



HAL
open science

Étude rétrospective de l'infection à *Neospora caninum* dans une population canine d'Ile-de-France : séroprévalence et facteurs de risque

Raphaël Bertramino

► **To cite this version:**

Raphaël Bertramino. Étude rétrospective de l'infection à *Neospora caninum* dans une population canine d'Ile-de-France : séroprévalence et facteurs de risque. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03981307

HAL Id: dumas-03981307

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03981307v1>

Submitted on 9 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2022

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE L'INFECTION À *NEOSPORA CANINUM* DANS UNE POPULATION CANINE D'ÎLE-DE- FRANCE : SÉROPRÉVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 16 décembre 2022

par

Raphaël, François BERTRAMINO

sous la direction de

Radu BLAGA

JURY

Président du jury :	M. Yves MILLEMANN	Professeur à l'EnvA
Directeur de thèse :	M. Radu BLAGA	Professeur à l'EnvA
Examineur :	M. Alain FONTBONNE	Professeur à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version du 8 février 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigé	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Maître de conférences HDR	DPASP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Fédérighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneq	Christelle	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Perrot	Sébastien	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Benckroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Constant	Fabienne	Maître de conférences	DPASP
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
Mme	Decambron	Adeline	Maître de conférences	DEPEC
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guélin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mespoulhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Maître de conférences	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, M Yves Millemann, Professeur à l'EnvA ,
pour son implication tout au long de ma scolarité en tant que professeur puis tuteur de stage et pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

A M Radu Blaga, Professeur à l'EnvA,
pour la patience et la sincérité manifestées tout au long de la réalisation de ce travail.

A M Alain Fontbonne, Professeur à l'EnvA,
pour l'aide et le soutien indéfectible durant la réalisation de cette thèse.

A M Bruno Polack, Professeur à l'EnvA,
pour l'accompagnement logistique lors de la réalisation de prélèvements.

A Mme Sandrine Thoumire,
pour l'enthousiasme et l'immense aide lors de la réalisation des sérologies.

Table des matières

Liste des figures	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des abréviations	9
Introduction.....	11
Première partie : bibliographie	13
1. Présentation générale du parasite	13
1.i. Histoire et découverte	13
1.ii. Classification taxonomique	14
2. Epidémiologie	15
2.i. Séroprévalence dans le monde	15
2.ii. Séroprévalence en France	16
2.iii. Facteurs de risque	17
2.iii.1. L'âge	17
2.iii.2. Le genre	18
2.iii.3. La race	19
2.iii.4. La présence d'hôtes intermédiaires	19
2.iii.5. L'habitat.....	20
2.iii.6. L'alimentation	20
2.iii.7. Les coinfections	20
2.iii.8. D'autres facteurs	21
3. Stades parasitaires	22
3.i. Les tachyzoïtes	22
3.ii. Les bradyzoïtes et les kystes tissulaires	24
3.iii. Les oocystes	26
4. Cycle parasitaire et modes d'infection.....	29
4.i. Hôtes définitifs.....	29
4.ii. Hôtes intermédiaires	29
4.iii. Transmission horizontale	31
4.iv. Transmission verticale ou transplacentaire	31
4.iv.1. Transplacentaire exogène	31
4.iv.2. Transplacentaire endogène	31
4.v. Cycle parasitaire	32
4.v.1. Cas particulier de la transmission chez le chien par ingestion de placenta ou d'avorton bovin	34
5. Pathologie	35
5.i. Localisation et spécificité	35
5.ii. Relation hôte parasite	35
5.iii. Symptômes cliniques	36
5.iii.1. Chez le chien	36
• Manifestation chez le chiot	36
• Manifestation chez l'adulte	37
• Atteinte multifocale	38
• Atteinte cutanée	38
5.iii.2. Chez le Bovin.....	38
5.iii.3. Diagnostic différentiel chez le chien	39

5.iv.Lésions.....	40
6. Diagnostic de laboratoire	41
6.i.Examens non spécifiques	41
6.ii.Diagnostic direct	41
6.iii.Diagnostic indirect.....	42
6.iv.Dater l'infection	43
6.v.Récapitulatifs des méthodes de diagnostic.....	44
7. Traitement, prévention et pronostic chez le chien	45
7.i. Traitement	45
7.ii.Prévention.....	46
7.iii.Pronostic	46
Deuxième partie : étude expérimentale.....	47
1. Contexte de l'étude	47
1.i. Point sur les connaissances et principales lacunes	47
1.ii.Objectifs	48
1.iii.Résultats attendus	48
2. Matériel et méthode	49
2.i.Population source de l'étude	49
2.ii.Critères d'inclusions et d'exclusions et récolte des prélèvements	49
2.iii.Traitement et stockage des sérums.....	49
2.iv.Diagnostique de laboratoire.....	49
2.iv.1.Kit immunoenzymatique utilisé	49
2.iv.2.Protocole.....	50
2.v.Traitement des données des animaux inclus dans l'étude	51
2.v.1.Questionnaires pour la prise de commémoratifs au sein du Chuva.....	51
2.v.2.Récolte des données sur le logiciel CLOVIS	51
3. Résultats	53
3.i.Echantillons analysés.....	53
3.ii.Caractérisation de l'échantillon de 1062 chiens.	54
3.ii.1.Origine des chiens	54
3.ii.2.Milieu de vie des animaux.....	55
3.ii.3.Race dans l'échantillon	56
3.ii.4.L'âge.....	57
3.ii.5.Sexe des animaux et statu vis-à-vis de la stérilisation	58
3.ii.6.Motif de consultation.....	58
3.ii.7.Alimentation des animaux.....	59
3.ii.8.Traitements antiparasitaires.....	59
3.ii.9.Autres animaux au foyer	60
3.iii.Résultats de séroprévalence	61
3.iii.1.Validité des tests.....	61
3.iii.2.Séroprévalence dans l'échantillon et principaux facteurs de risque	61
3.iii.3.Coinfections avec d'autres maladies parasitaires	67
3.iii.4.Prévalence par rapport aux troubles neurologiques dans l'échantillon	67
3.iii.5.Saisonnalité des résultats	68
4. Discussion	69
Conclusion	75
Liste des références bibliographiques.....	77

Annexe 1 : Données de seroprevalence vis-à-vis de <i>N. caninum</i> dans les élevages de bovin d'après Dubey et <i>al</i> (2020).....	83
Annexe 2 : Protocole du Kit ELISA utilisé et Contrôle Qualité	84
Annexe 3 : Questionnaire à disposition des étudiants et cliniciens au Chuva pour le recueil des commémoratifs.....	87
Annexe 4 : Version digitale du questionnaire – modèle prérempli sur CLOVIS.....	90
Annexe 5 : Effectifs des chiens positifs et négatifs par race dans l'échantillon.....	91
Annexe 6 : Résultats détaillés des ELISA par compétition pour les plaques A et B	94

Liste des figures

Figure 1: Séroprévalence de <i>N. caninum</i> chez le chien dans le monde selon Anvari <i>et al.</i> , (2020). 15	15
Figure 2: Séroprévalence à <i>N. caninum</i> en fonction de l'âge chez des chiens en Belgique. D'après Barber <i>et al.</i> , (1997b).....	17
Figure 3: Plusieurs tachyzoïtes de <i>N. caninum</i> regroupés dans l'encéphale d'un chien. D'après J. P. Dubey <i>et al.</i> , (1988).	23
Figure 4: Ultrastructure d'un tachyzoïte de <i>N. caninum</i> dans une vacuole parasitophore. Abréviations : Pr : anneaux polaire, Co : conoïde, Mn : micronème, Sm : microtubule sub-pelliculaire, Rh : rhoptrie, Dg : granules denses, Lb : corps lipidiques, Pl : plasmalemme, Go : appareil de Golgi, No : noyau, Tm : réseau tubulo-vésiculaire membranaire, Im : complexe de la membrane pelliculaire, Am : amylopectine, Mn : micronème. D'après Speer <i>et al.</i> , (1999).	23
Figure 5: Ultrastructure d'un bradyzoïtes de <i>N. caninum</i> . Abréviations : Mn : micronème, Mi : mitochondrie, Rh : rhoptrie, Cw : paroi du kyste, Am : amylopectine, Ap : plasmide, Go : appareil de Golgi, Sg : petit granule dense, Tu : tubule, Nu : noyau, Dg : granule dense. D'après Speer <i>et al.</i> , (1999).	24
Figure 6: (A) Ultrastructure d'un kyste contenant 30 bradyzoïtes. D'après Speer <i>et al.</i> , (1999). Abréviations : Br : Bradyzoïtes, Cw : Paroi du kyste. (B) Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes provenant d'un encéphale de chien. D'après J. P. Dubey <i>et al.</i> , (1988).	25
Figure 7: Oocystes de <i>N. caninum</i> sporulés retrouvés dans des fèces de chien. D'après David S Lindsay <i>et al.</i> , (1999).	26
Figure 8: Cycle évolutif de <i>N. caninum</i> . Tiré de Dubey, (1999).	33
Figure 9: Plaques de 96 puits après révélation. Les puits fléchés en vert correspondent aux témoins positifs, ceux fléchés en rouge aux négatifs.....	50
Figure 10: Identification et vérification des animaux prélevés sur le logiciel CLOVIS	51
Figure 11 : Nombre et taux de séropositifs (axe vertical) en fonction de l'âge en année (axe horizontal) par tranche d'âge de 1 an.	62

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification taxonomique de <i>N. caninum</i> . D'après Goodswen <i>et al.</i> , (2013) ; Schoch <i>et al.</i> , (2020).	14
Tableau 2: Quelques données de prévalence à <i>N. caninum</i> en Europe. Q.A : Indice de confiance de l'étude. D'après Anvari <i>et al.</i> , (2020).	16
Tableau 3: Séroprévalence à <i>N. caninum</i> en fonction de l'âge chez le chien au Pays-Bas. D'après Wouda <i>et al.</i> , (1999). * : Les auteurs précisent que les chiens de clinique sont majoritairement des chiens de zone urbaines.	18
Tableau 4: Séroprévalence à <i>N. caninum</i> en fonction du sexe chez le chien.	18
Tableau 5: Résultats de sérologie contre <i>N. caninum</i> chez les bovins et les chiens de 12 fermes de l'ouest de la France. D'après Pitel <i>et al.</i> , (2001).	19
Tableau 6: Récapitulatif des principaux éléments structuraux de <i>N. caninum</i> . D'après (Hesse, 2002).	27
Tableau 7 : Principaux critères de diagnose différentielle de <i>N. caninum</i> d'après Lindsay <i>et al</i> (1993) et Marquer (1999). PAS : Coloration à l'acide périodique de Schiff.	28
Tableau 8: Hôtes naturels de <i>N. caninum</i> . D'après Dubey <i>et al.</i> , (2020).	30
Tableau 9: Signes cliniques observés par Barber et Trees, (1996). Abréviations : P : postérieur(s), A : antérieur(s), D : droite, G : gauche. Le nombre qui précède l'abréviation correspond au nombre d'animaux atteints.	37
Tableau 10: Principaux avantages et inconvénients des test utilisables en cas de suspicion de néosporose. A partir de Chermette et Marquer, (2000).	44
Tableau 11: Principaux protocoles thérapeutiques contre la néosporose canine. Proposés par Kuzniak, (2001).	45
Tableau 12 : Effectifs des différents types d'animaux dans l'échantillon.	54
Tableau 13: Effectifs des animaux en fonction de leur origine d'adoption dans l'échantillon.	54
Tableau 14: Effectifs des animaux en fonction de leur pays d'origine (hors France) dans l'échantillon.	55
Tableau 15: Effectifs des animaux en fonction du milieu de vie dans l'échantillon.	55
Tableau 16 : Effectifs des animaux en fonction de leur accès à un milieu non urbanisé dans l'échantillon.	56
Tableau 17: Effectifs des animaux en fonction de leur âge dans l'échantillon.	57
Tableau 18 : Effectifs des animaux en fonction du service consulté dans l'échantillon.	58
Tableau 19: Effectifs des animaux en fonction de leur alimentation dans l'échantillon.	59

Tableau 20:Effectifs des animaux en fonction de leur proximité avec d'autres espèces dans l'échantillon. * : Certains chiens vivaient avec plusieurs espèces différentes.	60
Tableau 21 : Taux de séroprévalence en fonction des différentes variables étudiées dans l'échantillon : (A) origine, (B) type de chien, (C) âge, (D) habitat, (E) service consulté, (F) et (G) problème de santé, (H) zone de vie, (I) alimentation.	64
Tableau 22: Taux de séropositivité, risques relatifs et degrés de signification pour les variables dichotomiques dans l'échantillon : sexe (J), stérilisation (K), âge (L), trouble neurologique (M), antiparasitaires (N et O), race (P), autres animaux (Q et R), accès à un sol non urbanisé (S), vie à la campagne (T). R.R : Risque relatif. p : degré de signification. S.O : Sans objet, lorsque l'effectif n'est pas suffisant pour le calcul du risque relatif.....	66
Tableau 23: Résultats de séroprévalence pour les chiens présentant différents troubles neurologiques rencontrés dans l'échantillon.....	67
Tableau 24 : Taux de résultats positifs dans l'échantillons au cours de l'étude.	68

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
APE : Antiparasitaire externe
API : Antiparasitaire interne
ELISA : Technique d'immunoabsorption par enzyme liée
EnvA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Chuva : Centre hospitalier vétérinaire d'Alfort
CLOVIS : Logiciel métier utilisé au Chuva
CR : Compte rendu
IFAT : Test d'immunofluorescence d'anticorps indirect
IgG : Immunoglobuline de type G
IgM : Immunoglobuline de type M
N. caninum : *Neospora caninum*
PCR : Amplification en chaîne par polymérase
SCC : Société Centrale Canine
SCN : Système nerveux central
T. gondii : *Toxoplasma gondii*

Introduction

En 1984, Bjerkas et son équipe rapportent des cas cliniques d'encéphalomyélite et de myosite chez des chiots dont l'étiologie est non identifiable (Bjerksås *et al.*, 1984). D'après leurs observations les tissus des animaux atteints contenaient des protozoaires enkystés de nature encore inconnue. Il faut attendre 1988 pour qu'aux Etats-Unis, Dubey et son équipe identifient des parasites semblables causants des symptômes identiques. C'est à ce moment qu'est proposé un nouveau genre au sein du phylum des Apicomplexa : *Neospora*, ainsi une nouvelle espèce : *Neospora caninum* (J. P. Dubey *et al.*, 1988a). L'isolement du parasite sur culture cellulaire permet ensuite la contamination expérimentale du chien. Il est montré que la contamination du chien par *Neospora caninum* entraîne des parésies, des paralysies et des décès (J.P Dubey *et al.*, 1988b). Un test d'immunofluorescence indirect (IFAT pour indirect immunofluorescence test) voit le jour au cours de la même année et permet de détecter les anticorps anti-*Neospora caninum* chez le chien.

En 1989 les travaux menés par Thilstedt et Dubey (Thilsted et Dubey, 1989) incriminent le parasite *Neospora caninum* dans des cas d'avortement dans l'espèce bovine. Depuis, *Neospora caninum* est considéré comme une cause importante d'avortements dont les conséquences économiques sont reconnues dans la filière (Marquer et Chermette, 2000). La recherche sérologique du parasite fait à ce titre partie des analyses de routine pouvant être réalisées lors d'achat/vente de bovins sur le sol Français, et est fortement conseillée lors d'introduction de femelles gestantes.

Néanmoins la découverte du parasite reste récente. Ainsi de nombreux éléments qui portaient à croire que *Neospora caninum* était comparable à *Toxoplasma gondii* sont révoqués d'année en année. Au sein des Apicomplexa, *Toxoplasma gondii* est une espèce très proche mais différente à bien des égards de *Neospora caninum*, chez qui des caractères spécifiques sont encore à définir.

La caractérisation précise de *Neospora caninum* est elle aussi inachevée. De même que certains éléments de son cycle, son implication dans d'autres troubles notamment dans l'espèce canine reste mal connue voir méconnue. La présence du parasite dans la population des chiens de compagnie comme d'élevage canin n'est que peu chiffrée dans les pays d'Europe. En France les dernières données de séroprévalence chez le chien date de 2001 (Pitel *et al.*, 2001).

L'objet de cette thèse réalisée en collaboration entre la Société Centrale Canine (SCC) et l'unité de Parasitologie ainsi que celle de Reproduction de l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (EnvA) est d'apporter de nouveaux éléments de réponse sur la néosporose canine en France. En ce sens, nous décrivons dans cette thèse les résultats d'une étude transversale rétrospective menée sur un peu plus d'un millier de chiens. Les objectifs de ce projet sont d'abord d'estimer la séroprévalence sur une population d'Île-de-France associé à une enquête qui vise à déterminer des facteurs à risque pour l'infection chez le chien et notamment la recherche d'association entre l'infection par le parasite et des troubles cliniques.

Première partie : bibliographie

1. Présentation générale du parasite

1.i. Histoire et découverte

En 1984 les trois docteurs vétérinaires Inge Bjerkas, Svein Fredrik Mohn et John Presthus, décrivent en Norvège (Bjerkås *et al.*, 1984) une nouvelle maladie chez des chiots de race Boxer causant des troubles neurologiques dont majoritairement de la parésie. A l'examen nécropsique les chiots présentent de lésions kystiques dans le muscle et le cerveau, dans lesquelles des protozoaires semblables à *Toxoplasma gondii* sont identifiés. Néanmoins aucun anticorps anti-*Toxoplasma gondii* fut mis en évidence. De même, plusieurs essais de mise en cultures furent des échecs.

En 1988 Dubey et ses collaborateurs intrigués, réalisent une étude rétrospective chez le chien aux Etats-Unis (J.P Dubey *et al.*, 1988b). A partir de coupes histologiques conservées depuis 1957, des lésions pour lesquelles *Toxoplasma gondii* était auparavant incriminé sont remises à l'épreuve. Ils décrivent alors que des divergences notables existaient, avec notamment une catégorie de prélèvements identiques à ceux retrouvés en Norvège chez les chiots Boxers. Cette recherche confirme alors qu'un nouveau parasite était déjà identifiable depuis 1957 dans le pays, et qu'il était similaire à ceux retrouvés par Bjerkas (Bjerkas et Dubey, 1991). Ils proposent alors le genre *Neospora* et l'espèce *Neospora caninum* pour nommer ce protozoaire.

En parallèle, différentes études menées en Californie rapportent que l'un des agents principaux d'avortement dans les élevages de bovins est un protozoaire (Thilsted et Dubey, 1989 ; Barr *et al.*, 1990). Le diagnostic est finalement pausé quand un sérum spécifique de *Neospora caninum* est disponible et que le parasite trouvé dans les tissus fœtaux régit avec des anticorps anti-*Neospora caninum* (Lindsay et Dubey, 1989).

Il est identifié sur des kystes localisés sur d'autres organes, comme sur des lésions kystiques sur le foie d'une femelle Basset Hound de 8 mois (J. P. Dubey *et al.*, 1988a) et en 1989 sa transmission transplacentaire est reproduite expérimentalement chez le chien (Dubey et Lindsay, 1989).

En 1996, un test ELISA est élaboré pour le diagnostic de la néosporose chez le chien et chez les bovins (Dubey *et al.*, 1996).

1.ii. Classification taxonomique

Depuis sa découverte, les données permettant d'enrichir la connaissance de *Neospora caninum* ont conduit à la classification suivante :

Tableau 1: Classification taxonomique de *N. caninum*. D'après Goodswen et al., (2013) ; Schoch et al., (2020).

Domaine	Eucaryota
Règne	Protista
Embranchement	Apicomplexa
Classe	Coccidia
Ordre	Eucoccidiorida
Sous-ordre	Eimeriorina
Famille	Sarcocystidés
Genre	Neospora
Espèce	Neospora caninum

Définition du genre *Neospora* d'après (Dubey et al., 2020):

« Kystes cellulaires dans différents types de cellules, premièrement dans les tissus nerveux. Kystes tissulaires allant jusqu'à 4 μm d'épaisseur, nombreux bradyzoïtes, non séparé par un septa. Tachyzoïtes avec de nombreuses rhoptries denses aux électrons, certaines postérieures au nucleus. Les canidés (chien, loup, coyote) sont les hôtes définitifs, et beaucoup d'espèces sont hôtes intermédiaires. Les tachyzoïtes et kystes tissulaires sont présents dans les hôtes intermédiaires comme définitifs. Les oocystes sont excrétés non sporulés. La transmission se fait par carnivorisme, voie transplacentaire, et fécale. Les tachyzoïtes, kystes tissulaires et oocystes sont infectant pour les hôtes intermédiaires comme définitifs. »

Neospora caninum est voisin de *Toxoplasma gondii* au regard des similitudes des lésions parasitaires kystiques qu'ils causent tous deux, majoritairement localisé dans les tissus nerveux. Cependant, des comparaisons génétiques montrent qu'il n'y a pas de relation proche entre *Neospora caninum* et *Toxoplasma gondii* (Guo et Johnson, 1995).

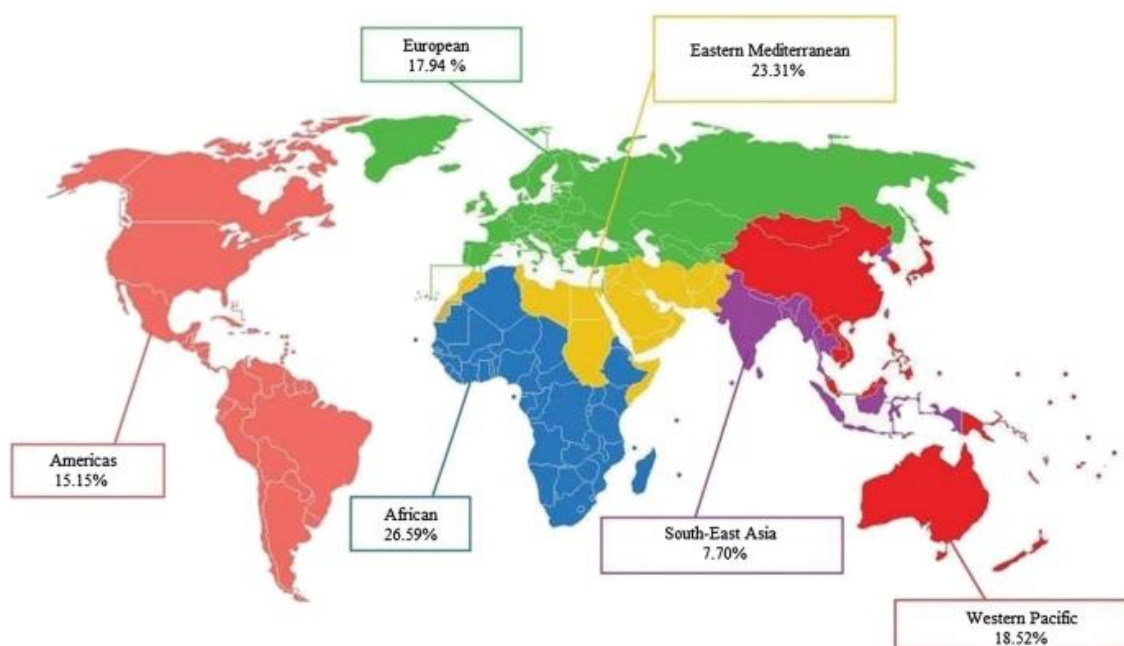
Enfin il n'est plus le seul parasite de son genre car depuis 1998, A.E Marsh et ses collaborateurs ont isolé puis baptisé une nouvelle espèce chez le cheval, *Neospora hughesi* (MARSH et al., 1998).

2. Epidémiologie

2.i. Séroprévalence dans le monde

Récemment Anvari et ses collaborateurs (Anvari *et al.*, 2020) ont effectué un travail de synthèse des différents résultats de séroprévalence obtenus à travers le monde. Cette méta analyse a permis de dresser une carte des prévalences par pays et par continent (figure 1).

Figure 1: Séroprévalence de *N. caninum* chez le chien dans le monde selon Anvari *et al.*, (2020).



La figure n°1 présente donc les résultats d'une analyse menée en regroupant les données publiées sur PubMed, Scopus, Web of Science, Science Direct et Google scholar. Les critères d'inclusions sont les suivants : Des études de prévalence de *Neospora caninum* chez le chien, provenant des publications originales, disponibles en anglais. Les critères d'exclusions sont : le non-respect des critères d'inclusion, les données provenant de revues et de « case report ».

Sur un total de 156 articles, la prévalence totale (intervalle de confiance à 95%) de l'infection à *N. caninum* dans la population canine mondiale a été mesurée à 17,14% [15,25 ; 19,10]. En Europe, la prévalence totale (intervalle de confiance à 95%) de l'infection à *N. caninum* dans la population canine a été mesurée à 17,94% [14,19 ; 22,04] (Anvari *et al.*, 2020).

La seule analyse mentionnée pour la France, prend en compte des sérologies de chiens vivant au sein d'élevages de bovins présentant des épisodes d'avortements (Pitel *et al.*, 2001).

Le tableau n°2 présente quelques-unes des études, dans l'ordre chronologique, qui ont étudié la prévalence de *Neospora caninum* dans les populations canines d'Europe utilisées par Anvari et ses collaborateurs.

**Tableau 2: Quelques données de prévalence à *N. caninum* en Europe.
Q.A : Indice de confiance de l'étude (de 1 à 7).
D'après Anvari *et al.*, (2020).**

PAYS	AUTEUR	ANNEE	NOMBRE DE PRELEVEMENTS	NOMBRE DE POSITIFS	% POSITIFS	METHODE	Q.A
ANGLETERRE	Trees <i>et al.</i>	1993	163	21	8,2%	IFAT	5
DANEMARK	Rasmusen	1996	98	15	4,9%	IFAT	6
BELGIQUE	Barber	1997	300	33	15,0%	IFAT	7
ROYAUME-UNI	Barber	1997	500	1	25,0%	IFAT	7
PAYS-BAS	Wouda	1999	496	55	24,8%	ELISA	7
TURQUIE	Coskun	2000	150	15	7,5%	IFAT	7
FRANCE	Pitel	2001	22	5	1,1%	NAT	5
ALLEMAGNE	Klein	2001	200	22	10,0%	IFAT	7
ITALIE	Cringoli	2002	1058	68	52,8%	IFAT	7
ESPAGNE	Ortuño	2002	139	17	6,9%	IFAT	7
ITALIE	Capelli	2004	707	77	35,3%	ELISA	7
ITALIE	Kramer	2004	282	51	14,1%	IFAT	7
BELGIQUE	Lasri	2004	93	71	4,6%	ELISA	7
ITALIE	Capelli	2006	618	74	30,8%	IFAT	6
ESPAGNE	Regidor-Cerrilo	2010	275	120	13,7%	IFAT	7
POLOGNE	Goździk	2011	257	56	12,8%	ELISA	6
ROUMANIE	Gavrea	2012	1114	364	32,7%	IFAT	6
ROUMANIE	Mitrea	2013	84	17	20,2%	IFAT	7
PORTUGAL	Maia	2014	441	35	21,9%	c-ELISA	7
ROYAUME-UNI	Bodnariu	2015	60	15	3,0%	IFAT	7
ITALIE	Machacova	2016	398	59	14,8%	IFAT	6
ITALIE	Robbe	2016	100	32	5,0%	IFAT	6
TURQUIE	Zhou	2016	187	31	9,3%	ELISA	7
PORTUGAL	Waap	2017	286	93	14,2%	IFAT	7
ALLEMAGNE	Villagra-Blanco	2018	218	16	10,8%	ELISA	6

2.ii. Séroprévalence en France

En France, hormis l'étude réalisée en 2001 par Pitel et ses collaborateurs, aucune autre donnée n'est disponible chez l'espèce canine. Pitel et ses collaborateurs, au cours de leurs recherches ont analysé un total de 22 chiens provenant d'élevages de bovins où des avortements étaient rapportés. Cinq chiens présentaient des anticorps dirigés contre *Neospora caninum* (tableau 10). Soit une prévalence de 22,7% dans l'échantillon (Pitel *et al.*, 2001)

2.iii. Facteurs de risque

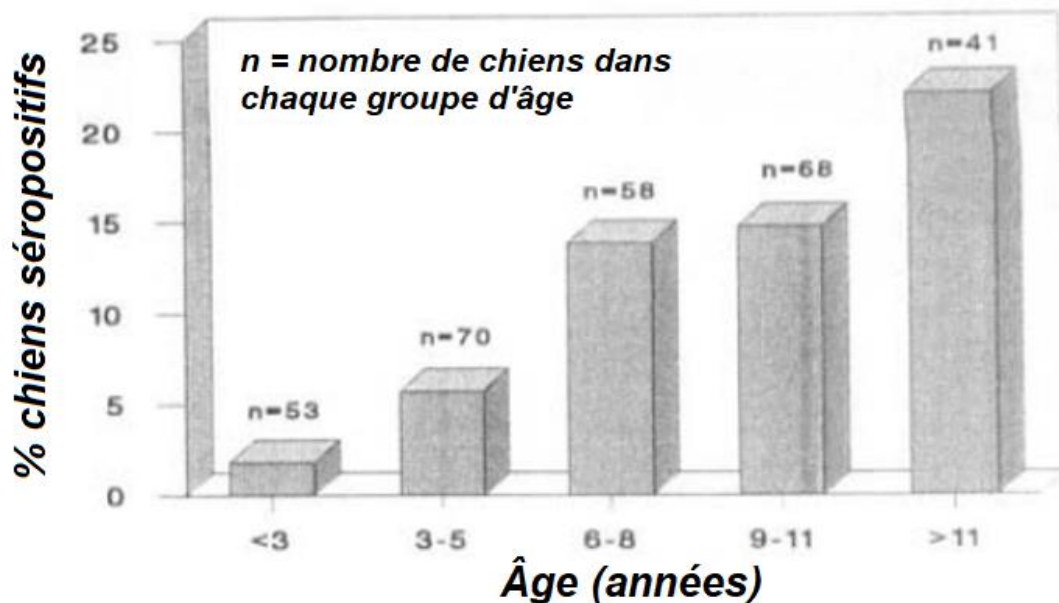
Plusieurs études ont identifié des facteurs de risque qui semblent influencer la séroprévalence chez le chien.

2.iii.1. L'âge

La séroprévalence à *Neospora caninum* augmente avec l'âge des individus. Cela suggère qu'une majeure partie des infections a eu lieu après la naissance au cours de la vie de l'animal. Le plus probablement par l'ingestion de kystes tissulaires provenant des hôtes intermédiaires. Toutefois, d'une manière générale, seulement une partie des chiens séroconvertissent et développent des anticorps contre les tachyzoïtes de *Neospora caninum* (Barber *et al.*, 1997a ; Barber *et al.*, 1997b ; Dubey *et al.*, 2020).

La figure 2 et le tableau 3 permettent de visualiser cette tendance.

Figure 2: Séroprévalence à *N. caninum* en fonction de l'âge chez des chiens en Belgique. D'après Barber *et al.*, (1997b).



**Tableau 3: Séroprévalence à *N. caninum* en fonction de l'âge chez le chien au Pays-Bas.
D'après Wouda *et al.*, (1999).**

* : Les auteurs précisent que les chiens de clinique sont majoritairement des chiens de zone urbaines.

PROPORTION DE CHIENS SEROPOSITIFS A <i>N. CANINUM</i>							
	0-1 an	2-3 ans	4-5 ans	6-7 ans	8-9 ans	≥ 10ans	Tout âge
CHIENS D'ELEVAGES DE BOVINS	2/25	8/48	5/24	8/15	4/16	9/24	23,6%
CHIENS DE CLINIQUE*	0/41	2/81	3/63	6/60	5/53	3/46	5,5%
% DE SEROPREVALENCE PAR TRANCHE D'AGE (TOUS LES CHIENS)	3,0%	7,7%	9,2%	18,7%	13,0%	17,1%	

2.iii.2. Le genre

L'effet du genre a été observé sur quelques études et est encore débattue (Dubey *et al.*, 2020).

Le tableau 4 compare des données de séroprévalence entre mâles et femelles.

Tableau 4: Séroprévalence à *N. caninum* en fonction du sexe chez le chien.

	FEMELLES POSITIVES	MALES POSITIFS
(SICUPIRA <i>ET AL.</i>, 2012)	7,7%	10,0%
(WOUDA <i>ET AL.</i>, 1999)	14,1%	6,8%
(FILHO ET JUNIOR, 2008)	12,2%	19,6%
(GHALMI <i>ET AL.</i>, 2009)	22,08%	22,44%

2.iii.3. La race

Quelques études montrent que la séroprévalence chez les chiens croisés est plus grande, 30,83% contre 11,95% pour les races pures (Ghalmi *et al.*, 2009), ou 18,0% contre 3,9% (Bruhn *et al.*, 2012).

D'autres études montrent que la prévalence est plus grande chez tous les chiens de race pures, 20,1% contre 11,7% pour les chiens croisés (Filho et Junior, 2008).

Enfin, certaines observent des prévalences plus élevées chez certaines races particulières comme le husky sibérien au Japon, 42,9% (9/21) pour une prévalence dans l'échantillon de 10,4% (126/1206) (Kubota *et al.*, 2008), ou la race boxer en Italie, 40% (8/40) pour une prévalence dans l'échantillon de 6,4% (68/1058) (Cringoli *et al.*, 2002).

Ces résultats restent inexpliqués d'un point de vue biologique, et il est possible qu'ils soient liés à des biais de sélection, l'existence de prédisposition d'une certaine race ou de susceptibilité différentielle du sexe de la néosporose chez les chiens est encore inconnue (Dubey *et al.*, 2020).

2.iii.4. La présence d'hôtes intermédiaires

La séropositivité des chiens vivant au sein d'élevages de bovins est fortement corrélée à un haut taux de prévalence d'anticorps anti *Neospora caninum* dans l'étable ($p=0.0002$) (Wouda *et al.*, 1999), et les chiens vivant dans des fermes bovines sont plus fréquemment séropositifs (OR = 2-96) (Kramer *et al.*, 2004).

Ce phénomène trouve aussi écho en France (tableau 5) dans la seule étude ayant donné des résultats de séroprévalence chez le chien dans le pays.

Tableau 5: Résultats de sérologie contre *N. caninum* chez les bovins et les chiens de 12 fermes de l'ouest de la France. D'après Pitel *et al.*, (2001).

GROUPES	A	B	C	D
VACHES AVORTEES	>10%	>10%	<10%	<10%
VACHES AVORTEES SEROPOSITIVES	>50%	<50%	>50%	<50%
NOMBRE DE CHIENS SEROPOSITIFS	3/13	0/2	0/4	2/3

Une étude menée en Nouvelle-Zélande a montré qu'il n'y avait pas de différence de prévalence entre les chiens vivant dans les élevages de mouton ou de bovins (Antony et Williamson, 2003). Toutefois Haddadzadeh *et al.* ont montré que les chiens issus de fermes ovines sont plus à risque que des chiens qui vivaient en ville ou qui n'ont pas accès à l'extérieur (Haddadzadeh *et al.*, 2007).

La présence de poulets ou d'autres oiseaux domestiques dans le cycle du parasite n'est pas parfaitement déterminée pour l'instant. Cependant, la présence de poulets ou autres volailles domestiques augmente significativement le risque pour les chiens d'être séropositif pour *Neospora caninum* (Bruhn *et al.*, 2012).

2.iii.5. L'habitat

Les chiens provenant de zone urbaine ont généralement moins de risques d'être infectés si on les compare aux chiens vivant dans des zones périurbaines ou rurales (5,5% pour les zones urbaines contre 20,4% pour les zones rurales, sur 339 sérums analysés (Filho et Junior, 2008)).

Les chiens vivant ou ayant accès à des sols non urbanisés (sur des pelouses, parc ou jardins) intéressent certains auteurs, qui ont décrit que ce paramètre était déterminant pour l'infection à *Toxoplasma gondii* ($p < 0.001$) (Bresciani *et al.*, 2007 ; Benetti *et al.*, 2008).

Aussi, les chiens errants tout comme les chiens ayant accès aux rues sont plus à risque (58,7% contre 0% sur 87 chiens examinés (Benetti *et al.*, 2008), 25% contre 10% sur 600 chiens (Gennari *et al.*, 2002)), selon les auteurs car ils ont accès à des restes de nourriture ou des proies hôtes intermédiaires chassées par ces chiens.

2.iii.6. L'alimentation

Les chiens qui ont accès à des tissus d'hôte intermédiaires du parasite sont plus à risque d'être séropositifs. Cela inclut les fœtus ou placenta (18,04% pour les chiens ayant accès à des fœtus ou des placentas bovin contre 6,40% pour les chiens n'en ayant pas accès, $p < 0,001$ (Nogueira *et al.*, 2013)), restes de viandes crues (16,9% pour les chiens en consommant contre 9,8% chez les chiens n'en consommant pas, $p = 0,17$ (Filho et Junior, 2008)), le lait de bovin (14,2% pour ceux en consommant contre 6,5% pour ceux n'en consommant pas, $p = 0.016$ (Sicupira *et al.*, 2012)).

Dans les fermes où les carcasses/cadavres ne sont pas immédiatement retirés, le nombre de séropositifs est significativement augmenté, 25,4% contre 13,5% ($p = 0.03$) (Filho et Junior, 2008).

2.iii.7. Les coinfections

Plusieurs études sur la séroprévalence à *Neospora caninum* ont montré que la probabilité que des chiens positifs pour *Leishmania infantum* soient positifs à la recherche d'anticorps anti-*Neospora caninum* était plus grande que chez les chiens négatifs pour *Leishmania infantum* (Gennari *et al.*, 2006). Cringoli et ses collaborateurs (Cringoli *et al.*, 2002) montrent ainsi que 67,6% des chiens positifs à *Neospora caninum* étaient aussi positifs pour *Leishmania infantum*. Une explication résiderait dans la capacité qu'à *Leishmania infantum* de réduire l'immunité de son hôte, favorisant l'infection du chien par *Neospora caninum*. Dubey et ses collaborateurs (Dubey *et al.*, 2020) proposent eux que des facteurs de risques commun en terme d'habitat et de zone géographique expliquent ces coinfections.

A ce stade il n'existe aucune preuve que d'autres agents infectieux favorisent la présence de *Neospora caninum* ou vice versa. En dehors de réactions croisées, il semble ainsi probable que le style de vie et l'habitat des chiens positifs pour d'autres infections soient responsables de cette observation (Dubey *et al.*, 2020)

2.iii.8. D'autres facteurs

Une étude menée en Algérie (Ghalmi *et al.*, 2009) a montré que les chiens vaccinés montraient une séroprévalence significativement plus basse que les chiens non vaccinés. Cette observation est supposément reliée au fait que l'attention portée par les propriétaires envers les chiens vaccinés était plus grande. Ils sont notamment nourris régulièrement et avec des aliments de source connue.

Aussi sur cette même étude, un effet saisonnier a été reporté avec une plus grande prévalence chez les chiens prélevés en été, où les conditions climatiques peuvent influencer le temps de survie des oocystes excrétés, mais aussi la plus grande présence d'hôtes intermédiaires dans les milieux.

La présence de traitement en cours peut aussi influencer la séropositivité : les corticoïdes semblent potentialiser la transmission de *Neospora caninum* (D. S. Lindsay *et al.*, 1999)

3. Stades parasitaires

On a identifié à ce jour trois stades parasitaires chez *Neospora caninum* : Les tachyzoïtes, les bradyzoïtes réunis sous forme de kystes tissulaires, et les oocystes. Leurs principales caractéristiques sont présentées dans le tableau 6, et les critères de diagnose dans le tableau 7.

3.i. Les tachyzoïtes

Les tachyzoïtes représentent la forme de multiplication rapide du parasite, intracellulaire obligatoire. Ovoïdes, arrondis ou globulaires, ils mesurent de long en large 3-7 μm x 1-5 μm . Ils possèdent une membrane plasmique à trois couches et un complexe apical composé de microtubules, d'anneaux apicaux, d'un conoïde et d'un anneau polaire. Les tachyzoïtes de *Neospora*, tout comme celles de *Toxoplasma*, contiennent un ensemble d'organelles sécrétoires : des micronèmes, des rhotries et des granules denses (Hemphill, 1999).

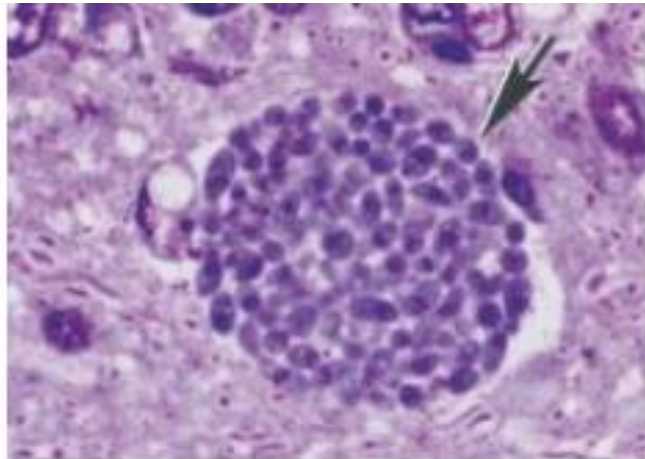
Les tachyzoïtes peuvent proliférer dans différents types de cellules, incluant les cellules nerveuses, endothéliales, du derme, de la rétine, les hépatocytes, les macrophages et fibroblastes (Dubey *et al.*, 2020).

Dans la cellule hôte les tachyzoïtes se trouvent à l'intérieur d'une vacuole parasitophore. Une seule cellule hôte peut être infectée par plusieurs parasites et peut donc contenir plusieurs vacuoles parasitophores, dont la taille croît à mesure que le nombre de parasite présent dans la vacuole augmente. Il est possible d'en identifier une centaine par plan de section, soit seuls dispersés dans le cytoplasme de la cellule hôte, soit par groupe bien défini de 4 ou plus, sans aucune organisation interne (Kuzniak, 2001).

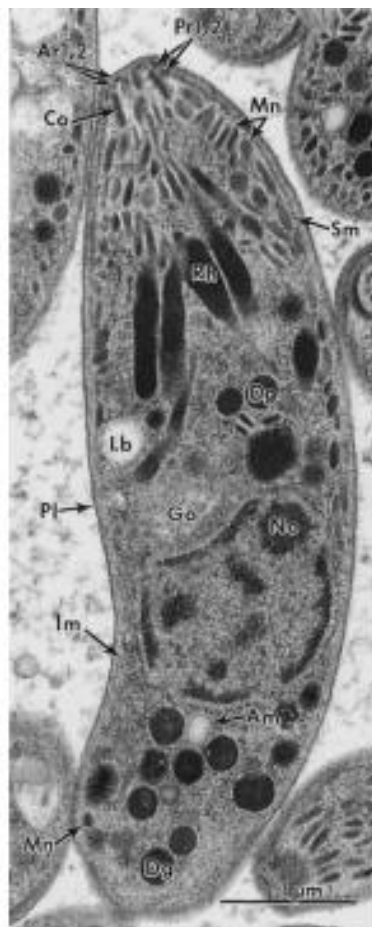
Les tachyzoïtes en se multipliant, atteignant une taille critique, provoquent une lyse de la cellule hôte, ce qui permet aux parasites d'infecter les cellules voisines (Hemphill, 1999).

Des clichés de tachyzoïtes obtenus par microscopie optique et électroniques sont présentés en figure 3 et 4.

**Figure 3: Plusieurs tachyzoïtes de *N. caninum* regroupés dans l'encéphale d'un chien.
D'après J. P. Dubey *et al.*, (1988a).**



**Figure 4: Ultrastructure d'un tachyzoïte de *N. caninum* dans une vacuole parasitophore.
Abréviations : Pr : anneaux polaire, Co : conoïde, Mn : micronème, Sm : microtubule sub-pelliculaire, Rh : rhoptrie, Dg : granules denses, Lb : corps lipidiques, Pl : plasmalemme, Go : appareil de Golgi, No : noyau, Tm : réseau tubulo-vésiculaire membranaire, Im : complexe de la membrane pelliculaire, Am : amylopectine, Mn : micronème.
D'après Speer *et al.*, (1999).**



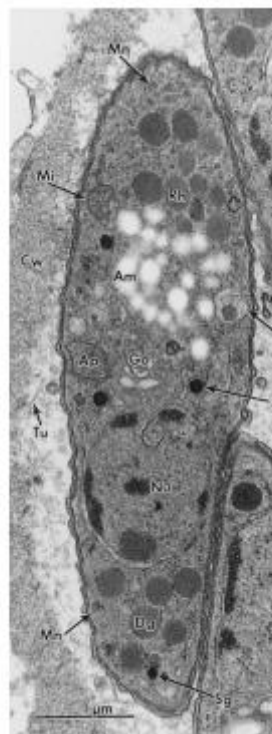
3.ii. Les bradyzoïtes et les kystes tissulaires

Seconde forme identifiée, les bradyzoïtes représentent la forme quiescente ou de multiplication lente du parasite. Ils sont de forme effilée, avec une taille de 6-8 μm x 1-1.8 μm , et contiennent les mêmes organites que ceux identifiés chez les tachyzoïtes. Il y a cependant moins de rhoptries, plus de granules, une plus grande quantité de micronèmes et de granules d'amylopectines (Jardine, 1996). Le bradyzoïte est aussi appelé cystozoïte (figure 5).

Figure 5: Ultrastructure d'un bradyzoïtes de *N. caninum*.

Abréviations : Mn : micronème, Mi : mitochondrie, Rh : rhoptrie, Cw : paroi du kyste, Am : amylopectine, Ap : plasmide, Go : appareil de Golgi, Sg : petit granule dense, Tu : tubule, Nu : noyau, Dg : granule dense.

D'après Speer *et al.*, (1999).



Les bradyzoïtes sont réunis sous formes de kystes tissulaires qui se présentent souvent sous une forme ronde à ovale. Ils varient en taille dépendamment de la durée de l'infection. Les plus petits peuvent contenir quelques bradyzoïtes et mesurer à peine 5 μm de diamètre, alors que des kystes plus anciens peuvent contenir plus de 200 bradyzoïtes pour un diamètre de 107 μm (Dubey *et al.*, 2004).

La paroi du kyste tissulaire est lisse et d'une épaisseur allant de 1 à 2 μm jusqu'à 4 μm , dépendant probablement de la durée de l'infection (Hesse, 2002). Cet élément est d'ailleurs à prendre en compte quand il s'agit de distinguer un kyste parasitaire à *Toxoplasma gondii*, dont la paroi reste fine, par rapport à un kyste parasitaire à *Neospora caninum*. L'ambiguïté survient naturellement lorsque le kyste parasitaire à *Neospora caninum* est d'apparition récente. On pense donc actuellement que de petits kystes à coque fine seraient caractéristiques d'un stade précoce d'infestation par le parasite et donc de l'infection, tandis que les kystes plus volumineux à coque

épaisse correspondraient à des stades avancés de l'infection ou une forme subclinique latente (Jardine, 1996).

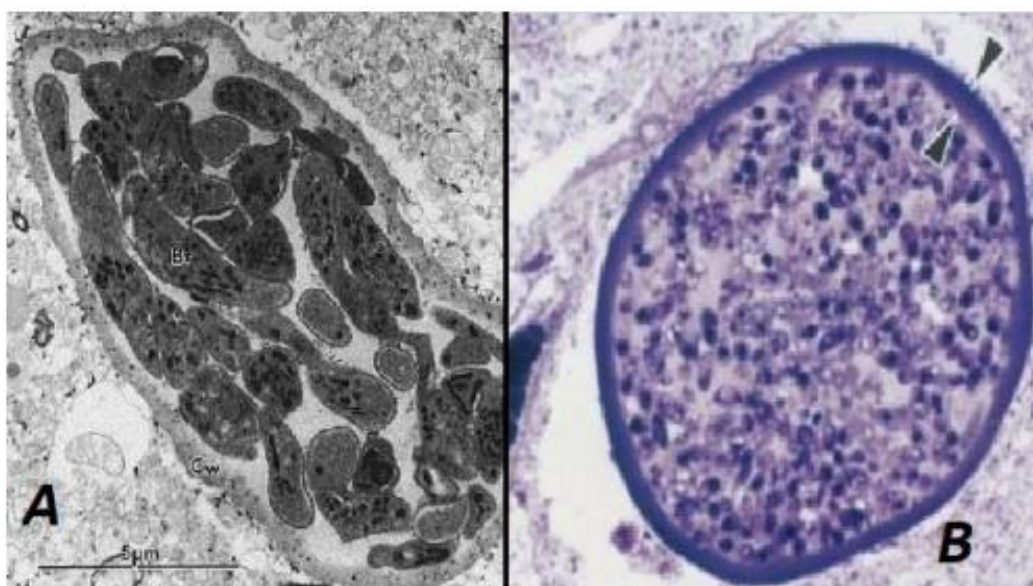
Les kystes tissulaires à bradyzoïtes sont résistants à une solution de HCL-pepsine ce qui suggère que le carnivorisisme pourrait être une partie du cycle parasitaire de *Neospora caninum* (Lindsay et Dubey, 1990).

La formation de kystes à *Neospora caninum* chez les animaux naturellement infectés n'est pas entièrement comprise, et constitue un axe de recherche important (Dubey *et al.*, 2020). Chez *T. gondii*, différents facteurs de stress incluant l'augmentation de la température, l'élévation du pH, le traitement à l'arsénite de sodium, et l'apport d'inhibiteurs mitochondriaux, stimulent la conversion in vitro de la forme tachyzoïte à bradyzoïte. Seulement la plupart de ses facteurs n'entraînent pas ou avec moins d'efficacité cette conversion pour *N. caninum* (Dubey *et al.*, 1998a). Selon Dubey, la capacité du bradyzoïte à former un nouveau bradyzoïte sans passer par la forme tachyzoïte fait encore beaucoup débat (Dubey, 2005a).

On retrouve majoritairement les kystes dans le tissu nerveux, particulièrement le cerveau et la moelle épinière (Dubey *et al.*, 2020). D'autres ont été identifiés sur des nerfs et la rétine (J. P. Dubey *et al.*, 1988a ; J.P. Dubey *et al.*, 1988b), ou dans les fibres musculaires des muscles striés squelettiques (Peters *et al.*, 2001). Différentes recherches histologiques confirment que les kystes tissulaires sont rares dans d'autres organes sur les animaux naturellement infectés (Dubey *et al.*, 2020).

Des clichés de kystes à bradyzoïtes obtenus par microscopie optique et électronique sont présentés en figure 6.

**Figure 6: (A) Ultrastructure d'un kyste contenant 30 bradyzoïtes. D'après Speer *et al.*, (1999).
Abréviations : Br : Bradyzoïtes, Cw : Paroi du kyste.
(B) Kyste tissulaire contenant des bradyzoïtes provenant d'un encéphale de chien. D'après J. P. Dubey *et al.*, (1988a).**



3.iii. Les oocystes

La troisième forme identifiée du parasite. Il existe selon Dubey et ses collaborateurs un consensus d'après lequel les oocystes représentent le seul stade issu de la reproduction sexuée chez *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 2020).

Les oocystes non sporulés sont excrétés dans les fèces de l'hôte définitif. Ils sont de forme sphérique avec un diamètre de 10 à 11 μm et contiennent un sporonte central. Les oocystes sporulent en 3-5 jours, ils contiennent deux sporocystes avec chacun quatre sporozoïtes. Les oocystes sporulés sont de plus grande taille que les non sporulés : 11,7 μm x 11,3 μm (McAllister *et al.*, 1998).

Mc Allister et ses collaborateurs ont isolés des oocystes dans les fèces de trois chiens nourris avec des souris infectées par *Neospora caninum*. L'apparence des oocystes de *Neospora caninum* en microscopie optique est semblable à celle des oocystes de *Hammondia heydoni* (chez le chien) ou de *Toxoplasma gondii* et *Hammondia hammondi* (chez le chat). On ne peut donc pas les distinguer morphologiquement à cette échelle (McAllister *et al.*, 1998 ; Kuzniak, 2001).

Des clichés d'oocystes obtenus par microscopie optique et électroniques sont présentés en figure 7.

Figure 7: Oocystes de *N. caninum* sporulés retrouvés dans des fèces de chien. D'après David S Lindsay *et al.*, (1999).

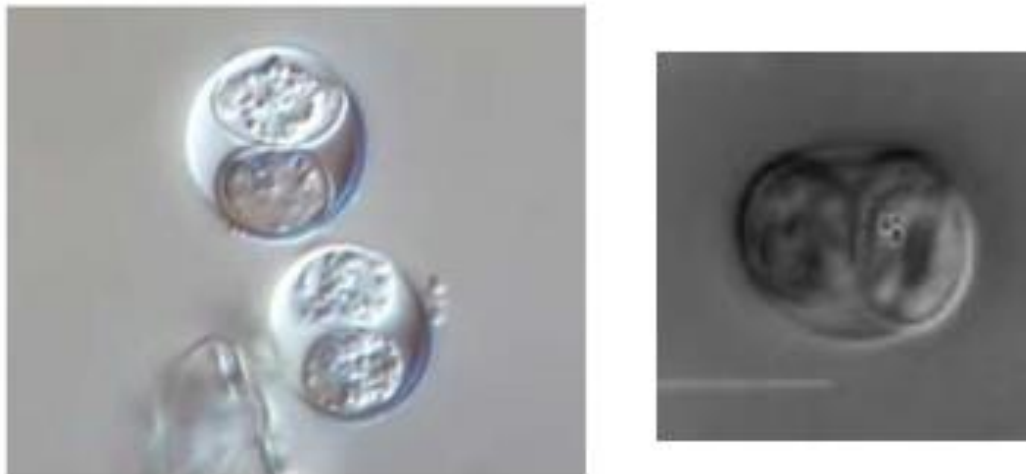


Tableau 6: Récapitulatif des principaux éléments structuraux de *N. caninum*. D'après (Hesse, 2002).

	TACHYZOÏTES	KYSTES TISSULAIRES A BRADYZOÏTES	OOCYSTES
FORME	Ovoïde	Ronds à ovales	Sphériques
TAILLE	3 à 7 µm sur 1 à 5 µm	Kystes : Jusqu'à 107 µm Bradyzoïtes : 6 à 8 µm sur 1 à 1,8 µm	10 à 11 µm
LOCALISATION	Dans de nombreux types cellulaires, à l'intérieur d'une vacuole parasitophore	Kystes : Tissus nerveux majoritairement (Partie 5.i)	Selles de l'hôte définitif (Partie 4.i)
STRUCTURE	2 anneaux apicaux 1 conoïde 1 anneau polaire Jusqu'à 150 micronèmes 8 à 18 mitochondries 1 appareil de Golgi REL et REG 1 noyau et 1 nucléole	Kyste à paroi lisse d'une épaisseur pouvant aller jusqu'à 4 µm (1 à 2 en général), contenant 50 à 200 bradyzoïtes Mêmes organites que pour les tachyzoïtes avec moins de rhoptries (6 à 12)	Avant sporulation : 1 sporonte central Après sporulation : 2 sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes

Tableau 7 : Principaux critères de diagnose différentielle de *N. caninum* d'après Lindsay *et al* (1993) et Marquer (1999).

PAS : Coloration à l'acide périodique de Schiff.

	<i>NEOSPORA CANINUM</i>	<i>TOXOPLASMA GONDII</i>	<i>SARCOCYSTIS SP</i>
STRUCTURE GENERALE	Structure identique au microscope optique		
	PAS négatif	PAS positif	
STRUCTURE DU KYTE	Paroi plus épaisse (1-4 μm) que la largeur des bradyzoïtes Kyste tissulaire non septé	Paroi plus fine (0,5 μm) que la largeur des bradyzoïtes	Paroi épaisse Kyste tissulaire septé
LOCALISATION DES KYSTES	Principalement nerveux	Nombreux tissus	Muscles squelettiques et cardiaques SNC rare
ULTRASTRUCTURE DES TACHYZOÏTES	Rhoptries nombreuses, denses (8-12 antérieures et certaines postérieures) Micromères antérieurs et corps denses nombreux Micropores rares	Rhoptries peu nombreuses (4-8 en nid d'abeilles ou labyrinthe) Micromères antérieurs et corps denses rares Micropores courants	Pas de rhoptrie
MODE DE MULTIPLICATION DES TACHYZOÏTES	Endodyogénie	Endodyogénie	Endopolygénie

4. Cycle parasitaire et modes d'infection

Les trois stades de *N. caninum* (tachyzoïtes, bradyzoïtes et oocystes) sont impliqués dans la transmission du parasite (Dubey *et al.*, 2007), en faisant intervenir les hôtes définitifs et intermédiaires.

4.i. Hôtes définitifs

Neospora caninum présente un nombre restreint d'hôtes définitifs. La résistance naturelle du parasite sous sa forme kystique à une solution d'acide chlorhydrique et de pepsine incrimine en premier lieu les carnivores (Lindsay et Dubey, 1990).

Les Canidés, famille notamment composée du chien domestique (*Canis lupus familiaris*) et sauvage incluant le dingó (*Canis lupus dingo*), sont hôtes définitifs principaux (D. S. Lindsay *et al.*, 1999 ; Dijkstra *et al.*, 2001 ; Dubey *et al.*, 2020).

Les démonstrations de l'implication du chien ont été réalisées autant *in vitro* (après ingestion de souris immunodéprimés infectées par tachyzoïtes) (McAllister *et al.*, 1998) qu'à l'état naturelle (D. S. Lindsay *et al.*, 1999). Les conclusions se rejoignent : le chien excrète des oocystes après une période prépatente allant de 3 à 5 jour, il n'y a pas nécessairement de séroconversion du chien après excrétion des oocystes, et le chien excréteur ne présente aucun symptôme durant cette période.

A ce jour des oocystes de *Neospora caninum* ont aussi été retrouvés dans les fèces de quatre coyotes (*Canis latrans* (Gondim *et al.*, 2004)) et de 73 loups gris (*Canis lupus* (Dubey *et al.*, 2011)). Ils sont considérés donc comme hôtes définitifs.

A ce jour, comme aucun oocyste de *N. caninum* n'a été clairement identifié dans les fèces de renard, il n'est pas considéré comme hôte définitif (Dubey *et al.*, 2007). Cependant des oocystes semblables morphologiquement à *N. caninum* ont été retrouvés dans les fèces de renard roux, et un examen par PCR de ces fèces a montré un degré de similarité de 95 à 99% avec la séquence Nc5 de *N. caninum* (Wapenaar *et al.*, 2006).

4.ii. Hôtes intermédiaires

Beaucoup d'espèces sont hôtes intermédiaires, avec la circulation du parasite à la fois parmi les animaux domestiques d'élevages et parmi les animaux sauvages.

Le tableau 8 distingue parmi les hôtes intermédiaires naturels du parasite ceux où le parasite viable a été isolé, ceux où seulement l'ADN de *Neospora caninum* a été retrouvé, ceux où seulement les anticorps dirigés contre *Neospora caninum* ont été retrouvés et ceux où un diagnostic clinique de neosporose a été confirmé.

Comme décrit dans le tableau 8, de l'ADN du parasite a été retrouvé chez certaines espèces aviaires. Une étude expérimentale sur des pigeons domestiques a démontré que le développement du parasite au sein de ces derniers était possible. Cela rend envisageable le rôle, en tant qu'hôte intermédiaire, du pigeon et autres oiseaux colomiformes dans la dissémination du parasite à des échelles plus large (McGuire *et al.*, 1999).

Tableau 8: Hôtes naturels de *N. caninum*. D'après Dubey *et al.*, (2020).

Parasite viable isolé	ADN du parasite seulement isolé	Anticorps dirigés contre le parasite trouvés	Maladie clinique confirmée
Cerf axis	Blaireau	Chat	Alpaga
Cerf à queue blanche	Ours brun	Humain - Primate	Antilope
Bovin	Capybaras	Cochon	Cerf axis
Chien	Furet	Plusieurs espèces d'oiseaux	Cerf à queue noire
Bison Européen	Renard chenu		Bovin
Loup gris	Vison		Chien
Mouton	Souris		Cerf d'Eld
Buffle d'eau	Loutre		Equidé
	Martre des pins		Chèvre
	Lapin		Lama
	Rat		Wallaby de Parme
	Renard		Martre des pins
	Musaraigne		Renard roux
	Ecureuil		Rhinocéros
	Bouc		Mouton
	Campagnol		
	Plusieurs espèces d'oiseaux		

Dubey (Dubey *et al.*, 2020) souligne que l'infection des chiens est encore mal comprise. Les oocystes sont cependant la clé de l'épidémiologie de la néosporose, mais on connaît peu leur biologie pour le moment.

4.iii. Transmission horizontale

Chez l'hôte définitif, l'ingestion de tissus infectés est la voie de contamination post natale la plus fréquente (Dubey *et al.*, 2020).

La capacité du chien à s'infecter par l'ingestion d'oocystes sporulés n'est pas encore comprise. Des chiens à qui on a inoculé expérimentalement des oocystes ont séroconverti mais n'ont pas excrété de nouveaux oocystes, et la présence de *Neospora caninum* dans leurs tissus n'a pas pu être démontrée (Bandini *et al.*, 2011).

Chez l'hôte intermédiaire, la contamination se réalise par ingestion de nourriture ou d'eau contaminée par des oocystes sporulés (Dubey *et al.*, 2007). Un rapport de cas mené sur 300 renards roux nourris avec des carcasses de bœuf, a montré que 51% d'entre eux présentaient par la suite des anticorps contre *Neospora caninum* (Trees et Williams, 2000).

4.iv. Transmission verticale ou transplacentaire

Actuellement, le parasite *Neospora caninum* est reconnu comme étant l'un des parasites transmis le plus efficacement à la descendance au cours de la gestation chez les bovins (Dubey *et al.*, 2007).

La transmission verticale chez la chienne gestante a aussi été démontré (Dubey et Lindsay, 1989).

Il faut distinguer deux modes de transmission transplacentaire : endogène et exogène. Le terme de transmission transplacentaire exogène désigne la transmission du parasite après une primo infection de la mère durant la gestation, alors que le terme de transmission transplacentaire endogène désigne la transmission résultant de la réactivation du parasite au cours de la gestation chez une mère infectée de manière persistante (Dubey *et al.*, 2007).

4.iv.1. Transplacentaire exogène

Concernant le mécanisme de transmission exogène du parasite (comparable au mode de transmission transplacentaire de *T. gondii*), il est probable qu'après l'ingestion, il y ait relargage dans l'intestin des sporozoïtes contenus au sein de l'oocyste. Les sporozoïtes colonisent alors l'épithélium intestinal et se transforment en tachyzoïtes. Il s'ensuit une phase de multiplication, qui pourrait avoir lieu dans les nœuds lymphatiques mésentériques. Les tachyzoïtes gagneraient ensuite la circulation sanguine. La parasitémie serait alors à l'origine de la dissémination de *Neospora caninum* dans l'organisme, dont l'utérus gravide. De nombreuses inconnues subsistent concernant la dissémination du parasite, car la parasitémie est difficile à observer expérimentalement (Dubey *et al.*, 2007).

4.iv.2. Transplacentaire endogène

La transmission transplacentaire endogène est le mode le plus commun de transmission de l'infection à *Neospora caninum* chez le bovin. *Neospora caninum* peut être à l'origine d'avortements répétés, lors de gestations successives ou de manière intermittente au sein du troupeau. Les différentes études épidémiologiques sont en effet en faveur d'une recrudescence de l'infection au cours de la gestation. Cette recrudescence serait vraisemblablement rendue possible à cause de la baisse d'immunité maternelle survenant à mi-gestation en règle générale (Dubey *et al.*, 2007 ; LE CORRE, 2012).

Chez la chienne, l'infection successive de plusieurs portées sans recontamination orale a aussi été démontrée (J. P. Dubey *et al.*, 1988a ; Dubey *et al.*, 1990).

4.v. Cycle parasitaire

Neospora caninum présente un cycle évolutif de type coccidien (J. P. Dubey *et al.*, 1988a ; Dubey et Lindsay, 1996).

Le cycle évolutif du parasite comporte 3 phases (Kuzniak, 2001):

- Chez l'hôte définitif, le parasite se reproduit de façon sexuée dans le tube digestif et des oocystes non sporulés sont rejetés dans les selles.
Le détail des étapes à savoir la reproduction asexuée (schizogonie) et la reproduction sexuée (gamétogonie) n'est pas connu (Dubey *et al.*, 2020).
- Une phase dans le milieu extérieur où les oocystes rejetés dans les excréments de l'hôte définitif ne sont pas immédiatement infectants (McAllister *et al.*, 1998). Leur résistance dans le milieu extérieur reste méconnue. Les oocystes vont sporuler 24 à 72 heures après l'excrétion et seront alors infectants pour les hôtes intermédiaires (Reichel *et al.*, 2007).
- Chez l'hôte intermédiaire, le parasite se reproduit de façon asexuée. L'hôte ingère les oocystes sporulés ou les kystes tissulaires à bradyzoïtes. Ces oocystes libèrent 4 sporozoïtes qui pénètrent dans les cellules.
Ils se transforment en tachyzoïtes et propagent l'infection aux tissus de l'hôte par division rapide.
Ils forment des kystes infectant l'organisme, sous l'influence de la réaction immunitaire.

On ne sait rien de la survie des oocystes de *N. caninum* dans l'environnement. En raison de sa relation étroite avec *T. gondii*, on suppose que la résistance environnementale des oocystes de *N. caninum* est similaire à celle des oocystes de *T. gondii* (Dubey, 2004), c'est-à-dire jusqu'à trois mois dans l'eau à une température de 4°C (Lindsay *et al.*, 2002), et jusqu'à 28 jours dans l'eau à une température de 40°C (Dubey, 1998) sous la forme d'oocyste non sporulé.

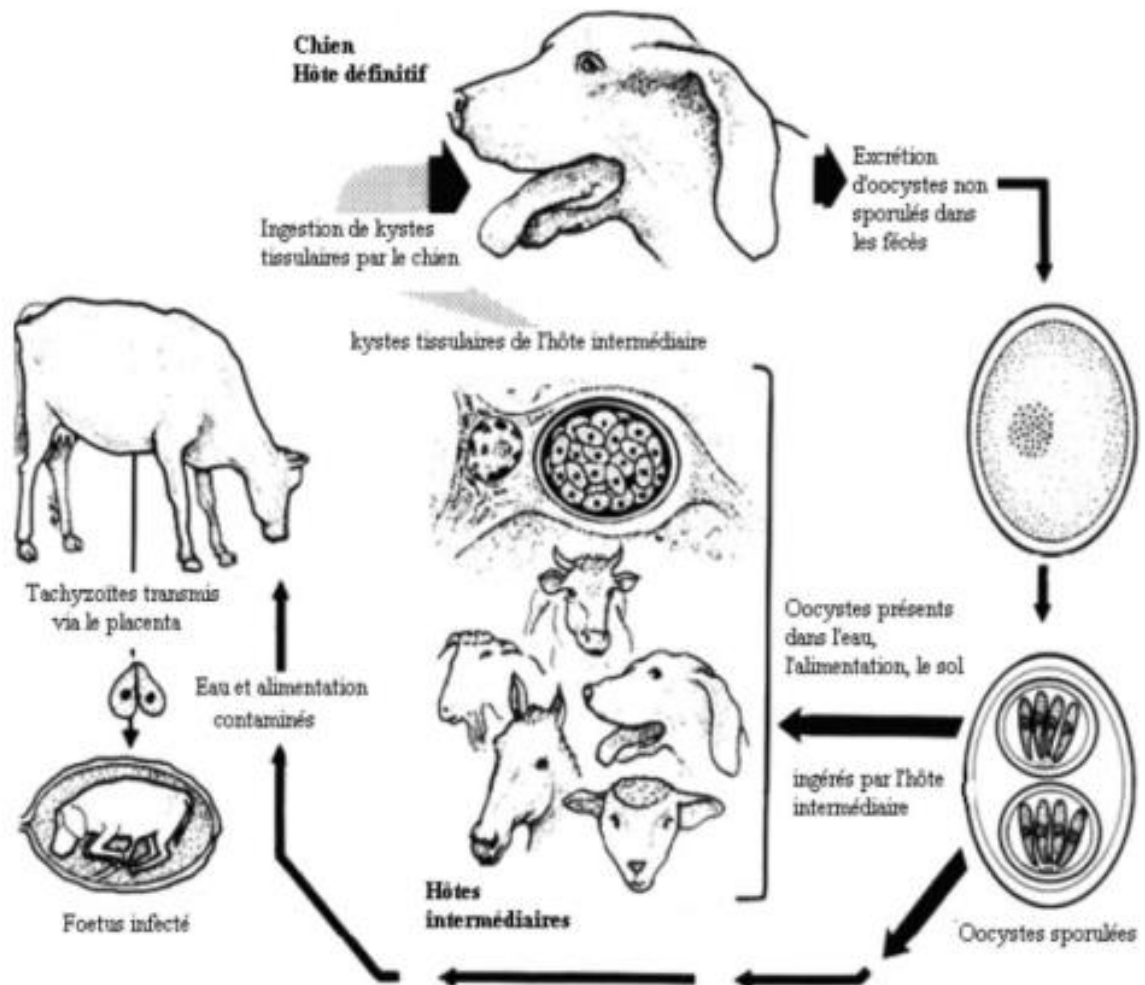
Si on s'attarde sur les éléments du cycle chez l'espèce canine :

- Le chien peut s'infecter en ingérant des matières souillées et contaminées, puis excréter des oocystes (hôte définitif).
- Dubey et ses collaborateurs (2007) ont identifiés des kystes à bradyzoïtes dans les tissus de chiens infectés (hôte intermédiaire).

De ce fait, Fontbonne *et al.* (2010) soulignent que le chien est à la fois hôte définitif et hôte intermédiaire du parasite. Cela rend selon eux l'espèce canine d'un intérêt tout particulier dans l'étude du parasite.

La figure n°8 schématise le cycle de *Neospora caninum*.

Figure 8: Cycle évolutif de *N. caninum*. Tiré de Dubey, (1999).



4.v.1. Cas particulier de la transmission chez le chien par ingestion de placenta ou d'avorton bovin

Une expérience a été menée par Dijkstra et ses collaborateurs en 2001 pour déterminer si le colostrum bovin ou le placenta de bovin pouvait être source d'infection pour les chiens. À cette fin, deux chiens ont été nourris de colostrum bovin auquel ont été ajoutés des tachyzoïtes de *N. caninum* issus de cultures, et deux autres chiens ont été nourris avec du tissu placentaire cotylédonaire provenant de vaches séropositives pour *N. caninum*. Aucun des chiens n'a produit d'anticorps sériques contre *N. caninum*. Les deux chiens ayant reçu du tissu cotylédonaire ont excrété des oocystes de *N. caninum*, mais aucune excrétion d'oocyste n'a été observée chez les deux chiens ayant reçu du colostrum contenant des tachyzoïtes de *N. caninum*. Il est donc seulement conclu que l'ingestion de placenta bovin par les chiens est un mode efficace de transmission de *N. caninum* des bovins aux chiens. (Dijkstra *et al.*, 2001).

Cependant au cours de la même année, Bergeron et son équipe n'ont pas réussi à démontrer la même chose. Après ingestion de placenta et de fœtus infestés, aucun chien n'a excrété d'oocystes. Ils ont suggéré que la méthode de transport des fœtus pouvait être en cause : un temps trop long de transit (par camion) ainsi que la congélation (plus de 24h voir 5 jours, pour -70°C) (Bergeron *et al.*, 2001).

D'autres enquêtes vont aussi remettre en cause la capacité du chien de s'infester par l'ingestion de placenta ou de fœtus par rapport à l'ingestions d'autres tissus (nerveux ou musculaires) (Bergeron *et al.*, 2001 ; Dijkstra *et al.*, 2002 ; Cedillo *et al.*, 2008).

Les différentes sources d'incompréhension dans la transmission du parasite par ingestion de placenta ou de fœtus avortés mènent Dubey (Dubey *et al.*, 2020) à penser que cette voie n'est pas une importante source de transmission du parasite.

5. Pathologie

5.i. Localisation et spécificité

Neospora caninum est un parasite dixène intracellulaire obligatoire dont la multiplication asexuée, à l'instar de *Toxoplasma gondii*, ne semble pas avoir de spécificité d'hôte ni de cellule. En effet on a détecté des tachyzoïtes dans une grande variété de tissus et d'organes tels que le cerveau, la moelle épinière, le cœur, les poumons, le foie, la membrane fœtale, les muscles, le placenta et la peau (Dubey et Lindsay, 1993 ; Dubey et Lindsay, 1996). Un grand nombre de types cellulaires peut donc abriter le parasite : les cellules nerveuses, les fibroblastes, les cellules endothéliales vasculaires, les myocytes, les cellules épithéliales des tubules rénaux, les hépatocytes et les macrophages. Ceci suggère selon Hesse (Hesse, 2002) que les tachyzoïtes de *Neospora caninum* sont capables d'envahir un large échantillon sinon toutes les cellules nucléées.

5.ii. Relation hôte parasite

Les lésions causées par une infection par *Neospora caninum* dépendent des interactions qui existent entre le parasite et son hôte (ou de la cellule hôte). Les investigations menées sur les relations entre hôte et parasite comprennent deux aspects principaux selon Hesse (2002).

Le premier est microscopique et étudie les relations hôte parasite à une échelle cellulaire. Le parasite et sa cible établissent des contacts physiques directs par l'intermédiaire d'un ou de plusieurs récepteurs cellulaires liés à un ou plusieurs ligands parasitaires. Ce niveau d'interaction est crucial dans l'invasion des cellules voisines. Il est reconnu que les tachyzoïtes de *Neospora caninum* provoquent par leur prolifération la lyse de la cellule hôte et l'invasion des cellules voisines (Hesse, 2002). Cependant il existe encore beaucoup de zones d'ombres sur les mécanismes d'adhésion et d'invasion des cellules par les parasites, encore à ce jour beaucoup des modèles proposés sont extrapolés à partir des données acquises par la recherche chez d'autres parasites comme *Plasmodium*, *Eimeria*, *Theileria* ou *Toxoplasma gondii*.

Le deuxième est que la relation hôte-parasite dépend fortement de la réaction immunitaire de l'hôte qui cible tout ou partie du parasite, lorsqu'il est accessible directement (c'est-à-dire avant qu'il ne pénètre une cellule). La nature des antigènes parasitaires reconnus est probablement importante dans la déclaration de l'infection, l'élimination ou la survie du parasite. Cependant, dans les phénomènes de nécrose interviennent surtout les médiateurs des cellules hôtes. Ainsi la connaissance de l'immunobiologie de la néosporose semble selon Hesse (2002) capitale pour déterminer la gravité d'une infection.

Le transport du tachyzoïte au sein des cellules dendritiques semble faciliter le passage à travers le compartiment vasculaire puis cérébral ou la barrière placentaire entre la mère et le fœtus (Collantes-Fernandez *et al.*, 2012).

Pour ce qui nous intéresse dans l'espèce canine, on constate que la relation entre hôte et parasite qu'elle soit étudiée à l'échelle microscopique ou humorale, constitue une voie de recherche essentielle pour mieux comprendre le cycle du parasite après contamination de l'animal, et pourquoi certains chiens excrètent, et d'autres non, des oocystes du parasite.

5.iii. Symptômes cliniques

Dans la majorité des cas, l'infection est asymptomatique, et seuls quelques individus manifestes des signes cliniques graves. Les symptômes apparaissent vraisemblablement suite à l'ingestion de kystes dans de la viande infectée chez les carnivores ou d'oocystes sporulés dans la nourriture ou l'eau de boisson contaminée par des selles de chiens chez les herbivores. Après ingestion des oocystes, les sporozoïtes s'exkystent dans l'intestin et diffusent localement vers les nœuds lymphatiques mésentériques puis vers les organes, sous la forme de tachyzoïtes, empruntant la voie lymphatique et veineuse (Dubey et Lindsay, 2000). C'est vraisemblablement après cela que les foyers de nécrose se développent. La nécrose est causée par la croissance intracellulaire des tachyzoïtes ; l'implication d'aucune toxine n'a été démontrée (Dubey *et al.*, 2020).

5.iii.1. Chez le chien

Deux niveaux d'infection sont observables chez le chien (Kuzniak, 2001) :

- Une atteinte digestive chez le chien « hôte définitif » lors de la phase de reproduction sexuée du parasite, qui n'est autre qu'une coccidiose digestive.
- Une atteinte disséminée chez le chien « hôte intermédiaire » lors de la phase de reproduction asexuée du parasite. Elle est caractérisée par des signes cliniques variés notamment neurologiques, c'est la néosporose proprement dite.

Bien qu'il existe des chevauchements entre les différentes manifestations, 4 formes de néosporose canine sont différenciables.

- *Manifestation chez le chiot*

Les premiers symptômes apparaissent pendant la première semaine de vie, avec une majorité des chiens qui ont 2 mois au moment du diagnostic. *Neospora caninum* a un tropisme pour les racines nerveuses spinales lombosacrées. Des polyradiculonévrites, polymyosites, éventuellement incluant des méningoencéphalites, sont aussi typiques (Dubey *et al.*, 2020).

Les cas les plus sévères concernent les chiots infectés in utero, avec une atteinte généralisée. Ils développent une parésie ascendante des postérieurs le plus souvent, et une paralysie, avec des contractures rigides des muscles de la ceinture pelvienne, incluant parfois une atrophie musculaire. Cette apparition est plus rare sur les antérieurs. Une paralysie flasque ou spastique peut survenir avec une hyperextension des postérieurs dans la moitié des cas : la position caractéristique chez les chiots de moins de 4 mois est dite du « phoque » (Barber et Trees, 1996 ; Kuzniak, 2001). Le tableau 9 résume les principales manifestations chez le chiot en plus de fournir un aperçu de la proportion de chaque manifestation.

Tableau 9: Signes cliniques observés par Barber et Trees, (1996).
Abréviations : P : postérieur(s), A : antérieur(s), D : droite, G : gauche.
Le nombre qui précède l'abréviation correspond au nombre d'animaux atteints.

SIGNES CLINIQUES	NOMBRES DE CHIENS PRESENTANT LE SIGNE CLINIQUE	COMMENTAIRES
ATROPHIE MUSCULAIRE	14/18	6 P, 2 PG, 1 PT, 2 PA
HYPERTENSION RIGIDE	10/19	5 P, 3 PG, 1 PD, 1 A
PARALYSIE	11/21	2 PA, 7 P, PG
DOULEUR	7/20	Lombaire, pelvique et quadriceps
INCLINAISON DE LA TETE	4/17	
DYSPHAGIE	4/16	
INCONTINENCE	4/17	
MODIFICATION COMPORTEMENTALES	3/18	1 agressif, 2 abattus
ANOREXIE	3/19	1 augmentation, 1 diminution
MODIFICATION DE LA SOIF	2/19	
RIGIDITE DES MACHOIRES	2/21	
HYPERTHERMIE	1/18	
CRISES	1/20	

Dans les cas graves, l'évolution peut-être rapidement mortelle avec tétraplégie, impossibilité à soutenir la tête, et dysphagie avec ou sans méga œsophage pouvant entrainer une bronchopneumonie par fausse déglutition (Kuzniak, 2001).

Dans certains cas on observe à l'inverse une raideur et une hypertension des postérieurs chez un chien qui reste alerte, continue à se déplacer et qui ne présente aucun autre signe neurologique associé.

L'examen neurologique montre dans la plus grande majorité des cas une affection de type motoneurone périphérique. La sensibilité est toujours conservée.

L'hypothèse de l'existence de myocardites à *Neospora caninum* a été avancée (Odin et Dubey, 1993) mais n'a à ce jour pas été démontrée (Barber et Trees, 1996).

- *Manifestation chez l'adulte*

La manifestation clinique chez l'adulte est moins fréquente mais plus variée que chez le jeune. Il peut souffrir d'une atteinte généralisée, ou non-généralisée.

Parmi les différentes manifestations possibles les prédominantes sont les encéphalites, les méningoencéphalites, ou les myosites. La paraparésie est le signe neurologique le plus commun, mais des crises épileptiformes, des comportements anormaux et un syndrome vestibulaire peuvent

aussi apparaitre. Les signes de myosite incluent une démarche raide, de la faiblesse, de la douleur ou une atrophie des muscles squelettiques.

Enfin d'autres organes peuvent être impliqués, comme les poumons (Greig *et al.*, 1995), le foie et le cœur (Dubey *et al.*, 2020).

- *Atteinte multifocale*

Certains chiens développent une affection systémique multifocale incluant un nombre variable d'organes (comme par exemple le foie, le pancréas et les muscles en même temps), autres que le système nerveux central (Dubey *et al.*, 2020).

- *Atteinte cutanée*

L'atteinte cutanée est inhabituelle mais intéressante. Plusieurs cas rapportent des lésions de dermatite poly granulomateuses avec ou sans dissémination systémique du parasite (Dubey *et al.*, 2020). D'autres cas concernent des lésions nodulaires ulcéronécrotique, sans localisation préférentielle (J.P Dubey *et al.*, 1988b ; Dubey *et al.*, 1995 ; Fritz *et al.*, 1997).

Cette atteinte cutanée touche majoritairement les chiens adultes (Dubey *et al.*, 2020).

Une forme aigue de néosporose peut réapparaitre suite à la rupture de kystes. Toutefois on ne sait pas quand et comment ces kystes se rompent. Il semblerait qu'une administration à haute dose de corticostéroïdes puisse être une des causes de la réapparition d'une néosporose aigue (Dubey et Lindsay, 1990). Aussi, la gestation semble être une des sources de réapparition probable.

5.iii.2. Chez le Bovin

Les avortements sont la manifestation clinique principale de la néosporose bovine. Le plus souvent, les fœtus retrouvés morts in utero ont entre 3 et 8 mois de gestation et montrent généralement des signes d'autolyse modérée. Il est possible de trouver des fœtus momifiés de moins de 5 mois ainsi que des mortalités embryonnaires, avec, en conséquence, des retours en chaleur répétés (Dubey *et al.*, 2006).

Les deux types de transmission transplacentaire peuvent provoquer un avortement mais c'est la réactivation de *N. caninum*, donc la voie endogène, qui provoque le plus d'avortements, comparée à une infection primaire de type exogène. Ainsi il a été montré que les vaches séropositives à *N. caninum* avaient plus de chances d'avorter que les séronégatives (Dubey, 2005b ; PLISSON, 2019).

Même si les avortements sont la manifestation la plus visible de la néosporose, dans la majorité des cas, une vache atteinte donne naissance à un veau cliniquement sain mais infecté persistant. On estime qu'il y aurait jusqu'à 95 % des veaux nés de mère séropositive qui seraient infectés de manière congénitale, et donc hébergeraient le parasite, mais qui seraient cliniquement sains à la naissance. Ce mode de transmission serait donc à l'origine de la persistance de l'infection au sein des troupeaux. Rarement, on observe des troubles neurologiques chez les veaux âgés de moins d'un mois infectés congénitalement (Sarrazin, 2009).

5.iii.3. Diagnostic différentiel chez le chien

Face à une atteinte essentiellement neuromusculaire de type myosite ou polynévrite, il convient d'envisager :

- Chez le chiot :
 - o Les différentes myopathies congénitales (myopathie dystrophique liée au chromosome X chez le Golden Retriever, autres dystrophies musculaires),
 - o Les myopathies métaboliques,
 - o Les neuropathies congénitales ou héréditaires ,
 - Axonopathie évolutive du Boxer,
 - Complexe « paralysie laryngée polyneuropathie du Dalmatien »,
 - Maladie de surcharge lysosomiale,
 - Trouble par insuffisance de myélinisation (neuropathie par hypomyélinisation du Golden Retriever).
- Chez l'adulte :
 - o Les polyradiculonévrites,
 - o Les polymyosites idiopathiques (à médiation immune) ou infectieuse (leishmaniose, leptospirose),
 - o Les dermatomyosites.

Lors d'une atteinte du SNC, le diagnostic différentiel fait intervenir les autres maladies inflammatoires qui peuvent être à l'origine de méningoencéphalites (maladie de Carré, méningoencéphalite suppurée, méningoencéphalite granulomateuse, etc.). Les traumatismes, ou atteintes néoplasiques doivent aussi être écartés.

La toxoplasmose et une intoxication botulinique sont aussi deux affections à prendre en compte.

Dans le cas particulier de néosporose à manifestation cutanée, il faut envisager l'ensemble des pathologies à granulomes ou pyogranulomes :

- Infection bactérienne (staphylococcie, mycobactériose, actinomycose),
- Mycoses (dermatophytose, cryptococcose, phaeohyphomycose ou botryomycose en France),
- Protozooses (leishmaniose, toxoplasmose, caryosporose, sarcosporidiose),
- Corps étrangers,
- Processus tumoraux,
- Granulomes idiopathiques (granulome éosinophilique, adénite sébacée, panniculite nodulaire, etc.).

La clinique ne permet de toute façon pas de poser un diagnostic de certitude. Les examens complémentaires de laboratoire sont alors essentiels.

(Kuzniak, 2001 ; BERNARD, 2002)

5.iv. Lésions

Dans la majorité des cas, les lésions siègent (Hemphill, 1999) :

- Chez le chien principalement dans le système nerveux central, puis le foie, les muscles et la peau. *Neospora caninum* cause des lésions telles que des granulomes viscéraux, une atrophie cérébrale ou une dermatite ulcérate.
- Chez le bovin communément dans le système nerveux central, le cœur, les muscles squelettiques et le foie. Les lésions consistent en une encéphalomyélite non suppurative dans le système nerveux central, et une infiltration péri portale par des cellules mononuclées et des foyers de nécrose des hépatocytes dans le foie.

Les lésions macroscopiques sont caractérisées par des foyers de nécrose ainsi que des dépôts minéraux dans les muscles, hypertrophie du foie, pneumonie. Au niveau microscopique, on observe des foyers nécrotiques multiples, s'accompagnant d'inflammation locale (Chermette et Bussi ras, 1993).

6. Diagnostic de laboratoire

6.i. Examens non spécifiques

Des dosages hématologiques et biochimiques peuvent conforter le diagnostic clinique (Barber et Trees, 1996) :

- Le dosage de créatinines kinases sériques (un taux augmenté témoigne d'une myosite et non d'un problème de parésie/paralysie purement neurologique). Doit être réalisé rapidement car cette enzyme est labile.
- L'activité enzymatique hépatique : une hausse des aspartates aminotransférases et des alanines aminotransférases.
- La numération formule : anémie, leucocytose, hypoprotéinémie.

L'analyse du liquide cébrospinal montre une encéphalite ou une méningoencéphalite par un taux de protéine élevé et/ou de nombreuses cellules de l'immunité.

L'électromyographie, permet d'évaluer la présence d'une polymyosite ou polyradiculonévrite.

6.ii. Diagnostic direct

L'un des moyens le plus simple et fiable pour diagnostiquer la néosporose, est la mise en évidence directe du parasite par examen microscopique des tissus ou des liquides. Le parasite peut être observé :

- Par examen cytologique à partir d'un lavage bronchoalvéolaire, d'une cytoponction et parfois du liquide céphalo-rachidien (J. P. Dubey *et al.*, 1988a ; Greig *et al.*, 1995 ; Fritz *et al.*, 1997),
- Par l'examen histologique d'une biopsie tissulaire.

Le marquage immunohistochimique est essentiel pour distinguer *Neospora caninum* de *Toxoplasma gondii* à ce stade. Le marquage confirme la présence de tachyzoïtes ou de kystes à bradyzoïtes par leur réactivité avec des antisérums dirigés contre *Neospora caninum* (Cole *et al.*, 1993 ; Peters *et al.*, 2000).

La détection d'ADN de *Neospora caninum* par PCR permet aussi un diagnostic rapide et spécifique. Cette détection utilise des séquences de l'ADN de *Neospora caninum* bien conservées au sein de l'espèce et pas chez les autres protozoaires. Elle permet la détection du parasite à n'importe quel stade (J. P. Dubey *et al.*, 1988a ; Dubey *et al.*, 1998b).

Des méthodes de détection d'antigènes de *Neospora caninum* par ELISA existent et sont mis à l'épreuve (Yin *et al.*, 2012, p. 10).

L'analyse coprologique semble de moindre utilité car l'excrétion d'oocystes par le chien est très réduite dans le temps (1-2 semaines) (Lindsay *et al.*, 2001).

6.iii. Diagnostic indirect

Les tests sérologiques se basent sur la formation de complexes entre des antigènes de *Neospora caninum* et les anticorps anti-*Neospora caninum* chez l'individu testé. En plus du sérum ou du plasma, d'autres fluides corporels (pleuraux, péritonéaux ou exsudatifs) peuvent contenir assez d'anticorps spécifiques pour la détection. Toutefois, le plasma et le sérum restent les meilleurs choix. De nombreux tests sont commercialisés (Björkman et Uggla, 1999) et sont adaptables chez les différentes espèces hôtes (Dubey *et al.*, 2020).

Parmi les principales techniques :

- L'IFAT pour "Indirect Fluorescent Antibody Test"
Méthode sérologique de référence, rapide et peu coûteuse, les tachyzoïtes intacts peuvent se fixer de différentes façons sur les micropores d'une lame de verre.
- Le test d'agglutination direct
Ce test ne nécessite pas d'équipement ou de conjugué spécial. Des tachyzoïtes entiers formolisés sont utilisés comme antigène et les sérums sont traités au 2-mercaptoéthanol pour éliminer les substances non spécifiques de type IgM et IgM-like.
- L'ELISA pour « Enzyme-linked immunosorbent assays » :
Pour cette technique dans la majorité des cas, l'antigène soluble est spécifiquement rattaché sur une surface plastique. L'anticorps spécifique vient alors, s'il est présent dans l'échantillon, se fixer sur l'antigène. Un second complexe anticorps-enzyme fluorescente va enfin être utilisé pour se fixer sur le premier complexe précédemment créé. Une fluorescence signe donc la présence d'anticorps dirigés contre des antigènes du parasite dans l'échantillon testé.
- L'ELISA par compétition
Comme pour l'ELISA direct, l'antigène est appliqué sur une surface plastique, seulement un premier anticorps dirigé contre cet antigène y est déjà fixé au préalable. Les anticorps présents dans le sérum à tester entrent alors en compétition avec ceux déjà présents. Après un temps d'incubation défini, une solution de révélation va appliquer sur les premiers anticorps une enzyme de fluorescence. Cette fois-ci, la présence d'anticorps contre *Neospora caninum* dans l'échantillon à tester se manifestera par une faible fluorescence. Une forte fluorescence manifestant un résultat négatif.
Le résultat est le plus souvent présenté sous forme de pourcentage d'inhibition par le sérum à tester. Un avantage du test ELISA compétitif est qu'il estime le niveau d'anticorps dirigés contre un seul épitope. Il est donc présenté comme le plus spécifique des tests conventionnels (Björkman et Uggla, 1999).
- Les Immunoblots
Un immunoblot est une technique biochimique par laquelle, grâce à l'utilisation d'anticorps, une protéine spécifique peut être détectée parmi un mélange de protéines. En général, les protéines d'un mélange (un lysat cellulaire, par exemple) sont séparées selon leur poids moléculaire par électrophorèse (gel SDS-PAGE). Ensuite, les protéines ainsi séparées sont transférées sur une membrane de nitrocellulose ou de polyfluorure de vinylidène où elles resteront accrochées. Des anticorps spécifiques dans un échantillon seront détectés par leur liaison avec des protéines spécifiques suite au développement d'une réaction colorée (« Immunoblot », s. d.). Cette technique est très importante car largement utilisée pour la réalisation des témoins et la validation des autres méthodes d'analyse indirectes.

- Le test d'avidité (ou d'affinité)

Au cours de l'infection, la force de la liaison entre les anticorps nouvellement formés et les différents antigènes que présente le parasite n'est pas la même. Généralement, cette force augmente avec le temps. Le test d'avidité (ou de liaison) permet de détecter des immunoglobulines (IgG, IgA et IgE) qui présentent une faible affinité pour les antigènes du parasite (Dubey *et al.*, 2020). De cette manière la technique permet de détecter plus précocement une séroconversion, mais aussi de dater l'infection.

6.iv. Dater l'infection

La persistance des anticorps anti-*Neospora caninum* chez les individus séropositifs varie. On a ainsi montré qu'elle peut s'étendre jusqu'à 4 ans (Barber et Trees, 1998). Parfois pendant toute la vie de l'animal (Barber *et al.*, 1997b). Toutefois chez certains chiens, le titre d'anticorps tombe sous le seuil de détectabilité après 2 ans (Barber et Trees, 1998).

Pour savoir si l'infection est récente, il faut effectuer 2 analyses espacées de quelques semaines et en noter le titre lors d'une analyse sérologique (un titre en hausse traduit une infection aiguë), ou bien réaliser une PCR quantitative.

On peut aussi comparer le titre en IgM et IgG. Une forte proportion d'IgM traduit une infection récente. Cependant, les IgM sont parfois impossible à mettre en évidence chez les très jeunes chiens atteints de néosporose, peut-être en raison de l'inhibition de leur synthèse par les IgG d'origine maternelles (Kuzniak, 2001).

On peut enfin utiliser le test d'affinité pour dater l'infection. L'affinité est croissante au cours de l'infection, avec une augmentation de l'avidité des IgG au cours de la réponse immunitaire (Kuzniak, 2001).

6.v. Récapitulatifs des méthodes de diagnostic

Tableau 10: Principaux avantages et inconvénients des test utilisables en cas de suspicion de néosporose. A partir de Chermette et Marquer, (2000).

METHODE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
NON SPECIFIQUES	Peu couteuses Réalisable rapidement en clinique Permettent d'étoffer le diagnostic différentiel	Aucune spécificité Ne permet pas de poser un diagnostic de certitude
HISTOLOGIE	Méthode de référence Visualisation des lésions Visualisation des parasites	Manque de spécificité Inutilisable en cas d'autolyse Nécessité de faire appel au marquage
MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE	Visualisation des kystes tissulaires et des tachyzoïtes possible Utilisable chez les foetus momifiés	Nécessite une bonne habitude de lecture Plus long Existence de réactions croisés rares avec <i>T. gondii</i>
PCR	Possibilité de détection d'ADN de <i>Neospora caninum</i> à partir de pratiquement tous les tissus Détection d'ADN possible avant la séroconversion Méthode la plus sensible et la plus spécifique	Le coût élevé Seule, ne permet pas de distinguer si l'infection est clinique ou non
IFAT	Méthode sérologique de référence Rapide et peu coûteuse	Existence de réactions croisées avec d'autres <i>Apicomplexa</i> dans certains tests Nécessite du matériel de laboratoire Intérêt si beaucoup de prélèvements à analyser
ELISA	Utilisable sur le lait chez le bovin Automatisation facile	Nécessite du matériel pour la lecture selon les tests utilisés Résultats non standardisés entre les kits de différents laboratoires Intérêt si beaucoup de prélèvements à analyser
AGGLUTINATION DIRECTE	Test spécifique et très sensible, utilisable sur différentes espèces animales	
TEST D'AVIDITE	Dater l'infection	Pas réalisable en routine

7. Traitement, prévention et pronostic chez le chien

7.i. Traitement

Une large variété de traitement s'avère efficace *in vitro* contre le parasite, mais tous ne le sont pas *in vivo* (Hesse, 2002).

Le traitement quel qu'il soit doit être mis en place le plus précocement possible.

- La clindamycine (famille des lincosamides) est la molécule de référence. Elle est bien tolérée (Guillot *et al.*, 2000).
- Les sulfamides et la pyriméthamine, qui sont utilisés dans les thérapies contre *Toxoplasma gondii*, sont aussi utilisées pour traiter une infection à *Neospora caninum*. Parmi les sulfamides les plus largement répandus, sulfadiazine, sulfamethazine et sulfamerazine sont considérés comme efficaces contre *Neospora caninum*.
- Certains anticoccidiens (toltrazuril, ponazuril, décoquinatate) se sont avérés efficace contre *Neospora caninum* chez la souris (Dubey *et al.*, 2020 ; Lindsay *et al.*, 1997).
- Quelques anticancéreux et traitements chimio-thérapeutiques ont diminué la prolifération des parasites (Dubey *et al.*, 2020).
- Plus récemment, des inhibiteurs des pompes à calcium dépendantes à la protéine kinase A (CDPK1) ont été la source de recherches actives. Cette protéine est en effet essentielle au parasite dans l'étape d'infestation de la cellule hôte (Dubey *et al.*, 2020).

Des protocoles pour le traitement de la néosporose canine sont proposés dans le tableau 11.

Tableau 11: Principaux protocoles thérapeutiques contre la néosporose canine. Proposés par Kuzniak, (2001).

Clindamycine	11-22 mg/kg 2 à 3 fois/j
Clindamycine	10 mg/kg 3 fois/j
Triméthoprime/Sulfadiazine	15 mg/kg 2 fois/j
Triméthoprime/Sulfamide	15mg/kg 2 fois/j
Pyriméthamine	1 mg/kg/j
Sulfadiazine	30 mg/kg/j
Pyriméthamine	0,25-0,5 mg/kg/j

Enfin, d'autres traitements sont actuellement à l'étude, tels que des composants initialement développés contre *Plasmodium* (la méfloquine et les dérivés de l'artémisinine) qui se sont avérés fortement active *in vitro*.

Une meilleure connaissance des interactions hôte-parasite pendant la gestation pourrait révéler des périodes stratégiques pour l'application de traitements de courte durée, et des stratégies de traitement différents pourraient être suggérés pour les animaux présentant une transmission transplacentaire exogène ou endogène prédominante (Dubey *et al.*, 2007).

7.ii. Prévention

La réalisation d'un vaccin est difficile étant donné le caractère intra-cellulaire du parasite. Beaucoup de pistes pour la création d'un vaccin sont a priori viables, mais à ce jour aucun n'est disponible (Dubey *et al.*, 2020).

Un vaccin testé chez la souris permet de réduire la mortalité des souriceaux. Cependant toute la descendance reste infectée au même niveau que les descendances de souris non immunisées (DEBARE, 2018).

D'un point de vue médical, il faut faire très attention à l'utilisation de corticoïdes en cas de suspicion de néosporose (D. S. Lindsay *et al.*, 1999).

La meilleure prévention reste pour le moment sanitaire, en limitant l'exposition aux facteurs de risques connus.

7.iii. Pronostic

Le pronostic vital dépend de l'apparition des signes cliniques. Plus l'installation des symptômes est rapide, plus le pronostic est mauvais.

Après les cas suraigus, les atteintes chroniques sont aussi celles qui ont le moins de chance de récupération. Selon les auteurs, lors d'atteinte nerveuse, une récupération totale ou fonctionnelle est possible pour la moitié des chiens soumis à un traitement approprié, mais beaucoup conservent une démarche anormale, une amyotrophie ou une scoliose thoracique. Aussi on peut noter l'apparition d'anomalies articulaires (ankylose, palmigradie, plantigradie) secondaire à une immobilisation prolongée et à une fibrose musculaire.

L'hyperextension rigide des postérieurs est le signe qui a le moins de chance de rétrocéder (Barr *et al.*, 1997). Les cas où l'atteinte du SNC est plus minime et où le traitement est le plus précoce ont le plus de chance de récupération (D. S. Lindsay *et al.*, 1999).

Deuxième partie : étude expérimentale

1. Contexte de l'étude

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse ont été réalisés conjointement par le Service de Parasitologie de l'EnvA (Pr. Radu BLAGA) et celui de la Reproduction (Pr. Alain FONTBONNE) au sein de la plateforme d'analyses Biopôle de l'EnvA. Ils s'inscrivent plus généralement dans le cadre d'un projet de recherche financé par la Société Centrale Canine qui vise à identifier le rôle de *Neospora caninum* dans les problèmes de reproduction chez le chien.

Mon implication dans ce projet s'étend de la récolte des prélèvements à leur analyse en laboratoire, mais aussi de l'analyse des dossiers de chaque animal, jusqu'à la rédaction de ma thèse d'exercice de fin d'étude de doctorat vétérinaire.

1.i. Point sur les connaissances et principales lacunes

Neospora caninum est un parasite découvert récemment. Il est toutefois mis en lumière régulièrement lors d'études menées sur l'espèce bovine. Du fait de ses conséquences économique et sanitaire fortes dans les élevages, la séroprévalence est plus largement recherchée et connue dans cette espèce en comparaison à l'espèce canine (Marquer et Chermette, 2000). La séroprévalence dans les troupeaux de bovin Français oscille entre 10,4% et 31,2% selon différentes recherches (Annexe 1).

Des recherches sur les facteurs de risque à la transmission chez le bovin de *Neospora caninum* ont été menées, s'attardant pour une partie d'entre elles sur le rôle que joue le chien sur la transmission. En effet, il est le seul hôte définitif du parasite couramment présent sur le territoire (cf. 4.i – *Partie bibliographique*). En France, la séroprévalence de l'infection à *Neospora caninum* a seulement été étudiée en 2001 chez des chiens vivant auprès de bovins symptomatiques de la néosporose. Elle était de 22.7% (5/22) (Pitel *et al.*, 2001).

En revanche, des données comme la séroprévalence dans la population de chien, la voie de contamination de l'espèce canine, les facteurs de risques à la contamination, l'impact de la contamination sur la gestation et l'infertilité de la chienne ou encore sur des troubles cliniques dans l'espèce canine, sont des données rarement étudiées, tout le contraire de ce qui se passe chez le bovin depuis plus de 32 ans (Dubey *et al.*, 2020).

Enfin, en conclusion de ses travaux sur le parasite, Kuzniak Hélène souligne en 2001 qu'il est essentiel d'établir des bases claires sur l'imputabilité de certains troubles chez le chien à *Neospora caninum*, ainsi que de standardiser la recherche des parasites dans les élevages canins, en particulier si cela peut constituer un vice caché antérieur à la vente chez le chiot (Kuzniak, 2001).

1.ii. Objectifs

Le premier objectif de l'étude est de fournir des données de séroprévalences pour l'infection à *Neospora caninum* des chiens en France. Comme souligné précédemment, ces données sont peu nombreuses, surtout en France, où une seule étude concernant les chiens a été publiée précédemment. L'objectif est donc de disposer d'une prévalence moyenne au sein d'une population de chiens consultant un centre de référentiel en région Île-de-France.

Le second objectif de l'étude est d'investiguer la présence des facteurs de risques tels que décrit dans la littérature. La liste de ces facteurs dans l'espèce canine s'appuie sur des variables fréquemment associées à une plus grande séroprévalence découvertes empiriquement. Ces facteurs ont soit été suggérés par analogie avec *Toxoplasma gondii*, soit par découverte fortuite lors d'études transversales sur des chiens cliniquement suspects, ou des populations de référence supposées indemnes. Nous avons donc prêté particulièrement attention aux facteurs suivants, précédemment identifiés comme potentiellement à risque : l'âge, la provenance du chien, ses antécédents médicaux, le sexe, la stérilisation/non stérilisation, la race, le mode de vie, le lieu de vie, l'alimentation, l'assiduité dans les traitements préventifs antiparasitaires courants, la présence d'autres animaux de la même espèce, ou d'animaux d'autres espèces dans le foyer ainsi que dans les alentours.

1.iii. Résultats attendus

D'après ce que l'on sait déjà sur le parasite, nous devons nous attendre à obtenir des résultats de séroprévalence comparables aux pays voisins en ce qui concerne les animaux de compagnie.

Puis nous devons nous attendre à ce qu'il y ait un plus grand nombre de résultats positifs chez les animaux exposés aux facteurs de risque connus (cf. 2.iii – *Partie bibliographique*).

2. Matériel et méthode

2.i. Population source de l'étude

La population source est l'ensemble des chiens qui se sont présentés en consultation au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (Chuva), quel qu'en soit le motif, entre le 1^{er} mars 2021 et le 17 juin 2022.

2.ii. Critères d'inclusions et d'exclusions et récolte des prélèvements

La récolte des prélèvements sanguins pour l'analyse sérologique était opportuniste au sein de la population source. Dès lors qu'un chien était prélevé sur tube sec pour une analyse biochimique/hématologique réalisée au sein du Biopôle, il était susceptible de rentrer dans l'étude.

Les critères d'inclusion étaient donc que le chien soit prélevé sur tube sec et qu'il reste suffisamment de sérum après l'analyse demandée, pour que celui-ci puisse être mis à l'épreuve ultérieurement par une technique d'immunohistochimie.

Les critères d'exclusions se réfèrent aux animaux avec plusieurs prises de sang pendant la période mentionnée. Nous avons pris en compte une seule prise de sang, la plus tardive.

2.iii. Traitement et stockage des sérums

Chaque échantillon sanguin sur tube sec était centrifugé à une vitesse de 10 000 tours par minute pendant 10 minutes. Le sérum restant après pipetage pour la première analyse demandée, était transféré sur un tube Eppendorf. Ce tube était alors numéroté, renseigné dans un tableau avec le numéro de dossier CLOVIS de l'animal correspondant, puis congelé à -18°C jusqu'à la réalisation des tests sérologiques.

2.iv. Diagnostique de laboratoire

2.iv.1. Kit immunoenzymatique utilisé

Le kit ELISA de compétition pour la détection des anticorps dirigés contre *N. caninum* dans le sérum de chien de la marque **ID.vet** a été utilisé pour l'analyse des échantillons. Il s'agit du « ID Screen *Neospora caninum* Competition » dont la notice et la fiche de contrôle qualité sont disponibles en annexe 2. Le principe du test par compétition est décrit dans la partie *I.6.iii – Techniques de diagnostic indirect*.

2.iv.2. Protocole

Chaque sérum préalablement décongelé une heure à la température ambiante (température régulée à 20°C au laboratoire) était remué à l'aide d'un agitateur/mélangeur pour homogénéisation du sérum.

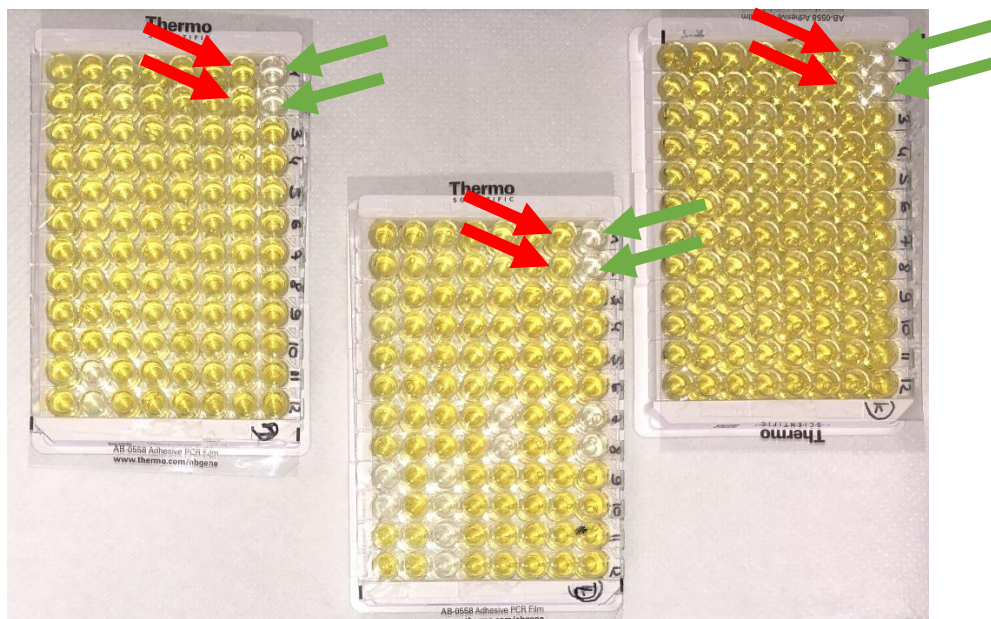
Le protocole d'incubation courte décrit dans le protocole de l'annexe 2 a été utilisé pour l'ensemble des sérums testés. Le même spectrophotomètre a été utilisé pour la lecture des résultats, à la longueur d'onde prévu de 450nm.

Tous les sérums ont été testés avec le même lot de kit (numéro J83) au cours du mois de juin 2022, sur deux semaines.

Chaque sérum a été analysé en doublon au cours de l'analyse. Ainsi sur chaque plaque de 96 puits, étaient disposés deux témoins positifs, deux témoins négatifs et 46 sérums à tester en doublon. Un résultat positif est un résultat dont les deux puits sont positifs. Un résultat négatif est un résultat dont les deux puits sont négatifs. Un résultat douteux est un résultat où au moins l'un des puits est douteux, où bien un des puits est positifs et l'autre est négatif. La figure 9 est une photographie des plaques d'analyse du kit après révélation.

Figure 9: Plaques de 96 puits après révélation.

Les puits fléchés en vert correspondent aux témoins positifs, ceux fléchés en rouge aux négatifs.



Il a été convenu au préalable, que si des sérums avaient un résultat douteux lors de leur analyse, ils seraient alors testés une seconde fois selon le même protocole. S'ils reviennent une seconde fois douteux, alors ils seront comptés comme positif.

Au total, il a été utilisé 5 kits de 5 plaques du lot J83 pour la réalisation des tests sérologiques, soit 25 plaques. Elles ont été identifiées de A à Y.

2.v. Traitement des données des animaux inclus dans l'étude

2.v.1. Questionnaires pour la prise de commémoratifs au sein du Chuva

Un questionnaire papier a été réalisé pour aiguiller la prise de commémoratifs lors des consultations. Il est disponible en annexe 3. Il regroupe les questions essentielles sur les facteurs de risque qu'il a été décidé d'étudier.

Une partie portant sur l'examen clinique a été ajoutée à la suite des commémoratifs, afin d'encourager les étudiants à l'utiliser en consultation, pour simplifier la prise de commémoratifs sans alourdir le travail des étudiants.

Une copie de ce modèle papier a aussi été ajoutée à la bibliothèque de comptes-rendus utilisables par les utilisateurs du logiciel métier du centre hospitalier : CLOVIS, pour le service de reproduction et le service de médecine interne (annexe 4).

De plus, les modèles de comptes-rendus d'autres services ont aussi été très légèrement modifiés afin d'inciter une prise d'anamnèse plus exhaustive, afin de répondre aux besoins de l'étude.

2.v.2. Récolte des données sur le logiciel CLOVIS

Chaque échantillon était rattaché à un numéro CLOVIS identifiant l'animal qui a été prélevé.

Pour tous les dossiers à traiter, il a d'abord été vérifié que l'animal avait bien été prélevé et qu'il n'y avait pas d'erreur entre le numéro CLOVIS et son numéro correspondant dans l'étude. Cette vérification permettait aussi de dater la récolte de l'échantillon ainsi que de connaître le service qui avait demandé l'analyse. Une ligne « analyse BIOPOLE – Biochimie/hématologie » était alors présente dans l'onglet « ACTE » de la consultation, figure 10.

Figure 10: Identification et vérification des animaux prélevés sur le logiciel CLOVIS

Intervenants											Consultation n° : AC21-53787											
CR clinique											Actes		Analyses		Paramédical & CR		Pharmacie		Ordonnance		Suivi Etudiant	
Date	Qté	Libellé	Précision			Base € HT	Taux	O	Dû € TTC	Unité	N° facture											
07/12/21	0,5	Consultation médecine interne suivi (MED-IN)				35,83 €	20,00	<input type="checkbox"/>	21,50 €	CHVA - Médecine	AF21-38988											
07/12/21	1	Analyses BIOPOLE - Biochimie/Hématologie				30,00 €	20,00	<input type="checkbox"/>	36,01 €	BIOPOLE - Biochimie/Hématolo	AF21-38988											

Lorsque des données n'étaient pas présentes dans l'onglet « CR clinique » de cette consultation, la recherche des commémoratifs était réalisée sur la base d'autres consultations de l'animal au Chuva au cours de sa vie.

Seuls les éléments connus dans un laps de temps d'un an précédant la consultation étaient enregistrés.

Par exemple : L'animal est prélevé le 1 juin 2022. Si une consultation réalisée entre le 1^{er} juin 2021 et le 1^{er} juin 2022 précisait que l'animal vivait avec un chat, alors l'information était collectée. Si l'information « vie avec un chat » était mentionnée avant le 1^{er} juin 2021 mais plus après, alors l'animal n'était pas considéré comme vivant avec un chat ».

En cas de données manquantes, ou de données contradictoires dans les comptes-rendus, le paramètre étudié n'était pas pris en compte.

Par exemple : un animal présenté le 5 janvier 2022 est noté « stérilisé ». Il reconsulte dans un autre service le 10 février 2022 où il est noté « non stérilisé ». Aucune preuve (compte rendu de chirurgie de convenance réalisé dans l'hôpital dans ce cas) n'est disponible, alors ce chien ne fera ni partie de la population des chiens stérilisés, ni celle des chiens non stérilisés, car les informations sont contradictoires.

Dans le cas où l'animal présentait des symptômes proches de ceux causés par la néosporose (insuffisance pancréatique, hépatique, trouble neurologique, de la reproduction, etc.), si un diagnostic de certitude était posé pour une cause excluant la néosporose, alors le paramètre n'était pas pris en compte, même si le diagnostic était posé ultérieurement dans d'autres consultations.

Par exemple : un animal parétique pour cause d'accident de la voie publique n'était pas pris en compte comme ayant un trouble neurologique. Un chien présentant une parésie d'origine inconnue en revanche, était pris en compte.

En ce qui concerne le lieu de vie. S'il n'était pas détaillé dans le compte rendu alors il était déterminé après une recherche sur 'Google MAP' à partir de l'adresse de facturation du propriétaire. Si un animal vivait à la fois en zone urbaine ou périurbaine et en zone rurale, alors il est compté comme vivant en zone rurale. De plus, cette méthode permettait de déterminer si un animal vivant à la campagne vivait dans un rayon de 100 mètres d'une ferme.

En ce qui concerne les traitements antiparasitaires, un traitement API à jour signifiait un traitement vétérinaire administré dans les 3 mois précédents la consultation. Un traitement APE à jour signifiait un traitement vétérinaire administré dans le mois précédent la consultation.

En ce qui concerne l'âge, la race et le sexe de l'animal, l'information devait être disponible dans la partie « description de l'animal » de CLOVIS.

En ce qui concerne l'alimentation, si un animal de l'échantillon mange de la viande crue, indépendamment du fait qu'il mange autre chose, alors il est compté une seule fois comme mangeant de la viande crue. Puis, si un animal ne consomme pas de viande crue, mais une ration ménagère, il est compté une seule fois comme mangeant de la ration ménagère. Enfin, s'il ne mange ni l'un, ni l'autre, mais qu'il mange des restes de tables, alors il compte comme mangeant à la fois des restes de table et de la nourriture industrielle. S'il n'est mentionné que de la nourriture industrielle, l'animal est décrit comme mangeant que de la nourriture de type industrielle (pâté, croquettes, etc.).

3. Résultats

3.i. Echantillons analysés

Le nombre total d'échantillons ayant été récoltés entre le 1^{er} mars 2021 et le 17 juin 2022 était de 1404.

L'analyse préalable des numéros de dossier a permis d'éliminer 313 doublons. Il y a donc 1091 échantillons qui devaient être testés.

Parmi ces 1091 échantillons, 10 ne contenaient pas assez de sérum pour être analysable (au moins 2x50µl de sérum nécessaire). Il y a donc au total 1081 sérums qui ont été testés.

Après l'analyse des dossiers des animaux, il a été découvert que 4 prélèvements avaient été réalisés sur des chats. Il reste donc à ce stade 1077 sérums de chiens qui sont interprétables.

Enfin parmi les 1077 résultats à interpréter, 13 ont été réalisés sur des chiens appartenant à 4 élevages de chiens où de la néosporose avait déjà été suspectée puis identifiée par PCR suite à des avortements. Ces chiens n'étant pas indépendants entre eux, ils ne seront pas pris compte dans la suite de l'étude. De même, deux dossiers présentaient des chiens dont la relation avec un élevage non indemne ne pouvait pas être exclue. Ces deux chiens ont aussi été éliminés. Il reste donc à ce stade 1062 sérums de chiens qui sont interprétables.

La suite de l'étude porte sur 1062 individus dont 1047 sont des chiens de propriétaires et 15 des chiens d'élevages indépendants entre eux et où aucun antécédent de néosporose n'a été relevé.

3.ii. Caractérisation de l'échantillon de 1062 chiens

3.ii.1. Origine des chiens

La grande majorité (523/1062,49,2%) des animaux de l'échantillon sont des chiens de compagnie, 14/1062 (1,3%) sont des chiens d'élevage dont 1 est un chien de laboratoire, 13/1062 (1,2%) sont des chiens d'utilité et 6/1062 (0,6%) sont chiens de chasse. Enfin, aucune donnée n'était précisée pour 506/1062 animaux (47,6%). Ces résultats sont reportés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Effectifs des différents types d'animaux dans l'échantillon.

TYPE DE CHIEN	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
COMPAGNIE	523	49,2%
ELEVAGE	14	1,3%
UTILITE	13	1,2%
CHASSE	6	0,6%
INDETERMINE	506	47,6%
TOTAL	1062	100,0%

Concernant les effectifs des animaux en fonction de leur origine d'adoption, 132/1062 (12,4%) des animaux ont été adoptés en d'élevage canin, 47/1062 (4,4%) ont été adoptés chez un particulier, et 63/1062 (5,9%) ont été recueillis, parfois dans un refuge ou à la SPA. Aucune donnée n'était précisée pour 820/1062 animaux (77,2%). Les détails concernant l'origine des animaux sont présentés dans les tableaux 13.

Tableau 13: Effectifs des animaux en fonction de leur origine d'adoption dans l'échantillon.

ORIGINE DE L'ANIMAL	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
ELEVAGE	132	12,4%
DONT ANIMALERIE	11	
PARTICULIER	47	4,4%
REFUGE / SPA	63	5,9%
DONT TROUVE SIMPLEMENT	2	
INDETERMINE	820	77,2%
TOTAL	1062	100%

Le tableau 14 précise le pays d'origine des chiens lorsqu'il était précisé. La France n'apparaît pas dans le tableau car à l'instar des autres pays, dans les dossiers des animaux, l'origine Française est presque toujours présumée mais non précisée.

Tableau 14: Effectifs des animaux en fonction de leur pays d'origine (hors France) dans l'échantillon.

PAYS D'ORIGINE LORSQUE NON ADOPTE EN FRANCE METROPOLITAINE	EFFECTIF
ESPAGNE	6
PORTUGAL	3
ROUMANIE	3
GRECE	2
GUYANE	2
RUSSIE	2
BELGIQUE	1
BRESIL	1
EGYPTE	1
HONGRIE	1
MAROC	1
MARTINIQUE	1
MEXIQUE	1
TUNISIE	1
UKRAINE	1
USA	1

3.ii.2. Milieu de vie des animaux

Dans l'échantillon, 743/1062 animaux (70%) vivaient en zone urbaine. La seconde plus grande provenance était le milieu rural avec 155/1062 animaux (14.6%), enfin la zone périurbaine arrivait troisième avec 107/1062 animaux (10,1%). L'information n'était pas disponible pour 57/1062 animaux (5,4%) (tableau 15).

Tableau 15: Effectifs des animaux en fonction du milieu de vie dans l'échantillon.

LIEU DE VIE	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
ZONE URBAINE	743	70,0%
ZONE RURALE	155	14,6%
ZONE PERIURBAINE	107	10,1%
INDETERMINE	57	5,4%
TOTAL	1062	100,0%

Le tableau 16 donne les effectifs de chien dont l'accès régulier à un terrain non urbanisé est connu : un jardin, un parc ou une forêt.

Tableau 16 : Effectifs des animaux en fonction de leur accès à un milieu non urbanisé dans l'échantillon.

LIEU DE VIE	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
PAVILLON AVEC JARDIN	247	23,2%
DONT SE PROMENANT EN PARC OU FORET	5 en parc 19 en forêt	
APPARTEMENT	234	22,0%
DONT SE PROMENANT EN PARC OU FORET	16 en parc 11 en forêt	
CHENIL	15	1,4%
ECURIE	1	
INDETERMINE	556	52,4%
TOTAL	1062	100%

3.ii.3. Race dans l'échantillon

L'échantillon présente 912/1062 (85,9%) chiens de race pure et 144/1062 (13,6%) chiens croisés. La race n'était pas décrite pour 6 animaux. Le détail des effectifs en fonction des différentes races est décrit dans l'annexe 5.

Le Bouledogue Français et le Jack Russel sont les races les plus représentées avec 50/1062 (4,7%) individus de chaque race. Puis vient le Labrador avec 47/1062 (4,4%) individus. Viennent ensuite le Yorkshire Terrier 43/1062 (4,0%), l'American Staffordshire Terrier 38/1062 (3,6%), le Chihuahua 35/1062 (3,3%), le Golden Retriever 31/1062 (2,9%) et le Berger Allemand 29/1062 (2,7%) pour ne citer qu'eux.

3.ii.4. L'âge

L'âge moyen dans la population est de 7,37 ans. La médiane d'âge est de 7 ans, sur un total de 1055 animaux pour lesquels l'âge était connu. L'information n'était pas disponible pour 7 animaux. Les détails sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17: Effectifs des animaux en fonction de leur âge dans l'échantillon.

AGE EN ANNEE	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
<1	136	12,8%
[1-2[91	8,6%
[2-3[50	4,7%
[3-4[58	5,5%
[4-5[70	6,6%
[5-6[72	6,8%
[6-7[63	5,9%
[7-8[65	6,1%
[8-9[71	6,7%
[9-10[58	5,5%
[10-11[84	7,9%
[11-12[63	5,9%
[12-13[73	6,9%
[13-14[51	4,8%
[14-15[30	2,8%
[15-16[14	1,3%
[16-17[4	0,4%
[17-18]	2	0,2%
INDETERMINE	7	0,7%
TOTAL	1062	100%

3.ii.5. Sexe des animaux et statu vis-à-vis de la stérilisation

L'échantillon présentait 559/1062 mâles (52,6%) pour 503/1062 femelles (47,4%).

Parmi eux 418/1062 (39,4%) étaient stérilisés, et 612/1062 (57,6%) ne l'étaient pas. L'information n'était pas disponible pour 32/1062 animaux (3,0%)

Parmi les 612 animaux non stérilisés, 8 mâles présentaient une castration chimique par implant de desloréline encore active.

3.ii.6. Motif de consultation

La majorité des animaux ont consulté en service de médecine général (320/981, 30,1%). Leur redirection dans le service de médecine interne ou autres services (dermatologie, neurologie, etc.) n'est pas pris en compte. Le tableau 18 présente les services consultés au moment de la prise de sang.

Tableau 18 : Effectifs des animaux en fonction du service consulté dans l'échantillon.

SERVICE FREQUENTE AU MOMENT DE LA PRISE DE SANG	EFFECTIF	% DE L'EFFECTIF
MEDECINE	320	30,10%
CHIRURGIE	143	13,50%
NEUROLOGIE	114	10,70%
REPRODUCTION	107	10,10%
URGENCE : ABATTEMENT	100	9,40%
INDETERMINE	81	7,60%
URGENCE : INSUFFISANCE/DEFAILLANCE D'ORGANE	48	4,50%
CARDIOLOGIE	36	3,40%
DERMATOLOGIE	32	3,00%
URGENCE : CHIRURGIE	28	2,60%
URGENCE : NEUROLOGIE	24	2,30%
CONVENANCE	11	1,00%
CANCEROLOGIE	8	0,80%
OPHTALMOLOGIE	8	0,80%
COMPORTEMENT	1	0,10%
NUTRITION	1	0,10%
TOTAL	1062	100,00%

Au total 81/1062 (7,6%) animaux sont venus uniquement pour une prise de sang, et aucun service n'a été spécialement mentionné. Il s'agit souvent de suivis particuliers par un clinicien.

Les motifs d'urgences rassemblent :

- Abattement : Tout animal vu en consultation d'urgence dont la cause de l'abattement n'a pas été clairement identifiée, et ne découle pas sur urgence chirurgicale. Puis, les chiens ayant reçu un traumatisme.
- Chirurgie : Les motifs d'appel courant nécessitant une chirurgie. Syndrome dilatation torsion d'estomac, pyomètre, abcès de taille volumineuse, plaie ou fracture ouverte, *etc.*
- Insuffisance/défaillance d'organe : Tout animal vu en consultation d'urgence dont la cause de l'abattement a été clairement identifiée au cours de la consultation, et qui n'est pas une urgence chirurgicale. Insuffisance cardiaque, respiratoire, pancréatique, *etc.*
- Neurologie : Tout animal vu en consultation pour convulsion ou crise épileptiforme, ainsi que trouble de la locomotion ne s'expliquant pas par un traumatisme.

3.ii.7. Alimentation des animaux

Dans l'échantillon, 453/1062 (42,7%) des animaux sont nourris avec une ration industrielle. Ceux ayant en plus des restes de tables sont 45/1062 (4,2%). Les animaux nourris avec une ration ménagère sont 167/1062 (15,7%). Seuls 18/1062 (1,7%) des animaux consomment de la viande crue. L'alimentation n'était pas décrite pour 379/1062 chiens (35,7%).

Les effectifs de chiens en fonction de leur alimentation sont représentés dans le tableau 19.

Tableau 19: Effectifs des animaux en fonction de leur alimentation dans l'échantillon.

TYPE D'ALIMENTATION	EFFECTIF	% DANS LA POPULATION
INDUSTRIELLE	453	42,7%
RESTE DE TABLE ET INDUSTRIELLE	45	4,2%
MENAGER	167	15,7%
VIANDE CRUE	18	1,7%
INDETERMINE	379	35,7%
TOTAL	1062	100,0%

Parmi les chiens ayant une alimentation industrielle, 40 mangeaient des croquettes sans céréales, et 3 sans gluten.

3.ii.8. Traitements antiparasitaires

Sur l'échantillon, 309/1062 (29,1%) des animaux présentaient un traitement API à jour, et 309/1062 (29,1%) un traitement APE à jour. L'information concernant l'assiduité des traitements antiparasitaires internes et externes n'était pas présente pour 753 animaux.

3.ii.9. Autres animaux au foyer

Les chiens vivant avec au moins un autre animal au sein du foyer étaient 328/1062 (30,9%), les chiens vivant seuls étaient 230/1062 (21,7%). La relation avec un autre animal n'était pas précisée pour 504/1062 chiens de l'échantillon (63,9%).

Le détail apparaît dans le tableau 20.

Tableau 20: Effectifs des animaux en fonction de leur proximité avec d'autres espèces dans l'échantillon.

* : Certains chiens vivaient avec plusieurs espèces différentes.

ESPECE	NOMBRE DE CHIEN VIVANT AU CONTACT D'AU MOINS UN INDIVIDU DE L'ESPECE	% DE L'EFFECTIF
AUTRE ANIMAL*	328	30,9%
D'AUTRES CHIENS	231	21,8%
CHATS	100	9,4%
OISEAUX (Y COMPRIS VOLAILLES)	11	1,0%
OVINS/CAPRINS	4	0,4%
BOVINS	3	0,3%
FAUNE SAUVAGE (LAGOMORPHES, HERISSONS, REPTILES, ETC.)	22	2,1%
EQUIDES	12	1,1%
AUCUN AUTRE ANIMAL	230	21,7%
INDETERMINE	504	63,9%
TOTAL	1062	100,0%

3.iii. Résultats de séroprévalence

3.iii.1. Validité des tests

Chacune des 25 plaques analysées (exemple en annexe 6) a subi un test de validité à partir de l'absorbance mesurée sur les puits témoins.

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 0,700.

$$DO_{CN} > 0,700$$

- La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est inférieure à 30% de la DO_{CN} .

$$\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} < 0,3$$

Seule la plaque B n'était pas valide. Pour cette plaque la DO_{CN} était de 1,023 ($>0,700$) donc valide, mais le rapport DO_{CP}/DO_{CN} était de 0,3089 (pas inférieur à 0,3), non valide.

3.iii.2. Séroprévalence dans l'échantillon et principaux facteurs de risque

Le taux de séroprévalence globale dans l'échantillon est de 5,65% (60/1062), avec 27 douteux et 33 positifs. Ainsi d'après nos résultats, dans la population cible des chiens d'Île de France vivant en zone urbaine ou alentours, médicalisés, consultant dans un centre de référent et nécessitant des analyses, il y a 95% de chance que la séroprévalence de *N. caninum* se situe entre 4,26 et 7,04 %. (Loi normale, la méthode de Clopper-Pearson donne un intervalle de confiance de 4,44 à 7,21% pour un risque d'erreur de 5%).

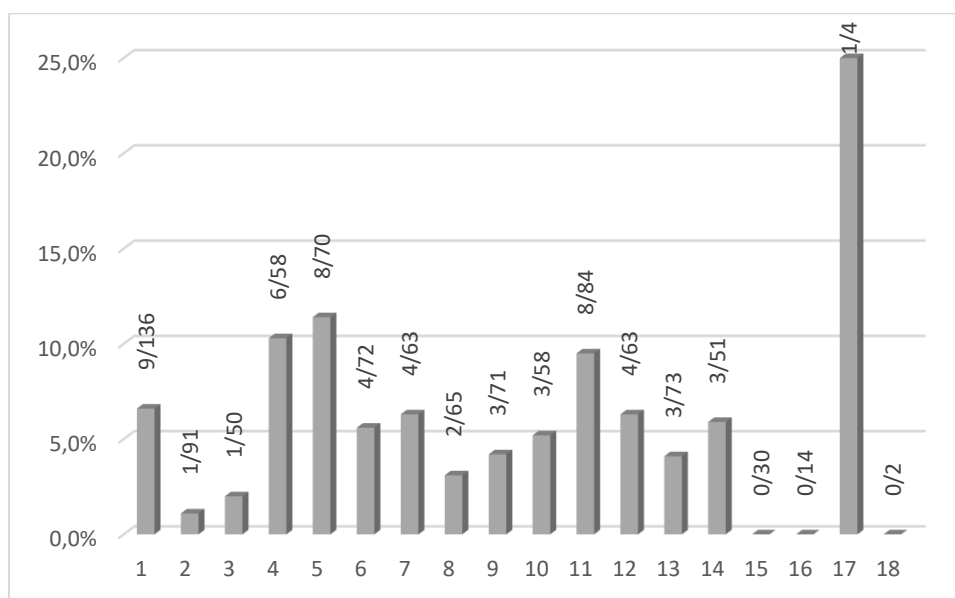
Le détail des pourcentages de chiens positifs ou douteux par rapport à chacune des variables recherchées : l'origine, le type du chien, l'âge, l'habitat, le service consulté, la présence de trouble de reproduction, trouble hépatique, trouble pancréatique, de la zone de vie et de l'alimentation, est reproduit dans le tableau 21.

En fonction de l'origine des chiens (A), on peut observer qu'une séroprévalence plus importante (7,9%, 5/63) est présente chez les chiens de refuge par rapport aux chiens d'élevage (4,5%, 6/132) ou de particulier (4,3%, 2/47). Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification, $p = \text{sans objet (SO)}$.

Selon le type de chien (B), on peut observer une séroprévalence plus importante chez les chiens de chasse (16,7%, 1/6) par rapport aux chiens de compagnie (8,4%, 44/523) et les chiens d'utilité (7,7%, 1/13). Chez les chiens d'élevage aucun résultat n'était positif (0/15). Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification, $p = \text{SO}$.

En fonction de l'âge des animaux (C), la séroprévalence était plus importante pour les chiens de 17 ans (25%, 1/4) puis chez les chiens de 5 ans (11,4%, 8/70) et chez les chiens de 4 ans (10,3%, 6/58). La séroprévalence était nulle chez les chiens de 18 ans (0/18), les chiens de 16 ans (0/14) et les chiens de 15 ans (0/30). La figure 11 regroupe les résultats de séroprévalence en fonction de l'âge des individus par tranche d'un an.

Figure 11 : Nombre et taux de séropositifs (axe vertical) en fonction de l'âge en année (axe horizontal) par tranche d'âge de 1 an.



Il n'est pas possible de calculer de degré de signification sur les effectifs par tranche d'âge de 1 an. Si l'on regroupe par tranche d'âge de 3 ans alors 11/277 (4,0%) des animaux entre 0 et 3 ans sont séropositifs, 18/200 (9,0%) des animaux entre 4 et 6 ans sont séropositifs, 9/199 (4,5%) des animaux entre 7 et 9 ans sont séropositifs, et 22/379 (5,8%) des animaux d'au moins 10 ans sont séropositifs. On observait une séroprévalence significativement plus grande chez les chiens de la tranche d'âge 4-6 ans (9,0%) par rapport à la tranche d'âge 0-3 ans (4,0%), avec $p=0,03$. Il n'y avait en revanche pas d'augmentation significative de la séroprévalence chez les chiens de la tranche d'âge 7-9 ans (4,5%) et plus de 10 ans (5,8%) par rapport à la tranche d'âge 0-3 ans (4,0%), avec respectivement $p=0,77$ et $p=0,29$. De même, il n'y avait pas de différence significative entre la séroprévalence de la tranche d'âge 4-6 ans (9,0%) par rapport à la tranche d'âge 7-9 ans (4,5%) et plus de 10 ans (5,8%), avec respectivement $p=0,08$ et $p=0,15$.

Il y avait donc dans l'échantillon une séroprévalence significativement plus grande chez les chiens de la tranche d'âge 4-6 ans (9,0%) par rapport à la tranche d'âge 0-3 ans (4,0%), mais cette tendance ne se poursuivait pas au-delà de 6 ans.

En fonction de l'habitat (D), on peut observer qu'une séroprévalence plus importante (6,7%, 1/15) est présente chez les chiens de chenil par rapport aux chiens d'appartements (5,6%, 13/234) ou vivant en pavillon (5,4%, 13/247). Le seul chien identifié comme vivant dans une écurie était positif. Il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les chiens vivant en pavillon (5,4%) et les chiens vivant en appartement (5,6%), $p=0,89$. Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification pour les chiens de chenil et le chien d'écurie, $p=SO$.

Selon la zone de vie (H), on peut observer que les chiens vivant en zone urbaine présentaient une séroprévalence plus importante (6,1%, 47/765) que les chiens vivant en campagne (5,2%, 8/155) ou les chiens vivant en zone périurbaine (4,4%, 5/113). Il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les chiens vivant en zone urbaine (6,1%) et les chiens de vivant à la campagne (5,2%) $p=0,55$, et les chiens vivant en zone périurbaine (4,4%) $p=0,48$. De même, il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les chiens vivant en zone périurbaine (4,4%) et les chiens vivant à la campagne (5,2%) $p=0,78$.

En fonction du service consulté au moment de la prise de sang (E), on constate que ce sont les chiens consultant au service de cardiologie qui présentent le plus haut taux de séroprévalence (11,1%), puis ce sont ceux consultant aux services de médecine préventive (9,1%), d'urgence (8,5%) de dermatologie (6,3%), de neurologie (6,2%), de médecine (4,4%) et de reproduction (2,8%). La séroprévalence est nulle parmi les chiens qui ont consulté aux services de cancérologie, de comportement, de nutrition et d'ophtalmologie. Il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les animaux consultant au service de médecine et ceux consultant au service d'urgence ($p=0,06$), ceux consultant au service de neurologie ($p=0,44$), et ceux consultant au service de chirurgie ($p=0,24$). De même, il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les animaux consultant au service de neurologie et ceux consultant au service d'urgence ($p=0,47$), et ceux consultant au service de chirurgie ($p=0,80$). Mais encore, il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les animaux consultant au service de chirurgie et ceux consultant au service d'urgence ($p=0,61$). Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification pour les services de cancérologie, de cardiologie, de comportement, de médecine préventive, de dermatologie, de nutrition, d'ophtalmologie et de reproduction, $p= SO$.

En fonction de l'alimentation des animaux (I), on peut observer que les chiens recevant une alimentation industrielle avec des restes de table présentent une plus grande séroprévalence (6,7%, 3/45) que les chiens recevant une alimentation industrielle stricte (6,2%, 28/453), mais aussi que ceux recevant une alimentation à base de viande crue (5,6%, 1/18) et enfin ceux recevant une alimentation ménagère (4,2%, 7/166). Il n'existait pas de différence de séroprévalence significative entre les animaux consommant une ration ménagère (4,2%) et ceux consommant une alimentation industrielle stricte (6,2%), $p=0,35$. Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification pour les alimentations à base de viande crue et de restes de table, $p= SO$.

Selon les troubles de santé recherchés au cours de l'étude (F et G), on constate que les chiens atteints de troubles pancréatiques ont une séroprévalence de 17,4%, ceux atteints de troubles hépatiques de 11,5%, et ceux présentant des malformations d'origine congénitale de 16,7%. Une chienne a présenté de la mortinatalité, une autre un avortement, mais aucune des deux n'était séropositive. Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification, $p= SO$.

Tableau 21 : Taux de séroprévalence en fonction des différentes variables étudiées dans l'échantillon : (A) origine, (B) type de chien, (C) âge, (D) habitat, (E) service consulté, (F) et (G) problème de santé, (H) zone de vie, (I) alimentation.

(A) ORIGINE		
ELEVAGE	4,5%	6/132
PARTICULIER	4,3%	2/47
REFUGE	7,9%	5/63

(B) TYPE CHIEN		
COMPAGNIE	8,4%	44/523
ELEVAGE	0,0%	0/15
UTILITE	7,7%	1/13
CHASSE	16,7%	1/6

(C) AGE EN ANNEE		
1	6,6%	9/136
2	1,1%	1/91
3	2,0%	1/50
4	10,3%	6/58
5	11,4%	8/70
6	5,6%	4/72
7	6,3%	4/63
8	3,1%	2/65
9	4,2%	3/71
10	5,2%	3/58
11	9,5%	8/84
12	6,3%	4/63
13	4,1%	3/73
14	5,9%	3/51
15	0,0%	0/30
16	0,0%	0/14
17	25,0%	1/4
18	0,0%	0/2

(D) HABITAT		
APPARTEMENT	5,6%	13/234
PAVILLON	5,4%	13/247
CHENIL	6,7%	1/15
ECURIE	100,0%	1/1

(E) SERVICE CONSULTE		
Cancérologie	0,0%	0/8
Cardiologie	11,1%	4/36
Chirurgie	7,0%	10/143
Comportement	0,0%	0/1
Médecine préventive	9,1%	1/11
Dermatologie	6,3%	2/32
Médecine	4,4%	14/320
Neurologie	6,2%	7/113
Nutrition	0,0%	0/1
Ophthalmologie	0,0%	0/8
Reproduction	2,8%	3/107
Urgence	8,5%	17/200
Pas décrit	2,4%	2/82

(F) TROUBLE DE LA REPRODUCTION		
Avortement	0,0%	0/1
Malformation congénitale	16,7%	2/12
Mortinatalité	0,0%	0/1

(G) TROUBLE D'ORIGINE		
Hépatique	11,5%	3/26
Pancréatique	17,4%	4/23

(H) ZONE DE VIE		
Urbain	6,1%	47/765
Périurbain	4,4%	5/113
Campagne	5,2%	8/155

(I) ALIMENTATION		
Viande crue	5,6%	1/18
Ménager	4,2%	7/166
Reste de table + industrielle	6,7%	3/45
Industrielle	6,2%	28/453

Le tableau 22 présente les paramètres dont le calcul d'un risque relatif a été réalisé lorsque les effectifs le permettaient (effectif théorique dans le calcul de la p-value supérieur à 5) et que la variable était dichotomique. Dans l'échantillon, les animaux les plus fréquemment positifs au test sérologique étaient :

- Les femelles (1,45 fois plus que les mâles), avec une séroprévalence de (6,8%) contre (4,7%). La différence n'était pas significative ($p = 0,14$) (J),
- Les animaux stérilisés (1,37 fois plus que les non stérilisés), avec une séroprévalence de (6,9%) contre (5,1%). La différence n'était pas significative ($p = 0,21$) (K),
- Les animaux sous la médiane d'âge de l'échantillon (1,17 fois plus de risque que ceux au-dessus de la médiane), avec une séroprévalence de (6,1%) contre (5,2%). La différence n'était pas significative ($p = 0,54$) (L),
- Les animaux de race croisée (1,58 fois plus que ceux de race pure), avec une séroprévalence de (8,3%) contre (5,3%). La différence n'était pas significative ($p = 0,14$) (P),
- Les animaux présentant des troubles neurologiques (1,48 fois plus que ceux n'en présentant pas), avec une séroprévalence de (8,8%) contre (5,9%). La différence n'était pas significative ($p = 0,16$) (M),
- Les animaux dont le traitement API est à jour (1,65 fois plus que les animaux non à jours), avec une séroprévalence de (8,4%) contre (4,5%). La différence n'était pas significative ($p = 0,23$) (N),
- Les animaux dont le traitement APE est à jour (1,97 fois plus que les animaux non à jours), avec une séroprévalence de (8,7%) contre (4,4%). La différence n'était pas significative ($p = 0,10$) (O),
- Les animaux vivant avec d'autres animaux (1,59 fois plus que les animaux vivant seuls), avec une séroprévalence de (7,6%) contre (4,8%). La différence n'était pas significative ($p = 0,18$) (Q),
- Les animaux ayant accès à des sols non urbanisés (1,03 fois plus que les animaux vivant exclusivement sur des sols urbanisés), avec une séroprévalence de (5,8 %) contre (5,6%). La différence n'était pas significative ($p = 0,93$) (S),
- Les animaux vivant à la campagne à proximité d'un élevage de bovins (8,3%) par rapport à ceux ne vivant à la campagne sans élevage à proximité (3,8%). Les faibles effectifs ne permettent pas le calcul d'un indice de signification, $p = SO$, (T).

Aucun des facteurs de risque étudiés n'augmentait la séroprévalence de façon significative donc.

Tableau 22: Taux de séropositivité, risques relatifs et degrés de signification pour les variables dichotomiques dans l'échantillon : sexe (J), stérilisation (K), âge (L), trouble neurologique (M), antiparasitaires (N et O), race (P), autres animaux (Q et R), accès à un sol non urbanisé (S), vie à la campagne (T).

R.R : Risque relatif.
p : degré de signification.

S.O : Sans objet, lorsque l'effectif n'est pas suffisant pour le calcul du risque relatif.

		(J) Sexe	R.R	p			(Q) Autres animaux	R.R	p
Mâle	4,7%	26/559	0,69	0,14	oui	7,6%	25/328	1,59	0,18
Femelle	6,8%	34/503	[0,42;1,13]		non	4,8%	11/230	[0,8;3,17]	
		(K) Stérilisé	R.R	p			(R) Autres animaux spécifiquement	R.R	p
Oui	6,9%	29/418	1,37	0,21	Chiens	7,4%	17/230	1,59	0,23
Non	5,1%	31/611	[0,84;2,23]		Pas de chien	4,7%	10/215	[0,74;3,39]	
		(L) Age	R.R	p	Chats	5,1%	5/99	S.O	S.O
<7 ans	6,1%	33/540	1,17	0,54	Pas de chat	4,7%	10/215	S.O	S.O
>7 ans	5,2%	27/515	[0,71;1,91]		Oiseaux/volailles	9,1%	1/11	S.O	S.O
		(M) Troubles neurologiques	R.R	p	Pas d'oiseaux/volailles	4,7%	10/211	S.O	S.O
oui	8,8%	16/182	1,48	0,16	Ovins/Caprins	0,0%	0/4	S.O	S.O
non	5,9%	44/743	[0,86;2,57]		Pas d'ovins/caprins	4,7%	10/215	S.O	S.O
		(N) API à jour	R.R	p	Bovins	33,3%	2/12	S.O	S.O
oui	8,4%	26/309	1,65	0,23	Pas de bovins	4,7%	10/215	S.O	S.O
non	4,5%	7/154	[0,73;3,77]		Equidés	16,7%	2/12	S.O	S.O
		(O) APE à jour	R.R	p	Pas d'équidés	4,7%	10/215	S.O	S.O
oui	8,7%	27/309	1,97	0,1	Faune sauvage	23,8%	5/21	S.O	S.O
non	4,4%	7/158	[0,88;4,43]		Pas de faune sauvage	4,7%	10/211	S.O	S.O
		(P) Race	R.R	p			(S) Accès à un sol non urbanisé	R.R	p
Croisée	8,3%	12/144	1,58	0,14	oui	5,8%	17/295	1,03	0,93
Pure	5,3%	48/912	[0,86;2,91]		non	5,6%	14/251	[0,52;2,05]	
		(T) Vie en campagne	R.R	p			(T) Vie en campagne	R.R	p
		Proximité avec un élevage de bovin	8,3%	2/24	S.O	S.O			
		Pas d'élevage de bovin à proximité	3,8%	3/79	S.O	S.O			

3.iii.3. Coinfections avec d'autres maladies parasitaires

Parmi les chiens testés, un diagnostic de leptospirose a été confirmé sur 1 chien, de piroplasmose sur 9 chiens, de bartonellose sur 0 chien, d'éhrlichiose sur 2 chiens, et de leishmaniose sur 6 chiens. Seul l'un des six chiens atteint de leishmaniose était aussi positif pour la néosporose. Par ailleurs, ce chien vivait en appartement en zone urbaine, était promené régulièrement dans un parc, à jour de ses traitements API/APE, était nourrit avec une ration ménagère, et vivait avec d'autres animaux sans que d'autres précisions soient apportées.

3.iii.4. Prévalence par rapport aux troubles neurologiques dans l'échantillon

Le détail des résultats concernant les troubles neurologiques est présenté dans le tableau 23.

On constate que parmi les chiens souffrant de parésie, paralysie et paraplégie 2/11 (18,1%) étaient séropositifs. Parmi ceux présentant une névrite, méningo-encéphalite, encéphalite ou méningite 1/8 (12,5%) était séropositifs. Parmi ceux souffrant d'épilepsie, de tremblements, de convulsion ou de tétanie 12/106 (11,3%) étaient séropositifs. Enfin parmi ceux présentant des kystes, compressions-médullaires, masses cérébelleuse ou intracrânienne ou une radiculopathie 1/9 (11,1%) était séropositif.

Tableau 23: Résultats de séroprévalence pour les chiens présentant différents troubles neurologiques rencontrés dans l'échantillon.

TRoubles NEUROLOGIQUES	NOMBRE DE CHIENS POSITIFS	NOMBRE DE CHIENS NEGATIFS	% PARMIS LES CHIENS A TROUBLE NEUROLOGIQUE	EFFECTIF TOTAL
EPILEPSIE, TREMBLEMENT, TETANIE, CONVULSION	12	94	11,3%	106
PARESIE, PARALYSIE, PARAPLEGIE	2	9	18,1%	11
KYSTES, COMPRESSION MEDULAIRE, MASSE CEREBRELLEUSE OU MASSE INTRACRANIENNE, RADICULOPATHIE	1	8	11,1%	9
NEVRITE, MENINGO-ENCEPHALITE, ENCEPHALITE, MENINGITE	1	7	12,5%	8

3.iii.5. Saisonnalité des résultats

Dans le tableau 24 est présenté la saisonnalité des résultats. Il faut considérer que le Chuva n'est pas ouvert les mois d'été sauf pour les urgences.

Tableau 24 : Taux de résultats positifs dans l'échantillons au cours de l'étude.

AVRIL-MAI PRINTEMPS 2021	JUIN- JUILLET- AOUT ETE 2021	SEMPTEMBR E-OCTOBRE- NOVEMBRE AUTOMNE 2021	DECEMBRE- JANVIER- FEVRIER HIVER 2021/2022	MARS-AVRIL- MAI PRINTEMPS 2022	JUIN ETE 2022
4,8% (15/313)	4,1% (5/121)	5,9% (13/219)	7,5% (15/201)	4,5% (6/132)	7,9% (6/76)

4. Discussion

L'étude de la séroprévalence de l'infection à *Neospora caninum* dans une population de chien d'Île de France a été réalisée entre janvier 2021 et septembre 2022 et a rencontré un certain nombre des biais, discutés ci-dessous.

Tout d'abord, la collecte de l'anamnèse des animaux fréquentant le Chuva n'est pas homogène a priori. En effet, certains comptes-rendus sont clairs et précis, avec des informations mentionnées chronologiquement par exemple lorsqu'il s'agit des antécédents, tandis que d'autres sont succins et ne prennent pas forcément en compte tous les antécédents de l'animal. Ce phénomène a notamment été constaté lorsqu'un animal consultait deux fois au Chuva ; des commémoratifs essentiels étaient parfois omis dans les comptes-rendus les plus récents. La réalisation des questionnaires en version digitale a permis pour une grande partie des commémoratifs d'être plus complets et précis à partir du milieu de l'année 2021 (juin). Cependant dans l'étude, en reportant seulement l'anamnèse sur les consultations précédant d'un an la prise de sang, et en n'encadrant pas suffisamment la prise d'anamnèse au Chuva, un biais de classement non différentiel s'est créé.

Ce biais peut diminuer la force de l'association entre les facteurs de risque et un résultat positif. Cependant, étant donné qu'aucune association significative entre un facteur de risque et un résultat de sérologie positif n'a été démontrée, ce biais ne remet aucun résultat en cause.

Le recueil des données sur le logiciel CLOVIS est la seconde source d'erreur la plus probable. Une erreur de frappe sur une date de naissance ou un oubli de lecture dans un compte rendu peut altérer la véracité des résultats. Cependant, au cours de l'étude, les 1062 dossiers ont été pour une majeure partie relus une seconde fois. Aussi, si des erreurs subsistent certainement, on peut penser qu'elles sont insignifiantes à l'échelle de l'échantillon. Néanmoins au cours de la récolte des données CLOVIS, toute information imprécise ou contradictoire n'était pas prise en compte. Cela a certainement réduit l'existence du biais de classement différentiel, mais a peut-être eu pour conséquence une diminution de la puissance de l'étude pour certains paramètres comme l'alimentation, l'habitat, l'origine et le type de chien par exemple.

Un troisième biais est représenté par l'identification exacte du milieu de vie des animaux (urbain, campagne ou périurbain) qui était très souvent absent des comptes-rendus. Pour améliorer cette connaissance, l'utilisation de Google MAP à partir de l'adresse de facturation a été employée, mais on peut la considérer comme relativement imprécise. Le classement des animaux selon ce paramètre peut donc être affecté à un biais de classement différentiel, qui est lié à mon interprétation des données géographiques sur l'outil Google Map.

Concernant l'utilisation des kits de type ELISA, quelques remarques sont nécessaires pour mieux comprendre les résultats. La plaque B ne respectait pas parfaitement les critères de validités. Cependant, son faible écart avec ces critères ne laisse pas suggérer que les résultats de la plaque B ne sont pas comparables aux autres résultats (0,3089 au lieu d'être inférieur à 0,3) (annexe 6).

La méthode ELISA compétitive ne représente pas la méthode de référence en termes de recherche d'anticorps dirigés contre *N. caninum*, qui est l'IFAT. Cette étude est donc à comparer en premier lieu avec des études réalisées avec une méthode ELISA.

Le kit utilisé ne décrit ni sa spécificité ni sa sensibilité. Il est donc impossible d'argumenter sur la confiance de nos résultats en termes de valeur prédictive positive ou négative. Björkman et Ugglå (1999) décrivent cependant qu'elle est la méthode présentant la plus grande spécificité.

Les 313 échantillons en doublons n'ont pas été utilisés. La première question était donc de savoir quel échantillon analyser. D'après la littérature, la séroconversion d'un chien infecté par *N. caninum* apparaît dans les 3 semaines suivant sa contamination (Cole *et al.*, 1995) et sa séropositivité peut persister pendant plusieurs années (Barber *et al.*, 1997a). Le choix a donc été d'analyser l'échantillon le plus tardif pour chaque animal, afin de prendre en compte le temps de séroconversion si l'animal s'infectait entre sa première prise de sang et la dernière.

Des réactions croisées lors de co-infection avec d'autres parasites sont décrites dans la littérature, comme avec *Babesia gibsoni* (Yamane *et al.*, 1993), mais uniquement pour la méthode IFAT. De surcroît dans notre étude, seuls sept animaux présentaient une autre maladie parasitaire, et seulement un animal était positif à la fois pour la leishmaniose et pour la néosporose. On peut donc suggérer que les réactions croisées n'ont pas grandement affecté le calcul de séroprévalence dans l'échantillon.

Concernant la caractérisation de l'échantillon de chiens analysés, tout d'abord sur les races pures représentées, par rapport aux statistiques de la Société Centrale Canine de 2021, il y a dans notre échantillon deux fois plus de Bouledogues Français (5,5% pour 2,1% SCC), deux fois plus de Chihuahuas (3,8% pour 1,8% SCC), et presque trois fois plus de Yorkshires Terrier (4,7% pour 1,3% SCC) (« Société Centrale Canine », s. d.). Donc l'échantillon n'est pas représentatif de la population canine de France en termes de proportion des animaux de races. De plus, la surreprésentation de certaines races peut vraisemblablement créer un biais de confusion avec l'apparition de troubles neurologiques (hernies chez le bouledogue, épilepsie idiopathique chez le border, ataxie cérébelleuse chez l'American Staffordshire terrier par exemple *etc.*).

D'après l'Observatoire SantéVet, le taux de chiens stérilisés est de 48% dans la population de France pour 40,6% dans notre échantillon, et le taux de chiens nourris avec des croquettes est de 77% pour 66,3% dans l'échantillon (« Comment les Français vivent avec leurs animaux en 2020 ? », s. d.). Ce qui suppose que l'échantillon reste comparable face à une population générale de chiens sur des critères non associés à la médicalisation, l'habitat ou l'âge avancé.

Aussi nous pouvons restreindre la population cible aux « chiens d'Île de France vivant en zone urbaine ou alentours, médicalisés, consultant dans un centre référent et nécessitant des analyses ».

La séroprévalence dans l'échantillon de 1062 individus est de 5,65% [4,26 ; 7,04]_{IC : 95%} (60/1062). La dernière valeur de séroprévalence décrite en France, par Pitel et al (2001), était de 22,7% (5/22). On observe une différence notable entre ces deux résultats, avec une séroprévalence beaucoup plus basse dans notre échantillon. Cela peut s'expliquer soit par la taille trop réduite de l'échantillon de Pitel et ses collaborateurs en 2001, soit par la différence de recrutement des échantillons. En effet dans notre étude sont présentés des chiens indépendants entre eux, représentant une population canine d'Île-de-France, tandis qu'en 2001 Pitel et al ont étudié la séroprévalence chez des chiens d'élevages de bovins déjà connus pour des troubles liés à *N. caninum*. Nous devons donc comparer nos résultats par rapport à ceux d'autres pays voisins.

La séroprévalence dans les pays proches varie, entre autres, selon les études de 5,3 % pour l'Autriche (Wanha et al., 2005), 4%, 6,9% et 17% pour l'Espagne (Ortuño et al., 2002), 7,9% pour le Portugal (Anvari et al., 2020), 11% et 12 % pour la Belgique (Barber et al., 1997a), 12% et 14,6% pour l'Italie (Paradies et al., 2007 ; Anvari et al., 2020), 13% et 22% pour l'Allemagne (Klein et Müller, 2001).

Notre estimation de la séroprévalence (5,65% [4,26 ; 7,04]_{IC : 95%}) n'est donc pas très éloignée de celles déterminées dans les pays européens. On peut donc penser que la France est comparable à ses voisins en termes de séroprévalence globale à *Neospora caninum* dans la population canine.

Dans l'échantillon la séroprévalence est de 5,65%. Cependant sur les 1062 chiens de l'étude, un seul a été testé par PCR pour *N. caninum* car il présentait des symptômes francs de la maladie. Le parasite est donc présent sans manifestation clinique dans la population testée. Dans la littérature, la séroprévalence est elle aussi toujours supérieure à l'incidence clinique de la maladie, ce qui suggère l'existence répandue de formes subcliniques de l'infection (Dubey et al., 2007), ou alors un sous-dépistage de la neosporose en routine.

Parmi les chiens atteints de troubles neurologiques dans l'échantillon, 11 à 18 % ont des symptômes similaires à ceux que peut provoquer la néosporose et sont positifs au test ELISA. Dans la littérature il existe des résultats similaires au Brésil, où sur deux cohortes de chiens admis dans un centre universitaire pour troubles neurologiques, 11,56% (17/147) et 14% (7/50) étaient séropositifs pour *N. caninum* (Plugge et al., 2011 ; Langoni et al., 2012). Les résultats dans notre échantillon sont en accord avec les données de la littérature. Ils suggèrent aussi que la néosporose est encore sous-estimée par les cliniciens de centres hospitaliers lors de troubles neurologiques.

Le nombre de chiens positifs parmi ceux atteints de troubles hépatiques et pancréatiques n'est pas suffisant pour calculer un degré de signification. Cependant, la séroprévalence est de 11,5% (3/26) chez les animaux atteints de troubles hépatiques, et de 17,4% (4/23) pour ceux atteints de troubles pancréatiques, supérieure à la séroprévalence globale de l'échantillon de 5,65% (60/1062). Nos résultats iraient donc dans le sens de la littérature, avec l'implication probable de *Neospora caninum* dans la survenue de troubles hépatiques et pancréatiques (Dubey et Lindsay, 1989 ; Hemphill, 1999 ; Hesse, 2002).

En fonction de la race des chiens dans l'échantillon, on peut observer que le taux de séropositifs est plus élevé chez les chiens croisés (12/144, 8,3%) que chez les chiens de race pure (48/912, 5,3%). Peu d'études concernent spécifiquement les chiens de race pure, toutefois les chiens de race seraient plus sensibles à l'infection par *Neospora caninum* (Sarrazin, 2009). Nos résultats vont donc à l'encontre de la majorité des études. Toutefois, une partie d'entre elles ont été réalisées

sur de petits effectifs d'une race particulière. Cela peut avoir pour conséquence une surestimation de la séroprévalence. Dans notre étude par exemple, si l'on considère uniquement les animaux de race Dobermann, 2 chiens sur 3 étaient positifs (66,7%). Cependant, nous ne pouvons pas inférer nos résultats étant donné le trop maigre effectif. C'est aussi la raison pour laquelle aucun résultat par race n'a été réalisé, en effet les effectifs de chaque race ne sont pas assez importants pour être représentatifs.

Dans notre étude, la séroprévalence présente une certaine variation à la fois en fonction de la saison (4,1% pour l'été 2021 et 7,5% pour l'hiver 2021, $p=0,24$), et d'une année à l'autre (4,1% été 2021 et 7,9% été 2022, $p=0,27$) qui n'est cependant pas significative. Dans la littérature il est décrit que des facteurs climatiques peuvent influencer la sporulation des coccidies et modifier les risques de contamination. Ainsi la séroprévalence apparaîtrait plus élevée en été (Cheadle *et al.*, 1999 ; Ghalmi *et al.*, 2009). Nos résultats ne vont donc pas dans le sens de la littérature. Pour expliquer ce résultat, on peut prendre en compte la fermeture du centre hospitalier pendant le mois d'août, sauf pour les urgences, et le fait que le mois de juillet représente des vacances pour une grande partie des propriétaires, qui veut dire éloignement des centres vétérinaires. Alors il est difficile d'étudier fidèlement les effets saisonniers par rapport au reste de l'année.

On constate dans notre étude que la séroprévalence n'augmente pas significativement avec l'âge des animaux. Les individus d'âge inférieur à la médiane (7 ans) ne sont pas significativement moins séropositifs (6,1%) que ceux d'âge supérieur à la médiane (5,2%), $p=0,54$. La seule différence significative apparaît entre les animaux de la tranche d'âge de 0 à 3 ans (4,0%) et celle de 3 à 6 ans (9,0%), $p=0,03$. Selon la littérature, la séroprévalence augmente avec l'âge, car les chances de rencontre avec un parasite augmentent également, associée au fait que la présence d'IgG peut durer toute la vie de l'animal (Barber *et al.*, 1997b, Barber *et al.*, 1997a ; Wouda *et al.*, 1999). Nos résultats ne sont pas en accord avec les données de la littérature sur ce point. Une des raisons pouvant expliquer ce résultat est le manque de représentativité de l'échantillon, avec une plus grande étendue d'âge que dans les études citées. Néanmoins notre résultat concernant les deux premières tranches d'âge va dans le sens des données acquises, et laisse penser que la rencontre avec le parasite a lieu dans les premières années de vie de l'animal, c'est-à-dire avant 4 ans, et que l'empreinte sérologique de l'infection diminue au cours du temps jusqu'à l'âge de 11 ans (figure 11) où la séroprévalence semble de nouveau augmenter dans la population. Ces résultats pourraient donc permettre de comprendre quand et comment les chiens s'infectent au cours de leur vie. Ces jeunes chiens naïfs pour l'infection à *Neospora caninum* pourraient ainsi jouer un rôle majeur dans la transmission du parasite.

Dans notre échantillon, il y a plus de femelles séropositives (6,8%) que de mâles (4,7%), mais la différence n'est pas significative, $p=0,14$. D'une manière générale, dans la littérature on peut souligner qu'il existe plus d'études montrant que les femelles sont majoritairement touchées que l'inverse (Dubey *et al.*, 2020). Cela peut peut-être s'expliquer par la recrudescence de l'infection lors de la gestation de la femelle, augmentant le titre en anticorps (Rasmussen et Jensen, 1996).

Les animaux stérilisés sont plus touchés (6,9%) que les non stérilisés (5,1%) dans notre échantillon mais de façon non significative ($p=0,21$). Il existe peu d'éléments de comparaison dans la littérature, mais nous avançons l'hypothèse suivante : la stérilisation des animaux implique leur visite dans une clinique, où ils ont plus de chance de croiser d'autres animaux et de réaliser des tests sanguins, dont une analyse pour la neosporose. De fait, la stérilisation ne constituerait pas un facteur de risque, mais serait associée à la rencontre avec un autre animal ou la possibilité de se faire tester pour la neosporose. De plus, l'un des principaux motifs motivant la stérilisation est la présence

d'autres animaux dans l'entourage proche de l'animal. Cela pourrait donc encore constituer un facteur de confusion. Toutefois dans notre étude, la présence dans le foyer d'un autre animal n'est pas liée à un plus haut taux de stérilisation (125/324, 38,6% des chiens vivant avec d'autres animaux sont stérilisés, et 87/230, 37,8% des chiens vivant sans autres animaux sont stérilisés, $p=0,86$). La stérilisation ne semble donc pas être un facteur de risque majeur dans l'infection à *Neospora caninum* en l'absence d'autres démonstrations.

Les chiens vivant avec d'autres animaux étaient plus souvent positifs (7,6%) que les chiens vivant seuls (4,8%) dans notre échantillon. La présence de bovin est aussi associée à une plus grande séroprévalence, avec 8,3% (2/24) de séropositifs chez les chiens vivant proche d'élevages de bovin contre 3,8% (3/79) chez ceux ne vivant pas proche d'un élevage de bovin, $p=S.O$, et 33% (2/12) de séropositifs chez ceux vivant au contact de bovins contre 4,7% (10/115) pour ceux n'en rencontrant pas, $p=S.O$. Dans la littérature, la présence de bovins dans l'entourage d'un chien est fréquemment associée à une hausse de la séropositivité des chiens (Wouda *et al.*, 1999 ; Pitel *et al.*, 2001 ; Antony et Williamson, 2003 ; Haddadzadeh *et al.*, 2007). Nos résultats confortent ces positions. On peut supposer que les chiens ont une plus grande chance d'ingérer des tissus infectés lorsqu'ils vivent avec des bovins, ce qui augmente la séroprévalence dans ces populations. Cependant des effectifs très faibles doivent modérer l'analyse de nos résultats.

Les chiens vivant avec un chat étaient séropositifs à 5,1% (5/99), par rapport à ceux ne vivant pas avec un chat de 4,7% (10/215), $p=S.O$. D'après les données de littérature, le chat ne représente pas un facteur de risque car il n'est pas considéré comme un hôte intermédiaire majeur (Dubey *et al.*, 2020).

Les chiens de l'échantillon vivant en zone urbaine sont plus souvent séropositifs (6,1%) que ceux vivant en zone rurale (5,2%), ce qui contredit des études précédentes en la matière (Dubey *et al.*, 2020). Ce résultat s'explique peut-être par le fait que les chiens consultant au Chuva et provenant d'une zone rurale sont en petit effectif ($n=155$) et ne sont probablement pas représentatifs des zones rurales. Il faudrait savoir si les chiens provenant d'exploitations agricoles sont autant référés vers la région parisienne que les chiens de propriétaire par exemple. Le même raisonnement peut suggérer que l'analyse du facteur « zone de vie » doit peut-être passer par la réalisation de deux groupes, l'un de chiens consultant en ville, et l'autre de chiens consultant dans une clinique à la campagne.

En fonction du type de sol, nous avons pu remarquer que les chiens ayant accès à des sols non urbanisés sont plus souvent positifs (5,8%) que ceux n'ayant pas accès à des sols non urbanisés (chiens d'appartements strictes, qui ne sortent pas dans des parcs, ou chiens de chenils) (5,6%) dans notre échantillon. Cependant, ce résultat n'est pas significatif ($p=0.93$) et les pourcentages très proches ne suggèrent pas de tendance particulière. On peut émettre l'hypothèse que les parcs et jardins décrits dans les anamnèses se situant en région parisienne ne sont pas comparables à ceux décrits dans la littérature, en terme de proies que les chiens peuvent chasser, de propreté, et de fréquentation en terme d'animaux sauvages ou de rentes (Gennari *et al.*, 2002 ; Benetti *et al.*, 2008). Cela peut alors peut-être expliquer que l'accès à une zone non urbanisée ne soit pas un facteur de risque dans notre étude.

Concernant l'alimentation, nous avons pu mettre en évidence que 5,6% (1/18) des chiens dont la ration contient de la viande crue sont séropositifs tandis que les chiens n'ayant pas de la viande crue dans leur ration sont séropositifs à raison de 5,7% (38/664). Ce résultat est à prendre avec

beaucoup de précaution, car la différence n'est pas significative, et l'intervalle de confiance ($p=0,98$) est non interprétable. La littérature décrit pourtant que les chiens nourris à partir de la viande provenant d'hôtes intermédiaires sont plus fréquemment séropositifs (Kramer *et al.*, 2004 ; Regidor-Cerrillo *et al.*, 2010 ; Dubey *et al.*, 2020). Une des raisons expliquant nos résultats pourrait être l'origine de la viande crue. La majeure partie des chiens qui mangent de la viande crue dans notre échantillon sont nourris avec de la viande crue des alimentations BARF (Bones And Raw Food) qui est très souvent congelée lors des transports, ce qui peut causer l'inactivation du parasite (Bergeron *et al.*, 2001).

La seule coïnfection trouvée avec *Neospora caninum* dans notre échantillon est avec *Leishmania infantum* et cela pour un seul chien. Ce résultat ne nous permet pas de conclure, mais il va dans le sens de la littérature où la découverte de leishmaniose est fréquemment associée à celle de la néosporose. Cette coïnfection peut néanmoins selon Dubey et ses collaborateurs s'expliquer par des facteurs de risques communs en terme d'habitat entre les maladies (régions chaudes peu urbanisées avec des faibles taux de médicalisation des animaux) (Dubey *et al.*, 2020).

Les chiens dont les traitements antiparasitaires (externe et interne) sont à jours sont plus souvent séropositifs (8,4% et 8,7% respectivement) que les animaux pour lesquels ce traitement n'est pas à jour (4,5% et 4,4% respectivement), intervalle de confiance $p=0,23$ et $p=0,1$. En la matière il n'existe pas encore d'études faisant le lien entre la régularité des traitements et le risque d'infection. De plus, la vermifugation n'est pas un moyen de prévention décrit pour lutter contre l'infection (Malvern Hills Science Park, 2012). Ce résultat peut surprendre car ces animaux sont plus régulièrement suivis et traités que les autres. En revanche, on peut imaginer que les animaux traités les plus régulièrement sont finalement ceux qui sont le plus souvent promenés et qui rencontrent le plus d'autres animaux : ce qui motive justement la prise d'antiparasitaires en consultation. On peut donc suggérer que la prise d'antiparasitaires reflète d'autres critères comme les promenades régulières, ou la présence d'autres animaux dans l'environnement du chien, qui constituent de fait des biais de confusion.

Conclusion

L'étude menée montre que la séroprévalence pour *N. caninum* dans la clientèle canine du Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort est comparable avec celles des pays voisins avec 5,65% [4,26 ; 7,04]_{IC : 95%}. Cependant, nos résultats ne rapportent pas un taux significativement plus élevé de chiens séropositifs parmi les animaux exposés aux facteurs de risques majeurs déjà connus (sexe $p=0,14$, troubles neurologiques $p=0,16$, autres animaux $p=0,18$, présence de bovin $p=S.O$). Enfin, l'étude ne permet pas d'étendre les résultats sur la population des chiens de France, du fait des nombreux biais inhérents au recrutement des individus.

Toutefois, notre étude confirme la présence à bas bruit de l'infection à *Neospora caninum* dans la population, dont l'atteinte est subclinique. En effet seul 1 des 1062 chiens prélevés a fait l'objet d'une suspicion de néosporose, alors que 60 sont séropositifs. Puis, en accord avec la littérature, il y avait aussi plus de chiens séropositifs parmi les chiens atteints de symptômes neurologiques (8,8% contre 5,9%) et les chiens vivant avec d'autres animaux dont des hôtes intermédiaires (7,6% contre 4,8%).

Des données supplémentaires de séroprévalence notamment sur l'impact de la médicalisation, le sexe (4,7% pour les femelles, 6,8% pour les mâles), la race (8,3% pour les croisés, 5,3% pour les races pures), le milieu et la zone de vie (6,1% pour les chiens de zone urbaine, 5,2% pour les chiens de campagne, 4,4% pour les chiens de zone périurbaine), le statut stérilisé (6,9%) ou non (5,1%), l'alimentation (5,6% quand consommation de viande crue, 6,2% quand uniquement de la nourriture industrielle, 4,2% en cas d'alimentation ménagère, 6,7% lorsqu'il y a des restes de table) et l'origine (4,5% pour les chiens d'élevage, 4,3% pour les chiens adoptés chez un particulier, 7,9% pour les chiens provenant de refuges) viennent ainsi étayer les données de séroprévalence en France.

L'une des pistes d'amélioration de l'étude serait de réaliser une seconde enquête sérologique sur les mêmes sérums, en utilisant une autre méthode : L'IFAT ou l'ELISA indirect par exemple.

Puis, étant donné le manque de puissance de l'étude dans l'analyse des facteurs de risques, il faudrait la poursuivre sur une plus longue période afin de récolter plus de prélèvements.

Un plus grand effectif permettrait aussi de diminuer les biais de confusion en randomisant les dossiers à prendre en compte, ou en appliquant un modèle multivarié aux résultats obtenus.

Enfin, nous avons retiré de l'étude les résultats provenant d'élevages où des symptômes de néosporose étaient avérés, faute d'indépendance des individus. Cependant les résultats obtenus suggéraient l'implication du parasite dans les troubles reproductifs décrits. On peut alors se demander si le parasite, impliqué dans les troubles de la reproduction chez le bovin, ne l'est pas aussi chez le chien. Ce travail ouvre donc la voie à l'étude comparative de la séroprévalence entre les chiens de propriétaires, les chiens d'élevage, et les chiens d'élevages présentant des troubles avérés en matière de reproduction.

Liste des références bibliographiques

- ANTONY A., WILLIAMSON N.B. (2003) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. *N Z Vet J* 51(5), 232-237
- ANVARI D., SABERI R., SHARIF M., *et al.* (2020) Seroprevalence of *Neospora caninum* Infection in Dog Population Worldwide: A Systematic Review and Meta-analysis. *Acta Parasit.* 65(2), 273-290
- BANDINI L.A., NETO A.F.A., PENA H.F.J., *et al.* (2011) Experimental infection of dogs (*Canis familiaris*) with sporulated oocysts of *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 176(2-3), 151-156
- BARBER J.S., HAM L., POLIS I., TREES A.J. (1997a) Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Belgian dogs. *J Small Anim Pract* 38(1), 15-16
- BARBER J.S., GASSER R.B., ELLIS J., *et al.* (1997b) Prevalence of Antibodies to *Neospora caninum* in Different Canid Populations. *J.Parasitol.Res* 83(6), 1056
- BARBER J.S., TREES A.J. (1996) Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet Rec* 139(18), 439-443
- BARBER J.S., TREES A.J. (1998) Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int J Parasitol* 28(1), 57-64
- BARR B.C., ANDERSON M.L., BLANCHARD P.C., *et al.* (1990) Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet Pathol* 27(5), 354-361
- BARR B.C., BJERKÅS I., BUXTON D., *et al.* (1997) Neosporosis: Report of the international *Neospora* workshop. *Compend Contin Educ Vet* 19(SUPPL. 4), S120-S126+S144
- BENETTI A.H., TONIOLLO G.H., SANTOS T.R. dos, *et al.* (2008) Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães município de Cuiabá, Mato Grosso. *Cienc. Anim Bras / Braz J Vet Anim Sci* 9(1), 177-180
- BERGERON N., FECTEAU G., VILLENEUVE A., GIRARD C., PARÉ J. (2001) Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 97(2), 145-152
- BERNARD S. (2002) *Neospora caninum* : description du parasite, étude bibliographique. Thèse d'exercice de médecine vétérinaire, Vetagro
- BIOGNOST (2022) Immunoblot. *In Diagnostics*.
[<https://www.biognost.be/diagnostics/fr/solution/methodes-de-detection/immunoblot/>]
(consulté le 16/10/2022).
- BJERKÅS I., MOHN S.F., PRESTHUS J. (1984) Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd* 70(2), 271-274
- BJERKAS I., DUBEY J.P. (1991) Evidence that *Neospora Caninum* is Identical to the *Toxoplasma*-like Parasite of Norwegian Dogs. *Acta Vet. Scand* 32(3), 407-410
- BJÖRKMAN C., UGGLA A. (1999) Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Int* 29(10), 1497-1507
- BRESCIANI K.D.S., COSTA A.J., NUNES C., *et al.* (2007) Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. *ARS Vet* 23, 40-46
- BRUHN F.R.P., FIGUEIREDO V.C., ANDRADE G. da S., *et al.* (2012) Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in rural areas in Minas Gerais, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 21(2), 161-164

- CEDILLO C.J.R., MARTÍNEZ M.J.J., SANTACRUZ A.M., BANDA R.V.M., MORALES S.E. (2008) Models for experimental infection of dogs fed with tissue from fetuses and neonatal cattle naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 154(1-2), 151-155
- CHEADLE M.A., LINDSAY D.S., ROWE S., *et al.* (1999) Prevalence of antibodies to *Neospora Caninum* in dogs. *Parasitol. Int* 29(10), 1537-1543
- CHERMETTE R., BUSSIÉRAS R. (1993) Abrégé de parasitologie vétérinaire. Maisons Alfort, Service de parasitologie, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort
- CHERMETTE R., MARQUER A. (2000) *Neospora caninum*: a new parasite? *Point. Vet* 31 : 9-14
- COLE R.A., LINDSAY D.S., DUBEY J.P., BLAGBURN B.L. (1993) Detection of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. *J Vet Diagn Invest* 5(4), 579-584
- COLE R.A., LINDSAY D.S., BLAGBURN B.L., SORJONEN D.C., DUBEY J.P. (1995) Vertical Transmission of *Neospora caninum* in Dogs. *J.Parasitol.Res* 81(2), 208
- COLLANTES-FERNANDEZ E., ARRIGHI R.B.G., ALVAREZ-GARCÍA G., *et al.* (2012) Infected dendritic cells facilitate systemic dissemination and transplacental passage of the obligate intracellular parasite *Neospora caninum* in mice. *PLoS One* 7(3), e32123
- PACHETEAU C. (2020) Comment les Français vivent avec leurs animaux en 2020 ? *In SantéVet.* [<https://www.santevet.com/articles/comment-les-francais-vivent-avec-leurs-animaux-en-2020>] (consulté le 10/11/2022).
- CRINGOLI G., RINALDI L., CAPUANO F., *et al.* (2002) Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. *Vet Parasitol* 106(4), 307-313
- DEBARE H. (2018) Etude du potentiel adjuvant des glycosylphosphatidylinositols de *Neospora caninum* dans une stratégie de vaccination nanoparticulaire muqueuse anti-néosporose. Thèse de doctorat, Science de la vie et de la santé. Université de Tours
- DIJKSTRA T., EYSKER M., SCHARLES G., CONRATHS F., WOUUDA W. (2001) Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol Int* 31, 747-52
- DIJKSTRA T., BARKEMA H.W., EYSKER M., HESSELINK J.W., WOUUDA W. (2002) Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet Parasitol* 105(2), 99-104
- DUBEY J.P., CARPENTER J.L., SPEER C.A., TOPPER M.J., UGGLA A. (1988a) Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192(9), 1269-1285
- DUBEY J.P., HATTEL A., LINDSAY D., TOPPER M. (1988b) Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Asso* 193, 1259-63
- DUBEY J.P., KOESTNER A., PIPER R.C. (1990) Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 197(7), 857-860
- DUBEY J.P., METZGER F.L., HATTEL A.L., LINDSAY D.S., FRITZ D.L. (1995) Canine Cutaneous Neosporosis: Clinical Improvement with Clindamycin. *Vet Dermatol* 6(1), 37-43
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S., ADAMS D.S., *et al.* (1996) Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am J Vet Res* 57(3), 329-336
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S., SPEER C.A. (1998a) Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev* 11(2), 267-299
- DUBEY J.P. (1998) *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *J Parasitol* 84(4), 862-865

- DUBEY J.P., DOROUGH K.R., JENKINS M.C., *et al.* (1998b) Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int J Parasitol* 28(8), 1293-1304
- DUBEY J.P. (1999) Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J Am Vet Med Assoc* 214(8), 1160-1163
- DUBEY J.P., SREEKUMAR C., KNICKMAN E., *et al.* (2004) Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *Int J Parasitol* 34(10), 1157-1167
- DUBEY J.P. (2004) Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol* 126(1-2), 57-72
- DUBEY J.P. (2005a) Unexpected oocyst shedding by cats fed *Toxoplasma gondii* tachyzoites: in vivo stage conversion and strain variation. *Vet Parasitol* 133(4), 289-298
- DUBEY J.P. (2005b) Neosporosis in Cattle. *Vet. Clin/ North Am. Food Anim* 21(2), 473-483
- DUBEY J.P., BUXTON D., WOUDA W. (2006) Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol* 134(4), 267-289
- DUBEY J.P., SCHARES G., ORTEGA-MORA L.M. (2007) Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev* 20(2), 323-367
- DUBEY J.P., JENKINS M.C., RAJENDRAN C., *et al.* (2011) Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol* 181(2), 382-387
- DUBEY J.P., HEMPHILL A., CALERO-BERNAL R., GEREON SCHARES (2020) Neosporosis in Animals, Boca Raton, CRC Press.
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (1989) Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am J Vet Res* 50(9), 1578-1579
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (1990) Neosporosis in dogs. *Vet. Parasitol* 36(1), 147-151
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (1993) Neosporosis. *Parasitol. Today* 9(12), 452-458
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol* 67(1), 1-59
- DUBEY J.P., LINDSAY D.S. (2000) Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. *Parasitol Res* 86(2), 165-168
- FILHO C., JUNIOR L. (2008) Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil, *Brazil. J. Vet. Parasitol* 7, 302-306
- FONTBONNE A., SARRAZIN C., POLACK B. (2010) L'infestation par neospora chez le chien: des conséquences sur la reproduction ? *Bull Acad Vét Fr* 163(2), 173-178
- FRITZ D., GEORGE C., DUBEY J.P., *et al.* (1997) *Neospora caninum*: associated nodular dermatitis in a middle-aged dog. *Canine pract* 22(4), 21-24
- GENNARI S.M., YAI L.E.O., D'AURIA S.N.R., *et al.* (2002) Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* 106(2), 177-179
- GENNARI S.M., CAÑÓN-FRANCO W.A., FEITOSA M.M., *et al.* (2006) Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães com leishmaniose visceral da região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. *Braz J Vet Anim Sci* 43(5), 613-619
- GHALMI F., CHINA B., KAIDI R., LOSSON B. (2009) First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers District (Algeria). *Parasitol Int* 58(4), 444-450
- GONDIM L.F.P., MCALLISTER M.M., PITT W.C., ZEMLICKA D.E. (2004) Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology, Annual Scientific Meeting of the Australian Society for Parasitology, Darwin, Carlton Hotel, The Esplande, 2003. Highlights.* 34(2), 159-161

- GOODSWEN S.J., KENNEDY P.J., ELLIS J.T. (2013) A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infect Genet Evol* 13, 133-150
- GREIG B., ROSSOW K.D., COLLINS J.E., DUBEY J.P. (1995) *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. *J Am Vet Med Assoc* 206(7), 1000-1001
- GUILLOT J., ESCRIOU C., FRITZ D. (2000) La néosporose canine. *Point Vet* 31, 29-36
- GUO Z.G., JOHNSON A.M. (1995) Genetic comparison of *Neospora caninum* with *Toxoplasma* and *Sarcocystis* by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction. *Parasitol Res* 81(5), 365-370
- HADDADZADEH H.R., SADREBAZZAZ A., MALMASI A., et al. (2007) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from rural and urban environments in Tehran, Iran. *Parasitol Res* 101(6), 1563-1565
- HEMPHILL A. (1999) The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv Parasitol* 43, 47-104
- HESSE C. (2002) *Neospora caninum*: description du parasite, étude bibliographique. Thèse d'exercice, Vetagro
- JARDINE J.E. (1996) The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Vet Parasitol* 62(3-4), 231-240
- KLEIN B.U., MÜLLER E. (2001) Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs with and without clinical suspicion for neosporosis in Germany [Seroprävalenz von Antikörpern gegen *Neospora caninum* bei Hunden mit und ohne klinischem Neosporoseverdacht in Deutschland]. *Praktische Tierarzt* 82, 437-440
- KRAMER L., DE RISIO L., TRANQUILLO V.M., MAGNINO S., GENCHI C. (2004) Analysis of risk factors associated with seropositivity to *Neospora caninum* in dogs. *Vet Rec* 154(22), 692-693
- KUBOTA N., SAKATA Y., MIYAZAKI N., et al. (2008) Serological survey of *Neospora caninum* infection among dogs in Japan through species-specific ELISA. *J Vet Med Sci* 70(8), 869-872
- KUZNIAK H. (2001) *Neospora caninum* et la néosporose canine: synthèse bibliographique. Thèse d'exercice, Oniris
- LANGONI H., MATTEUCCI G., MEDICI B., et al. (2012) Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 45, 365-368
- LE CORRE A.-C. (2012) Étude des infections parasitaires à *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis spp.* et *Trichinella spp.* chez les mammifères marins. Thèse de médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire d'Alfort
- LINDSAY D.S., BUTLER J.M., BLAGBURN B.L. (1997) Efficacy of decoquinate against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet Parasitol* 68(1), 35-40
- LINDSAY D. S., DUBEY J.P., DUNCAN R.B. (1999) Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 82(4), 327-333
- LINDSAY David S, UPTON S.J., DUBEY J.P. (1999) A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *Parasitol Int* 29(10), 1521-1523
- LINDSAY D.S., RITTER D.M., BRAKE D. (2001) Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. *J Parasitol* 87(4), 909-911
- LINDSAY D.S., BLAGBURN B.L., DUBEY J.P. (2002) Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet Parasitol* 103(4), 309-313
- LINDSAY D.S., DUBEY J.P. (1989) Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res* 50(11), 1981-1983

- LINDSAY D.S., DUBEY J.P. (1990) Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J Parasitol* 76(3), 410-413
- MALVERN HILLS SCIENCE PARK (2012) Control of Ectoparasites in Dogs and Cats. 7th ed, Malvern, ESCCAP Secretariat.
- MARQUER A., CHERMETTE R. (2000) Neosporosis in cattle. *Point Vet* 31(208), 193-298
- MARSH A., BC B., AE P., PA C. (1998) Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J Parasitol* 84(5), 983-991
- MCALLISTER M.M., DUBEY J.P., LINDSAY D.S., *et al.* (1998) Rapid communication: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Parasitol Int* 28(9), 1473-1479
- MCGUIRE A.M., MCALLISTER M., WILLS R.A., TRANAS J.D. (1999) Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columba livia*) and zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol Int* 29(10), 1525-1529
- NOGUEIRA C.I., MESQUITA L.P., ABREU C.C., *et al.* (2013) Risk factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from urban and rural areas of milk and coffee production in Minas Gerais state, Brazil. *Epidemiol Infect* 141(11), 2286-2293
- ODIN M., DUBEY J.P. (1993) Sudden death associated with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 203(6), 831-833
- ORTUÑO A., CASTELLÀ J., ALMERÍA S. (2002) Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Spain. *J Parasitol* 88(6), 1263-1266
- PARADIES P., CAPELLI G., TESTINI G., *et al.* (2007) Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. *Vet Parasitol* 145(3-4), 240-244
- 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
- PETERS M., LÜTKEFELS E., HECKEROTH A.R., SCHARES G. (2001) Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Parasitol Int* 31(10), 1144-1148
- PITEL P.H., PRONOST S., CHATAGNON G., *et al.* (2001) Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet Parasitol* 102(4), 269-277
- PLISSON A. Paul (2019) Néosporose en élevage bovin laitier : corrélation entre sérologie sur lait de tank et prévalence intra-troupeau et impact du statut sérologique sur les performances de reproduction. Thèse de médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire d'Alfort
- PLUGGE N.F., FERREIRA F.M., RICHARTZ R.R.T. de B., SIQUEIRA A. de, DITTRICH R.L. (2011) Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and/or *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20, 202-206
- RASMUSSEN K., JENSEN A.L. (1996) Some epidemiologic features of canine neosporosis in Denmark. *Vet Parasitol* 62(3-4), 345-349
- REGIDOR-CERRILLO J., PEDRAZA-DIAZ S., ROJO-MONTEJO S., *et al.* (2010) *Neospora caninum* infection in stray and farm dogs: seroepidemiological study and oocyst shedding. *Vet Parasitol* 174(3-4), 332-335
- REICHEL M.P., ELLIS J.T., DUBEY J.P. (2007) Neosporosis and hammondiosis in dogs. *J Small Anim Pract* 48(6), 308-312
- SARRAZIN C. (2009) Transmission verticale de *Neospora sp.* chez les mammifères : quelles conséquences pour l'élevage canin? Thèse de médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire d'Alfort

- SCHOCH C.L., CIUFO S., DOMRACHEV M., *et al.* (2020) NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford) 2020:baaa062. [https://doi.org/10.1093/database/baaa062]
- SICUPIRA P.M.L., DE MAGALHÃES V.C.S., GALVÃO G. da S., *et al.* (2012) Factors associated with infection by *Neospora caninum* in dogs in Brazil. *Vet Parasitol* 185(2-4), 305-308
- SPEER C.A., DUBEY J.P., MCALLISTER M.M., BLIXT J.A. (1999) Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 29(10), 1509-1519
- THILSTED J.P., DUBEY J.P. (1989) Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 1(3), 205-209
- TREES A.J., WILLIAMS D.J.L. (2000) Neosporosis in the United Kingdom. *J. Parasitol*, 30, 891-893.
- WANHA K., EDELHOFER R., GABLER-EDUARDO C., PROSL H. (2005) Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. *Vet Parasitol* 128(3-4), 189-193
- WAPENAAR W., JENKINS M.C., O'HANDLEY R.M., BARKEMA H.W. (2006) *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). *J Parasitol* 92(6), 1270-1274
- WOUDA W., DIJKSTRA T., KRAMER A.M.H., VAN MAANEN C., BRINKHOF J.M.A. (1999) Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Parasitol Int* 29(10), 1677-1682
- YAMANE I., THOMFORD J.W., GARDNER I.A., *et al.* (1993) Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Am J Vet Res* 54(10), 1579-1584
- YIN J., QU G., CAO L., *et al.* (2012) Characterization of *Neospora caninum* microneme protein 10 (NcMIC10) and its potential use as a diagnostic marker for neosporosis. *Vet Parasitol* 187(1-2), 28-35

Annexe 1 : Données de séroprévalence vis-à-vis de *N. caninum* dans les élevages de bovin d'après Dubey et al (2020)

Pays	Région	Nb d'animaux	Type d'exploitation	Nombre de fermes	Nb de positifs	Pourcentage de positif (%)	Test	Titre/laboratoire/type de test/antigène	Remarques
Belgique	-	711	Laitier	52	86	12.2	IFAT	1 :200	-
	-	70	Laitier/allaitant	-	20	28.6	IFAT	1 :200	-
Danemark	-	18858	Laitier/allaitant	957	1927	10.2	EUSA	Ibio-X	-
	-	1561	Laitier	31	343	22	EUSA, IFAT	IH-SCOM	-
Finlande	-	40	Laitier	-	26	65	EUDZ	Snanovir Neospora Ab	-
	-	388	-	22	16	4.1	IFAT	1 :400	-
Allemagne	Rhénanie-Palatinat	-	Laitier (lait de tank)	3260	258	7.9	EUSA	IH-p38	Analyse des facteurs de risques
	Bavière	1357	Laitier	220	92	6.8	EUSA	IDEXX	-
Grèce	Epire, Thessalie, Macédoine, Thrace	777	Laitier	10	118	15.2	EUSA	IH-p38	Association avec des infections congénitales
	Hongrie	518	Laitier	39	17	3.3	IFAT	1 :100	-
Irlande	Nord	545	Allaitant	49	10	1.8	IFAT	1 :100	-
	-	324	Laitier	-	40	12.6	IFAT	1 :640	Troubles de reproduction
Italie	Lombardie	10684	-	986	2596	24.3	IFAT	1 :640	-
	Parme	820	Laitier	85	236	28.7	IFAT	1 :160	Historiques d'avortements
Portugal	Nord	5912	Laitier	1	1442	24.4	IFAT	1 :640	-
	Sud	350	Laitier	35	65	18.8	EUSA	MASTAZYME	Taux d'avortement de 14% (1996) puis 27% (1999)
Roumanie	-	114	Laitier	49	13	32.0	NAT	1 :40	Troubles de reproduction
	Nord et centre	901	Laitier	16	312	34.6	EUSA	IDEXX	Avortement
Espagne	Sud	258	Laitier	9	104	40.3	EUSA	IDEXX	-
	Galice	2407	Allaitant	372	386	15.8	EUSA	CIVTEST	-
Royaume-Uni	-	237	Laitier	1	54	35.4	EUSA	IDEXX	Troubles de reproduction
	Galice	37090	Laitier	1447	8345	22.5	EUSA	IDEXX	-
France	Irlande du nord	165	Laitier	-	5	3.0	IFAT	1 :640	Troubles de reproduction
	Calvados	15736	Laitier	11	2030	12.9	EUSA	IDEXX	-
France	Calvados	127	Laitier	13	37	29.1	EUSA	IDEXX	Historiques d'avortements dans certains élevages
	Calvados	2087	Laitier	-	652	31.2	EUSA	-	-
Normandie	Normandie	575	Allaitant	-	148	25.7	EUSA	IDEXX	-
	Saône et Loire	219	Allaitant	-	30	13.7	EUSA	IDEXX	-
Ouest	Ouest	1373	Laitier	13	142	10.4	EUSA	IDEXX	-
	Ouest	2141	Laitier	-	354	16.5	EUSA	IDEXX	Historiques d'avortements

Annexe 2 : Protocole du Kit ELISA utilisé et Contrôle Qualité

- 9 Couvrir la plaque et incuber 15 min \pm 2 min à 21°C (35°C) à l'obscurité.
- 10 Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt dans chaque puits, en suivant le même ordre qu'en étape n°8, pour arrêter la réaction.
- 11 Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est validé si :

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 0,700.

$$DO_{CN} > 0,700$$

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est inférieure à 30% de la DO_{CN}.

$$\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} < 0,3$$

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage de compétition (S/N %) :

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

Les échantillons présentant un S/N% :

- inférieur ou égal à 50% sont considérés comme positifs.
- compris entre 50% et 60% sont considérés comme douteux.
- supérieur à 60% sont considérés comme négatifs.

Résultats	Statut
S/N % \leq 50 %	POSITIF
50% < S/N % \leq 60%	DOUTEUX
S/N % > 60%	NEGATIF

Note : Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@idvet.com

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P ou S/N, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des animaux testés.

IDvet
Innovative Diagnostics

Certified
management
system



ID Screen®
Neospora caninum Competition



ELISA de compétition pour la détection des anticorps dirigés contre *N. caninum* dans le sérum ou le plasma de ruminants, canins ou autres espèces sensibles

Usage *in vitro*

Incubation courte ou de nuit

NCC ver 0616 FR

Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence des anticorps spécifiques dirigés contre *Neospora caninum*. Il s'agit d'un test ELISA de compétition et il peut être utilisé pour des échantillons de sérum ou de plasma de ruminants, canins ou autres espèces sensibles.

Description et principe

Les puits sont sensibilisés avec des extraits de *Neospora caninum*.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps anti-*N. caninum*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps qui masque les épitopes de *Neospora caninum*.

Un conjugué anti-*N. caninum* marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux épitopes du parasite *Neospora caninum*, restés libres, formant un complexe antigène-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt.
- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec des extraits purifiés de <i>Neospora caninum</i>
Conjugué concentré (10X)
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Tampon de dilution 12
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

*La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +25°C.
3. Les solutions de lavage concentré, de révélation et d'arrêt peuvent être utilisées dans l'ensemble de la gamme IDvet. Les tampons de dilution portant les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni:

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 50 μl et 100 μl et 300 μl .
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Eau distillée ou désionisée.
4. Système de lavage manuel ou automatique.
5. Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La solution de révélation peut être irritante pour la peau.
3. La solution d'arrêt (0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion et peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R22-43). Éviter le contact avec la peau (S24-37).
4. Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Éliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Préparation des échantillons

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une plaque de pré-dilution, format 96 puits, contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.

Préparation de la solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la Solution de lavage (1X) par dilution au 1/20^{ème} de la Solution de lavage (20X) dans de l'eau distillée/désionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande à info@idvet.com

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

Incubation courte

1. Distribuer:
 - 50 μl de Tampon de Dilution 14 dans chaque puits,
 - 50 μl de Contrôle positif dans les puits A1 et B1,
 - 50 μl de Contrôle négatif dans les puits C1 et D1,
 - 50 μl de chaque échantillon à tester dans les puits restants.

2. Couvrir la microplaque et incuber 45 min \pm 4 min à 37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).

Incubation de nuit

1. Distribuer:
 - 90 μl de Tampon de Dilution 14 dans chaque puits,
 - 10 μl de Contrôle positif dans les puits A1 et B1,
 - 10 μl de Contrôle négatif dans les puits C1 et D1,
 - 10 μl de chaque échantillon à tester dans les puits restants.
2. Couvrir la plaque et incuber sur la nuit (16h-20h) à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).

Pour tous les protocoles

3. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 μl de Solution de lavage. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
4. Préparer le Conjugué 1X en diluant le conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 12.
5. Distribuer 100 μl de Conjugué 1X dans chaque puits.
6. Couvrir la plaque et incuber 30 min \pm 3 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
7. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 μl de Solution de lavage. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
8. Distribuer 100 μl de Solution de révélation dans chaque puits.



QUALITY CONTROL DATA SHEET – FICHE DE CONTRÔLE QUALITÉ

ID Screen[®] Neospora caninum Competition

Product code/ Code produit : NCC

Batch n° / N° de lot: J83

Insert / Mode d'emploi : 0616

Manufacturing date / Date de fabrication: 2022/04

Expiry date / Date d'expiration: 2024/04

KIT COMPONENTS / COMPOSITION DU KIT

Components / Composants	Batch n° / N° de lot
Coated Microplate / Microplaque sensibilisée	6114-010
Positive Control / Contrôle positif	3114-009
Negative Control / Contrôle négatif	22-008
Dilution buffer 14/ Tampon de dilution 14	14-800
Concentrated conjugate 10 X / Conjugué concentré 10 X	4114-3-009
Dilution buffer 12 / Tampon de dilution 12	12-201
Wash concentrate 20 X / Solution de lavage concentrée 20 X	15-101
Substrate solution / Solution de révélation	7-202
Stop solution / Solution d'arrêt	10-103

QUALITY CONTROL / CONTRÔLE QUALITÉ

Tested parameters / Paramètres testés	Acceptation criteria/Critère d'acceptation	Results/Résultats
Mean OD _{NC} / Moyenne DO _{CN}	> 0.700	1.386*
Mean OD _{PC} / Moyenne DO _{CP}	Should enable validation of the parameter below/ Doit permettre la validation du paramètre suivant	0.081*
Mean OD _{PC} / OD _{NC} ratio Ratio Moyenne DO _{CP} / DO _{CN}	<0.3	PASSED / CONFORME
Analytical sensitivity was evaluated with a reference serum produced by Innovative Diagnostics Sensibilité analytique évaluée avec un sérum de référence produit par Innovative Diagnostics	S/N% values should remain similar between batches, runs and operators. Les valeurs de %S/N devraient rester similaires entre lots, cycles d'analyses et opérateurs.	PASSED / CONFORME
Sensitivity Sensibilité	All samples of the Innovative Diagnostics QC panel must be found positive Tous les échantillons du panel CQ d'Innovative Diagnostics doivent être trouvés positifs.	PASSED / CONFORME
Specificity Spécificité	All samples of the Innovative Diagnostics QC panel must be found negative Tous les échantillons du panel CQ d'Innovative Diagnostics doivent être trouvés négatifs	PASSED / CONFORME
Intra-plate repeatability CV% %CV répétabilité intraplaque	<10%	PASSED / CONFORME
Inter-plate homogeneity CV% %CV homogénéité interplaque	<15%	PASSED / CONFORME

QC = quality control; PC = positive control; NC = negative control; CV = coefficient of variation / CP = contrôle positif; CN = contrôle négatif; CV = coefficient de variation

* These values were obtained in our Quality Control laboratory in our conditions. Laboratories may obtain slightly different values under their own conditions / Valeurs obtenues dans notre laboratoire de Contrôle Qualité, données à titre indicatif. Les laboratoires peuvent obtenir des valeurs légèrement différentes selon leurs propres conditions.

CONCLUSION: THE AFOREMENTIONED BATCH MEETS REQUIREMENTS FOR RELEASE

CONCLUSION : LE LOT MENTIONNE SATISFAIT AUX EXIGENCES DE LIBERATION DE LOT

VALIDATED BY / VALIDE PAR

Censuré

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel : + 33 (0)4 67 41 49 33 – Fax : + 33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com

06/2022
DOC13545

Annexe 3 : Questionnaire à disposition des étudiants et cliniciens au Chuva pour le recueil des commémoratifs



Consultation au Service de Reproduction

Date : ___ / ___ / ____
 Etudiant : _____
 Clinicien : Dr _____

Anamnèse :

Identification	
Etiquette CLOVIS	
Race :	Croisé <input type="checkbox"/>
Age :	
Sexe:	F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> stérilisé(e) <input type="checkbox"/>

Motif de consultation
Assurance Santé
Référé :
Vétérinaire / ville :

Provenance :
 Elevage Particulier Refuge Autre :

Habitat :
 Chenil Appartement Maison avec jardin Autre :

Lieu de vie :
 Zone urbaine
 Campagne
 Proximité avec un élevage Si oui préciser le type (bovin, canin...) :

Chien de compagnie
Chien d'utilité Chien de garde Chien de chasse Chien d'élevage
 Autre.....
 A quelle fin (par exemple chien guide, chien de secours ...) ?

Alimentation au cours des 3 derniers mois :
 Alimentation industrielle type croquette ou pâtée :
 Préciser si possible la marque et la gamme utilisée

Ration ménagère :
 Préciser si possible quelle est la viande utilisée, d'où elle provient (circuit alimentaire humain, internet, reste de boucherie ...) et la manière dont elle est distribuée (cuite / crue ...).

BARF : Viandes (Préciser)..... Cuite Crue

D'autres animaux ? Si oui combien ?
 Chats ... Chèvres ...
 Chevaux ... Bovins ...
 Moutons ... Volaille : (Préciser)..... ...
 Dans quelles conditions (par exemple loisir, élevage, etc...) :

Voyage : Oui Non (préciser)

Vaccination a jour :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Antiparasitaires à jour :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
APE :	API :	

Anamnèse

Dernier cycle :

Dernier traitement :

Contraception :

Déjà mis(e) à la reproduction :

Traitements en cours / derniers examens

Examen clinique :

Général

Poids : _____ Note d'état corporel : ____/9 T° rectale : _____ °C

FC : ____ bpm

FR : ____ mpm

Anomalie à l'auscultation :

Anomalie à l'auscultation :

Pouls (qualité, fréquence et rythme)

Muqueuses : _____ TRC : _____ Etat d'hydratation : _____

	Normal	Anormal	Non examiné	Description des anomalies :
Apparence générale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Attitude	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tête				
- yeux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
- oreilles	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
- nez	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
- cavité buccale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Noeuds lymphatiques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Peau	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
App. Respiratoire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
App. Cardiovasculaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Locomotion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Palpation abdominale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ex. Neurologique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Reproduction

	Normal	Anormal	Non examiné	Description des anomalies :
Périnée	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Penis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Testicules	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prostate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Anus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Vulve	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tissu mammaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Infertilité Mortalité embryonnaire Avortement Prolificité Mortinatalité

Dernière mise à la reproduction _____

Bilan :

Bilan anamnesto-clinique
Diagnostic différentiel (des anomalies les plus pertinentes)
Hypothèses diagnostiques retenues
Examens complémentaires (réalisés ce jour)
Conclusion et suivi prévu
Traitements (dose, fréquence et durée)

Prochain rendez-vous : ___/___/_____

Annexe 4 : Version digitale du questionnaire – modèle prérempli sur CLOVIS

CR clinique Actes Analyses Paramédical & CR Pharmacie Ordonnance **Soin Éducatif** Consultation n° : AC21-33042

Motif **Exemple CERCA complet** Date **vendredi 16 juillet 2021**

Anamnèse **Owawa, Chien / Chienne stérilisé(e)entier(e) de xx ans, présenté en consultaion de reproduction pour @@@@, sur fond de @@@@.**

Compte-Rendu **XXXX, Chien / Chienne stérilisé(e)entier(e) de xx ans, présenté en consultaion de reproduction pour @@@@, sur fond de @@@@.**
Anamnèse commémoratifs

- Vaccination à jour ?
 - API/APE à jour ? quand la dernière fois ? Quelle molécule ?

Mode de vie
Zone de vie

Provenance :
 - Elevage
 - Particulier
 - Refuge

Habitat :
 - Chenil
 - Appartement
 - Maison avec jardin
 - Autre :

Lieu de vie :
 - Zone urbaine
 - Campagne
 - Proximité avec un élevage (si oui préciser)

Animal :
 - D'élevage
 - De chasse
 - De garde / d'utilité
 - Autre :

Alimentation au cours des 3 derniers mois

- Alimentation type croquette ou pâté industrielle (préciser) :
 - Ration ménagère (préciser) :
 - Barf :
 - viande cuite / crue ?
 - Quelle viande ?

Autres animaux

- D'autres animaux de compagnie (préciser) ?
 - Proximité avec des élevages (préciser les types d'élevage) ?

L'animal

- Date du dernier cycle ?
 - Contraception ?
 - Animal déjà mis à la reproduction ?
 - Dernier traitement (préciser quand / posologie)

- Problème d'infertilité connu ? de mortalité embryonnaire ? Mortinatalité ?
 - D'avortement ? de prolificité ?

Examen clinique

Poids : NEC : /g T° : °C Hydratation : Normale / Déshydraté X%

Appareil cardio-vasculaire :
 - XX bpm
 - Auscultation :
 - Pous témoraux et métatarsiens :
 - Muqueuses / TRC :

Appareil respiratoire :
 - XX rpm
 - Courbe respiratoire :
 - Auscultation :

Appareil locomoteur :
 -

Appareil génital :
 - Périnée :
 - Pénis / vulve :
 - Testicules :
 - Prostate :
 - Anus :
 - Tissu mammaire :

Autre :
 -

Bilan anamnestico-clinique

Owawa présente @@@@.

Diagnostic différentiel

Du plus au moins probable :
 -
 -

Examens complémentaires

Conclusion

Exemple CERCA
 Owawa est un(e) chien / chienne stérilisé(e)entier(e) de xx ans qui présente @@@@ qui après examens complémentaires orientent majoritairement

Conclusion **Exemple CERCA**
 Owawa est un(e) chien / chienne stérilisé(e)entier(e) de xx ans qui présente @@@@ qui après examens complémentaires orientent majoritairement vers @@@@.

Traitement proposé **CT ordonnance**

Rédacteur **Mino** Imprimé / Envoyé Historique

Validé par

Diagnostic **Certitude Diagnostic** **Diagnostic** **Mots-clés**

Annexe 5 : Effectifs des chiens positifs et négatifs par race dans l'échantillon

RACE	NOMBRE POSITIFS	NOMBRE NEGATIFS	EFFECTIF TOTAL
AKITA INU	1	6	7
AMERICAN STAFFORDSHIRE TERRIER	7	31	38
BASENJI	0	2	2
BASSET FAUVE DE BRETAGNE	0	3	3
BEAGLE	2	25	27
BEAUCERON	0	7	7
BERGER	0	4	4
BERGER ALLEMAND	0	29	29
BERGER AMERICAIN	0	1	1
BERGER AUSTRALIEN	2	25	27
BERGER BELGE GROENENDAEL	0	1	1
BERGER BELGE MALINOIS	2	14	16
BERGER BELGE TERVUEREN	0	3	3
BERGER BLANC SUISSE	0	7	7
BERGER CREOLE	0	1	1
BERGER DE MARONI	0	1	1
BERGER DES PYRENEES	0	4	4
BERGER FINNOIS DE LAPONIE	0	1	1
BERGER ISLANDAIS	0	2	2
BERGER POLONAIS	0	1	1
BERGER PORTUGAIS	0	1	1
BERGER DES SHETLANDS	1	11	12
BICHON	0	14	14
BICHON A POIL FRISE	0	1	1
BICHON HAVANAIS	0	1	1
BICHON MALTAIS	0	6	6
BIEWER YORKSHIRE	0	1	1
BLEU DE GASCOGNE	0	1	1
BORDER COLLIE	1	21	22
BORDER TERRIER	0	2	2
BOSTON TERRIER	0	4	4
BOULEDOGUE AMERICAIN	0	2	2
BOULEDOGUE CONTINENTALE	0	2	2
BOULEDOGUE FRANÇAIS	1	49	50
BOUVIER BERNOIS	0	4	4
BOUVIER D'APPENZELL	0	3	3
BOUVIER BERNOIS	0	8	8
BOXER	1	8	9
BRAQUE	0	4	4
BRAQUE ALLEMAND	0	4	4
BRAQUE DE WEIMAR	0	4	4
BRAQUE ITALIEN	0	1	1
BULL TERRIER	0	11	11
BULLDOG AMERICAIN	0	1	1
BULLDOG ANGLAIS	0	10	10
BULLMASTIFF	0	1	1
BULLY	2	4	6
CAIRN TERRIER	0	3	3
CANE CORSO	0	13	13
CANICHE	1	11	12
CARLIN	0	14	14

CAVALIER KING CHARLES	0	23	23
CHIEN CREOLE	0	1	1
CHIEN D'ARRET PORTUGAIS	0	1	1
CHIEN D'EAU ESPAGNOL	0	1	1
CHIEN LOUP SLOVAQUE	0	1	1
CHIHUAHUA	1	34	35
CHOW CHOW	1	1	2
CHUSSEL	0	1	1
COCKER AMERICAIN	0	6	6
COCKER ANGLAIS	1	14	15
COLLEY	1	2	3
CORGI	1		1
COTON DE TULEAR	0	4	4
CROISE	12	132	144
DALMATIEN	0	3	3
DOBERMANN	2	1	3
DOG ARGENTIN	0	2	2
DOGUE	1		1
DOGUE ALLEMAND	0	1	1
DOGUE ARGENTIN	0	1	1
DOGUE DE BORDEAUX	0	1	1
DOGUE DE MAJORQUE	0	1	1
DOGUE DES CANARIES	0	1	1
DOGUE DU TIBET	0	1	1
DRAHTHAAR	1	1	2
EPAGNEUL	0	1	1
EPAGNEUL BRETON	0	7	7
EPAGNEUL JAPONAIS	0	1	1
EPAGNEUL NAIN CONTINENTAL	0	1	1
EURASIER	0	3	3
FINNOIS DE LAPONIE	0	1	1
FOX TERRIER	1	6	7
GOLDEN RETRIEVER	1	30	31
GRIFFON	0	2	2
HUSKY	0	1	1
HUSKY SIBERIEN	0	8	8
JACK RUSSEL	4	46	50
KOKONI	0	1	1
LABRADOR	2	45	47
LAGOTTO ROMAGNOLO	0	1	1
LAIKA DE YAKOUTIE	0	1	1
LANDSEER	0	1	1
LEVRIER	0	1	1
LEVRIER ESPAGNOL	0	1	1
LEVRIER ITALIEN	0	2	2
LHASSA APSO	1	7	8
LOULOU DE POMERANY	0	2	2
MALAMUTE DE L'ALASKA	0	2	2
MONTAGNE DES PYRENEES	0	1	1
MUNSTERLANDER	0	1	1
PETIT BRABANCON	0	2	2
PETIT CHIEN LION	0	1	1
PINSCHER	1	4	5
PINSCHER NAIN	0	3	3
PODENCO	0	1	1
PODENGO PORTUGAIS	0	1	1
PODENGO PORTUGAIS PEQUENO	0	1	1
POINTER ANGLAIS	1	1	2
POMERANIAN	0	1	1
RACE LABRADOODLE	0	1	1

RETRIEVER DE LA NOUVELLE-ECOSSE	0	1	1
ROTTWEILER	0	9	9
ROYAL BOURBON	0	2	2
RUSSEL TERRIER	0	1	1
SAHELIENNE	0	1	1
SAMOYEDE	0	1	1
SAMOYEDE	0	2	2
SCHNAUZER	2	3	5
SCHNAUZER NAIN	0	1	1
SETTER	0	1	1
SETTER ANGLAIS	0	7	7
SETTER GORDON	0	1	1
SHAR-PEÍ	0	5	5
SHIBA INU	0	6	6
SHIH-TZU	1	11	12
SOFT COATED WHEATEN TERRIER	0	1	1
SPINGER	0	1	1
SPITZ	0	22	22
SPITZ ALLEMAND	0	5	5
SPITZ NAIN	0	2	2
SPITZ POMERANIAN	0	1	1
SPRINGER SPANIEL	0	1	1
SPRINGER SPANIEL ANGLAIS	0	1	1
STAFFORDSHIRE BULL TERRIER	0	22	22
TECKEL	2	12	14
TERRE-NEUVE	0	3	3
TERRIER	0	2	2
TERRIER BRESILIEN	0	1	1
WELSH CORGI	0	2	2
WELSH TERRIER	0	1	1
WESTIE	0	7	7
WHIPPET	0	8	8
YORKSHIRE TERRIER	2	41	43
(VIDE)	0	6	6
TOTAL GENERAL	60	1002	1062

Annexe 6 : Résultats détaillés des ELISA par compétition pour les plaques A et B

Plate A DOcp = 0,088 DOcn = 1,32615 DOcn > 0,7 Valide DOcp/DOcn < 0,3 Valide 0,066357501 S/N% < 50% : Positif 50% < S/N% < 60% : Douteux S/N% > 60% : Négatif	Résultats	7	Négatif	19	Négatif	28	Négatif	43	Négatif	53	Négatif	
		8	Négatif	20	Négatif	29	Négatif	44	Négatif	54	Négatif	
	1	Négatif	10	Négatif	21	Négatif	30	Négatif	46	Négatif	55	Négatif
		Négatif	13	Négatif	22	Négatif	32	Négatif	47	Douteux	57	Négatif
	2	Négatif	14	Positif	23	Négatif	37	Négatif	48	Négatif	60	Négatif
		Négatif	15	Négatif	24	Négatif	38	Négatif	49	Négatif	61	Négatif
	3	Négatif	16	Négatif	25	Négatif	39	Négatif	50	Négatif	62	Négatif
		Négatif	18	Négatif	27	Négatif	41	Négatif	52	Négatif	65	Négatif
	4	Négatif	19	Négatif	28	Négatif	38	Négatif	49	Négatif	61	Négatif
		Négatif	20	Négatif	29	Négatif	39	Négatif	50	Négatif	62	Négatif
	5	Négatif	21	Négatif	30	Négatif	40	Négatif	51	Négatif	63	Négatif
		Négatif	22	Négatif	31	Négatif	41	Négatif	52	Négatif	64	Négatif
6	Négatif	23	Négatif	32	Négatif	42	Négatif	53	Négatif	65	Négatif	
	Négatif	24	Négatif	33	Négatif	43	Négatif	54	Négatif	66	Négatif	

	DOéchantillon/DOcn x 100	7	138,1518	19	127,2179	28	110,1685	43	122,4824	53	192,2256
		8	183,6368	20	109,0978	29	114,8286	44	93,1041	54	137,2695
	1	101,9643	67,72989	21	192,4292	30	136,2516	45	116,4499	55	133,4238
		100,4788	140,693	22	104,4301	31	107,5142	46	93,73751	56	104,8976
	2	127,9041	79,77227	23	169,5208	32	99,32511	47	116,7138	57	96,64819
		128,168	101,7306	24	79,77227	33	109,7387	48	183,2146	58	104,8976
	3	115,7486	134,2156	25	171,4814	34	120,4162	49	64,6684	59	106,0815
		215,1811	131,0862	26	112,0989	35	108,9696	50	50,1527	60	205,1276
	4	152,577	20,82721	27	109,422	36	88,67021	51	150,0961	61	192,9646
		148,4221	9,961166	28	121,5172	37	94,25781	52	148,3166	62	159,8688
	5	131,2898	121,2834	29	76,67308	38	115,3716	53	117,1361	63	172,4541
		125,9661	124,0508	30	76,94454	39	98,35991	54	138,1367	64	174,2186
	6	128,0172	118,0032	31	100,7578	40	125,4835	55	64,20842	65	110,9226
		106,4962	118,6819	32	81,56694	41	128,9899	56	68,87607	66	117,0757
		164,6269	132,1796	33	99,3779	42	99,43068	57	103,4348	67	100,5241
		113,2451	170,3653	34	128,0097	43	98,4881	58	126,6825	68	114,2329

Plate B												
DOcp = 0,3162	Résultats	74	Negatif	85	Negatif	94	Negatif	107	Negatif	115	Negatif	
DOcn = 1,02335		75	Negatif	84	Negatif	95	Negatif	108	Negatif	116	Negatif	
DOcn > 0,7	Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
DOcp/DOcn < 0,3	Negatif	66	Negatif	76	Negatif	86	Negatif	97	Negatif	109	Negatif	118
0,308985196	Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
S/N% < 50% : Positif	Negatif	68	Negatif	78	Negatif	87	Negatif	98	Positif	110	Negatif	119
50% < S/N% < 60% : Douteux	Negatif		Positif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
S/N% > 60% : Negatif	Negatif	69	Negatif	79	Positif	88	Negatif	99	Negatif	111	Negatif	120
	Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
	Negatif	71	Negatif	80	Negatif	89	Negatif	100	Negatif	112	Negatif	121
	Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
	Negatif	72	Negatif	81	Negatif	92	Negatif	101	Negatif	113	Negatif	123
	Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	
	Negatif	73	Negatif	83	Positif	93	Negatif	104	Negatif	114	Negatif	124
	Negatif		Positif		Negatif		Negatif		Negatif		Negatif	

		74	179,9971	85	137,1281	94	169,5021	107	120,3694	115	153,574
	DOéchantillon/DOcn x 100		112,6887		162,8964		175,2675		127,1608		161,5185
		75	70,92393	84	83,00191	95	107,6171	108	104,3631	116	147,1833
			64,01524		88,44481		119,744		102,0179		132,418
66	74,93038	76	100,4153	86	61,48434	97	95,84209	109	140,0303	118	141,3104
	85,65007		84,69243		102,6433		100,2101		161,1374		151,1799
68	112,1513	78	103,9722	87	120,0958	98	26,34485	110	74,8522	119	154,9714
	106,7456		79,76743		90,55553		23,60874		82,50354		114,4086
69	93,57502	79	34,3382	88	67,89466	99	121,3856	111	92,74442	120	129,0761
	111,1252		27,99629		88,39595		146,6947		127,8937		152,1669
71	89,71515	80	94,45449	89	109,2197	100	81,24298	112	108,0569	121	93,51639
	90,54576		83,41232		125,0696		76,2398		118,972		160,5316
72	84,88787	81	125,3335	92	95,77368	101	68,71549	113	105,7214	123	132,5158
	93,87795		122,7439		106,5813		70,79689		93,43822		145,0921
73	140,8609	83	48,9764	93	98,21664	104	103,4543	114	77,30493	124	109,6985
	110,9884		38,06127		125,7146		107,7246		83,58822		128,0598

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE L'INFECTION À *NEOSPORA CANINUM* DANS UNE POPULATION CANINE D'ÎLE-DE-FRANCE : SÉROPRÉVALENCE ET FACTEURS DE RISQUES

AUTEUR : Raphaël BERTRAMINO

RÉSUMÉ :

Neospora caninum est une coccidie découverte récemment et dont les principaux symptômes dans l'espèce canine apparaissent chez le chiot sous forme d'atteinte neurologique ascendante (Dubey *et al.*, 2020). La dernière étude ayant étudié la séroprévalence du parasite en France date de 2001 (Pitel *et al.*, 2001). L'étude rétrospective de 1062 sérums de chiens consultant au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (ChuvA) entre le 1^{er} mars 2021 et le 7 octobre 2022 a montré une séroprévalence de 5,65% (60/1062) vis-à-vis de *Neospora caninum*. Dans l'échantillon de chiens d'Île-de-France vivant en zone urbaine ou alentours, médicalisés, consultant dans un centre de référentiel et nécessitant des analyses, il y avait une plus grande proportion de chiens positifs parmi les chiens femelles (6,8 contre 4,7%), les chiens stérilisés (6,9 contre 5,1%), les chiens en dessous de la médiane d'âge de 7 ans (6,1 contre 5,2%), les chiens atteints de troubles neurologiques (8,8% contre 5,9%), les chiens dont les traitements antiparasitaires internes et externes étaient à jour (respectivement 8,4 et 8,7 % contre 4,5 et 4,4%), les chiens de race croisée (8,3 contre 5,3%), les chiens vivant avec d'autres animaux (7,6 contre 4,8%), les chiens ayant accès à un sol urbanisé (5,8 contre 5,6%) et enfin les chiens vivant proche d'un élevage d'animaux de rente (8,3 contre 3,8%). Aucune des associations n'est significative dans l'échantillon. Les résultats indiquent qu'il existe un grand nombre de néosporose subclinique, et qu'elle est aussi sous-estimée lors d'affections neurologiques. Ces résultats ont été obtenus suite à l'analyse en doublon des sérums des animaux à l'aide d'un Kit ELISA par compétition commercial de la marque ID.vet.

MOTS CLÉS :

NEOSPORA CANINUM / *N. CANINUM* / NEOSPOROSE / ÎLE-DE-FRANCE / ELISA-COMPETITION / SEROPREVALENCE / FACTEURS DE RISQUES / CHIEN / INFECTION

JURY :

Président : Pr Yves MILLEMANN

Directeur de thèse : Pr Radu BLAGA

Examineur : Pr Alain FONTBONNE

RETROSPECTIVE STUDY OF *NEOSPORA CANINUM* INFECTION IN A CANINE POPULATION IN ÎLE-DE-FRANCE: SEROPREVALENCE AND RISK FACTORS

AUTHOR: Raphaël BERTRAMINO

SUMMARY:

Neospora caninum is a recently discovered coccidia whose main symptoms in the canine species appear in puppies in the form of ascending neurological damage (Dubey *et al.*, 2020). The last study that investigated the seroprevalence of the parasite in France dates from 2001 (Pitel *et al.*, 2001). The retrospective study of 1062 sera from dogs consulting the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (ChuvA) between March the 1st of 2021 and October the 7th of 2022 showed a seroprevalence of 5.65% (60/1062) towards *Neospora caninum*. In the sample of dogs from Ile-de-France living in or around urban areas, under medical care, consulting in a referral centre and requiring analysis, there was a higher proportion of positive dogs among female dogs (6.8 vs. 4.7%), neutered dogs (6.9 vs. 5.1%), dogs below the median age of 7 years (6.1 vs. 5.2%), dogs with neurological disorders (8, 8% vs. 5.9%), dogs with current internal and external parasite treatments (8.4 and 8.7% vs. 4.5 and 4.4%, respectively), crossbred dogs (8.3 vs. 5.3%), dogs living with other animals (7.6 vs. 4.8%), dogs with access to urban fields (5.8 vs. 5.6%), and dogs living near livestock (8.3 vs. 3.8%). None of the associations were significant in the sample. The results indicate that there is a large number of subclinical neosporosis, and that it is also underestimated in neurological disease. These results were obtained by duplicate analysis of animal sera using a commercial competition ELISA kit from ID.vet.

KEYWORDS:

NEOSPORA CANINUM / *N. CANINUM* / NEOSPOROSIS / ÎLE-DE-FRANCE / COMPETITIVE-ELISA / SEROPREVALENCE / RISK FACTORS / DOG / INFECTION

JURY:

Chairperson: Pr Yves MILLEMANN

Thesis Director: Pr Radu BLAGA

Reviewer: Pr Alain FONTBONNE