Allaitantes et 251 laitiers soit 1121 VL et 1712 VA, représentatif du cheptel espagnol 2833 ax)	37% VL séro + 18% VA séro +
Grande-Bretagne	(Otter et al. 1995)	1995	Étude sur 190 avortons	190 fœtus	20/190 avec foyers de type N. c. 8/20 séro +
Grande-Bretagne	(Trees et al. 1994)	1994	Étude de séroprévalence	120 BV avortés 97 BV témoins	9 % de séro + 1 % de séro +
Grande-Bretagne	(Davison et al. 1999 a)	1999	Cas/Témoins	633 BV cas avortés 418 BV témoins	18 % de séro + 6 % de séro +
Pays-Bas	(Wouda et al. 1997)	1995-1997	Cas/Témoins	50 troupeaux + 100 troupeaux -	51,5 % de séro+ dans le groupe cas (+) 13,9 % de séro+ dans les témoins

Comme on le remarque, *Neospora* est un parasite retrouvé dans de nombreux pays d'Europe avec des prévalences similaires entre elles et avec des données américaines par exemple. Ainsi, dans une population de vaches ayant avorté choisies au hasard, on trouve environ 20% de séroprévalence, contre environ 5% sur un échantillon

aléatoire de bovins. Dans le cas des troupeaux, les 74 % de troupeaux séropositifs s'expliquent par le fait qu'ils sont considérés positifs si au moins un individu est positif.

Par ailleurs, la néosporose a aussi été mise en évidence en Suède, depuis 1995 (Holmdahl et al. 1995 ; Stenlund et al. 1997). L'approche de la prévalence dans ce pays n'a pas été effectuée.

Par ailleurs les données de transmission horizontale et verticale, de l'étude de Davison et al. (1999 b), concordent avec celles d'autres études et des modèles mathématiques (French et al. 1999). A partir de 124 vaches laitières séropositives et de leur descendance (estimation de la transmission verticale) et de 154 génisses séronégatives (évaluation de la contamination horizontale), Davison et al. ont estimé le taux de transmission verticale à 95,2% et le taux de contamination horizontale à 1,9%. On admet qu'à une faible prévalence, on aura une faible contamination horizontale (Davison et al. 1999 b).

### 3. Situation épidémiologique au Québec et au Canada

**Tableau II : Situation épidémiologique de la néosporose au Québec et au Canada.**

Séro + = séropositif, BV= bovin, VL= vache laitière, VA= vache allaitante, ax= animaux, Nc= *Neospora caninum*.

Province	Auteurs	Année	Type d'étude	Nombre d'individu	Résultats
Alberta	(Waldner et al. 2001)	2000	Rétrospective	1806 VA de 174 troupeaux 1998 260 VA de 1984	9 % séro + en 1998 13,5% séro + en 1984
Provinces Maritimes	(Keefe et VanLeeuwen 2000)	2000	Rétrospective	90 troupeaux de 1998 (2594 Ax) 516 sérums de 1989 127 sérums de 1979	Présence de Nc depuis 1979 19,2 % de séro+ en 1998 (78,9 % des troupeaux) 15,1 % en 1989 8,7 % en 1979
Québec	(Pare et al. 1998)	1998	Prospective	24 troupeaux cas (avortement d'au moins 1 fœtus porteur de <i>Neospora</i> ) 22 cas témoin	7,5 % des témoins séro + 22,5 % des cas séro + (73 % des troupeaux sont +)

On conclut des études présentées dans le tableau II que *Neospora* est bien présent sur le sol québécois et canadien. La prévalence dans les troupeaux est élevée mais il faut insister sur le fait que l'atelier bovin du Québec est très majoritairement laitier. Or l'atelier laitier est un facteur facilitant la transmission du parasite (cf. supra). Cette prévalence de troupeau se rapproche de celle observée dans certains pays européens (avec des critères d'inclusion similaires : 1 ou 2 vaches séropositives font qualifier le troupeau séropositif) comme en France (64%) ou au Danemark (74 %) (tableau I). En ce qui concerne les individus, on retrouve aussi des valeurs proches des valeurs européennes (Paré et al. 1998), où on a une séroprévalence proche de 20% chez les animaux ayant avorté, contre 7,5 % (proche de 5% en Europe) chez des vaches saines échantillonnées de façon aléatoire.

D'après l'étude de Bergeron et al. (2000), le taux de contamination horizontale au Québec semble correspondre à celui d'autres études (Davison et al. 1999 b) et des modèles mathématiques élaborés (French et al. 1999). A partir de 23 élevages bovins d'environ 90 bovins, Bergeron et al. (2000), ont estimé le taux de contamination horizontale à 3% et 44,5% pour le taux de transmission verticale. Le faible taux de transmission verticale s'explique par le fait que pour chaque vache on n'a comptabilisé qu'un animal (fils ou fille) pour prouver la transmission verticale et non toute la descendance. Sinon on devrait trouver un taux proche des 85 % admis, comme dans l'étude de Davison et al. (Paré et al. communication personnelle).

#### 4. Situation épidémiologique en France

En France, quelques études ont été réalisées pour essayer d'approcher la prévalence de la néosporose dans le pays (tableau III).

**Tableau III : Situation épidémiologique de la néosporose en France.**

Séro + = séropositif, BV= bovin, VL= vache laitière, VA= vache allaitante, ax= animaux, Nc= *Neospora caninum*.

Auteurs	Départements	Année	Type d'étude	Nombre d'individus	Résultats
(Klein 1997)	Orne et Saône et Loire	1997	Rétrospective sur vaches ayant avorté	575 VL/219 VA	26 % des VL séro + 14 % des VA séro +
(Pitel et al. 2000)	Région Ouest	1999	Rétrospective	1373 dont : > 8 avortements < 8 avortements	13 % séro + 6.5 % séro +
(Ould-Amrouche et al. 1999)	Orne	1999	Prospective	1924 (de 42 troupeaux)	5.6 % séro + (64 % des troupeaux)
(Joly 2000)	Morbihan	2000	Rétrospective (la majorité des animaux ont avorté)	1894	30 % séro +

D'après ces résultats, on peut approcher la séroprévalence française de *N. caninum* dans le cheptel bovin à 5% environ. Par contre, on considère que le parasite intervient dans environ 18 % à 25 % des avortements. Rien n'est précisé quant à une association entre divers pathogènes. Les caractéristiques épidémiologiques de vaches ayant avorté à cause de *Neospora* sont les mêmes que celles décrites dans la littérature : avortements sans prodromes, 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> mois de gestation, forte transmission verticale (Journel et al. 1999 ; Pitel et al. 2000).

De plus on peut voir, dans l'étude de Klein (1997), que le troupeau allaitant semble moins touché que le troupeau laitier ce qui est en accord avec les études de Hoar et al. (1996), Quintanilla-Gozaolo et al. (1999), Waldner et al. (2001).

On doit noter qu'on n'a pas ici de vision de la France entière alors que de plus en plus de départements et GDS ont intégré la recherche de *Neospora* dans leur protocole de diagnostic après avortement (Berger 1999 ; Moreau 2000).

## C. Impact économique de la maladie

### 1. Nature des pertes économiques

#### (1) Quelles sont ces pertes ?

Trees et al. évaluent les différentes pertes occasionnées par le parasite (Trees et al. 1999) :

- Avortements.
- Diminution, voire arrêt, de la production laitière.
- Baisse de la valeur marchande des animaux, handicap à la vente.
- Augmentation du taux de réforme.
- Mortinatalité.
- Mortalité embryonnaire (fortement suspectée mais non prouvée ; Waldner et al. ont trouvé une association significative entre baisse du taux de fécondation et séropositivité à *Neospora* (Hoar et al. 1996; Waldner et al. 2001)).

#### (2) A propos de la production laitière

De récentes données prouvent que les vaches atteintes de néosporose subissent une baisse de leur production laitière et cela sans relation avec un avortement associé (Thurmond et Hietala 1997).

Cet effet a été retrouvé chez des primipares uniquement. Elles ont une production diminuée de 1,25 kg de lait par jour environ, soit sur 300 jours de lactation en moyenne, une perte nette de 375 kg de lait par an. Ce chiffre est bien moins que les pertes dues aux mammites subcliniques mais cette diminution de production n'est pas négligeable.

### (3) *Diminution de la valeur marchande des animaux*

La transmission verticale est très efficace pour *N. caninum* (Schaes et al. 1998). De ce fait, de véritables familles « *Neospora* positives » se mettent en place au sein des troupeaux infectés (Davison et al. 1999 b ; Chermette et Marquer 2000 b). Ainsi, comme un statut indemne vis-à-vis de *Neospora* est de plus en plus demandé à l'achat d'animaux, les élevages positifs sont tout de suite pénalisés.

De ce fait il y a une nécessité d'appliquer des mesures strictes pour réduire la prévalence du parasite dans le troupeau pour limiter les pertes qu'il entraîne.

### (4) *A propos de la réforme*

Une étude californienne a estimé, en suivant des animaux infestés par *Neospora*, que les vaches séropositives avaient 1,6 fois plus de chances d'être réformées que les vaches saines. Ce risque est surtout dû aux problèmes de production laitière. Mais dès que la vache a des problèmes de reproduction ou d'avortement, alors elle a 2 fois plus de chances d'être réformée qu'une vache saine (Thurmond et Hietala 1996).

## 2. *Évaluation des pertes*

Aux Etats-Unis, dans l'état de Californie, Dubey estime le coût annuel de la néosporose pour l'industrie laitière à 30 millions de dollars. Il inclut dans cette estimation les pertes dues aux avortements, au remplacement des animaux, à la diminution de la production laitière, de l'efficacité reproductrice, et des frais de diagnostic (Dubey 1999 a).

Un modèle économique a aussi été élaboré par des néozélandais (Pfeiffer et al. 1997). Ainsi pour la Nouvelle-Zélande uniquement, les pertes dues à *Neospora* sont estimées à 16,5 millions de dollars néozélandais (3000 dollars néozélandais par troupeau en moyenne). Les pertes intégrées dans ce modèle sont les pertes dues au veau avorté, à la baisse de production laitière, au coût de la réforme et du remplacement. Par

ailleurs, le modèle tient compte de la prévalence dans le troupeau et se base sur un taux d'avortement faible, de 5 %.

## **D. Moyens de lutte actuels et futurs**

### ***1. Les thérapeutiques possibles***

Seuls des médicaments actifs contre les tachyzoïtes ont été testés. En effet ce sont les formes circulantes qui sont les plus susceptibles d'être atteintes par les différents principes actifs. On admet que les kystes de bradyzoïtes et les ookystes ne sont pas sensibles à la thérapeutique (Dubey, 1999 b).

Une efficacité de l'interféron  $\gamma$  a été montrée *in vitro*. Mais ce principe actif, vu son coût, n'est absolument pas envisageable chez le bovin (Innes et al. 1995). De même, le toltrazuril et le pomazuril, qui sont deux anti-amibiens, semblent actifs mais une application en pratique semble utopique, toujours pour des raisons de coût (Gottstein et al. 2001).

Chez le chien, la clindamycine semble avoir une bonne efficacité, sauf lorsque les lésions nerveuses sont installées (Lindsay et al. 1994). L'utilisation du même principe actif ne peut être envisagée chez le bovin surtout à cause du coût de cet antibiotique sur un animal de 600 kg.

Le décoquinate a une efficacité *in vitro* bien démontrée contre les tachyzoïtes en position intra cellulaire (Lindsay et al. 1997). Mais aucune étude n'a prouvé sa réelle efficacité *in vivo*. Néanmoins, une étude sur son effet bénéfique pour diminuer la transmission verticale et les avortements a été conduite sur des troupeaux bretons. Il apparaît que le décoquinate incorporé en tant qu'aliment médicamenteux est efficace pour diminuer le taux d'avortement (C. Journal communication personnelle).

## 2. *La vaccination est-elle envisageable ?*

Différentes études ont été conduites pour voir les possibilités vaccinales s'offrant contre *N.caninum*. Tout d'abord un vaccin à base de tachyzoïtes lysés a une activité pour protéger la descendance d'une transmission verticale (efficacité établie chez la souris) (Liddell et al. 1999). Récemment, une équipe japonaise a utilisé un vaccin recombinant vectorisé et a obtenu une bonne réponse immunitaire chez la souris BALB/C en empêchant aussi la contamination horizontale (Nishikawa et al. 2001).

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

Ceci est en accord avec les données immunologiques sur les protozoaires. A la différence de *T. gondii*, une infestation à *N. caninum* ne confère pas d'immunité définitive. La vache atteinte peut même avorter plusieurs fois (Dubey et Lindsay 1996 ; Anderson et al. 2000). Ainsi, les vaches demeurent séropositives durant toute leur vie, mais les anticorps synthétisés par la réponse immunitaire ne sont pas protecteurs : les vaches avortent et la transmission verticale est possible.

Des théories actuelles basées sur des observations sur le terrain avancent l'hypothèse que les vaches développent quand même une certaine immunité protectrice face à une seconde infestation (et non une réactivation) : elles ont moins de chance d'avorter (McAllister et al. 2000). Mais aucune étude expérimentale ou enquête plus large n'a prouvé cette hypothèse. L'avenir se trouve peut être dans un vaccin recombinant (Hemphill et Gottstein 2000).

## 3. *Mesures de contrôle sanitaire*

Comme on le voit, peu de mesures préventives ou thérapeutiques sont efficaces à l'heure actuelle. Seules demeurent des mesures sanitaires qui sont applicables dans les élevages.

### (1) *Élimination des animaux séropositifs*

Les vaches séropositives sont tout simplement écartées de la reproduction et réformées. Pour ne pas perdre trop d'investissements, on conseille de pratiquer un croisement industriel sur ces animaux (Journel et Pitel 2001 a ; Thurmond et Hietala 1995). Cependant, la simple élimination des vaches séropositives ne peut suffire à contrôler la situation dans un élevage où la contamination horizontale existe (French et al. 1999). Il est de la même manière aberrant d'appliquer cette mesure de lutte sans avoir dressé la situation épidémiologique de l'élevage : mode de transmission du parasite, prévalence et approche des risques d'avortement (Journel et Pitel 2001 a ; Journel et Pitel 2001 b) (figure 2).

### (2) *Transplantation embryonnaire*

L'embryon âgé de 7 jours issu d'une mère positive ne semble pas atteint par les tachyzoïtes. Cela est dû sans doute au fait que la réactivation du parasite est plus tardive au cours de la gestation. D'autre part, l'embryon de 7 jours est libre sans placenta, et protégé par la zone pellucide ; le risque de contamination à partir de la mère est donc très limité.

Aussi pour préserver certaines lignées génétiques, la transplantation embryonnaire est très intéressante. On pratique suivant une méthode définie par l'International Embryo Transfer Society au cours de laquelle l'embryon subit des lavages à la trypsine, et la receveuse est choisie séronégative (Baillargeon et al. 2001).

### (3) *Élimination des avortons et placentas*

Il a été récemment démontré que le placenta, bien que contenant peu de tachyzoïtes (Bergeron et al. 2001 b), pouvait être infectant chez le chien (Dijkstra et al. 2001), ce qui avait été suspecté depuis longtemps (Thurmond et Hietala 1995 ; Journel et Pitel 2001 b). Désormais cette mesure doit être effective tant le risque d'entraîner une contamination horizontale dans l'élevage existe.

Mais il n'a toujours pas été prouvé que les bovins adultes pouvaient être infectés par des ookystes ou des tachyzoïtes d'origine placentaire par exemple.

#### (4) *Élimination des chiens*

Cette mesure fait partie des premières mesures « drastiques » qui ont été proposées. Or, même si le chien est un hôte définitif de *N. caninum*, l'éliminer sur la seule preuve d'une séropositivité est impensable. De plus dans les expériences de McAllister et al. (1998), et de Lindsay et al. (1999), certains chiens ont excrété des ookystes alors qu'ils étaient séronégatifs. Enfin l'hypothèse a été émise que les chiens, tout comme le chat avec *T. gondii*, n'excrètent qu'une seule fois des ookystes et ce lors de la primo-infestation. Ce sont des hypothèses non encore vérifiées (Dijkstra et al. 2001).

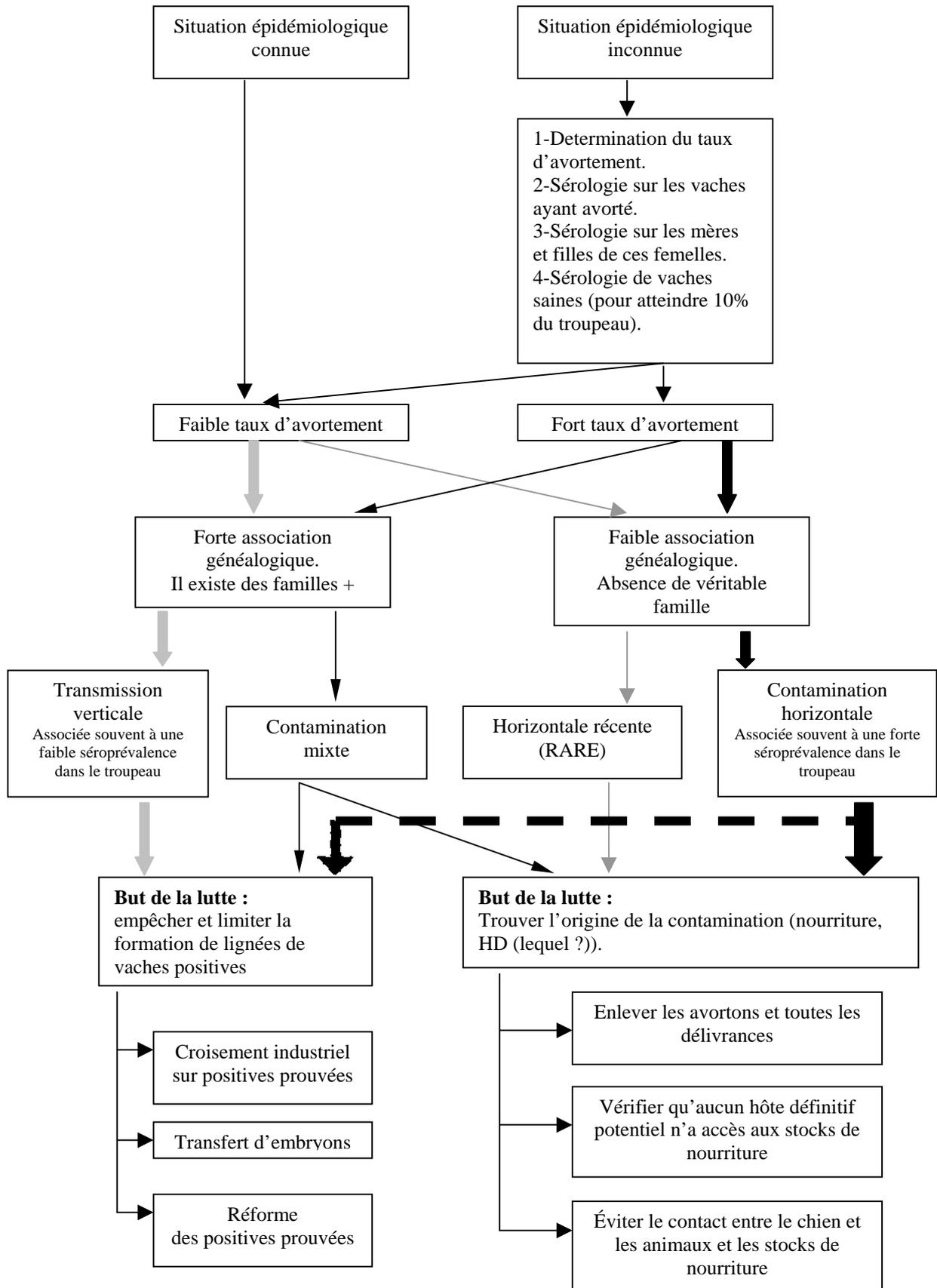
L'hypothèse d'un cycle sauvage avec d'autres hôtes définitifs parmi les canidés sauvages est, elle aussi, fortement suspectée. La conduite d'élevage devient prépondérante pour prévenir une éventuelle contamination de la nourriture par ces hôtes définitifs potentiels.

#### **4. *Politique d'application des mesures sanitaires***

En premier lieu, il importe de connaître le mode de transmission du parasite dans l'élevage. Puis en fonction du nombre d'animaux séropositifs, de la prévalence des avortements et de la volonté de l'éleveur, on choisit les solutions possibles. Cette démarche est présentée dans la figure 2 pour des élevages où un ou plusieurs avortements dus à *Neospora caninum* ont été démontrés.

Il est bon de noter que dans le cas d'une contamination horizontale dont la cause est indéterminée, ces mesures de lutte ne font que contrôler la prévalence sans vraiment la diminuer (French et al. 1999).

**Figure 2 : Politique de lutte contre *Neospora caninum* en fonction de la situation dans l'élevage.**



## Conclusion

Comme on vient de le voir, *Neospora caninum* est un protozoaire qui représente une cause importante d'avortements chez les bovins. Sa situation épidémiologique dans de nombreux pays ne semble pas trop différer. On parle de 4 à 8 % de bovins séropositifs en moyenne. Depuis 1998, le cycle du parasite se précise. On sait qu'il s'apparente à celui de *Toxoplasma gondii* avec un hôte définitif et de nombreux hôtes intermédiaires. Le chien est un des hôtes définitifs mais des hypothèses de cycle sauvage faisant intervenir les canidés sauvages sont avancées. Celles-ci sont de plus en plus renforcées par les observations du terrain. Le parasite se transmet suivant le mode vertical entre les générations (90 % en moyenne des animaux séropositifs engendreront une descendance positive), et suivant une contamination horizontale qui est de l'ordre de 2 à 5 % en moyenne dans les troupeaux infectés. Les animaux séropositifs ont trois fois plus de risque d'avorter au cours de leur vie que leurs congénères séronégatifs. En France, on ne connaît pas encore très bien la situation épidémiologique de la néosporose bovine. Celle-ci est de plus en plus recherchée depuis 1997, il serait intéressant de connaître plus précisément la situation dans les différentes régions françaises, en fonction du type de production (allaitant ou laitier).

Or les laboratoires départementaux vétérinaires disposent de nombreuses données sur différentes maladies et cela dans chaque département. La première partie de notre étude personnelle a donc eu pour but de rassembler ces données pour préciser la situation de la France vis-à-vis de la néosporose

Une fois le bilan français de la néosporose effectué, on se heurte en pratique à l'absence de méthode de lutte valable hormis les mesures sanitaires. Celles-ci doivent être choisies et appliquées en fonction de la situation épidémiologique de l'élevage face au parasite (mode de transmission, prévalence, taux d'avortement). Par ailleurs, leur succès dépend aussi des attentes et de la motivation de l'éleveur. Toutefois, même si ces méthodes sont conseillées depuis le milieu des années 90, on ne connaît pas leur réelle efficacité. A ce jour, aucune enquête n'a réellement évalué ces méthodes, y compris dans les cas de contamination horizontale qui sont très difficiles à contrôler (épidémie d'avortements). La seconde partie de notre étude personnelle s'intéresse à l'impact de ces mesures de lutte sur un groupe d'élevages, ainsi qu'à leur facilité d'application.

**Deuxième partie :**

**Étude de la séroprévalence de la néosporose  
chez les bovins ayant avorté en France.**

**Étude de l'efficacité  
des mesures de lutte sanitaires.**

### **III. Enquête épidémiologique dans les laboratoires départementaux vétérinaires**

#### **A. Introduction**

La néosporose bovine a une importance non négligeable dans les avortements bovins. Comme on l'a vu précédemment, elle explique entre 20 et 30 % des avortements, que *Neospora* soit l'unique responsable ou associé à d'autres pathogènes ; d'autre part les vaches séropositives ont entre 3 et 5 fois plus de risque d'avorter que les femelles séronégatives (Pare et al. 1997). La néosporose est présente dans la plupart des pays européens, et on note des séroprévalences de l'ordre de 20 % sur des populations de vaches ayant avorté. En France, les études qui ont été présentées ne dressent la situation épidémiologique que sur un ou quelques départements ; on retrouve cependant une prévalence sur bovins ayant avorté proche de 25 % (Ould-Amrouche et al. 1999 ; Pitel et al. 2000). Toutefois, on ne dispose pas de données précises quant à la situation épidémiologique française globale.

Or du fait de la politique de prophylaxie, il existe des structures, comme les laboratoires départementaux vétérinaires ainsi que les groupements de défense sanitaire (GDS), qui disposent d'énormes quantités de données sur de nombreuses maladies infectieuses dont la néosporose fait partie.

Aussi le but de cette enquête a été de préciser de manière la plus exhaustive possible la situation épidémiologique française, en s'appuyant sur les données de chaque laboratoire départemental et GDS (le cas échéant). Le bilan ainsi établi devait préciser la prévalence de la maladie dans différentes populations cibles sur une période d'un an, et les éventuelles interactions avec d'autres organismes pathogènes.

## **B. Matériel et méthodes**

### *1. Le questionnaire*

Le questionnaire a été établi début septembre 2000, puis a été envoyé à tous les directeurs de laboratoires départementaux préalablement contactés qui avaient donné leur accord pour participer (cf annexe 1). Trois rappels par courrier et téléphone ont été nécessaires pour collecter les questionnaires.

Différents domaines étaient explorés par ce questionnaire :

#### *(1) Le volume d'activité et les protocoles d'analyses*

On peut se rendre compte du volume des prélèvements traités et surtout de la nature des tests effectués (type de méthode, fabricant et seuil utilisé).

#### *(2) Les résultats d'analyses de recherche de Neospora*

On peut ici différencier les analyses sur bovins ayant avorté, des demandes de recherche dans tout un troupeau. D'autre part, on se rend compte du diagnostic direct ou indirect du parasite dans chaque département.

#### *(3) Les commémoratifs d'analyse*

Ce dernier volet du questionnaire doit permettre de collecter des données plus précises sur les circonstances de demande de l'analyse. Dans le cas des avortements, on pouvait connaître le stade de gestation, l'âge du bovin ou encore si d'autres agents pathogènes abortifs avaient été identifiés simultanément.

#### (4) *Les informations départementales*

On englobe ici la description du cheptel de chaque département, ainsi que l'existence de structure de contrôle sanitaire telle que les groupements de défense sanitaire (GDS).

Pour chaque département, nous avons demandé de préciser la répartition entre cheptel laitier et allaitant. Les données proviennent du dernier recensement agricole en 2000.

### 2. *Les interlocuteurs*

Il y eut deux types d'interlocuteurs : les laboratoires départementaux vétérinaires et les groupements de défense sanitaire.

Les Laboratoires Départementaux Vétérinaires sont des institutions liées à la Direction des Services Vétérinaires de chaque département. Ils centralisent de nombreuses demandes d'analyse et s'impliquent dans les mesures sanitaires de certaines maladies (néosporose par exemple).

Les Groupements de Défense Sanitaire sont des organismes coopératifs privés qui proposent des services aux éleveurs. Ils peuvent mettre en place des politiques d'action sanitaire et en assurer une partie du financement. En ce qui concerne les avortements, de nombreux GDS ont mis en place des « plans avortements » où toute une série d'agents pathogènes (dont *Neospora*) sont recherchés lors d'avortements répétés dans un même élevage (3 avortements en moins de 12 ou 6 mois suivant les GDS) (Berger 1999).

## C. Résultats de l'enquête – Discussion

### 1. Les buts ont-ils pu être atteints ?

Sur l'ensemble du territoire français métropolitain, seuls 34 laboratoires pratiquent des sérologies pour la détection de la néosporose sur un total de 95 laboratoires en France métropolitaine.

Parmi ceux-ci, seulement 3 pratiquent la détection directe sur les fœtus par examen histologique (sur coupe de cerveau, foie, cœur) : les Côtes d'Armor, le Finistère et l'Orne. Le laboratoire du Calvados est le seul à pratiquer la PCR.

D'autres laboratoires n'effectuent pas les recherches de *Neospora* eux-mêmes du fait d'un faible volume de demande d'analyse. Ils réfèrent alors ces demandes d'analyse à certains des 34 LVD recensés.

Contrairement aux premiers espoirs du questionnaire, peu de laboratoires départementaux disposent d'un archivage des commémoratifs d'avortements. Seule une étude sur la population de bovins avortés était réellement possible.

Au final, 31 laboratoires sur 34 ont répondu au questionnaire ce qui donne un taux de réponse de 92 % qui est très satisfaisant. Les réponses de trois laboratoires ne nous sont pas parvenues.

L'enquête permet d'appréhender la séroprévalence de la néosporose en France durant la campagne de prophylaxie 1999-2000, dans la population des bovins ayant avorté.

A notre connaissance, il s'agit là de l'enquête la plus large menée jusqu'ici sur le territoire français. Le très bon taux de réponse obtenu à notre questionnaire donne toute valeur à ces résultats.

## 2. *Les différents laboratoires départementaux recherchant la néosporose*

La plupart des 34 départements qui effectuent la recherche de *N. caninum* sont d'importants départements d'élevage laitier ou allaitant (Nièvre, Calvados, ou Aveyron par exemple). Leurs cheptels dépassent largement le nombre moyen de vache par département (hors Ile de France) : 158 000 contre 96 720 vaches en moyenne. Il s'agit également de laboratoires centralisant toutes les demandes sur une région (département du Jura pour la Franche Comté, ou département des Hautes-Alpes pour la région Provence Alpes Côte d'Azur par exemple). Deux laboratoires (l'Orne et le Calvados), centralisent les demandes d'analyses de nombreux départements (19 départements au total, 13 et 6 respectivement). Ceci s'explique vraisemblablement par le fait qu'ils ont mis au point en premier certaines méthodes de diagnostic de la néosporose (PCR et immunofluorescence indirecte) en diffusant leur résultats dans la presse professionnelle (Pitel et al, 2000 ; Klein et al, 1997).

## 3. *Les tests utilisés pour dépister la néosporose*

Différents tests sérologiques sont utilisés par les laboratoires départementaux interrogés. Les caractéristiques de ces tests seront présentées dans le tableau IV, à partir des données des laboratoires et de l'article de Atkinson et al. (2000).

**Tableau IV: Caractéristiques des tests sérologiques utilisés par les laboratoires départementaux vétérinaires dans le cadre du diagnostic de la néosporose.**

<b>Nom du test sérologique</b>	<b>Sensibilité</b>	<b>Spécificité</b>
Elisa IDEXX	98 %	87-92 %
Elisa Mast	85-97 %	90-100 %
Elisa Intervet	97,5%	95,1%
Séroagglutination Vétoquinol	100 %	97 %
Immunofluorescence indirecte	85,7-90 %	82,4-97 %

#### **4. Les principaux biais de l'étude**

Comme nous l'avons déjà évoqué, la population étudiée est la population de bovins ayant avorté. Toutefois, à l'intérieur de celle-ci, tous les prélèvements fournis aux laboratoires n'ont pas été traités, seuls ceux faisant l'objet d'une demande spécifique de recherche sont recensés. Ainsi nous ne pouvons pas considérer notre échantillon comme représentatif au sens statistique du terme. Ces prélèvements correspondent souvent à des cas d'avortements d'origine infectieuse suspectée (le plus souvent à caractère épidémique). Or ce sont ces avortements qui sont les plus préoccupants : pertes importantes, agent étiologique pas toujours mis en évidence, lutte délicate.

Par ailleurs, comme les tests sérologiques diffèrent entre les laboratoires, tout rapprochement statistique est interdit entre les données interdépartementales. Toutefois les tests présentent des caractéristiques proches et semblent d'une efficacité suffisante pour permettre une bonne estimation de la situation française.

Enfin seuls des examens sérologiques individuels ont été compilés. Ces examens ne sont pas des données idéales pour préciser l'impact réel de la néosporose dans ces avortements. Mais ils demeurent les seules données exploitables dans des études descriptives comme la nôtre.

En conclusion, l'étude réalisée a le mérite de décrire la séroprévalence de la néosporose dans la population de bovins ayant avorté dans chaque département et ainsi que de préciser celle de la France dans la même population.

#### **5. La séroprévalence de *N. caninum* dans les avortements bovins dans différents départements français**

On se référera au tableau V qui récapitule les données des différents départements. La population étudiée permet de cibler plus précisément sur les avortements à suspicion infectieuse (où la recherche de *N. caninum* est réellement une demande). Ce sont les avortements les plus préoccupants du fait des pertes occasionnées, de leur caractère parfois épidémique et de la difficulté à mettre en évidence l'agent étiologique.

Ainsi la séroprévalence de *Neospora caninum* en France parmi les vaches ayant avorté, est en moyenne de 22%. Elle est comprise entre 3% (Saône et Loire) et 52% (Mayenne).

Compte tenu des caractéristiques des tests sérologiques utilisés, la prévalence moyenne de *Neospora caninum* chez les vaches ayant avorté en France peut être estimée avec certitude. Nous retrouvons des résultats similaires à ceux d'études antérieures qui se limitaient à des départements ou des régions (Klein 1997 ; Pitel et al. 2000). De la même manière on observe une séroprévalence proche de celle des autres pays européens (cf. épidémiologie de la néosporose en Europe).

La figure 3 présente la distribution de la prévalence de *Neospora caninum* dans les avortements bovins sur le territoire français. Le tableau V nous précise le détails des données collectées (cheptel, nombre de prélèvements traités...).









## 6. Des précisions sur l'épidémiologie de la néosporose

### (1) Prévalence en fonction du type de production

Notre étude montre une prévalence de *Neospora caninum* de 22% chez les vaches laitières contre 21% chez les vaches allaitantes (dans la population des vaches avortés).

Nous ne remarquons pas de différences importantes entre les vaches laitières et allaitantes contrairement à une autre étude européenne qui mettait en évidence une prévalence plus importante dans le cheptel laitier (Quintanilla-Gozalo et al. 1999).

### (2) Les interactions entre agents pathogènes

L'interaction entre *Neospora* et d'autres agents pathogènes est étudiée dans 5 départements : le Calvados, le Jura, le Doubs, la Haute Saône et le Territoire de Belfort. Ces départements regroupent 425 600 vaches majoritairement laitières.

Dans 531 cas d'avortement où *Neospora* et le virus BVD ont été recherchés, on note une présence simultanée de *Neospora* et du virus BVD dans 39 cas d'avortement sur 531 (7,3%). Le virus de la BVD est le seul des deux présents dans 258 cas sur 531 (48,6%) et *N. caninum* est seul dans 41 cas sur 531 (7,7%). Contrairement à une étude suédoise (Bjorkman et al, 2000), aucune association forte n'a été mise en évidence dans les départements français pour lesquels l'information était disponible. Cette différence s'explique probablement par la très importante prévalence du virus BVD en Suède par rapport à la France.

### (3) *Le stade de gestation lors de l'avortement*

Seules des données étudiées au laboratoire du Calvados peuvent permettre de connaître le stade de gestation au moment de l'avortement. Sur la période septembre 1999 – septembre 2000, le stade de gestation moyen des vaches ayant avorté, où *Neospora* a été mis en évidence (104 cas), est de 4 à 6 mois, ce qui est en accord avec les données épidémiologiques actuelles.

### 7. *Les différentes politiques de recherche et de contrôle appliquées*

On insistera brièvement ici, sur le rôle important des GDS dans les politiques de recherche d'agents abortifs. Grâce à certaines analyses prises en charge financièrement par certains GDS, le nombre d'avortements déclarés est élevé et la recherche de l'agent causal est plus rigoureuse qu'un simple examen sérologique sur la vache ayant avorté : la recherche est élargie à un échantillon du troupeau.

En moyenne, lorsqu'un élevage est victime de plus de 3 avortements sur une période inférieure à 12 mois (parfois 6 suivant la politique du GDS), des prélèvements sont effectués sur un échantillon du troupeau incluant les vaches ayant avorté. Les agents habituels sont recherchés (BVD, IBR, *Coxiella burnetii*, *N. caninum*). Ainsi en reliant ces résultats à la situation de l'élevage, l'origine des avortements dans les élevages peut être mieux cernée.

### **D. Que penser de la prévalence actuelle de la néosporose en France ?**

L'exploitation des résultats des laboratoires départementaux démontre d'une richesse de données peu souvent exploitée et dont l'informatisation à venir simplifiera le traitement.

Au vu de notre enquête en France, nous pouvons émettre l'hypothèse que *Neospora caninum* est présent dans 15 à 25 % des avortements bovins. Ces résultats pouvaient être prévisibles lorsqu'on se réfère aux modèles épidémiologiques d'agents

infectieux similaires (endémique, double voie de contamination). La prévalence de ces maladies reste souvent similaire entre les pays pour une population étudiée (vaches ayant avorté par exemple).

Toutefois, nous ne pouvons rien affirmer quant à sa responsabilité réelle en tant qu'agent abortif. Or il est objectivé qu'une vache séropositive a entre 3 et 5 fois plus de risque d'avorter qu'une vache séronégative. Ainsi avec les résultats de cette enquête, nous pouvons conclure que la néosporose est un agent important lié aux avortements des bovins. Sa présence en France ne doit pas être sous-estimée par les praticiens et les laboratoires d'analyse. Dans chaque structure départementale, des informations doivent être données aux éleveurs et aux vétérinaires.

On peut espérer que d'autres études préciseront un peu mieux l'implication de *N. caninum* dans les avortements bovins. Le problème de la lutte et du contrôle de l'infection se pose alors. Seules des mesures sanitaires sont proposées actuellement. L'instauration de ces mesures de lutte doit être réfléchi en fonction de la situation de l'élevage. Nous nous intéresserons à leur efficacité et à leur facilité d'application dans une deuxième étude.

## **IV. Étude sur l'efficacité des moyens de lutte appliquée dans le cadre de la prévention de la néosporose**

### **A. Introduction**

Comme nous l'avons mis en évidence dans l'étude présentée ci-dessus, la présence de la néosporose est importante en France. La présence du parasite est mise en évidence (par la détection d'anticorps maternels) dans 20% à 30% des cas d'avortements bovins (Ould-Amrouche et al. 1999 ; Pitel et al. 2000 ; Quintanilla-Gozaló et al. 1999, notre étude). L'impact économique des avortements à *Neospora* et plus particulièrement celui des épisodes d'avortements épizootiques, justifie la recherche de mesures de lutte efficaces.

Aucune des méthodes de lutte thérapeutiques (antiparasitaires) ou vaccinales contre *N. caninum*, actuellement disponibles, ne semble applicable et efficace à ce jour (Anderson et al. 2000). Actuellement, seules des mesures de lutte sanitaires sont proposées : éloignement des chiens, élimination des placentas et avortons, croisement industriel ou transplantation embryonnaire, voire réforme des vaches séropositives.

Cependant, aucune évaluation de l'efficacité des mesures sanitaires proposées n'a été envisagée sur des troupeaux bovins en tenant compte des deux voies de transmission (verticale et horizontale). Le but de notre seconde étude est d'essayer d'évaluer plus précisément l'efficacité de ces mesures de lutte un an après leur mise en place dans des élevages atteints de néosporose. Mais nous insisterons en premier lieu sur le lien entre la prévalence de l'infection et le taux d'avortements dans les élevages. Enfin, la facilité d'application de ces mesures par les éleveurs sera discutée.

## **B. Matériel et méthodes**

### **1. Les groupes d'étude**

Neuf élevages laitiers sont entrés dans l'étude. Ils sont constitués de vaches de race Prim'Holstein, dans la région centre Bretagne. L'effectif moyen est de 44 vaches en production (27 à 73 vaches). Tous ces élevages ont un historique de néosporose avec avortements depuis 1,5 ans en moyenne (1 an à 4 ans). Les vaches qui ont avorté, étaient séropositives envers le parasite, aucune autre cause infectieuse n'a été mise en évidence. Dans chaque élevage, différentes mesures de lutte ont été mises en place entre 12 et 18 mois auparavant. Un des neuf élevages ne les a pas appliquées et constitue l'élevage témoin.

Durant la période d'étude (décembre 1999 – décembre 2000), les avortements des animaux ont été répertoriés. Aucune circulation d'autres agents pathogènes abortifs n'a été relatée durant l'année d'étude. Les avortements survenus ont été déclarés par l'éleveur. Certains ont fait l'objet de recherche pour mettre en évidence d'autres agents pathogènes abortifs, mais aucun n'a été mis en évidence. Les avortements des vaches séropositives ou se séroposant au cours de la période de l'étude, sont alors considérés dus à *N. caninum* (en l'absence de certitude par diagnostic direct). Par ailleurs nous avons considéré que la contamination horizontale était responsable d'une nouvelle infection lorsqu'un animal se séroposait alors que sa mère était séronégative.

### **2. Les données déjà existantes**

Pour les neuf élevages de notre étude, nous disposons de résultats sérologiques effectués en décembre 2000 sur la totalité des femelles de plus de 12 mois. Ainsi ces 9 élevages vont permettre d'étudier une relation éventuelle entre la prévalence de *Neospora caninum* dans les élevages et l'incidence des avortements.

Mais au début de l'enquête en décembre 1999, les résultats sérologiques de la totalité des femelles de plus de 12 mois ne sont disponibles que pour trois élevages. Un

de ceux-ci est l'élevage témoin ; il n'a pas appliqué les mesures de lutte proposées. La prévalence de la néosporose dans les six autres élevages avait été estimée en prélevant 10% de chaque troupeau et préférentiellement les vaches ayant avorté et leur famille (sœur(s), mère, fille(s)). Les trois élevages vont permettre de faire une première approximation de l'efficacité des mesures sanitaires.

### **3. *Le questionnaire d'enquête***

Avant chaque visite de notre part, un questionnaire est envoyé aux éleveurs. Il permet de préciser de quelle manière et avec quelle facilité les mesures de lutte ont été mises en place. L'éleveur devait commenter la facilité et donner son impression sur l'efficacité des mesures de lutte qu'il avait mises en place. Par ailleurs, le questionnaire permet de connaître l'évolution de la situation dans les élevages : nombre d'avortements, épisode d'avortements épizootiques, veaux présentant des troubles nerveux. Le questionnaire est présenté en annexe 2

### **4. *Les mesures de lutte appliquées dans chaque élevage***

Ce sont les mesures sanitaires largement décrites dans la littérature (Journal et Pitel 2001 a ; Thurmond et Hietala 1995) :

- Elimination des placentas et avortons
- Contrôle de la circulation du chien (interdiction de contact avec les animaux et les stocks de nourriture).
- Dans les élevages de faible prévalence (<15%), élimination progressive des vaches positives par la réforme et le croisement industriel (croisement avec des taureaux type viande, les veaux partant en engraissement)
- Transplantation embryonnaire (mais aucun élevage ne l'a utilisée).

Pour les trois élevages qui entrent dans l'évaluation des moyens de lutte en tant que tels, la prévalence de l'infection à *Neospora* est supérieure à 40 % et les éleveurs ont choisi de ne pas éliminer leurs animaux positifs. Le recours à la transplantation embryonnaire, pour sauvegarder la génétique, était jugé trop onéreux. Un des élevages

n'a appliqué aucune des mesures décrites (élevage témoin). Dans les deux autres élevages, le contrôle de la circulation des chiens, le croisement industriel, l'élimination de certaines vaches séropositives, et l'élimination des placentas et avortons, étaient les mesures de lutte mises en place.

## **5. *Les animaux prélevés et les prélèvements***

Toutes les femelles de plus de 12 mois ont été prélevées fin décembre 2000. Les prises de sang étaient effectuées à la veine coccygienne, sur tube sec par le procédé Vacutainer®. Ils ont été envoyés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes pour analyse sérologique.

## **6. *Les analyses (recherche d'anticorps anti-Neospora caninum)***

Elles ont été effectuées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes au service de Pathologie de la Reproduction. Une double analyse était pratiquée par séroagglutination (kit VETOQUINOL, spécificité 97%, sensibilité 100%) et par ELISA (kit IDEXX, spécificité 87-92%, sensibilité 98%). Pour l'ELISA, des dilutions ont été effectuées pour chaque sérum de manière à approcher le titre en anticorps. Pour chaque dilution, le test est utilisé suivant les conditions d'utilisation données par le fabricant. Le sérum est considéré positif s'il est réactif à partir de la dilution au centième (1/100).

Pour l'étude, les bovins sont considérés séropositifs s'ils sont positifs au test ELISA.

## **7. *Le traitement statistique des données***

Dans le cas des trois élevages, l'efficacité des moyens de lutte est évaluée, car nous pouvons comparer les prévalences réelles en décembre 1999 et en décembre 2000. Par contre, il n'y aura pas de traitement statistique mais uniquement des tendances statistiques car l'échantillon est trop réduit.

Pour les neuf élevages, le taux d'avortement (la plupart probablement dus à *Neospora*) est évalué en fonction de la prévalence de la néosporose, un an après la mise en place des mesures de lutte. Ce taux est le rapport du nombre d'avortements survenus dans chaque élevage pendant l'année d'étude, sur le nombre de vaches dans l'élevage.

Cette variation est appréhendée par un test de corrélation puis une régression linéaire, effectués sur les logiciels Excel et SAS system.

Dans la suite de l'étude, le début de l'étude en décembre 1999 sera noté Temps A, et la fin de l'étude en décembre 2000 sera notée Temps B.

## **C. Résultats**

### ***1. Variation du taux abortif en fonction de la prévalence de la néosporose***

#### ***(1) Préalables***

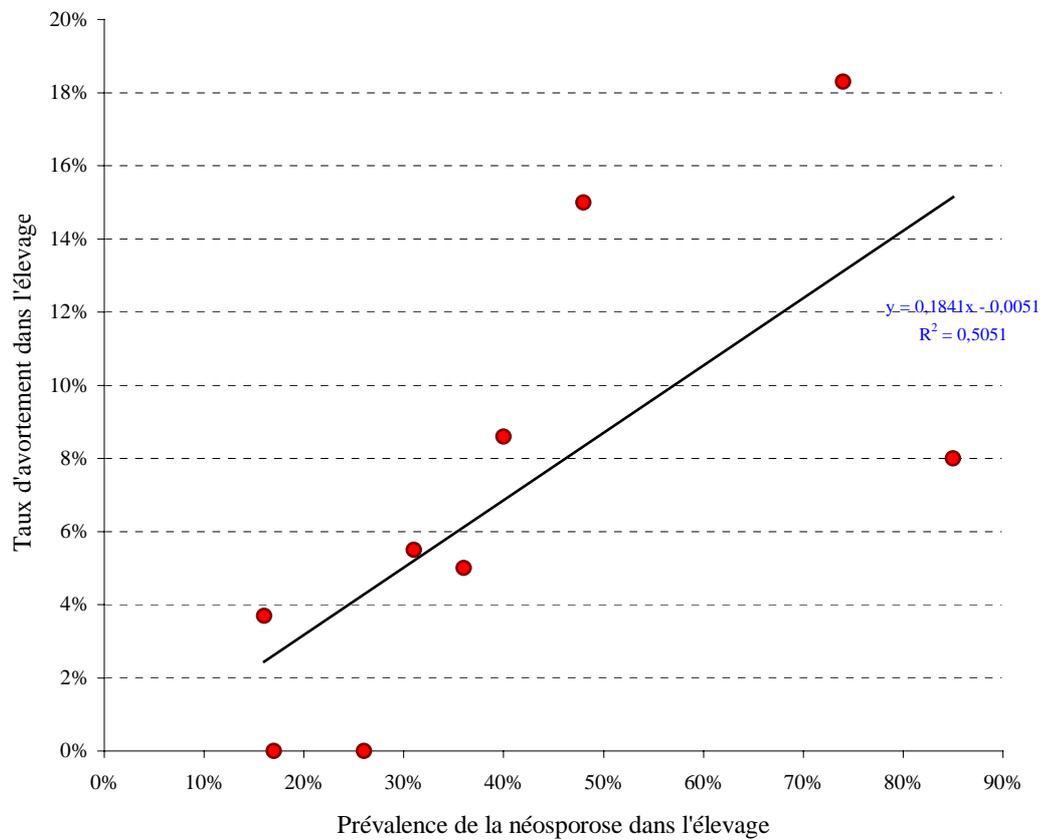
Un bovin séropositif a 3 à 5 fois plus de risque d'avorter qu'un bovin séronégatif (Paré et al, 1996). Par contre, un examen sérologique positif d'une vache ayant avorté ne permet pas de conclure de façon certaine que *Neospora caninum* est l'agent étiologique de cet avortement.

#### ***(2) Le taux d'avortement augmente avec la prévalence***

La prévalence moyenne dans les 9 élevages étudiés est de 41,4% (16% à 85% ;  $\sigma$  : 22,6%). Parmi les 9 élevages, les situations épidémiologiques sont variées. Quatre ont un mode de contamination de type horizontal. Les cinq autres ont un mode de transmission du parasite vertical. Les modes de transmission ont été mis en évidence à partir des généalogies dans chaque élevage, et du contexte épidémiologique des avortements survenus (nombre, fréquence).

Le taux d'avortement moyen dans ces élevages, pour l'année 2000, est de 7,1% (0% à 18,3% ;  $\sigma$  : 5,9%). Il est plus élevé que le taux habituellement toléré (5%). Nous nous référerons au tableau VI.

Le taux d'avortement est significativement et positivement corrélé à la prévalence de la néosporose dans l'élevage ( $r=0,71$ ;  $p=0,05$  ;  $n=9$ ) comme nous le remarquons sur la figure 4.



**Figure 4 : Variation du taux d'avortement en fonction de la prévalence au temps B (12/2000).**

**Tableau VI : Prévalence au temps B et taux d'avortement des élevages durant l'année d'application des mesures de lutte.** Les séries de taux sont statistiquement corrélées ( $r=0,71$  ;  $p=0,05$  ;  $n=9$ ). Les avortements étaient très majoritairement dus à *Neospora*.

	Prévalence en B (12/2000)	Taux d'avortement entre A et B (12/1999 à 12/2000)	Nombre d'avortements survenus durant [A-B]	Nombre de vaches en production dans les élevages
Elevage 1	48%	15,0%	11	73
Elevage 2	85%	8,0%	5	62
Elevage 3	74%	18,3%	11	60
Elevage 4	16%	3,7%	1	27
Elevage 5	40%	8,6%	3	35
Elevage 6	36%	5,0%	2	40
Elevage 7	31%	5,5%	2	36
Elevage 8	26%	0,0%	0	31
Elevage 9	17%	0,0%	0	32

Si nous appliquons cette relation, il faut maintenir une prévalence inférieure à 27%, pour contrôler un taux d'avortement de 5% minimum.

## ***2. Situation épidémiologique dans les trois élevages (efficacité des mesures de lutte)***

### ***(1) Rappels préalables***

Pour les trois élevages inclus dans l'étude, les prévalences sont connues en décembre 1999 et en décembre 2000, pour la totalité des animaux femelles des troupeaux. Les élevages II et III ont appliqué des mesures de lutte qui seront détaillées après. L'élevage I est l'élevage témoin où aucune mesure n'a été appliquée.

(2) *Prévalence de la néosporose dans les élevages en décembre 1999 et en décembre 2000*

La prévalence de la néosporose de chaque élevage est comparée au cours de l'année d'étude. Les résultats sont présentés dans les tableaux VII, VIII et la figure 5.

**Tableau VII : Résultats des examens sérologiques des trois élevages :** en rouge apparaissent les nouveaux cas qui ont séroconverti et en bleu, le total des bovins testés aux temps A et B (12/1999 à 12/2000).

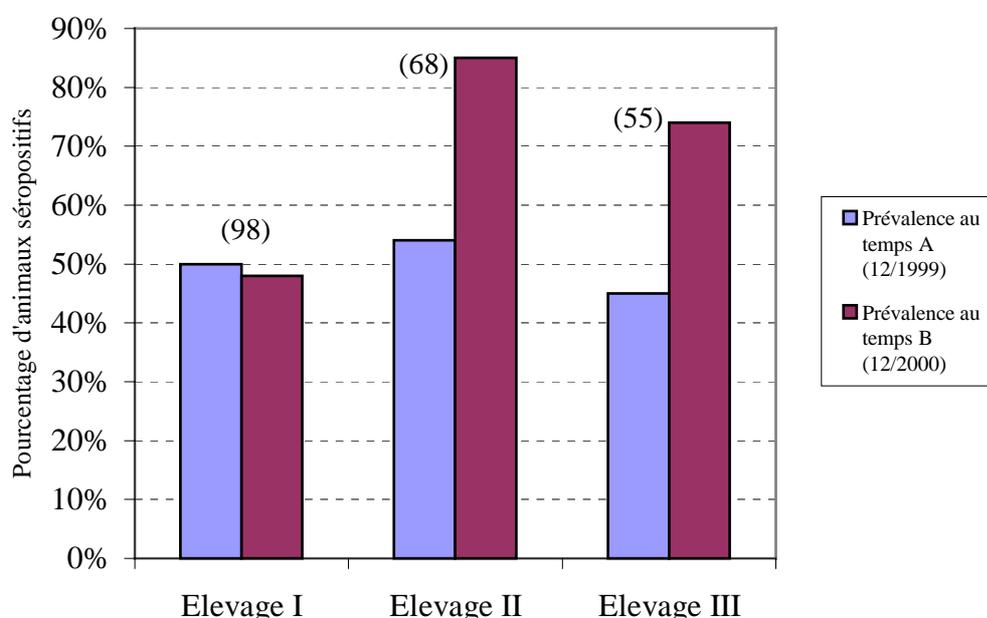
Elevage I		Temps A - 12/1999		Total
		Positifs	Négatifs	
Temps B 12/2000	Positifs	39	8	47
	Négatifs	10	41	51
	Total	49	49	98

Elevage II		Temps A - 12/1999		Total
		Positifs	Négatifs	
Temps B 12/2000	Positifs	36	22	58
	Négatifs	1	9	10
	Total	37	31	68

Elevage III		Temps A - 12/1999		Total
		Positifs	Négatifs	
Temps B 12/2000	Positifs	24	17	41
	Négatifs	1	13	14
	Total	25	30	55

**Tableau VIII : Prévalence comparée de la néosporose dans 3 troupeaux sur un intervalle de 1 an après mise en place de mesures de lutte.** Les proportions de nouveaux cas apparaissent aussi.

	Prévalence au temps A (12/1999)	Prévalence au temps B (12/2000)	Taux d'incidence (nouveaux cas)	Cas négatifs durant l'étude	Cas toujours positifs en B (12/2000)	Taux de contamination horizontale
Elevage I	50%	48%	8%	10%	40%	2%
Elevage II	54%	85%	32%	1%	53%	10%
Elevage III	45%	74%	31%	2%	44%	13%



**Figure 5 : Evolution de la prévalence de la néosporose.** Les effectifs de chaque troupeau sont rappelés entre parenthèses.

En décembre 1999, la situation de la néosporose dans les trois élevages est proche. La prévalence de l'infection est élevée, autour de 50%.

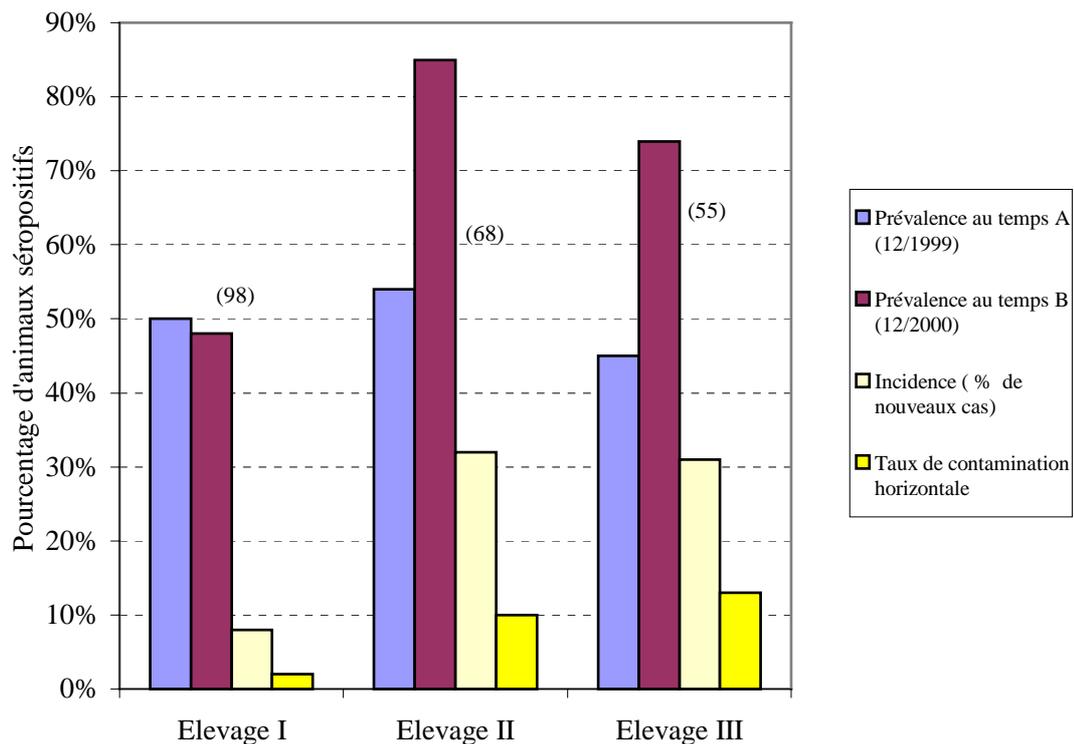
En décembre 2000, la prévalence de la néosporose des élevages II et III (qui ont mis en place les mesures de lutte) a nettement augmenté, elle est respectivement de 85% et 74%. Au contraire, la situation dans l'élevage I (sans mesure de lutte) n'a pas beaucoup changé : la prévalence dans le troupeau est restée proche de 50% (figure 5 et

tableau VIII). Nous allons préciser les diverses causes de ces augmentations de prévalence.

(3) *Importance des nouveaux cas*

Le nombre de nouveaux cas apparus au cours de l'année 2000 est très important dans les élevages II et III, ils expliquent le maintien de l'infection dans les élevages quasiment à eux seuls (figure 6).

En effet, l'incidence de la néosporose est très importante dans les élevages II et III (32% et 31%). A l'inverse, dans l'élevage I, le parasite semble moins circuler et l'incidence est faible (8%).



**Figure 6 : Incidence de la néosporose et contamination horizontale.**

(4) *Importance de la contamination horizontale*

La contamination horizontale est mise en évidence par les nouveaux cas issus de mère séronégatives. Le taux de contamination horizontale est le rapport de ces nouveaux cas issus de mère séronégative sur la population à risque (population séronégative au début de l'étude).

**Tableau VIII : Statut des mères des nouveaux cas apparus dans chaque élevage.**  
(les chiffres correspondent au nombre de cas)

	Nombre de vaches séronégatives au temps A	Statut sérologique des mères de nouveaux cas		
		Statut sérologique inconnu	Séropositives	Séronégatives-
Elevage I	49	5	2	1
Elevage II	31	13	6	3
Elevage III	30	2	11	4

La contamination horizontale est présente dans les trois élevages suivis mais deux situations différentes sont notées (figure 6, tableau VIII). Le taux de contamination minimal calculé suppose que les mères de statut inconnu sont séropositives. Le taux de contamination minimal calculé suppose que les mères de statut inconnu sont séronégatives.

Ainsi nous remarquons que dans l'élevage I, nous avons peu de nouveaux cas réellement « horizontaux » entre 2% et 12%. Le mode de transmission majoritaire du parasite dans cet élevage est sans doute la voie verticale.

Dans les élevages II et III, la contamination horizontale est importante.

Dans l'élevage III, des familles infectées par *Neospora* sont en formation. Ainsi la plus grande part de nouveaux cas descendent de mères déjà séropositives avant le début de l'enquête. Les vaches séropositives entretiennent grandement l'infection parasitaire dans cet élevage. L'incidence de la contamination horizontale est de plus assez élevée (entre 13% et 20%). Le parasite continue toujours à circuler par voie horizontale dans cet élevage.

Dans l'élevage II, l'incidence de la contamination horizontale est très probablement élevée : entre 10% et 50%. Compte tenu de la forte prévalence de l'infection dans cet élevage, le risque de contamination horizontale est augmenté.

Toutefois, ces résultats doivent être relativisés pour les élevages I et II, pour lesquels respectivement, 5 mères sur 8 et 13 mères sur 22 avaient un statut sérologique inconnu (tableau VIII).

L'importance de la contamination horizontale, l'incidence de l'infection sont donc bien différentes entre l'élevage témoin et les élevages II et III. La situation épidémiologique n'est donc pas la même dans les trois élevages suivis : *Neospora* continue à circuler surtout de manière horizontale dans les élevages II et III; le parasite semble ne pas trop circuler dans l'élevage I. Il se transmet simplement de génération en génération sans contaminer d'autres animaux : la transmission verticale est majoritaire.

### 3. *Application et efficacité des mesures de lutte*

#### (1) *Les mesures de lutte proposées*

Ce sont celles évoquées dans la partie « Matériel et méthode ». Dans chaque élevage, l'élimination des placentas, l'interdiction de contact chien – animaux et stocks de nourriture, le croisement industriel ont été proposés. La réforme immédiate de certains animaux séropositifs est conseillée sur les vaches les plus âgées.

#### (2) *L'impression des éleveurs*

Dans les neuf élevages interrogés, l'un d'eux n'a pas appliqué les mesures de lutte (l'élevage témoin). Les huit autres élevages ont estimé que les mesures de lutte étaient moyennement faciles à mettre en place, mais les éleveurs sont encouragés par l'efficacité, même faible parfois, de celles-ci.

Le critère de satisfaction des éleveurs est la diminution du nombre d'avortements. Ils ont noté une faible amélioration. Leur note de satisfaction moyenne est de 3 sur 5.

### (3) *Des difficultés à la mise en place des mesures de lutte*

Dans le tableau X et la figure 7, deux éléments mettent en évidence les difficultés d'application des mesures de lutte que sont l'élimination des animaux séropositifs et le croisement industriel avec un renouvellement de vaches séronégatives.

Tout d'abord, l'élevage II a bien effectué l'élimination de certaines de ses vaches séropositives (nombre de vaches séropositives en décembre 1999 : 68, par rapport au nombre de bovins séropositifs toujours présents en décembre 2000 : 36) mais beaucoup d'animaux de renouvellement sont séropositifs (23). Ainsi le bénéfice de certaine réforme n'est pas confirmé par l'arrivée d'un animal séronégatif.

Ensuite, l'élevage III n'a pas éliminé de nombreuses vaches séropositives (seulement 7) ; le renouvellement s'est aussi fait majoritairement avec la descendance de nombreux animaux séropositifs (18).

Ces deux élevages appliquent correctement l'élimination des placentas et le contrôle de la circulation des chiens. Mais du fait de la prévalence de l'infection parasitaire, l'élimination des vaches séropositives et le renouvellement par des animaux séronégatifs ont un coût trop important. Comme le parasite circule selon un mode horizontal, le contrôle de l'infection est encore plus difficile ; les nouveaux animaux séronégatifs auraient un risque non négligeable d'être contaminés.

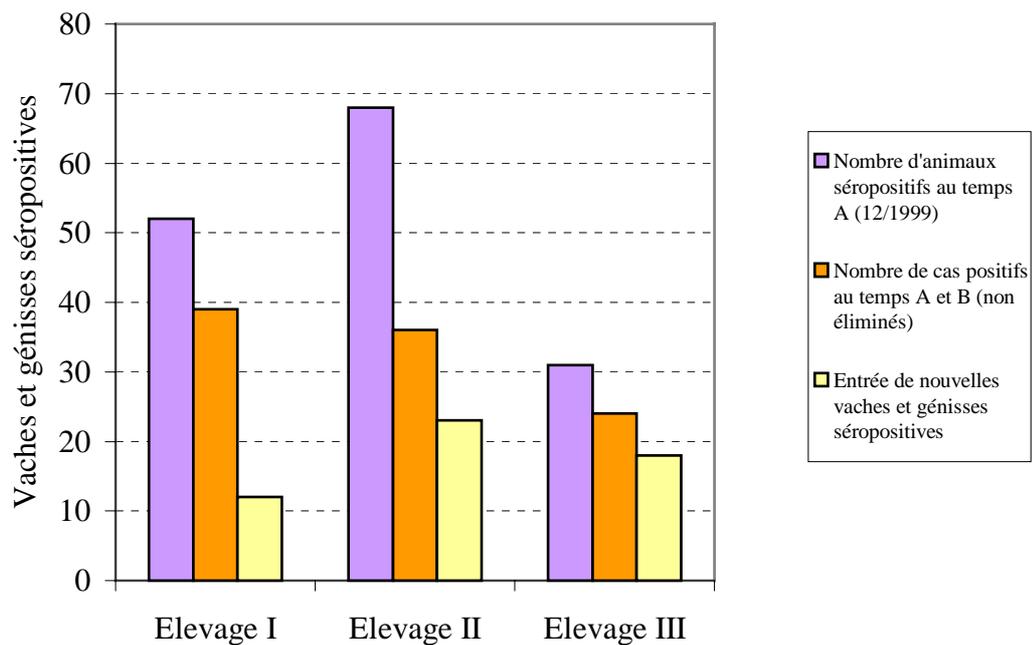
Dans l'élevage I, l'élevage témoin, il n'y a pas eu d'élimination des animaux séropositifs. Seule la réforme normale annuelle a permis d'éliminer certaines vaches séropositives.

Les mesures de lutte ne sont jamais suivies avec exactitude. Ainsi le croisement industriel et l'élimination de certaines vaches séropositives, sont délicats à mettre en place à cause du coût surtout dans des élevages où la prévalence de l'infection dépasse les 50%. Les coûts sont considérables et le renouvellement n'est pas aisé. Ces élevages préfèrent alors lutter sur plusieurs années, en éliminant très progressivement. Toutefois

le renouvellement par des animaux séronégatifs est encore trop faible pour les élevages II et III même en s'inscrivant dans une lutte de longue durée.

**Tableau X : Faible élimination de vaches séropositives, une part importante du renouvellement est effectué par des animaux séropositifs.**

	Nombre d'animaux séropositifs au temps A (12/1999)	Nombre de cas positifs au temps A et B (non éliminés)	Entrée de nouvelles vaches et génisses séropositives
Elevage I	52	39	12
Elevage II	68	36	23
Elevage III	31	24	18



**Figure 7 : Faible élimination des vaches séropositives, renouvellement par des vaches et génisses séropositives.**

(4) *La prévalence de la néosporose augmente malgré les mesures de lutte*

Malgré les mesures de lutte, la prévalence de la néosporose a augmenté dans les élevages II et III. Cette augmentation s'explique surtout par une faible élimination des animaux séropositifs et un renouvellement délicat (où les nouveaux animaux sont trop souvent séropositifs) que nous venons de mettre en évidence. Mais le mode de transmission du parasite dans les élevages est responsable de cette augmentation. En effet, *Neospora* circule de manière horizontale à des taux très élevés (13% et 10%) dans les élevages II et III. Ainsi l'incidence de l'infection est très importante et est difficilement contrôlée par les mesures de lutte proposées.

A l'inverse, dans l'élevage I, le parasite se transmet par voie verticale dans quelques familles. La situation épidémiologique du parasite est complètement différente dans cet élevage témoin : elle est assez stable durant l'année d'étude. Ici les mesures de lutte n'auraient pu servir qu'à prévenir une éventuelle contamination horizontale (élimination des matières infestantes).

## **D. Discussion**

### **1. *Une relation entre la prévalence de la néosporose et le taux d'avortement***

Nous avons montré que le taux d'avortement était lié à l'importance de la prévalence de la néosporose dans les élevages étudiés. *Neospora* est véritablement un agent abortif (ou prédisposant pour l'avortement) important et non négligeable comme le souligne cette relation fortement corrélée. Cette relation est sans doute légèrement surestimée car la majorité des avortements survenus ont été considérés comme causés par *Neospora caninum*. Mais la relation existe, ainsi il est évident qu'on doit essayer de minimiser la prévalence de la maladie dans les élevages. Toutefois elle nécessite d'être validée sur un plus grand nombre d'élevages. Elle permettrait alors à partir d'un taux

d'avortement annuel essentiellement dus à *Neospora*, d'estimer la prévalence du parasite dans l'élevage sans forcément faire de multiples analyses coûteuses voire d'approcher le nombre d'avortements que pourraient subir un troupeau.

Les mesures sanitaires doivent être appliquées dans ce sens. Il faut identifier les voies de transmission du parasite et estimer sa prévalence dans l'élevage atteint. Les élevages soucieux, pourront aussi vérifier le statut de leurs animaux achetés.

## **2. *La contamination horizontale est une évidence !***

L'efficacité des mesures de lutte habituellement proposées a pu être estimée. On estime que la néosporose se transmet essentiellement par la voie verticale avec près de 90 % d'efficacité du passage de la mère au fœtus (Davison et al. 1999 b). Par ailleurs, des études ont montré que la contamination horizontale existait. Chez des génisses saines, introduites dans des élevages infectés, on note des taux de séroconversion de 2% à 5% (Davison et al. 1999 b ; Bergeron et al. 2000). Un modèle mathématique de l'infection à *Neospora caninum* chez les bovins prouve que la néosporose peut se maintenir dans les élevages à des prévalences stables avec la nécessité d'une faible proportion de contamination horizontale (French et al. 1999). Il est alors conclu que lutter contre cette maladie dans des élevages où la voie horizontale est importante demeure très difficile avec les mesures sanitaires, tant qu'on ne connaît pas la source des ookystes. C'est aussi la tendance qui ressort des 3 élevages suivis.

La contamination horizontale est une évidence, comme le montre le nombre de nouveaux cas issus de vaches initialement séronégatives. Mais contrairement au taux d'incidence qu'on peut noter dans la littérature (2% à 5%), on remarque ici des taux importants avoisinant les 10%.

Les élevages touchés ont une forte prévalence du parasite, pouvant augmenter les risques de contamination horizontale. Mais, nous devons souligner que cette voie de transmission existe, et ne doit pas être sous-estimée. Il est important de dresser le bilan de la maladie dans les élevages touchés de façon exhaustive. On précise le contexte épidémiologique de la néosporose dans l'élevage (figure 2) et la prévalence de celle-ci par des examens sérologiques. Les mesures de lutte qui s'en suivent doivent être aussi réfléchies en fonction de leur coût et de leur efficacité comme nous l'avons mis en

évidence. Avec de fort taux de contamination horizontale, la situation est très délicate. On ne peut que contrôler la circulation du parasite, tant que la source de contamination n'est pas découverte.

Il reste à espérer que d'autres moyens de lutte efficaces seront découverts parallèlement à une meilleure connaissance de l'épidémiologie du parasite.

### 3. *Les mesures de lutte proposées sont-elles efficaces ?*

Il y a eu une augmentation de la prévalence de la néosporose pour les élevages II et III de manière nettement significative, respectivement de 32% et de 31%. Au contraire, la situation dans l'élevage I (l'élevage témoin) n'a pas beaucoup changé avec une diminution de 2%.

Ceci semblerait indiquer que les mesures sanitaires appliquées ne semblent avoir aucune réelle efficacité.

Cependant la situation des trois élevages vis-à-vis du parasite n'est pas la même. *Neospora* continue à circuler dans les élevages II et III avec une incidence élevée et un taux de contamination horizontale important (10% et 13%). A l'inverse, le parasite semble ne pas circuler dans notre élevage témoin, comme le souligne la faible incidence (8%), le faible taux de contamination horizontale (2%); ainsi il y circule majoritairement selon un mode de transmission verticale.

La forte incidence des élevages II et III peut être due soit à un manque de fiabilité du test sérologique, soit à une mauvaise application des mesures de lutte. Il est également possible que les mesures préconisées ne soient pas efficaces et en particulier, ne permettent pas le contrôle de la circulation du parasite lors de contamination horizontale.

Concernant le test IDEXX, on se reportera au tableau V où sont présentées ses caractéristiques. Sa fiabilité ne peut être remise en cause.

Les élevages II et III ont appliqué les mesures de lutte, l'élevage II n'a d'ailleurs pas de chien sur l'élevage. L'élevage III a moyennement bien éliminé les placentas et avortons. Ces deux élevages, comme mis en évidence, n'ont pas éliminé leurs animaux séropositifs, pour des raisons de renouvellement (trop d'animaux séropositifs) et financières.

Donc, les taux d'incidence élevés des élevages II et III sont surtout dus à la descendance de vaches séropositives et à de forts taux de contamination horizontale.

De plus, pour les trois élevages, les animaux déjà séropositifs en décembre 1999, n'ont pas été éliminés. Ils entretiennent donc une part de la prévalence de la maladie à laquelle s'est ajoutée l'incidence durant l'année d'étude. Ils conduisent aussi à la formation de familles séropositives.

Ainsi, dans les élevages où la transmission verticale est majoritaire, les mesures proposées ne permettent pas de lutter contre le parasite et ne diminueront pas la prévalence de la maladie. Seule une réforme des vaches séropositives peut faire diminuer cette prévalence, elle peut être conduite avec le croisement industriel pour diminuer le coût financier de cette lutte. La descendance des animaux séropositifs doit ensuite être écartée du renouvellement du troupeau. Le croisement industriel et la réforme progressive peuvent donc être une solution dans les élevages faiblement atteints. Certains avancent le fait que les vaches séropositives avortent moins lors d'un nouveau passage du parasite (McAllister et al. 2000). Mais ces animaux ont toujours 3 à 5 fois plus de risque d'avorter que des animaux sains... (Pare et al. 1997).

Par contre dans des élevages où le parasite circule beaucoup, notamment par contamination horizontale, les mesures de prévention et de lutte proposées ci-dessus sont inefficaces. Associée à une élimination des vaches séropositives, on peut diminuer légèrement la prévalence de la maladie. Seule une élimination drastique peut faire vraiment diminuer la prévalence. Or quelle est son utilité vu les coûts et la méconnaissance de la source d'ookystes ? Il en est de même pour la transplantation embryonnaire. Une élimination progressive n'est éventuellement envisageable que dans des élevages à faible prévalence, à cause des coûts financiers engendrés.

Mais les mesures proposées sont surtout des mesures de contrôle. On ne peut pas lutter contre le parasite dans des élevages où la contamination horizontale est importante (10% pour l'élevage II et 13% pour l'élevage III par exemple) sans avoir identifié une origine possible de cette contamination (chien, hôte définitif sauvage, aliment contaminé...). Les mesures sanitaires vont permettre de limiter la circulation du parasite (contrôle des stocks alimentaires, élimination des placentas et avortons), et la formation de grandes familles séropositives (croisement industriel).

Cette étude comporte néanmoins certaines limites. En effet, la taille de notre échantillon est très faible (3 élevages dont 2 seulement ont appliqués les mesures de lutte). Nous ne pouvons rien conclure de véritablement significatif au sens statistique du terme. Mais notre étude donne des tendances qui nécessiteront d'être validées plus précisément. De même, la période d'étude est un peu courte ; il sera intéressant de reprendre notre échantillon dans quelques années pour mieux juger. L'évidence de la contamination horizontale sera aussi réévaluée.

En l'absence de mesures thérapeutiques, en attendant le résultat de nouvelles études vaccinales, seules les mesures sanitaires ont le mérite de contrôler l'infection. Cependant, elles ne semblent pas être une solution très efficace.

C'est pour cela que la connaissance de la situation épidémiologique dans les élevages est prépondérante avant de proposer l'instauration de ces mesures de lutte (figure 2).

#### ***4. L'application des mesures de lutte, l'opinion des éleveurs***

Ces mesures de lutte sont assez bien accueillies par les éleveurs. En connaissant mieux la maladie, ils estiment mieux l'importance d'appliquer ces mesures. Ils trouvent qu'elles sont moyennement faciles à appliquer, demandant quand même un investissement supplémentaire en temps et économique. Dans les neuf troupeaux suivis, la majorité des éleveurs ont été satisfaits des mesures de lutte, seulement 1 an après leur instauration. D'après les éleveurs, les avortements ont diminué dans la majorité des élevages.

## Conclusion générale

*Neospora caninum* est un parasite protozoaire qui infeste de nombreuses espèces dont les bovins qui en sont des hôtes intermédiaires. Il les infecte selon deux modes de transmission : horizontal (peu fréquent) et vertical (de la mère au fœtus in utero). De plus il entraîne des avortements parfois épidémiques. Les vaches séropositives ont significativement plus de risque d'avorter que les vaches séronégatives. Les avortements entraînent ainsi d'importantes pertes économiques dans les élevages contaminés. A l'heure actuelle, aucune thérapeutique ni aucun vaccin n'existe ; seules de mesures sanitaires sont préconisées.

En France, en 2000, la situation épidémiologique de la néosporose a été précisée grâce à notre enquête dans les laboratoires départementaux vétérinaires (34 LDV). La prévalence de la néosporose dans la population des vaches ayant avorté est proche de 20 % (15 % à 25 %). Ce résultat est voisin de ceux d'autres pays européens et du Québec. La néosporose a un aspect endémique et la situation épidémiologique ne change alors pas trop entre les pays.

Mais seules des mesures sanitaires sont proposées pour lutter ou simplement contrôler l'infection parasitaire. Ainsi à l'heure actuelle, devant une néosporose dans un élevage, les mesures sanitaires doivent être réfléchies et proposées en fonction de la situation épidémiologique de l'élevage (et tout particulièrement le mode de transmission du parasite) et de la prévalence de *Neospora caninum* dans l'élevage.

Nous avons voulu estimer l'efficacité de ces mesures de lutte dans des élevages suivis pendant une année. Cette étude donne des tendances qui devront être approfondies. Ainsi les mesures sanitaires permettent de contrôler l'infection voire de la diminuer (réforme, croisement industriel) dans les élevages où le parasite se transmet majoritairement de façon verticale. Dans les élevages où la contamination horizontale est importante, même ces mesures ne semblent pas permettre un bon contrôle de l'infection parasitaire ; le parasite circule alors toujours.

D'autre part, nous avons mis en évidence de fort taux de contamination horizontale dans certains élevages, proche de 10 %. Ce mode de transmission ne doit vraiment pas être sous-estimé contrairement à certaines données bibliographiques.

En outre, nous avons aussi mis en évidence une relation entre la prévalence de la néosporose et le taux d'avortement (supposé majoritairement dus au parasite). Même si une sérologie positive ne veut pas dire que *Neospora* est la cause de l'avortement, dans les élevages où la prévalence est importante, le taux d'avortement est réellement augmenté (dans les élevages étudiés). Elargir cette relation à tous les élevages, pourrait simplifier les mesures de lutte. Dans les élevages où la néosporose est suspectée, la prévalence dans le troupeau pourrait être approchée à partir du simple taux d'avortement.

La néosporose demeure encore largement méconnue. Des progrès dans l'épidémiologie (mode de transmission, hôte définitifs, impact abortif...) et dans la lutte contre *Neospora caninum* restent à faire. Ainsi les tendances de l'étude sur les mesures de lutte devraient être reprises pour préciser leur efficacité, et éventuellement les améliorer.

De plus, de récents essais thérapeutiques d'aliments médicamenteux à base de décoquinane semblent ouvrir de nouvelles perspectives en diminuant le nombre d'avortements dans les élevages.

La présence de *Neospora caninum* en France n'est donc plus à sous-estimer. Les praticiens et les laboratoires doivent y penser dans leur diagnostic différentiel lors d'avortements et surtout d'avortements épizootiques. Les mesures sanitaires doivent être conseillées et mises en application en fonction de chaque situation d'élevage en attendant de meilleurs moyens thérapeutiques.

## Bibliographie

- Anderson BC (2000). "Contamination of feedstuffs caused by farm dogs." J Am Vet Med Assoc **217**(9): 1294.
- Anderson ML, Barr BC, Conrad PA. (1994). "Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants." Vet Clin North Am Food Anim Pract **10**(3): 439-61.
- Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC, Breitmeyer RE, Layton AW, McAllister M, Daft B, Kinde H, et al. (1995). "Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California." J Am Vet Med Assoc **207**(9): 1206-10.
- Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. (2000). "Neosporosis in cattle." Anim Reprod Sci **60-61**: 417-31.
- Andrianarivo AG, Choromanski L, McDonough SP, Packham AE, Conrad PA. (1999). "Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants." Int J Parasitol **29**(10): 1613-25.
- Andrianarivo AG, Rowe JD, Barr BC, Anderson ML, Packham AE, Sverlow KW, Choromanski L, Loui C, Grace A, Conrad PA. (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**(9): 985-90.
- Atkinson R, Harper PA, Reichel MP, Ellis JT (2000). "Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle." Parasitol Today **16**(3): 110-4.
- Baillargeon P, Fecteau G, Pare J, Lamothe P, Sauve 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**(11): 1803-6.
- Baker DG, Morishita TY, Brooks DL, Shen SK, Lindsay DS, Dubey JP (1995). "Experimental oral inoculations in birds to evaluate potential definitive hosts of *Neospora caninum*." J Parasitol **81**(5): 783-5.
- Barber JS et Trees AJ (1996). "Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs." Vet Rec **139**(18): 439-43.

- Barber JS, Gasser RB, Ellis J, Reichel MP, McMillan D, Trees AJ (1997). "Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations." J Parasitol **83**(6): 1056-8.
- Barr BC, Conrad PA, Breitmeyer R, Sverlow K, Anderson ML, Reynolds J, Chauvet AE, Dubey JP, Ardans AA (1993). "Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992)." J Am Vet Med Assoc **202**(1): 113-7.
- Barr BC, Conrad PA, Sverlow KW, Tarantal AF, Hendrickx AG (1994 a). "Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate." Lab Invest **71**(2): 236-42.
- Barr BC, Rowe JD, Sverlow KW, BonDurant RH, Ardans AA, Oliver MN, Conrad PA (1994 b). "Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate." J Vet Diagn Invest **6**(2): 207-15.
- Barr BC, Anderson ML, Sverlow KW, Conrad PA. (1995). "Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test." Vet Rec **137**(24): 611-3.
- Basso W, Venturini L, Venturini MC, Hill DE, Kwok OC, Shen SK, Dubey JP (2001). "First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog." J Parasitol **87**(3): 612-8.
- Berger E (1999). Contribution à l'étude des avortements d'origine infectieuses non brucelliques chez les bovins: enquête rétrospective dans les GDS de Côte d'Armor, Côte d'Or, Loire Atlantique et Manche. Thèse Med Vet. Maisons-Alfort, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Bergeron N, Fecteau G, Pare J, Martineau R, Villeneuve A (2000). "Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec." Can Vet J **41**(6): 464-7.
- Bergeron N, Fecteau G, Villeneuve A, Girard C, Pare J (2001 a). "Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*." Vet Parasitol **97**(2): 145-52.
- Bergeron N, Girard C, Pare J, Fecteau G, Robinson J, Baillargeon P (2001 b). "Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves." J Vet Diagn Invest **13**(2): 173-5.
- Bjorkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJ, Uggla A (1996). "*Neospora* species infection in a herd of dairy cattle." J Am Vet Med Assoc **208**(9): 1441-4.

- Bjorkman C, Holmdahl OJ, 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**(3): 251-60.
- Bjorkman C et Uggla A. (1999). "Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection." Int J Parasitol **29**(10): 1497-507.
- Bjorkman C, Alenius S, Manuelsson U, Uggla A. (2000). "*Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion." Vet J **159**(2): 201-6.
- Bjorkman C, Naslund K, Stenlund S, Maley SW, Buxton D, Uggla A (1999). "An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection." J Vet Diagn Invest **11**(1): 41-4.
- Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA (1997). "Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team." Lancet **350**(9072): 173-7.
- Brugere-Picoux J, Adler C, Chastant S, Remy D, Milleman Y (1998). "La néosporose bovine: une cause majeure d'avortement ?" Bull soc vet prat Fr. **82**(4): 177-201.
- Buxton D, Maley SW, Pastoret PP, Brochier B, Innes EA. (1997). "Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*." Vet Rec **141**(12): 308-9.
- Chermette R et Marquer A (2000 a). "*Neospora caninum* : un nouveau parasite ?" Point Vet **31**(208): 285-290.
- Chermette R et Marquer A (2000 b). "La néosporose chez les bovins." Point Vet **31**(208): 293-298.
- Conrad PA, Sverlow K, Anderson M, Rowe J, BonDurant R, Tuter G, Breitmeyer R, Palmer C, Thurmond M, Ardans A, et al. (1993). "Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections." J Vet Diagn Invest **5**(4): 572-8.
- Davison HC, Otter A, Trees AJ. (1999 a). "Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle." Int J Parasitol **29**(8): 1189-94.
- Davison HC, Otter A, Trees AJ. (1999 b). "Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle." Int J Parasitol **29**(10): 1683-9.

- De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L (1999). "Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses." Int J Parasitol **29**(10): 1647-57.
- Dijkstra T, Eysker M, Schares G, Conraths FJ, Wouda W, Barkema HW (2001). "Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites." Int J Parasitol **31**(8): 747-52.
- Dubey JP et Lindsay DS (1989). "Transplacental *Neospora caninum* infection in cats." J Parasitol **75**(5): 765-71.
- Dubey JP, Lindsay DS, Anderson ML, Davis SW, Shen SK (1992). "Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle." J Am Vet Med Assoc **201**(5): 709-13.
- Dubey JP et Lindsay DS (1996). "A review of *Neospora caninum* and neosporosis." Vet Parasitol **67**(1-2): 1-59.
- Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, Gay JM, Baszler TV, Blagburn BL, Thulliez P (1996). "Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*." Am J Vet Res **57**(3): 329-36.
- Dubey JP, Jenkins MC, Adams DS, McAllister MM, Anderson-Sprecher R, Baszler TV, Kwok OC, Lally NC, Bjorkman C, 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**(6): 1063-9.
- Dubey JP (1999 a). "Neosporosis in cattle: biology and economic impact." J Am Vet Med Assoc **214**(8): 1160-3.
- Dubey JP (1999 b). "Neosporosis - the first decade of research." Int J Parasitol **29**(10): 1485-8.
- Dubey JP et Lindsay DS (2000). "Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts." Parasitol Res **86**(2): 165-8.
- French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ (1999). "Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control." Int J Parasitol **29**(10): 1691-704.

- Gottstein B, Eperon S, Dai WJ, Cannas A, Hemphill A, Greif G (2001). "Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice." Parasitol Res **87**(1): 43-8.
- Graham DA, Calvert V, Whyte M, Marks J (1999). "Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection." Vet Rec **144**(24): 672-3.
- Hemphill A et Gottstein B (2000). "A European perspective on *Neospora caninum*." Int J Parasitol **30**(8): 877-924.
- Hietala SK et Thurmond MC (1999). "Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies." Int J Parasitol **29**(10): 1669-76.
- Ho MS, Barr BC, Marsh AE, Anderson ML, Rowe JD, Tarantal AF, Hendrickx AG, Sverlow K, Dubey JP, Conrad PA (1996). "Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small-subunit rRNA sequence probe hybridization." J Clin Microbiol **34**(5): 1203-8.
- Ho MS, Barr BC, Rowe JD, Anderson ML, Sverlow KW, Packham A, Marsh AE, Conrad PA (1997). "Detection of *Neospora sp.* from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization." J Parasitol **83**(3): 508-14.
- Hoar BR, Ribble CS, Spitzer CC, Spitzer PG, Janzen ED (1996). "Investigation of pregnancy losses in beef cattle herds associated with *Neospora sp.* infection." Can Vet J **37**(6): 364-6.
- Holmdahl OJ, Bjorkman C, Uggla A (1995). "A case of *Neospora* associated bovine abortion in Sweden." Acta Vet Scand **36**(2): 279-81.
- Howe DK et Sibley LD (1999). "Comparison of the major antigens of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*." Int J Parasitol **29**(10): 1489-96.
- Innes EA, Panton WR, Marks J, Trees AJ, Holmdahl J, Buxton D (1995). "Interferon gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora caninum*, as shown by incorporation of 3H uracil." J Comp Pathol **113**(1): 95-100.
- Jardine JE (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): 231-40.
- Jenkins MC, Wouda W, Dubey JP (1997). "Serological response over time to recombinant *Neospora caninum* antigens in cattle after a neosporosis-induced abortion." Clin Diagn Lab Immunol **4**(3): 270-4.
- Jenkins MC, Caver JA, Bjorkman C, Anderson TC, Romand S, Vinyard B, Uggla A, Thulliez P, Dubey JP (2000). "Serological investigation of an outbreak of

- Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States.” *Vet Parasitol* 94(1-2): 17-26.
- Jensen AM, Bjorkman C, Kjeldsen AM, Wedderkopp A, Willadsen C, Ugglå A, Lind P (1999). “Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds.” *Prev Vet Med* 40(3-4): 151-63.
- Joly A (2000). “Néosporose bovine: Observation de 162 élevages et suivi de 35 élevages contaminés.” *Bull GTV*: 115-120.
- Journel C, Chatagnon G, Tainturier D, et al. (1999). “*Neospora caninum*: étude d'un élevage contaminé, quelques hypothèses de transmission.” *Point Vet* 30: 397-404.
- Journel C et Pitel P-H (2001 a). “La lutte contre la néosporose en élevage bovin.” *Point Vet* 32(214): 38-39.
- Journel C et Pitel P-H (2001 b). “Diagnostic de la néosporose en élevage bovin.” *Point Vet* 32(213): 42-43.
- Keefe GP et VanLeeuwen JA (2000). “*Neospora* then and now: prevalence of *Neospora caninum* in Maritime Canada in 1979, 1989, and 1998.” *Can Vet J* 41(11): 864-6.
- Klein F, Very P, Hietala SK (1997). “*Neospora caninum*: enquête sérologique sur les avortements des bovins normands et charolais.” *Point Vet* 28: 1283-1286.
- Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP (1996 a). “Development of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora caninum* 14-3-3 gene.” *Mol Biochem Parasitol* 75(2): 169-78.
- Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP (1996 b). “Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis.” *Clin Diagn Lab Immunol* 3(3): 275-9.
- Liddell S, Jenkins MC, Collica CM, Dubey JP (1999). “Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination.” *J Parasitol* 85(6): 1072-5.
- Lindsay DS, Rippey NS, Cole RA, Parsons LC, Dubey JP, Tidwell RR, Blagburn BL (1994). “Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells.” *Am J Vet Res* 55(7): 976-81.
- Lindsay DS, Kelly EJ, McKown RD, Stein FJ, Plozer J, Herman J, Blagburn BL, Dubey JP (1996). “Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies

- in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*.” *J Parasitol* 82(4): 657-9.
- Lindsay DS, Butler JM, Blagburn BL (1997). “Efficacy of decoquinate against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures.” *Vet Parasitol* 68(1-2): 35-40.
- Lindsay DS, Upton SJ, Dubey JP (1999 a). “A structural study of the *Neospora caninum* oocyst.” *Int J Parasitol* 29(10): 1521-3.
- Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB (1999 b). “Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*.” *Vet Parasitol* 82(4): 327-33.
- Lindsay DS, Weston JL, Little SE (2001). “Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina.” *Vet Parasitol* 97(2): 159-64.
- Marquer A (1999). Épidémiologie et diagnostic de la néosporose bovine. *Thèse Med Vet*. Maisons-Alfort, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Marsh AE, Barr BC, Madigan J, Lakritz J, Nordhausen R, Conrad PA (1996). “Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis.” *J Am Vet Med Assoc* 209(11): 1907-13.
- Marsh AE., Howe DK, et al. (1999). “Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1 and SRS2.” *Int J Parasitol* 29(10): 1575-82.
- McAllister MM, Huffman EM, Hietala SK, Conrad PA, Anderson ML, Salman MD (1996 a). “Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis.” *J Vet Diagn Invest* 8(3): 355-7.
- McAllister MM, McGuire AM, Jolley WR, Lindsay DS, Trees AJ, Stobart RH (1996 b). “Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring.” *Vet Pathol* 33(6): 647-55.
- McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM (1998). “Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*.” *Int J Parasitol* 28(9): 1473-8.
- McAllister MM (1999). “Uncovering the biology and epidemiology of *Neospora caninum*.” *Parasitol Today* 15(6): 216-7.
- McAllister MM, Wills RA, McGuire AM, Jolley WR, Tranas JD, Williams ES, Lindsay DS, Bjorkman C, Belden EL (1999). “Ingestion of *Neospora caninum* tissue cysts by *Mustela* species.” *Int J Parasitol* 29(10): 1531-6.

- McAllister MM, Bjorkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG (2000). "Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows." J Am Vet Med Assoc **217**(6): 881-7.
- McGuire AM, McAllister M, Wills RA, Tranas JD (1999). "Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columbia livia*) and zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites." Int J Parasitol **29**(10): 1525-9.
- Moreau A-F (2000). Les avortements dans l'espèce bovine: revue bibliographique et enquête épidémiologique descriptive dans le nord de la Bourgogne. Thèse Med Vet. Maisons-Alfort, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Nishikawa Y, Xuan X, Nagasawa H, Igarashi I, Fujisaki K, Otsuka H, 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): 1710-6.
- Otter A, Jeffrey M, Griffiths IB, Dubey JP (1995). "A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales." Vet Rec **136**(24): 602-6.
- Ould-Amrouche A, Klein F, Osdoit C, Mohammed HO, Touratier A, Sanaa M, Mialot JP (1999). "Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France." Vet Res **30**(5): 531-8.
- Pare J, Hietala SK, Thurmond MC (1995 a). "Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora sp.* infection in cattle." J Vet Diagn Invest **7**(2): 273-5.
- Pare J, Hietala SK, Thurmond MC (1995 b). "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora sp.* infection in cattle." J Vet Diagn Invest **7**(3): 352-9.
- Pare J, Thurmond MC, Hietala SK (1996). "Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calthood mortality." Can J Vet Res **60**(2): 133-9.
- Pare J, Thurmond MC, Hietala SK (1997). "*Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion." J Parasitol **83**(1): 82-7.
- Pare J, Fecteau G, Fortin M, Marsolais G (1998). "Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds." J Am Vet Med Assoc **213**(11): 1595-8.
- Payne S et Ellis J (1996). "Detection of *Neospora caninum* DNA by the polymerase chain reaction." Int J Parasitol **26**(4): 347-51.

- Peters M, Wagner F, Schares G (2000). "Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany." Parasitol Res **86**(1): 1-7.
- Pfeiffer D, Williamson N, et al. (1997). "A simple spreadsheet simulation model of the economic effects of *Neospora caninum* abortions in New Zealand." Epidémiologie et santé anim. **31-32**(10.12.1-10.12.3).
- Pitel P-H, S Pronost, et al. (2000). "Infection des bovins par *Neospora caninum*: deux années d'observation dans l'ouest de la France." Point Vet **31**(205): 145-150.
- Pronost S, P-H Pitel, et al. (2000). "La néosporose équine." Point Vet **31**(208): 299-304.
- Quintanilla-Gozalo A, Pereira-Bueno J, Tabares E, Innes EA, Gonzalez-Paniello R, Ortega-Mora LM (1999). "Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain." Int J Parasitol **29**(8): 1201-8.
- Romand S, Thulliez P, Dubey JP (1998). "Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection." Parasitol Res **84**(1): 50-3.
- Schares G, Peters M, Wurm R, Barwald A, Conraths FJ (1998). "The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques." Vet Parasitol **80**(2): 87-98.
- Schares G, Conraths FJ, Reichel MP (1999 a). "Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand." Int J Parasitol **29**(10): 1659-67.
- Schares G, Rauser M, Zimmer K, Peters M, Wurm R, Dubey JP, De Graaf DC, Edelhofer R, Mertens C, Hess G, Conraths FJ (1999 b). "Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions." J Parasitol **85**(4): 688-94.
- Schares G, Wenzel U, Muller T, Conraths FJ (2001). "Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*)." Int J Parasitol **31**(4): 418-23.
- Speer CA, Dubey JP, McAllister MM, Blixt JA (1999). "Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*." Int J Parasitol **29**(10): 1509-19.
- Stenlund S, Bjorkman C, Holmdahl OJ, Kindahl H, Uggla A (1997). "Characterization of a Swedish bovine isolate of *Neospora caninum*." Parasitol Res **83**(3): 214-9.

- Stenlund S, Kindahl H, Magnusson U, UgglA A, Bjorkman C (1999). "Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*." Vet Parasitol **85**(4): 227-34.
- Sundermann CA, Estridge BH, Branton MS, Bridgman CR, Lindsay DS (1997). "Immunohistochemical diagnosis of *Toxoplasma gondii*: potential for cross-reactivity with *Neospora caninum*." J Parasitol **83**(3): 440-3.
- Thurmond MC et Hietala SK (1995). "Strategies to control *Neospora* infection in cattle." The bovine practitioner **29**: 60-63.
- Thurmond MC et Hietala SK (1996). "Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows." Am J Vet Res **57**(11): 1559-62.
- Thurmond MC et Hietala SK (1997). "Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first- lactation dairy cows." J Am Vet Med Assoc **210**(5): 672-4.
- Thurmond MC, Hietala SK, Blanchard PC (1997). "Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission." J Vet Diagn Invest **9**(1): 44-9.
- Tizard IR (2000). *Veterinary immunology: an introduction*, w.b. saunders company.
- Trees AJ, Guy F, Low JC, Roberts L, Buxton D, Dubey JP (1994). "Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of abortion in British cattle." Vet Rec **134**(16): 405-7.
- Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM (1999). "Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis." Int J Parasitol **29**(8): 1195-200.
- UgglA A, Stenlund S, Holmdahl OJ, Jakubek EB, Thebo P, Kindahl H, Bjorkman C (1998). "Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves." Int J Parasitol **28**(9): 1467-72.
- Waldner CL, Henderson J, Wu JT, Breker K, Chow EY (2001). "Reproductive performance of a cow-calf herd following a *Neospora caninum*-associated abortion epidemic." Can Vet J **42**(5): 355-60.
- Wouda W, Dubey JP, Jenkins MC (1997). "Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis." J Parasitol **83**(3): 545-7.
- Wouda W, Bartels CJ, Moen AR (1999). "Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)." Theriogenology **52**(2): 233-45.
- Yaeger MJ, Shawd-Wessels S, Leslie-Steen P (1994). "*Neospora* abortion storm in a midwestern dairy." J Vet Diagn Invest **6**(4): 506-8.

## Annexes

Questionnaire d'enquête envoyé dans les laboratoires départementaux vétérinaires :

<p><b>Recueil de données épidémiologiques sur la <i>Neosporose</i> bovine</b></p>
---

Thèse de doctorat en médecine vétérinaire - Fabrice PAYOT ENVA

*Laboratoire vétérinaire départemental du* ,

### 1 questionnaire par département

**1-Nombre de départements envoyant leur recherche *Neospora* au laboratoire :**

**2-Nom de ces départements :**

**3- Nombre de prélèvements traités par département (dont vous recevez les analyses) :**

Par an :

Par mois :

Par semaine :

**4-Nature des Tests effectués :** (ex: Sérologie ELISA IDEXX, Immunofluorescence indirecte sur foetus,...)

**Sérologie :**

Méthode :

Fabriquant du test :

Seuil de positivité adopté :

**Sur prélèvements (animal vivant ou mort) :**

Technique :

Type d'organe utilisé :  encéphale       cœur       liquide  
 placenta       autre, précisez :

Seuil adopté (le cas échéant) :

**5-Cheptel de votre département (si possible):**

Total :

Laitier :

Race prédominante :

Allaitant :

Race prédominante :

**6-Anciennes données épidémiologiques, ou études réalisées au laboratoire sur la néosporose:**

non

oui : nature des données (période, thème)

année(s) :

thème :

disponibilité des données (référence thèse, mémoire, publication ) :

**7-Les analyses effectuées sont-elles prises en charge par le Groupement de Défense Sanitaire du Département ?**

non

oui : Précisez n° de Tel :

Vétérinaire contact :

**8-Nombre de demande d'analyse *Neospora* traitées depuis 1 an : ( accepté aussi sous forme de données brutes : fichier Excel par exemple), pour chaque département**

**Période (mois-année, Octobre 1999- Octobre 2000 par ex)**

**Sérologie :**

Nombre de cas traités :

Nombre de positifs :

Nombre de négatifs :

**Sur prélèvements :**

Nombre de cas traités :

Nombre de positifs :

Nombre de négatifs :

Nombre d'examen histologique demandé :

**9-A propos des avortements déclarés dans le département (sur la même période):**

Nombre de prélèvement pour avortement traité au LVD :

Nombre de prélèvement pour avortement traité au LVD où une analyse  
Neospora a été demandée :

Nombre d'avortement « *néosporose* positif » :

**10-Pour chaque sérologie *néosporose* effectuée, merci de préciser dans la mesure du possible: ( accepté aussi sous forme de données brutes : fichier Excel par exemple)**

**Motif d'analyse :**

stade de gestation à l'avortement :

avortements répétés :  oui  non

Combien ?

**Race de l'animal :**

**Âge de l'animal :**

**Origine de l'animal (code postal, lieu):**

**Résultat de l'analyse:**

positive  négative

**Analyse effectuée dans le cadre d'une recherche systématique au sein d'un troupeau:**

oui  non

**Sérologie BVD : (si effectuée)**

positive  négative

-----merci de votre coopération-----

# **EPIDEMIOLOGIE DE LA NEOSPOROSE BOVINE EN FRANCE ET AU QUEBEC ; EVALUATION DES MOYENS DE LUTTE ACTUELS.**

Nom et prénom : PAYOT Fabrice

Résumé :

*Neospora caninum* est un parasite émergent pathogène chez de nombreuses espèces et notamment les bovins, partout dans le monde. Il provoque des avortements chez les vaches et parfois un syndrome nerveux chez les jeunes veaux. Beaucoup d'inconnues subsistent quant à son épidémiologie. *Neospora caninum* a deux modes de transmission : une transmission verticale de la mère au fœtus, et une contamination horizontale faisant intervenir un hôte définitif (chien et vraisemblablement canidés sauvages). A l'heure actuelle, seules des mesures sanitaires sont proposées pour lutter et contrôler l'infection parasitaire. Des vaccins seront peut-être un jour efficaces. Il est nécessaire de bien connaître la situation épidémiologique de l'élevage pour appliquer ces mesures de lutte ou de contrôle.

Cette étude a été réalisée pour préciser la prévalence de la néosporose dans la population de vaches avortées sur le territoire français grâce aux données fournies par les laboratoires départementaux vétérinaires. *Neospora caninum* est présent dans 15 à 25 % des avortements bovins (données sur l'année 2000). Cette prévalence est proche des données des autres pays européens et du Québec.

Parallèlement, la prévalence de la néosporose a été réévaluée dans neuf élevages, un an après la mise en place de mesures de lutte, dans le but d'évaluer l'efficacité de ces dernières. Dans cette étude, elles ne semblent efficaces que dans la lutte de la néosporose se transmettant verticalement dans les élevages infestés. Mais face à une contamination horizontale, on ne peut que limiter l'infection parasitaire avec ces mesures sanitaires. Cette contamination horizontale semble actuellement encore mal comprise, et sous estimée. Dans ces neuf élevages, il existe une forte corrélation ( $r=0,71$  ;  $p=0,05$  ;  $N=9$ ) entre le taux d'avortement et la prévalence de la néosporose : ceci souligne encore l'importance de la néosporose dans les avortements bovins.

Mots-clés :

N. caninum, néosporose, prévalence, contamination horizontale, mesures de contrôle.

JURY :

Président : Pr.

Directeur : Pr. BRUGERE-PICOUX.

Assesseur : Dr vet. CHASTANT-MAILLARD.

Invités : Dr vet. FECTEAU, Dr vet. JOURNEL et Dr vet. PARE.

Adresse de l'auteur :

M. PAYOT Fabrice

4 rue Jules FERRY

91800 BRUNOY

France

# **EPIDEMIOLOGY OF BOVINE NEOSPOROSIS IN FRANCE AND QUEBEC ; EVALUATION OF PRESENT HEALTH MEASURES.**

Name, surname : PAYOT Fabrice

Abstract:

*Neospora caninum* is a new world-wide emergent parasite, found in many species, especially in cattle. It is found to be associated with cattle abortions and sometimes nervous syndrome in young calves. Many sides of its epidemiology remain undiscovered. *Neospora caninum* can be transmitted either of two ways : vertical (from mother to her foetus) or horizontal (involving a definitive host like the dog and perhaps others wild canids). Presently, the only ways to fight and control the parasite infection are health measures. Up to this day, there are no others efficient therapeutics but there are hopes on vaccines. It is necessary to have good knowledge of the herd's epidemiology to apply efficiently this measures of fight or control.

This study was carried out in order to approximate the prevalence of neosporosis in France thanks to data from departemental veterinary laboratories. *Neospora caninum* has been found to be present in 15 to 25 % of bovine abortions (year 2000 data). This prevalence is similar to these of the European countries and Quebec (Canada).

On the other hand, one year later, the prevalence of neosporosis was reevaluated in nine herds, a year after the setting up of health measures. Their efficiency was assessed. In this second survey, their efficiency seems to be limited to the fight against *Neospora caninum* transmitted vertically in infected herds. But these measures, in case of horizontal transmission, will only limit the parasite infection. At present, horizontal transmission remains understood and underestimated. In these nine herds, we can notice a strong correlation between abortion rate and prevalence of neosporosis. This emphasizes ever more the major part played by this parasite in bovine abortions.

Key words:

N. caninum, neosporosis, prevalence, horizontal transmission, health measures.

JURY :

President : Pr.

Director : Pr. BRUGERE-PICOUX.

Assessor : Dr vet. CHASTANT-MAILLARD.

Guests : Dr vet. FECTEAU, Dr vet. JOURNEL et Dr vet. PARE.

Author's address :

Mr. PAYOT Fabrice

4 rue Jules FERRY

91800 BRUNOY

France