



ARTICLE DE SYNTHÈSE

Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de la neosporose

A.R. KAMGA WALADJO^{1,2,✉}, G. CHATAGNON², L. AMIRAT BRIAND², D. BENCHARIF², P.E.H. DIOP¹ et D. TAINURIER²

¹ Ecole Inter-Etats Sciences Médecine Vétérinaires, BP 5077, Dakar, Sénégal.

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

* Correspondance et tirés à part, e-mail : akwar2003@yahoo.fr, a.kamga@eismv.org

Résumé

La présente synthèse fait le point sur les signes cliniques, le diagnostic, la prophylaxie et le traitement de la néosporose, une protozoose due à *Neospora caninum*. La néosporose est principalement une pathologie bovine responsable des troubles de la reproduction. Le chien et certains canidés sont des hôtes définitifs de *N. caninum*. La néosporose se manifeste cliniquement par des avortements chez la vache et des troubles nerveux chez les nouveau-nés de nombreux mammifères domestiques et sauvages. Plusieurs outils de diagnostic ont été mis au point pour la recherche et l'identification du parasite. Les molécules utilisées pour le traitement de la néosporose blanchissent les animaux, limitent la transmission placentaire et par conséquent, réduisent le taux d'avortements et/ou de mortalités embryonnaires chez les femelles gestantes positives à *N. caninum*. Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable. Ainsi, le dépistage de *N. caninum* devrait systématiquement être réalisé avant toute introduction d'animaux dans un cheptel sain. (RASPA, 6 (3,4) : 157-179).

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

Abstract

Clinical signs, diagnosis, prophylaxis and treatment of neosporosis

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

Key – Words: *Neospora caninum*, clinical signs, diagnosis, prophylaxis, treatment

Introduction

1. Etude clinique

1.1. Symptômes

1.1.1. Néosporose bovine

1.1.1.1. Avortements

1.1.1.2. Pathologie du nouveau-né

1.1.2. Néosporose chez les autres espèces

1.1.2.1. Chien

1.1.2.2. Petits ruminants

1.1.2.3. Chevaux

1.1.2.4. Faune sauvage

1.2. Lésions

2. Diagnostic

2.1. Epidémiologique

2.2. Expérimental

2.2.1. Méthodes Sérologiques

2.2.1.1. Immunofluorescence indirecte

2.2.1.2. Séro – Agglutination directe

2.2.1.3. Méthodes immunoenzymatiques et applications actuelles

2.2.1.3.1. Méthodes immuno-enzymatiques

2.2.1.3.2. Applications actuelles

2.2.1.4. Western blot

2.2.1.5. Bilan des tests sérologiques

- 2.2.2. Mise en évidence du parasite
 - 2.2.2.1. Méthodes histologiques
 - 2.2.2.2. Méthodes immunohistochimiques
 - 2.2.2.3. Détection et identification du parasite à l'aide d'outil de génétique moléculaire
 - 2.2.2.4. Culture cellulaire et inoculation à l'animal de laboratoire
- 2.3. Diagnostic différentiel
- 2.4. Application au diagnostic de terrain
 - 2.4.1. Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle individuelle
 - 2.4.2. Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle du troupeau
- 2.5. Pronostic
- 3. Prophylaxie
 - 3.1. Sanitaire
 - 3.1.1. Prophylaxie sanitaire défensive
 - 3.1.2. Prophylaxie sanitaire offensive
 - 3.1.2.1. Prévention de la transmission horizontale
 - 3.1.2.2. Prévention de la transmission verticale
 - 3.2. Médicale
 - 3.2.1. Souris
 - 3.2.2. Chien
 - 3.2.3. Brebis
 - 3.2.4. Vache
- 4. Traitement
 - 4.1. *In vitro*
 - 4.2. *In Vivo*
 - 4.2.1. Souris
 - 4.2.2. Chien
 - 4.2.3. Vache
- 4. Coût de la néosporose
 - 5.1. Pertes économiques dues à la néosporose bovine
 - 5.2. Rendement des stratégies de lutte contre la néosporose bovine

Introduction

Neospora caninum est un protozoaire [113, 215] cosmopolite impliqué dans les avortements chez la vache et dans des pathologies néonatales chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages [83, 108]. Les avortements ont principalement lieu dans le deuxième tiers de gestation. Ces avortements peuvent être d'allures épidémiques, endémiques ou sporadiques et se produisent toute l'année [6, 307, 340]. Par ailleurs, les vaches séropositives sont plus susceptibles d'avorter que les vaches séronégatives [76, 77, 222, 223, 309, 323, 340].

Le fœtus peut mourir et être expulsé de la cavité utérine ou se momifier. Il pourrait naître à terme mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique. 95% de veaux nés vivants de mères séropositives sont cliniquement normaux, mais, porteurs de parasites [257]. Ainsi, l'importance de la néosporose est surtout économique en raison des pertes qu'elle induit dans les exploitations.

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

bovins dans la plupart des pays où il a été recherché.

1. ÉTUDE CLINIQUE

1.1. Symptômes

1.1.1. Néosporose bovine

La néosporose bovine se manifeste principalement par des avortements, et secondairement par des troubles neurologiques chez les veaux dans les premières semaines de vie [84, 108].

1.1.1.1. Avortements

Le premier avortement bovin attribué à *N. caninum* a été observé en 1989 [306]. Dans un premier temps le parasite incriminé était un agent de type «*Toxoplasma gondii*-like ». Ce n'est qu'avec la production de sérum anti - *N. caninum* que des analyses immunohistochimiques ont confirmé le diagnostic d'avortement à *N. caninum* [199].

N. caninum est une cause majeure d'avortements chez les bovins [108]. Son pouvoir pathogène a été mis en évidence aussi bien chez la vache gravide que chez le veau nouveau-né [56, 99] (Figure 1).

Chez la femelle gravide, *N. caninum* serait responsable de 15 à 20% des avortements soumis à un diagnostic de laboratoire [5, 139]. Le fœtus peut mourir et être expulsé de la cavité utérine dans les 48 heures ou se momifier. Par ailleurs, il pourrait naître à terme mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique. 95%

de veaux nés vivants de mères séropositives sont cliniquement normaux, mais, porteurs de parasites [24, 29, 99, 257, 267, 329]. Lorsqu'une vache a avorté de *N. caninum*, elle a 5% de chance de recidiver l'année suivante [7, 73, 241, 336, 339], comme si une immunité naturelle était apparue chez la mère [116, 217, 331]. Par ailleurs, les avortements dus à *N. caninum* ne sont associés à aucun signe clinique. Ils sont apyrétiques. Cependant, l'incidence de la maladie sur la mortalité embryonnaire reste encore méconnue. Le devenir de la gestation dépend de l'âge du fœtus, de l'importance de la parasitémie, de la souche de *N. caninum* [163], de la présence de d'autres agents infectieux [41, 319]. Lorsque la femelle n'avorte pas, elle vèlle le plus souvent des séropositifs [257, 267]. Le retour en chaleurs de la femelle apparaît dans les délais. Néanmoins, du fait de son tropisme pour l'appareil génital, *N. caninum* pourrait être à l'origine d'une baisse des performances de reproduction dans les élevages. Ainsi, des problèmes de fécondité ont été remarqués dans des exploitations notamment, l'allongement de l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante [108].

1.1.1.2. Pathologie du nouveau - né

Les veaux nés vivants de mères séropositives ont 95 % de chance d'être porteurs de parasites avant la prise du colostrum [24, 29, 99, 257, 267, 329]. Ces veaux peuvent dans certains cas, présenter un mauvais état corporel associés à :

- des troubles neurologiques (ataxie, diminution des réflexes, perte de la proprioception, hyperextension des membres) [27, 65, 75, 86, 89, 91, 95, 102, 128, 162, 257],
- des anomalies oculaires congénitales (exophtalmie, strabisme) [207],

- des malformations vertébrales liées à une atteinte des neuroblastes [5, 26, 65, 91, 99, 102, 258].

Chez ces animaux, l'infection parasitaire est caractérisée essentiellement par des lésions d'encéphalomyélite non-suppurative et de myosite [99]. Le plus souvent, ces manifestations cliniques surviennent dans les premières semaines de vie (moins de deux mois) et elles résulteraient d'une infection *in utero* conduisant à mort de l'animal ou son euthanasie pour raisons éthiques.

1.1.2. Néosporose chez les autres espèces

1.1.2.1. Chien

Le rôle pathogène de *N. caninum* a été décrit pour la première fois chez le chien en 1984 [40]. Ainsi, le parasite est responsable d'une atteinte neuromusculaire chez des chiots âgés d'environ quatre semaines. Cependant, des cas de néosporose ont été observés chez des chiots de deux jours [18] comme chez des chiens de 15 ans [88]. Aucune prédisposition du sexe ou de la race n'a été observée. En revanche, la maladie sévit en général chez plusieurs chiots de la même portée, car contaminés congénitalement. Les chiots infectés par *N. caninum* ont développé une parésie progressive et ascendante portant essentiellement sur les membres postérieurs [195, 263]. Ils ont une démarche en « saut de lapin » au début de l'expression clinique, puis, adoptent une posture dite en « phoque » suite à une hyperextension des membres postérieurs lors de l'évolution de la maladie [110, 269]. D'autres anomalies sont observées notamment :

- la paralysie des muscles masticateurs se manifestant par une impossibilité à ouvrir la bouche [99] ;

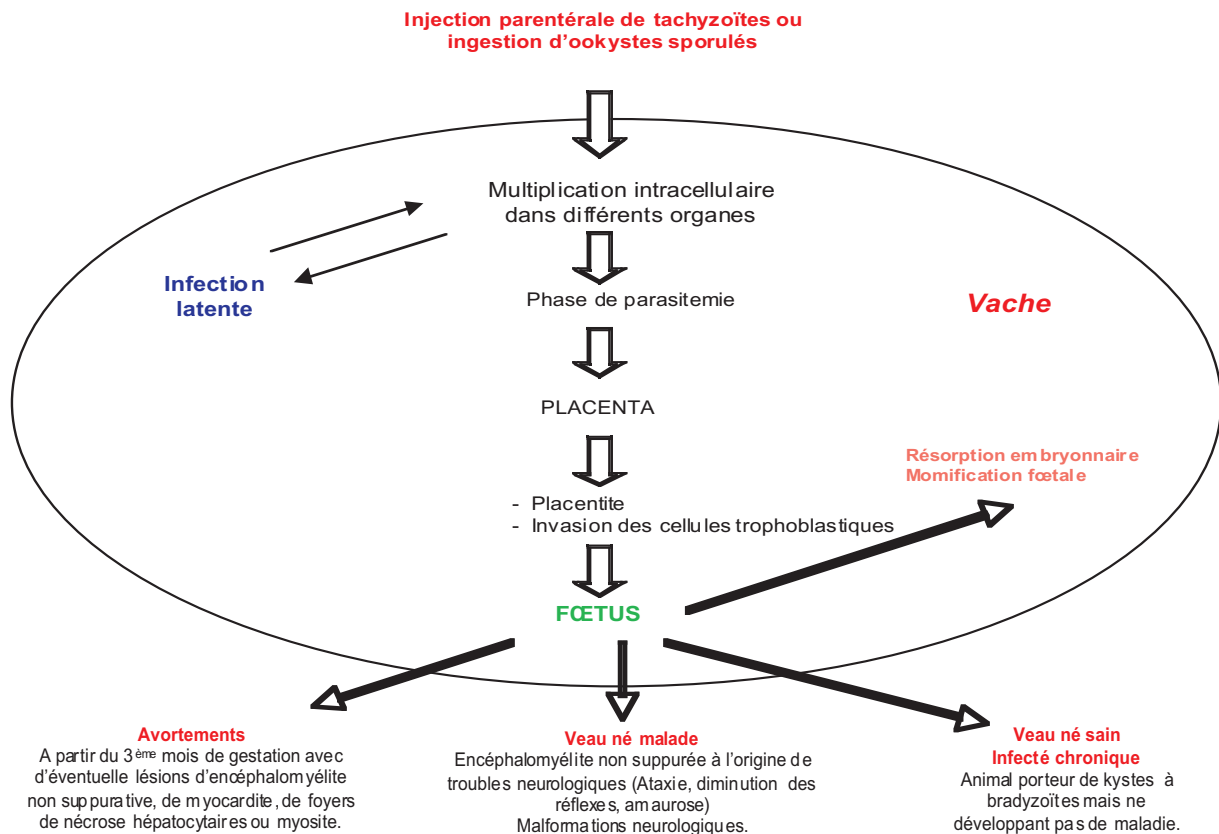


Figure 1 : Physiopathologie de l'infection par *Neospora caninum* chez les bovins et conséquences pour le fœtus (modifié d'après DUBÉY ET LINDSAY [99]).

- une parésie flasque accompagnée d'une fonte musculaire suivi de la mort par insuffisance cardiaque [242] ;
- l'atteinte du système nerveux central conduisant à l'ataxie, au syndrome vestibulaire, au nystagmus, à une anisochorie, à des crises épileptiformes et à des troubles du comportement [90, 108, 110].

Par ailleurs, le suivi de gestation chez des chiennes a mis en évidence, des mortalités et des résorptions foetales répétitives chez les positives à *N. caninum* [TAINTURIER, Observations personnelles]. Cependant, l'infection parasitaire s'est rarement traduit par une pneumonie [129], une dermatose nodulaire [101, 120], ou une atteinte inflammatoire des glandes annexes du tube digestif [88, 93, 195].

A l'autopsie, les lésions ne sont en général pas spécifiques. Des zones de nécrose au sein du système nerveux central, de granulomes dans les tissus viscéraux, et des striations musculaires blanche-jaunâtres ont été observées [195]. L'examen histologique permet de mettre en évidence des foyers de nécroses consécutifs à la multiplication des tachyzoïtes dans différents organes ou à la lyse de kystes à bradyzoïtes dans le tissu nerveux.

1.1.2.2. Petits ruminants

Des cas de néosporose caprine ont été décrits en Californie [25], en Pennsylvanie [87] au Costa-Rica [103] et au Brésil [67]. Les manifestations cliniques ont été similaires à celles décrites chez les bovins et dans la toxoplasmose caprine. Ainsi, des avortements [25, 103] et des naissances de chevreaux mort-nés [87] ou chétifs [67] ont été observés. Les lésions observées sont semblables à celles rencontrées dans l'espèce bovine ; mais, peu d'études sérologiques ont été réalisées [60, 115]. Les ovins sont réceptifs et sensibles à *N. caninum*. Des avortements et des mortalités néonatales ont été enregistrés dans des troupeaux séropositifs [92, 99]. Néanmoins, la prévalence des avortements suites à l'infection à *N. caninum* est faible [55, 278].

1.1.2.3. Chevaux

Les chevaux peuvent être contaminé par *N. caninum* [97, 106, 109, 268]. L'infection équine à *Neospora* est surtout associée à des symptômes neurologiques. L'analyse du liquide céphalo – rachidien et les lésions nécropsiques peuvent évoquer une myélo – encéphalite équine à protozoaire attribuée à *Sarcocystis neurona*, protozoaire de la même famille que *Neospora sp.* Seule une mise en évidence du parasite permet un diagnostic de certitude. Par ailleurs, deux espèces de *Neospora* ont été identifiées chez les chevaux. Il s'agit de *N. caninum* et de *N. hughesi* [72, 108, 135, 155, 178, 215, 216, 302]. Chez la souris immunodéficiente, *N. caninum* induit des lésions hépatiques alors que *N. hughesi* provoque des lésions myocardites [98, 326]. Malgré ces différences lésionnelles, *N. caninum* et *N. hughesi* ne peuvent pas être distingués par immunohistochimies ou par séro – agglutination [98].

1.1.2.4. Faune sauvage

La néosporose naturelle a été décrite chez un cerf à queue

noire de deux mois (*Odocoileus hemionus columbianus*) et chez un jeune rhinocéros blanc (*Ceratotherium sinu*) nés dans un centre de sauvegarde [328]. A l'autopsie, des tachyzoïtes ont été identifiés au sein des lésions hépatiques, rénales et pulmonaires du cerf [334]. Un cas de transmission verticale a été rapporté chez un cerf (*Cervus eldi siamensis*). En effet, des lésions d'encéphalomyélites associées à la présence de kystes à bradyzoïtes ont été mises en évidence sur des coupes histologiques des organes d'un foetus mort-né issu d'un zoo français [104]. Par ailleurs, *N. caninum* a été mis en évidence dans des avortons de Llama (*Lama glama*) et d' Alpaca (*Vicugna pacos*) [297]. Par analogie aux bovins, les ruminants sauvages seraient réceptifs et sensibles au parasite [117].

GONDIM *et al.* [123] ont mis en évidence, l'excrétion d'ookystes par le coyote (*Canis latrans*) ; faisant de lui, un hôte définitif de *N. caninum*.

Aucun cas clinique de néosporose naturelle n'a été décrit chez les carnivores sauvages bien qu'ils aient été exposés au parasite. En revanche, le renard bleu (*Alopex lagopus*) a été réceptif et sensible à une inoculation expérimentale du parasite. Par ailleurs, la transmission verticale a été mise en évidence chez le renard roux (*Vulpes vulpes*) [296] qui, par analogie au chien, pourraient être sensibles à *N. caninum* dans les conditions naturelles [298].

1.2. Lésions

L'infection à *N. caninum* n'engendre pas de lésions macroscopiques caractéristiques. En revanche, certaines lésions microscopiques peuvent orienter le diagnostic. En effet, *N. caninum* a été responsable de lésions dans de nombreux organes (encéphale, foie, rein, poumon, placenta, coeur). Néanmoins, l'encéphale semble être le prélèvement de choix [27, 85, 142] (Tableau I). Les lésions se caractérisent par des encéphalomyélites multifocales nécrotiques non suppuratives [6, 26, 231, 248, 249].

Tableau I: Lésions macroscopique et microscopique de 6 foetus bovins infectés par *N. caninum* [142]

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

2. DIAGNOSTIC

2.1. Epidémiologique

La contamination du foetus *in utéro* ne se termine pas toujours par un avortement [8, 45] mais, parfois par la naissance d'un veau vivant porteur de *N. caninum* [222, 257, 309, 312]. Ainsi, dès lors que des troubles de la reproduction sont observés

dans une exploitation, il est opportun de réaliser un diagnostic étiologique - épidémiologique. Ce diagnostic repose d'une part, sur la sérologie, l'identification du parasite et/ou de lésions caractéristiques et d'autre part, sur l'analyse des données épidémiologiques enregistrées dans l'exploitation (Figure 2). Néanmoins, seul le diagnostic de laboratoire permet de confirmer une infection à *N. caninum* [5, 214]. En pratique, le diagnostic direct du parasite n'est pas courant en raison de son coût et de la rareté des laboratoires de diagnostic. Le dépistage sérologique reste l'outil diagnostic de choix.

2.2. Expérimental

2.2.1. Méthodes sérologiques

Les méthodes sérologiques mettent en évidence la présence

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

2.2.1.1. Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur lame a été la première technique utilisée pour mettre en évidence les anticorps anti-*N. caninum* chez le chien [93, 200, 218]. L'IFI reste le test de référence de part sa sensibilité et sa spécificité. Par ailleurs, elle facilite l'étude de l'efficacité des autres tests disponibles.

La méthode consiste à mettre en contact, des tachyzoïtes de culture (Nc-1) fixés sur des lames avec le sérum à tester à

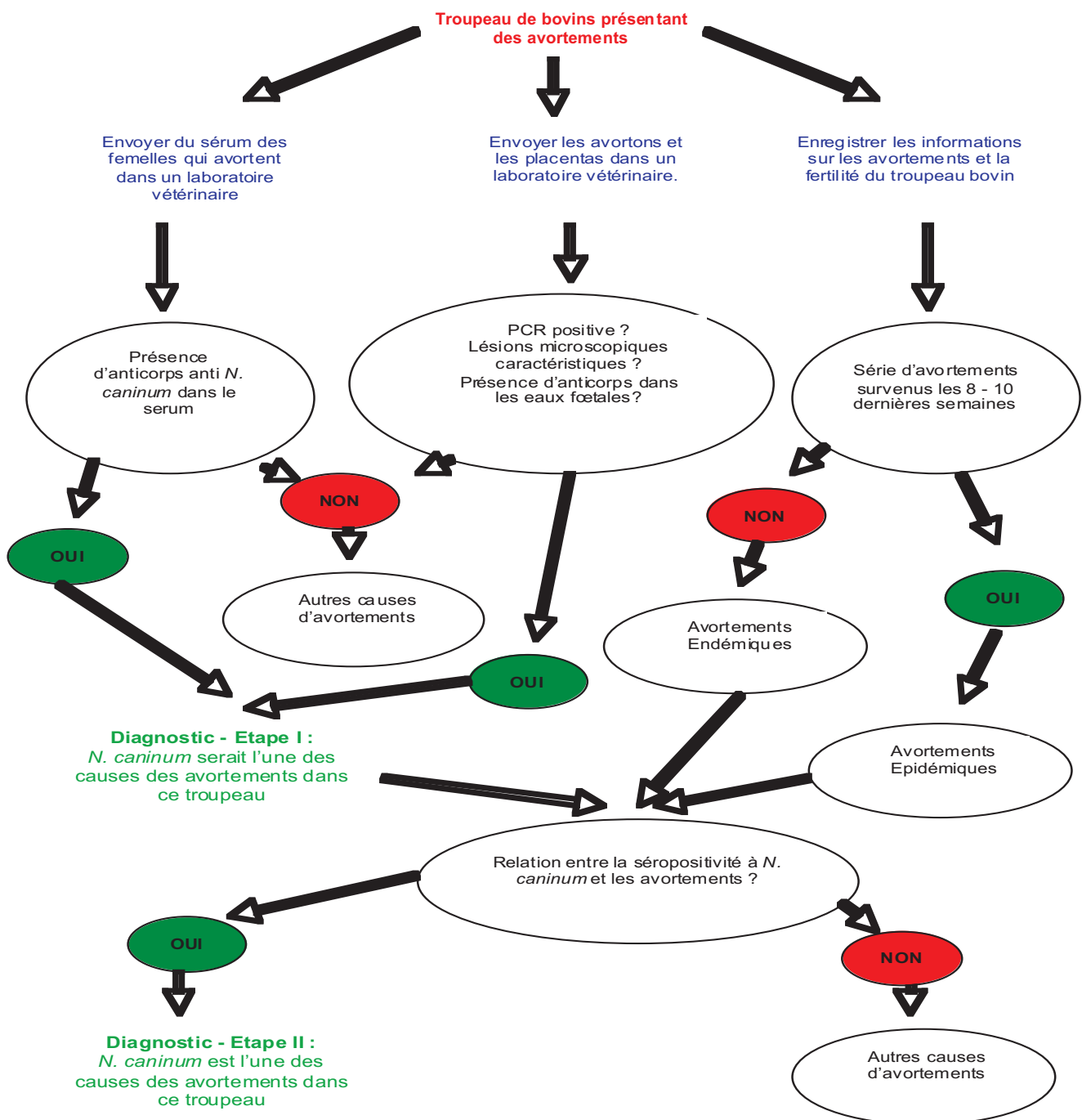


Figure 2 : Approche diagnostique de la néosporose dans un troupeau bovin (Modifié d'après DUBEY ET SCHARES [107])

Tableau II : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence indirecte de *N. caninum* [13, 214]

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

différentes dilutions; puis, après rinçage, à révéler les éventuels anticorps spécifiques fixés sur les antigènes du parasite, avec des anticorps de l'espèce d'origine marqués à la fluorescéine. Les lames sont ensuite lues au microscope à fluorescence. Une lame est considérée comme positive lorsque les tachyzoïtes présentent une fluorescence périphérique. Ce test a été développé pour différentes espèces, en particulier dans l'espèce bovine à partir de la souche de culture BPA-1 [100].

Les tachyzoïtes étant entiers, le test ne détecte que des anticorps dirigés contre des antigènes de surfaces, plus spécifiques que les composants intracellulaires chez les espèces du groupe des Apicomplexa [47, 51, 251].

Cependant l'infection expérimentale de différents hôtes a montré qu'il existait parfois une faible réaction croisée avec d'autres coccidies [100], en particulier avec *T. gondii* [100]. Dans ce cas, seul une fluorescence apicale non spécifique est observée [255]. Ainsi, l'interprétation appropriée du test repose sur la différenciation de la fluorescence apicale et de la fluorescence du parasite entier. La lecture de la lame est donc subjective et exige un personnel qualifié.

La définition d'un seuil de positivité dépend des caractéristiques intrinsèques du test, du matériel utilisé, des propriétés du conjugué, du microscope utilisé [51] et de l'âge de l'animal. Les valeurs seuils ont été plus basses chez le veau/foetus par rapport aux bovins adultes [85, 146].

En plus d'être utilisable sur le sérum de bovin adulte, l'immunofluorescence indirecte a l'intérêt d'être utilisable sur le sérum de veaux (avant la prise colostrale) et sur les eaux foetales [23, 51, 255, 299, 338]. Néanmoins, les variations de seuils d'un essai à l'autre ont rendu difficile, la comparaison des résultats. De plus, les investigations expérimentales ont parfois été subjectives. En effet, des sérums issus d'un élevage bovin dans lequel, un épisode d'avortements à *N. caninum* a été observé ont été soumis à trois laboratoires indépendants utilisant l'IFI comme outil de diagnostic de routine (réactifs commerciaux ou de fabrication maison) [96]. Les résultats quantitatifs ont fortement variés d'un laboratoire à l'autre avec des coefficients de corrélation entre les trois laboratoires pris deux à deux compris entre 0,45 et 0,74.

Le kit VMRD (Pullman, USA) a amélioré ces disparités [Sensibilité (97%) et spécificité (97%)]. Ainsi, l'IFI a été utilisée pour la recherche des anticorps anti-*Neospora* chez de nombreuses espèces notamment le chien, le renard, le chat, les bovins, les ovins, les caprins, le buffle, le cheval, les rongeurs et les primates. Cependant, elle reste difficile à mettre en oeuvre et son interprétation est délicate. En revanche, elle se révèle être spécifique.

2.2.1.2. Séro – Agglutination directe

Le test utilisé pour la détection d'antigènes de *N. caninum* découle de la technique d'agglutination directe validée pour *T. gondii* [78]. Deux techniques ont été développées par les équipes de PACKHAM et de ROMAND [251, 281]. Elles utilisent comme antigènes des formes parasitaires formolés (tachyzoïtes), soit de souche canine Nc-1 [281], soit de souche bovine BPA-1 [251]. Il n'a pas été rapporté de différence antigénique entre les souches d'origine bovine et canine [144]. Le principe de ce test repose sur l'observation d'une agglutination lorsque des tachyzoïtes traités au formol sont mis en contact avec des anticorps spécifiques.

Les sérums testés sont traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) pour détruire les IgM. A la différence du test d'agglutination utilisé pour le diagnostic de la toxoplasmose dans lequel un taux d'IgM est calculé en comparant le sérum non traité au sérum traité au 2-ME, le test de séro-agglutination mis au point pour le diagnostic de la néosporose détecte les immunoglobulines (IgG), signes d'une conversion sérologique ancienne.

La méthode d'agglutination directe de PACKHAM *et al.* [251] a une sensibilité et une spécificité comparable à celle de l'immunofluorescence indirecte [51, 251]. Toutefois, une moindre sensibilité a été décrite dans une étude sérologique chez le chien [246].

La séro - agglutination est considéré comme spécifique de *N. caninum* car aucune réaction croisée n'a été observée avec les parasites proches, notamment *T. gondii*, *Hamondia spp.* et *Sarcocystis spp.* [251, 281]. Du fait de la simplicité du principe,

elle s'avère rapide, facile d'utilisation et très sensible [251]. Néanmoins, la lecture n'a pas été aisée d'où l'incorporation de colorant dans les antigènes afin de rendre la visualisation du «bouton d'agglutination» ou du tapis plus aisée [251].

L'absence d'anticorps secondaire facilite son utilisation chez toutes les espèces. Ainsi, elle a été utilisée en sérodiagnostic chez le buffle d'eau, le cheval, le chameau, le renard, le coyote et les ruminants sauvages (chamois, chevreuil et cerf) [94, 105, 106, 109, 117, 150, 160, 202, 203, 205, 206]. Cependant, le seuil de positivité doit être défini pour chaque espèce.

2.2.1.3. Méthodes immunoenzymatiques et applications actuelles

2.2.1.3.1. Méthodes immunoenzymatiques

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

Deux types d'ELISA ont été développés pour la détection des anticorps anti-*N. caninum*. Il s'agit d'un ELISA «indirect» et d'un ELISA «compétitif». Les techniques ELISA sont d'une part, facilement automatisables pour le dépistage lors d'enquêtes épidémiologiques et d'autre part, l'utilisation d'un lecteur ELISA pour la lecture donne des résultats objectifs. Les valeurs seuils ont été déterminées à partir de sérums de références, souvent caractérisés par IFI, et ont été prédéfinies de façon à minimiser les faux positifs et les faux négatifs [13]. Dans l'ELISA «indirect» en microplaque, des antigènes sont fixés au fond des puits. Le sérum de l'animal à tester est déposé dans un puit puis, la réaction antigène-anticorps est révélée à l'aide d'un conjugué (anti-immunoglobuline de l'espèce à tester liée à une enzyme révélée à l'aide d'un substrat chromogène). Les antigènes bruts du parasite ainsi que des mélanges d'antigènes intracellulaires et de surface peuvent être utilisés. Cependant il semble que la présence d'antigènes internes augmente le risque de réaction croisée avec d'autres Apicomplexas, et que l'utilisation d'antigènes de surface seuls améliorerait la spécificité [159, 317]. Afin de limiter l'exposition des antigènes internes, plusieurs stratégies ont été développées. Il s'agit de la fixation de tachyzoïtes entiers [332], de l'incorporation des antigènes membranaire de *N. caninum* dans des iscoms (immunostimulatory complex) [44, 46, 47], de l'utilisation d'antigènes recombinants [186, 210] et de la purification suivie de l'enrichissement de la préparation antigénique par capture de l'antigène par un anticorps monoclonal [96]. Par ailleurs, la spécificité du test peut être accrue par substitution du conjugué polyclonal par des anticorps monoclonaux [44, 47, 332].

Quant à l'ELISA compétitif, son principe repose sur la compétition entre la fixation des anticorps éventuellement présents dans le sérum et un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de l'antigène fixé dans le puits. Cet anticorps monoclonal peut être couplé à une enzyme, ou alternativement, il peut être reconnu par un conjugué anti-immunoglobuline de l'espèce productrice (le plus souvent la souris). Ces techniques s'avèrent plus spécifiques que les ELISA indirects [51].

Par ailleurs, aucun réactif anti-immunoglobuline spécifique d'espèce n'est utilisé avec Elisa compétitif, comparé à ELISA indirect. Cependant, il convient de déterminer un pourcentage d'inhibition seuil pour chaque espèce. Deux coffrets commerciaux d'ELISA compétitif sont disponibles. Il s'agit du VMRD (Pullman, USA) distribué par le Laboratoire Service International (LSI) et de celui de l'Institut Pourquier (Montpellier, France)

2.2.1.3.2. Applications actuelles

A - ELISA à antigènes bruts

Les antigènes de ces ELISA ont été obtenus par action soit des ultra sons, soit des détergents [247, 254, 337]. La sensibilité des tests utilisant ces types d'antigènes varie de 87 à 92 % alors que leur spécificité est de 97 à 100% [247, 254, 337]. Seul un cas de réaction croisée avec le sérum d'un veau infecté par *Babesia bovis* a été rapporté [337]. Cependant, aucune réaction croisée n'a été observée avec d'autres protozoaires, notamment *T. gondii*. Un coffret (Herd-Chek Neospora®, Idexx) utilisant des antigènes bruts (lysats de tachyzoïtes) a été commercialisé [254]. Par ailleurs, les antigènes bruts ont été utilisés dans une technique d'ELISA compétitif [36].

B - ELISA à antigènes entiers

Dans cette variante, des tachyzoïtes entiers sont fixés au fond des puits à l'aide d'un tampon formolé à 4 % [332]. Avec ce traitement, seul les antigènes de surface sont accessibles aux éventuels anticorps présents dans le sérum à tester. Aucune réaction croisée n'a été rapportée avec le sérum d'animaux infectés par *T. gondii*, *S. cruzi* et *Babesia divergens* [332]. Comparée à l'IFI, la sensibilité et la spécificité ont été respectivement de 95 et 96 %. Ce test a été commercialisé sous le nom de Mastazyme *Neospora*® par le laboratoire Mast Diagnostic de Liverpool en Grande-Bretagne.

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

La technique des complexes antigène-adjuvant a été développée afin de limiter le nombre d'antigènes cytoplasmiques accessible. Cette technique repose sur la création de complexes en forme de matrice composée de saponine, de cholestérol, de phospholipides et d'antigènes [43, 44, 46, 47]. Les antigènes majeurs contenus dans ces complexes ont des poids moléculaires respectifs de 18, 30-45 et 61 kDa [43, 47]. Cette technique ELISA a été initialement développée pour la recherche des anticorps anti-*N. caninum* dans le sérum canin [47]; puis elle a été modifiée pour le sérum et le lait de bovin, et enfin pour le sérum de buffle d'eau et de petits ruminants [44, 160]. Le conjugué anti-chien ou anti-bovin est toujours un anticorps monoclonal anti-IgG1. Aucune réaction croisée n'a été rapportée avec d'autres protozoaires. La sensibilité et la spécificité de ces ELISA par rapport à l'IFI sont respectivement de 96% et de 100% [44, 299]. Cet ELISA distingue les infections récentes des infections chroniques en

raison de la différence d'affinité de leurs anticorps [50, 327].

D - ELISA à antigènes peptidiques recombinants purifiés

Cette technique met en jeu des antigènes peptidiques recombinants purifiés par immuno – affinité ou par chromatographie. Plusieurs peptides ont été sélectionnés à l'aide des séquences d'ADN et de transcrits disponibles dans des banques de données [173, 186, 190, 210, 287]. L'utilisation des protéines recombinantes de 30 et de 35 kDa a donné de résultats satisfaisant chez des bovins en début d'infection [186]. Néanmoins, l'ELISA à peptides recombinants de 20 et de 29kDa a amélioré ces résultats [210]. Un seul ELISA à protéine recombinante a été commercialisée (Chekit *Neospora*®; Intervet, Beaucauzé, France). La protéine utilisée a été la forme recombinante de Ncp43, protéine de surface des tachyzoïtes servant à l'adhésion et l'invasion du parasite dans la cellule. AHN et al. [2] utilisant la même protéine dans un ELISA non commercial, n'a observé aucune réaction croisée avec *T. gondii*.

E - ELISA avec capture d'antigène

Cet ELISA fait intervenir des anticorps monoclonaux dirigés contre une protéine de *N. caninum* de 65 kDa [96]. Le conjugué est en compétition avec les anticorps monoclonaux. Ainsi, l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope dominant du parasite empêche toutes réactions croisées avec *T. gondii* et *Sarcocystis spp.* Il a été commercialisé par le laboratoire VMRD (cELISA, Pulman USA). Sa spécificité (99%) et sa sensibilité (89%) ont été très satisfaisantes [327]. Par ailleurs, cet ELISA compétitif est facilement reproductible et est utilisable sur le sérum ou plasma de toutes les espèces sensibles à *N. caninum*.

2.2.1.4. Western blot

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

L'inhibition des sites de liaison non spécifiques est suivie d'une incubation de la membrane dans le milieu contenant les anticorps recherchés. La liaison antigène-anticorps est ensuite révélée avec un conjugué (anticorps couplé à une enzyme) et un substrat de révélation. Ces techniques ont pour avantage, de suivre la cinétique d'apparition des anticorps identifiés par électrophorèse. Plusieurs études ont rapporté l'utilisation du western blot pour la détection d'anticorps anti-*N. caninum* [13, 39, 47, 48, 136, 254, 255, 290, 291, 293, 295, 303]. Le western blot est plus sensible que les méthodes immunofluorescentes et immunoenzymatiques lors de la recherche des anticorps anti-*N. caninum* dans les eaux foetaux [300] et dans du lait [301]. Cette technique est très fiable, permet de détecter des anticorps mais aussi de caractériser des antigènes inconnus avec des anticorps connus. Cependant la lourdeur de sa mise en place rend son utilisation

difficile en routine. Ainsi, de part sa spécificité et sa sensibilité, le western blot pourrait être utilisé comme outil de diagnostic complémentaire pour le sérodiagnostic des infections à *N. caninum* [303].

2.2.1.4. Bilan des tests sérologiques

Il existe donc une grande diversité de méthodes sérologiques mises au point (Tableau III) et plusieurs coffrets ont été commercialisés pour la détection d'anticorps anti *N. caninum* (Tableau IV). La diversité des techniques utilisées ne permet pas de comparer aisément les résultats obtenus [108, 213]. De plus, chez les bovins, les anticorps anti-*N. caninum* fluctuent au cours de la gestation, pouvant même se trouver en deçà du seuil de positivité [66, 126].

Plusieurs études ont évalué la sensibilité et la spécificité des tests disponibles pour le diagnostic de la néosporose. L'une d'elle a comparé les résultats obtenus avec des sérums provenant d'un élevage bovin subissant, avec certitude, un épisode d'avortements à *Neospora*. Trois (3) tests IFI et cinq (5) ELISA [deux ELISA à Lysat de tachyzoïtes, un ELISA à protéine recombinante, un ELISA à antigène complexé et un ELISA à capture d'antigène ont été utilisés [96]. Les résultats ont montré une corrélation positive entre les résultats des différents tests, à l'exception de l'ELISA à protéine recombinante. Cependant, aussi bien pour les titres d'IFI que pour les densités optiques, il existe de grandes variations en fonction des tests. Ces différences pourraient être dues aux types d'antigènes et aux conjugués utilisés dans chaque test.

La sensibilité de l'ELISA commercial à antigène brut (Herd-Check *Neospora*®, Idexx) a été supérieure à de IFI [293].

Les sérums testés «positifs» en ELISA ont été positifs en western blot, ce qui indique que la différence n'est pas attribuable au défaut de spécificité de l'ELISA par rapport à l'IFI. Par ailleurs, la sensibilité de l'ELISA a été confirmée en comparant 3 ELISA dont deux commerciaux (HerdCheck *Neospora*® et Mastazyme *Neospora*® ; Liverpool, Grande-Bretagne) [337].

Tableau III : Méthodes sérologiques mises au point pour la détection des anticorps anti *N. caninum* (modifié d'après DUBEY ET SCHARS [107])

Type de test	Caractéristiques du Test	Références
Séro-agglutination direct	Tachyzoïtes entiers en suspension	[251, 281]
IFI	Tachyzoïtes entiers fixés	[54, 66, 293]
ELISA	ELISA Indirect	[2, 15, 44, 59, 100, 122, 126, 158, 172, 186, 210, 237, 247, 254, 273, 290, 294, 332, 337]
	o Tachyzoïtes entiers fixés	
	o ISCOM	
	o Antigène recombinant	
	ELISA Compétitif	[34, 36, 96, 219]
	ELISA Avidité	[1, 42, 49, 50, 213, 286, 287]
	ELISA (lait)	[31, 44, 288, 301]
Western blot		[1, 39, 301, 303]

Tableau IV : Tests sérologiques commercialisés pour la détection des anticorps anti *N. caninum* (modifié d'après DUBEY ET SCHARES [107])

Test	Caractéristiques	Antigène	Laboratoire	Références
BIOVET <i>N. caninum</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes ultra -sonnés	BIOVET Laboratories, Canada	[324, 342]
CHEKIT <i>Neospora</i> IDEXX	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés au détergent	IDEXX Laboratories, Pays - Bas	[322]
CIVTEST BOVIS <i>NEOSPORA</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés aux ultra -sons	HIPRA, Espagne	[322]
Cypress <i>N. caninum</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés au détergent	Cypress Diagnostics, Belgique	[322]
HerdChek IDEXX	ELISA Indirect	Tachyzoïtes lysés aux ultra -sons	IDEXX Laboratories, USA	[31, 254, 277, 288, 290, 322, 337, 342]
MASTAZYME <i>Neospora</i>	ELISA Indirect	Tachyzoïtes entiers	MAST GROUP, Angleterre	[290, 322, 332, 337]
<i>Neospora caninum</i> blocking ELISA	ELISA Compétitif	-	Institut Pourquier, France	[134]
P38-ELISA	ELISA Indirect	Antigène de surface (NcSRS2)	AFOSA GmbH, Allemagne	[294, 322]
ImmunoComb bv <i>Neospora</i> antibody	DOT-ELISA	-	Biogal, Israël	[314]
SVANOVIR <i>Neospora</i> -Ab ELISA	ELISA Indirect	ISCOM Antigène incorporé	SVANOVA Biotech AB, Suède	[44, 121, 161, 320]
VMRD <i>N. caninum</i> cELISA	ELISA Compétitif	GP65 Antigènes de surface	VMRD, USA	[34, 168]
VMRD <i>N.caninum</i>	IFI	Tachyzoïtes entiers	VMRD, USA	[121, 273, 277, 290]

La corrélation entre les trois coffrets a été bonne pour les sérums post-avortements. La sensibilité et la spécificité des ELISA ont corroboré l'examen histologique des foetus. En revanche, la corrélation entre les trois kits s'est avérée médiocre lors des suivies épidémiologique des troupeaux. ELISA Mastazyme® décèlerait les animaux infectés chroniques à faibles taux d'anticorps. Par ailleurs, les valeurs seuils des ELISA commerciaux semblent être supérieures aux équivalents titres en IFI [277].

Enfin, le western blot serait plus sensible que les techniques ELISA pour la détection d'anticorps anti-*N. caninum* dans les eaux foetales [300].

2.2.2. Mise en évidence du parasite

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

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

2.2.2.1. Méthodes histologiques

La reconnaissance des formes parasitaires après coloration à l'hématoxyline-éosine, n'est pas toujours aisée du fait de leur faible nombre [142, 199, 225, 249]. Les formes parasitaires n'ont toujours pas été observées sur des coupes histologiques présentant des lésions caractéristiques [90]. En effet, les tachyzoïtes sont fréquemment morts et leurs morphologies ont pu être altérées au moment de l'analyse [231]. En outre, les kystes à bradyzoïtes sont souvent peu fréquents et de petite taille dans l'encéphale. Par ailleurs, ils peuvent ne pas présenter la paroi caractéristique de *N. caninum* [99, 341]. La fréquence des lésions hépatiques dans les infections épidémiques trouve son intérêt en histologie pour distinguer les infections endémiques des infections épidémiques [341].

L'influence de l'âge sur le type de lésions reste controversée. En effet, des lésions de type inflammation nécrotique multifocale

seraient plus fréquentes chez les foetus de moins de 5 mois alors que chez les avortons de plus de 7 mois, des macrophages et des IgG contenus dans de cellules plasmocytaires seraient les plus fréquents [243]. Cette différence a été attribuée à la maturation du système immunitaire foetal. Néanmoins, WOUDE *et al.* [341] n'ont observé aucune influence de l'âge sur le type de lésions induit par *N. caninum*. Cependant, l'examen histologique présente des limites dans la mesure où il ne peut pas être réalisé sur des tissus autolysés. Par ailleurs, il nécessite une grande qualification du lecteur de lames.

Enfin, l'étude histologique peut incriminer à tort, *N. caninum* dans le diagnostic des avortements (Figure 3). En effet, des lésions similaires peuvent être observées au cours d'une infection par d'autres protozoaires notamment *T. gondii* et *S. cruzi*. Des enquêtes menées en Suisse rapportent des lésions compatibles avec une néosporose associées à une PCR positive pour *T. gondii* chez 4 foetus [126, 285]. Cependant, *S. cruzi* a rarement été impliqué dans les avortements bovins (1 à 4 %). De plus, les schizontes de *S. cruzi* sont principalement observés dans l'endothélium vasculaire contrairement à *N. caninum* dont la localisation préférentielle est le tissu nerveux et cardiaque [6, 24, 27].

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

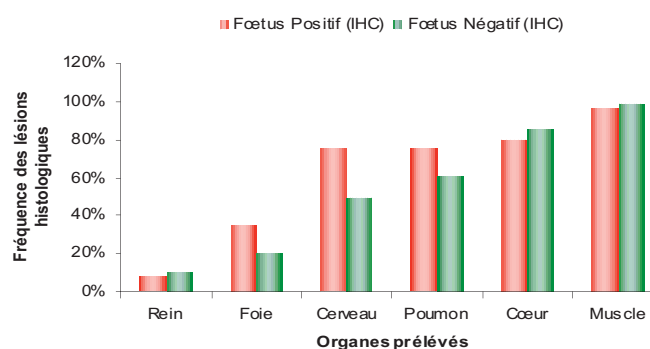


Figure 3 : Relation entre la fréquence des lésions histologiques évocatrices d'une infection à *N. caninum* et la positivité à l'Immunohistochimie de 89 foetus bovins. (Source : modifié d'après PESCADOR *et al.* [264])

2.2.2.2. Méthodes immunohistochimiques

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

La plupart des anticorps disponibles sont polyclonaux et obtenus par immunisation d'animaux par des tachyzoïtes [6, 24, 124, 126, 140, 169]. Ainsi, de faibles réactions croisées ont été observées avec *T. gondii* [24]. En revanche, aucune réaction croisée n'a été observée avec *S. cruzi* [6, 24, 124, 140]. Pour pallier cet inconvénient, des anticorps monoclonaux ont été mis au point. Ces anticorps monoclonaux ont été utilisés pour l'identification de *N. caninum* dans des coupes de cerveau de souris [63] et le tissu cutané de chien [262].

Bien que l'immunohistochimie ait toujours été considérée comme la méthode de référence dans le diagnostic de la néosporose, l'immunomarquage manque de sensibilité [85, 99, 171, 285]. Ainsi, la génétique moléculaire a rapidement été développée pour l'identification de *N. caninum*.

2.2.2.3. Détection et identification du parasite à l'aide d'outil de génétique moléculaire

Les techniques de génétique moléculaire développées à des fins diagnostiques en routine consistent essentiellement en une amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR) de l'ADN parasitaire. Plusieurs PCR simples ont été développées [35, 111, 112, 114, 151, 152, 153, 154, 157, 178, 185, 192, 211, 212, 226, 228, 229, 230, 259, 260, 282, 318, 343]. Le gène Nc5 [35, 126, 151, 228, 230, 285] et le gène codant pour une petite sous unité d'ARN ribosomique [153, 154] sont les principales séquences utilisées.

La sensibilité et la spécificité de la technique sont alors un atout en raison de la mise en évidence d'une réaction positive avec peu de tachyzoïtes dans du sang total / liquide amniotique [152], sérum [220], ou dans le cerveau (Figure 4) [35, 110, 346]. Par ailleurs, les techniques quantitatives (technique d'amplification en temps réel) ont l'intérêt de mettre en évidence, la quantité d'ADN amplifiée et d'estimer la quantité de parasite présent dans l'échantillon [64, 229].

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

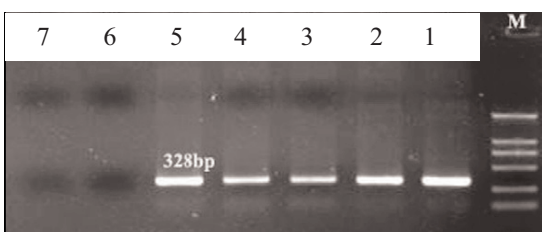


Figure 4 : Diagnostic de la néosporose bovine par la PCR. Colonnes 1 – 4 : ADN *N. caninum* dans le cerveau de 4 avortons ; Colonne 5 : Témoin positif (Nc – 1) ; Colonne 6 : Témoin négatif 1 (eau) ; Colonne 7 : Témoin négatif 2 : *T. gondii*. [346]

positifs par la PCR. Aucun cas de PCR «faussement » positive n'a été observée au cours de l'analyse de 51 foetus prélevés aux abattoirs [35, 285]. SAGER *et al.* [285] ont confirmé par la PCR, une infection foetales par *N. caninum* chez 3,8% (8/210) foetus avortés de mères séronégatives dans un échantillon de 210 avortons positifs en histologie.

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

En outre, la PCR a été utilisée pour la détection et identification des ookystes de *N. caninum* dans les fèces des hôtes définitifs [33, 151, 252]. La sensibilité et la spécificité de la technique sont alors un atout face au petit nombre d'ookystes excrétés et à leurs parentés morphologiques et antigéniques avec d'autres protozoaires.

Elle a l'avantage d'être applicable sur des tissus frais, autolysés, congelés ou fixés sur lame [35]. Elle est utilisable dans le diagnostic, la phylogénie ainsi que dans la biologie du parasite et peut détecter les formes parasitaires vivantes ou mortes. Cette approche laisse entrevoir des perspectives dans l'identification des autres probables hôtes définitifs de *N. caninum* parmi les carnivores sauvages [171]. Cependant, la technique est coûteuse en raison des investissements en matériel et en consommables spécifiques.

2.2.2.4. Culture cellulaire et inoculation à l'animal de laboratoire

N. caninum a été initialement cultivé *in vitro* sur des cellules endothéliales et monocytes de bovins [93]. Puis, de nombreux autres types cellulaires ont été utilisés (cellules Vero, fibroblastes humains, ...). Seuls les tachyzoïtes ont été cultivés et peuvent conserver leurs pouvoir infectieux chez la souris après huit ans de culture cellulaire [99, 198]. Toutefois, un minimum de deux mois est nécessaire pour confirmer un résultat.

L'inoculation à des souris ou des gerbilles peut être utilisée pour mettre en évidence *N. caninum* [33, 110, 198]. Néanmoins, les manifestations cliniques ont été fonction de la lignée et du statut immunologique de la souris, de la souche du parasite et de la dose administrée.

La réussite de l'isolement et de l'inoculation est fonction du nombre de parasites dans le tissu et du stade d'autolyse dudit tissu [85]. Ainsi, les tissus frais dans lesquels le parasite est viable ont été nécessaires pour le succès des différentes manipulations. Ces techniques sont très coûteuses et nécessitent beaucoup de temps pour l'identification du parasite. En conséquence, elles sont du domaine de la recherche. Les avantages des différentes méthodes de mise en évidence du parasite ont été présentés dans le tableau V.

2.3. Diagnostic différentiel

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

- avec toutes autres causes d'avortements ou de troubles de

Tableau V : Avantages et inconvénients des principaux outils de mise en évidence directe de *N. caninum* [214]

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

la reproduction chez les animaux exposés. Toutefois, le moment de l'avortement chez les bovins (Figure 5) ainsi que le devenir du placenta restent des indicateurs ;

- avec toutes autres causes nerveuses lors d'atteinte système nerveux et/ou de l'appareil locomoteur.

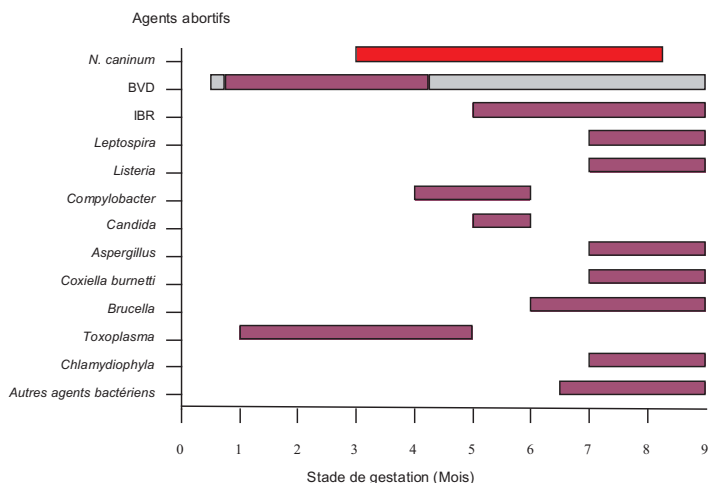


Figure 5 : Période d'induction d'avortements des principaux agents abortifs bovins

2.4. Application au diagnostic de terrain

Les manifestations cliniques de l'infection par *N. caninum* en élevage bovin sont peu spécifiques [107]. Les examens complémentaires sont nécessaires pour étayer un diagnostic de la néosporose. Les différentes techniques développées pour mettre en évidence le parasite n'ont pas la même valeur à l'échelle individuelle et à l'échelle du troupeau.

2.4.1. Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle individuelle

Le recours au laboratoire est indispensable pour le diagnostic

Tableau VI : Diagnostic différentiel de la néosporose

Avortements	Affections nerveuses/locomotrices
Causes infectieuses	
Brucellose	Encéphalopathie spongiforme bovine.
Salmonellose	Sarcosporidioses
Chlamydiophilose	Rage
Fièvre Q	Maladie d'Aujeszky
Listériose	Listériose
Leptospirose	Méningites
Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR)	Colibacilloses
Diarrhée Virale Bovine (BVD)	Salmonelloses
Trichomonose	Coccidioses à <i>Eimeria</i> sp. ...
Mycoses (<i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> ...)	
Toxoplasmose	
Infections à <i>E. coli</i> , <i>A. pyogenes</i> , ...	
Causes non infectieuses	
Nutritionnelles	Malformations nerveuses congénitales
Génétiques	Déséquilibres hydro – électrolytiques
latrogènes ...	Intoxication par le plomb
	Carences en vitamines du groupe B...

étiologique et différentiel des avortements chez les bovins. Compte tenu de son faible coût, et de son intérêt pratique, l'examen sérologique de la vache avortée est fréquemment utilisé. Les tests ELISA, d'agglutination et d'immunofluorescence (IF) peuvent être préconisés.

Leurs spécificités et leurs sensibilités sont équivalentes [51, 327].

Une sérologie positive à *N. caninum* permet de confirmer l'exposition au parasite. Toutefois, cet examen ne suffit pas pour conclure que l'avortement en est la conséquence. Bien que les animaux séropositifs aient un risque trois à cinq fois plus élevé d'avorter que des animaux indemnes [256, 336],

l'exposition au parasite ne s'accompagne pas systématiquement d'un avortement [255, 295].

L'observation d'une conversion sérologique trois semaines après le premier prélèvement est un bon indicateur d'une infection. Le praticien doit rester prudent dans l'interprétation d'un résultat sérologique négatif. En effet, le taux d'anticorps diminue au cours de la période du péripartum [66, 146].

La certitude de la sérologie étant aléatoire, les méthodes de diagnostic direct chez le foetus sont à privilégier. Elles ont l'avantage de mettre en évidence le parasite, son ADN ou des lésions cellulaires. La PCR est une technique à la fois sensible et spécifique mais, elle ne permet pas de faire un lien de cause à effet entre la présence du parasite et l'avortement [329]. L'histologie et l'immunohistochimie ont l'avantage de mettre en évidence la relation entre la présence de *N. caninum* et les manifestations cliniques observées. Cependant ces techniques sont moins sensibles que la technique d'amplification génique qui a par ailleurs, l'atout d'être automatisable et applicable aux tissus autolysés.

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

La principale difficulté du diagnostic repose sur l'inexistence des manifestations cliniques lors de certaines transmissions *in utero* de *N. caninum* [222, 257, 309]. Néanmoins, compte tenu du tropisme génital de *N. caninum*, il pourrait être responsable d'une baisse de la fertilité dans le cheptel bovin et de la réduction de la population dans les réserves fauniques.

La détection d'anticorps par western blot dans les eaux foetales témoignerait d'une infection avec lésions tissulaires [300]. En revanche, les méthodes immunoenzymatiques et immunofluorescentes sont peu spécifiques et peu sensibles sur les eaux foetales [23, 126, 249, 299, 300, 338]. BARR *et al.* [23] se sont focalisés sur la relation entre l'histologie des organes foetaux et la présence d'anticorps anti - *N. caninum* dans les eaux foetales. Ils en déduisent que plus l'avorton est âgé, plus il y a concordance séro - histologique. Ainsi, l'immunodéfiscence

foetale serait la principale cause de la faible sensibilité de certaines méthodes sérologiques sur les eaux foetales. En outre, l'avorton étant le plus souvent analysé tardivement, l'autolyse dégraderait ses anticorps [338].

Par ailleurs, *N. caninum* a été mis en évidence chez des veaux atteints de troubles neurologiques, en particulier dans les élevages où des avortements ont été observés. Dans ce cas, le diagnostic différentiel est délicat compte tenu du grand nombre de troubles neurologiques des jeunes bovins. Ainsi, la présence du parasite associée aux lésions tissulaires ont permis de confirmer l'infection parasitaire. Toutefois, l'utilisation de la sérologie chez le nouveau - né est limitée en raison de la présence des anticorps colostraux. Le coût du diagnostic est élevé et la recherche du parasite dans l'avorton reste exceptionnelle [82, 83, 108] (Tableau VII).

2.4.2. Valeur des techniques dans le diagnostic de la néosporose à l'échelle du troupeau

Le diagnostic de la maladie à l'échelle du troupeau est le plus souvent sollicité lors de l'observation d'une flambée d'avortements dans un élevage. Ainsi, la détermination de l'agent en cause et le mode de contamination de l'élevage est nécessaire pour mettre en place une méthode efficace de lutte [267].

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

Dans un second temps, il pourra réaliser un sondage sérologique des animaux. C'est dans ce contexte que la sérologie trouve tout son intérêt pour estimer l'exposition de la population au parasite [253]. Il est intéressant de tester les ascendants, les descendants et collatéraux des vaches avortées, en particulier face à la suspicion d'une contamination verticale. La recherche des anticorps sur les animaux d'un même lot est utile lors d'une contamination horizontale. Enfin, si l'examen sérologique partiel du troupeau révèle la présence d'animaux séropositifs, il est

Tableau VII : Recherche de *N. caninum* dans les avortons de bovins (modifié d'après DUBEY *et al.* [108])

Pays	Nbre de foetus	% d'animaux infectés (Outil diagnostic)	Références
Allemagne	135	12.6 (H, IHC), 21.6 (PCR)	[300]
Argentine	188	22.8 (H), 15.4 (IHC)	[224]
Australie	729	21.0 (H, IHC)	[52]
Brésil	161	23.0 (H, IHC)	[68]
Corée	180	25 (H), 21.2 (H, PCR, IFI)	[180]
Espagne	80	31.3 (H), 10.7 (IFI, ELISA), 15.3 (PCR)	[262]
Etats - Unis	698	24.4 (H, IHC)	[6, 307]
	266	46.5 (H, IHC)	[7]
Iran	100	3 (IHC), 12 (H), 13 (PCR)	[271]
Mexique	211	34.5 (H), 19.4 (IHC)	[225]
Pays - Bas	2,053	17.0 (H, IHC)	[339, 341]
Suisse	242	21.0 (PCR)	[118, 285]
	223	16.1 (PCR)	[279]

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

intéressant de réaliser un dépistage sur tout le cheptel afin d'estimer le risque d'exposition du troupeau. En outre, lors de la présomption d'une contamination horizontale, il convient de réaliser un examen sérologique sur d'autres animaux de la ferme, en particulier le chien qui est une source potentielle d'ookystes. Toutefois, le résultat sérologique doit être interprété avec prudence, car la plupart des chiens excréteurs n'ont pas d'anticorps détectables par les techniques de routine [292]. Un résultat positif signifie donc que le chien a été exposé au parasite et qu'il a pu excréter des ookystes, alors qu'un chien séronégatif est un excréteur potentiel d'ookystes. Le statut sérologique des chiens n'est donc pas la méthode idéale pour l'identification des animaux excréteurs. Cependant, des anticorps spécifiques d'un antigène de haut poids moléculaires (152kDa) extraits d'une préparation de tachyzoïtes ont été mis en évidence chez des chiens excréteurs avec le western blot [292]. Le diagnostic de la néosporose est délicat puisque l'infection par *N. caninum* peut être asymptomatique.

2.5. Pronostic

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

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

3. PROPHYLAXIE

3.1. Sanitaire

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

3.1.1. Prophylaxie sanitaire défensive

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

- de limiter l'accès des chiens et de tout autre animal aux aires de stockages et de distribution des aliments [4, 108] ;
- de lutter contre les rongeurs et d'éviter la présence d'oiseaux sauvages dans les locaux d'élevage et de stockage des aliments [79, 80, 108] ;
- de distribuer de l'aliment sans moisissure au troupeau ;
- d'éviter l'abreuvement des animaux dans les cours d'eaux [250] ;

- d'introduire des animaux en bonne santé après une quarantaine dans un cheptel.

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

3.1.2. Prophylaxie sanitaire offensive

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

3.1.2.1. Prévention de la transmission horizontale

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

- limiter l'accès de tout autre animal sur la litière, les aires de stockages et de distribution des aliments [4] ;
- détruire les avortons, le placenta ainsi que la litière contaminée [335] ;
- éviter l'ingestion d'avortons et du placenta par les potentiels hôtes définitifs (chiens, coyotes).

L'élimination des chiens dans un cheptel infecté ne paraît pas utile. En effet, en tant qu'hôte définitif et/ou intermédiaire le chien n'excrète pas systématiquement les ookystes de *N. caninum* [81]. Des données épidémiologiques indiquent un risque accru d'infection par *N. caninum* après introduction d'un nouveau chien ou après la naissance d'une portée [80, 81]. Ainsi, la présence de chien dans une exploitation demeure un facteur de risque d'infection des bovins par *N. caninum*.

Bien que la transmission horizontale soit moins fréquente que la transmission verticale, elle semble nécessaire au maintien de l'infection [119]. Elle peut être interrompue d'une part, par la destruction des tachyzoïtes et des kystes à bradyzoïtes contenus dans le placenta, les eaux foetales, les avortons, et d'autre part, par la réduction du contact entre les animaux et les ookystes contenus dans les matières fécales des hôtes définitifs de *N. caninum*.

3.1.2.2. Prévention de la transmission verticale

La transmission verticale est la principale cause de la persistance de l'infection dans des troupeaux [75, 146]. La mesure de lutte la plus commode consisterait à la réforme de tous les animaux infectés. Pour des raisons financières et génétiques, elle semble peu adaptée aux élevages où une forte séroprévalence est observée [335]. Ainsi, il est judicieux de ne pas garder les veaux congénitalement infectés pour le renouvellement du troupeau dans ces élevages [335].

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

Le transfert d'embryons issus de donneuses séropositives aux receveuses séronégatives est un moyen de reproduction dans les fermes bovines séropositives de bonne génétique [16, 38, 187, 227, 311]. Bien que la mise en place de la transplantation embryonnaire représente un surcoût pour l'éleveur, elle lui permet de préserver la qualité génétique de son cheptel en produisant des animaux de renouvellement séronégatifs.

Le maintien de ce statut est conditionné par l'élimination de toutes sources de contamination horizontale du cheptel. Compte tenu des différentes formes parasitaires, la prophylaxie sanitaire réduit la circulation de *N. caninum* dans un cheptel. Lors d'une recontamination du troupeau, les femelles nouvellement infectées ont significativement plus avorté que les femelles infectées chroniques.

Ainsi, *N. caninum* induirait une immunité d'infestation chez la femelle gestante [166, 217, 331].

3.2. Médicale

La prophylaxie médicale repose essentiellement sur la vaccination. Le coût du traitement ainsi que la faculté des protozoaires à développer des résistances aux molécules thérapeutiques ont incité les chercheurs à proposer des protocoles vaccinaux [108, 165].

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

recombinantes de *N. caninum* (vaccins à ADN) [10, 14, 130, 170, 234, 280]. Ces modèles vaccinaux ont été testés chez la souris, le chien, la brébis et la vache.

3.2.1. Souris

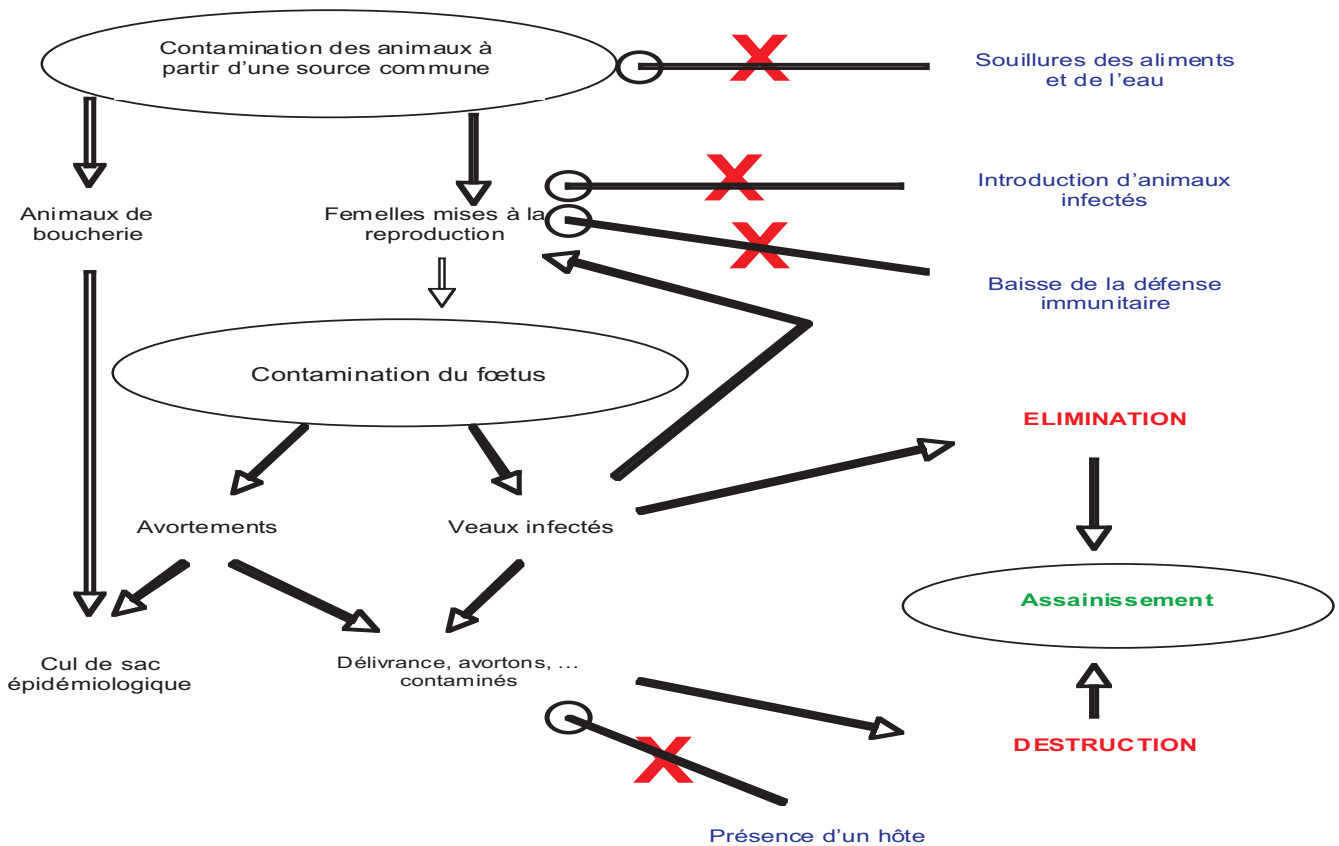
La souris a été l'espèce la plus utilisée [270]. Une réponse de type Th1 avec production d'interféron γ (INF γ) et d'Interleukine-12 (IL-12) serait essentielle dans la prévention d'une néosporose expérimentale aiguë [37, 164, 179, 208, 235, 239, 304].

Dans un modèle murin, l'injection de tachyzoïtes de *N. caninum* et des anticorps anti-IL-4 avant la mise à la reproduction réduit le nombre de parasites transmis au fœtus *in utero* [196].

La souris BALB/C déficiente en INF γ , a permis de comparer les réponses respectives en cytokines de profil Th1 et Th2 [233].

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

- des souris BALB/C immunisées avec un vaccin recombinant exprimant la protéine NcSRS2 [321], ont inhibé la production d'INF γ et ont stimulé la production d'IL-4 par rapport aux animaux non vaccinés ;
- des cellules macrophagiques murines traitées par de l'INF γ ou de l'IL-10 ont une viabilité réduite alors que l'IL-4 augmente la viabilité de ces cellules infectées par *N. caninum* et traitées



Fi
X
⊖

avec de l'INF γ .

Une injection de tachyzoïtes vivants a permis d'observer une transmission verticale de 1 à 8 % chez des souris vaccinées contre 75% chez les témoins non vaccinés. En revanche, l'utilisation de lysat de tachyzoïtes n'a réduit cette transmission verticale que de 15% [221].

Un modèle d'immunisation par utilisation des vaccins recombinants a été mis en évidence. Les principaux travaux ont porté sur le peptide NcSRS2 (Ncp43) impliqué dans l'adhésion et l'invasion parasitaire [143, 145, 147, 321]. Les souris immunisées ont été moins infectées que les témoins [321]. Lors de stimulation *in vitro* de splénocytes par des antigènes de *N. caninum*, une activation de l'INF γ a été observé [232, 234, 236]. En revanche, aucun changement dans la production d'IL-12 n'a été observé. La vaccination par utilisation du peptide recombinant NcSRS2 a activé les mécanismes de défense immunitaire, induisant ainsi la production d'anticorps de type IgG1 chez la souris immunisée [11, 62, 232, 234, 238, 240] et la réduction des infections cérébrales [321]. Par ailleurs, les lymphocytes T CD4+ jouent un important rôle dans la prévention de l'infection. Ainsi, cet essai d'immunisation et de protection contre *N. caninum* accorde un rôle majeur aux IgG1 en début d'infection alors que la réponse des lymphocytes T CD4+ agirait plutôt en fin d'infection. L'immunisation des souris par ces vaccins recombinants inhibe la transmission verticale lors d'infection expérimentale [240]. Par conséquent, la taille de la portée et le taux de survie des souriceaux ont été plus élevés chez des souris infectées antérieurement vaccinées avec le peptide recombinant NcSRS2 comparé au témoin.

L'efficacité de la protéine recombinante NcSRS2 a été comparée à celle de la protéine recombinante NcSAG-1 (seule ou associée à NcSRS2) et à celle d'une vaccination par un ADN codant pour ces deux protéines [57]. Aucun des animaux vaccinés n'a développé des symptômes après l'infection expérimentale. En revanche, le taux d'ADN parasitaire a été plus faible chez les animaux vaccinés à l'ADN comparés aux animaux vaccinés avec les protéines recombinantes.

Une protéine de micronèmes recombinante (NcMIC3) a été testée dans un modèle murin [58]. Les souris ont été immunisées puis, infectées par injection intra péritonéale de 2.10^6 tachyzoïtes. L'efficacité de l'immunisation a été évaluée par observation des signes cliniques et par la recherche quantitative d'ADN parasitaire dans les tissus. Aucun animal n'a développé une néosporose clinique 21 jours après infection. De l'ADN parasitaire n'a été observé dans aucun autre tissu que l'encéphale. Ainsi, une protection partielle (75 %) a été observée chez des souris immunisées avec la protéine NcMIC3.

Une phosphoprotéine ribosomale Po de *N. caninum* (Nc Po) aurait 94,5% d'affinités avec la protéine Tg Po de *T. gondii*. Cette protéine (Nc Po) pourrait être utilisée comme agent vaccinal dans le contrôle de la néosporose et de la toxoplasmose [347].

L'infection à *N. caninum* au cours de la gestation a des conséquences sur le fœtus en raison des possibilités de transmission verticale du parasite. Elle peut provoquer des

avortements ou des pathologies du nouveau-né [209, 316]. Des preuves d'une protection vaccinale contre cette transmission trans-placentaire ont été établies chez la souris [133, 191, 221, 234, 240, 266].

3.2.2. Chien

Il existe une similarité structurale de la protéine de surface NcSRS2 entre *N. caninum* et le virus de l'herpès canin. Cette similitude antigénique a été utilisée dans la mise au point d'un vaccin recombinant contre l'herpès à virus canin qui protégerait le chien contre la néosporose. En effet, il stimule la production des anticorps anti-*N. caninum* [232].

3.2.3. Brebis

Une double immunisation à 4 mois d'intervalle avec des tachyzoïtes de *N. caninum* a induit une réponse humorale chez plus de 80% de brebis. Par ailleurs, aucune trace d'ADN parasitaire n'a été observée chez 10 fœtus alors que des traces de lésions histologiques ont été rapportées chez tous les agneaux examinés (4/4) [244].

3.2.4. Vache

Neospora caninum est un protozoaire, parasite intracellulaire qui provoque des avortements chez les bovins. L'infection fœtale *in utero* fait suite soit à une activation de l'infection latente chez la mère, soit à une consommation d'aliment contaminés par des ookystes de *N. caninum*. Le fœtus infectés peut être avorté ou naître contaminé. Les avortements surviennent le plus souvent dans le deuxième tiers de gestation [6, 7, 222, 309, 312].

Une immunisation avant la mise à la reproduction suivie d'une infection expérimentale au 140^{ème} jour de gestation a réduit le taux d'avortement dans le cheptel [166]. Outre la protection contre la transmission vertical du parasite, une stimulation de l'immunité à médiation cellulaire avec une augmentation significative de la production d'INF γ après l'infection ont été observées [10, 166].

Un vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués a obtenu une autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis (Neoguard®, Intervet USA). L'innocuité de ce vaccin commercial a été démontrée en élevage bovin [20]. Il permet d'obtenir une séroconversion vis-à-vis de *N. caninum* dans 76,6% des cas sans occasionner d'effets secondaires néfastes sur la production lactée ou sur la qualité de la viande des animaux immunisés. Ce vaccin réduit les avortements de 50% dans le troupeau [149, 283, 330]. Le vaccin préparé à partir de tachyzoïtes tués de *N. caninum* ne protège pas contre la transmission verticale dans un troupeau [9, 11, 12].

4. TRAITEMENT

L'approche thérapeutique de la néosporose a été calquée sur celle de la toxoplasmose. L'efficacité des molécules a été prouvée sur des tachyzoïtes *in vitro* [194], puis des études *in vivo* ont porté sur des modèles de souris, de chiens et de bovins.

4.1. *In vitro*

Une quarantaine de principes actifs sans autorisation de mise sur le marché validé pour *N. caninum* ont été testés sur culture cellulaire dont la triméthoprime, la pyriméthamine, le décoquinat, le lasalocid/monensin, le nitazoxanide, le toltrazuril, le ponazuril et certains thiazolidés [74, 116, 193, 204].

Par ailleurs, l'artémisine, anti-coccidien dérivé de la pharmacopée végétale traditionnelle chinoise a été efficace sur des tachyzoïtes de *N. caninum in vitro* [181]. Des extraits alcooliques d'herbes médicinales asiatiques, autrefois utilisées comme antiparasitaires en médecine humaine, ont tué des tachyzoïtes de *N. caninum* en culture [344, 345]. La depudecine (0,5mg/ml) semble présenter une efficacité thérapeutique *in vitro* [184].

4.2. *In vivo*

4.1.1. Souris

Le toltrazuril, le ponazuril, la sulfadiazine et l'amprolium ont inhibé la formation des lésions cérébrales chez des souris infectées par *N. caninum* [3, 125, 127, 197].

4.1.2. Chien

Les sulfamides, la pyriméthamine, le toltrazuril et la clindamycine ont été prescrits à des chiens infectés par *N. caninum* présentant ou non des signes cliniques [18, 90, 101, 110, 131, 141, 167, 182, 188, 305]. Le décoquinat est conseillé par le service de reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes aux chiennes gestantes, positives à *N. caninum* chez qui, des avortements et/ou des résorptions fœtales ont été observés. (Tableau VIII).

Bien que ces moyens thérapeutiques aient présenté une certaine efficacité, le pronostic n'a toujours pas été favorable. Il dépend de la rapidité d'apparition des signes cliniques (très mauvais lors d'installation rapide en quelques jours) et du délai séparant l'apparition des signes cliniques et le début du traitement spécifique. Il est possible d'observer une récupération totale ou fonctionnelle chez environ 50% de chiens soumis à un traitement approprié, mais beaucoup d'entre eux conserveront une démarche anormale, une amyotrophie ou une scoliose thoracique [17]. Les cas de néosporose canine qui ont le plus de chance de guérison sont ceux qui présentent le moins de signes d'atteinte du système

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

Les molécules proposées blanchissent les animaux [110], réduisent la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements. En conséquence, elles améliorent le taux de fécondité des chiennes ainsi que le nombre de chiots sevrés.

4.1.3. Bovins

Le décoquinat, le toltrazuril, la Sulfadiazine-Triméthoprime ont été testés chez des bovins.

Le décoquinat est un anticoccidien non antibiotique actif dès le premier stade de l'infestation par les coccidies. Il est prescrit pour la prévention des coccidioses chez le veau (0,5mg/kg) et chez l'agneau (1mg/kg). Chez la brebis (2mg/kg), il diminue l'expression clinique de la toxoplasmose [53].

Chez la vache, utilisé à la dose de 1 à 2 mg/kg pendant 2 mois à partir du 4^{ème} mois de gestation, il réduit la transmission placentaire ainsi que le taux d'avortement à *N. caninum* [19, 174, 175]. Il est prescrit pour la prévention des avortements chez la génisse et chez la vache allaitante. Le temps d'attente est nul pour la viande et les abats. Néanmoins, du fait de l'absence d'un dossier sur les résidus dans le lait, il n'est pas recommandé chez la vache laitière.

Le toltrazuril - sulfone, actif contre *Toxoplasma*, *Sarcocystis* et *Theileria*, a traité (20mg/kg pendant 6 jours à partir du lendemain de l'infection) des veaux expérimentalements infectés par *N. caninum* [183].

Un protocole associant la Sulfadiazine-Triméthoprime (20mg/kg) au Toltrazuril (20mg/kg) a considérablement réduit le taux de séropositif (de 68% avant traitement à 0% après traitement) et le taux d'avortement (de 188 avortements avant le traitement à 9 avortements un an après le traitement) dans des élevages fortement infectés [69, 71].

La thérapie proposée blanchit les animaux, réduit la transmission verticale ainsi que le taux d'avortements dans le cheptel. En effet, ces molécules sont actives sur les tachyzoïtes circulants et n'ont aucun effet sur les bradizoïtes enkystés dans les tissus des hôtes de *N. caninum* [110, 204].

4. COÛT DE LA NÉOSPOROSE

Des programmes de contrôle de la néosporose ont été développés au niveau national, régional dans plusieurs pays [108, 132, 134, 146, 245, 276, 310, 311]. Ces programmes ont pris en compte les rapports coût – bénéfice de la lutte,

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

Molécules	Posologie	Rythme de traitement	Références
Clindamycine	11 à 22 mg/kg	2 à 3 fois par jour pendant 4 à 6 semaines	[17, 90, 101, 110 201, 269]
Sulfamidine - Triméthoprime	15 mg/kg		
Pyriméthamine	1 mg/kg/jour		
Pyriméthamine - Sulfadiazine	0,25–0,5 mg/kg* ; 30mg/kg** / 12 h	pendant 2 à 4 semaines	[201]
Toltrazuril	20mg/kg	1 fois tous les 3 mois	[71]
Décoquinat §	0,05 – 0,25 mg/kg	3 ^{ème} semaine de gestation jusqu'au terme	§

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

comparant ainsi le coût du diagnostic et des mesures de contrôle avec la réduction des pertes économiques dues à l'infection associée aux avortements à *N. caninum* [32, 137, 138, 189, 274, 275]. Néanmoins, aucune stratégie mondiale de contrôle de la néosporose n'a été mise en place, en raison de l'absence d'études épidémiologiques dans certaines régions notamment en Afrique. Ainsi, avant de s'engager dans un programme de contrôle de la néosporose, il est important de maîtriser l'épidémiologie régionale de la pathologie [108, 139, 176, 289].

5.1. Pertes économiques dues à la néosporose bovine

Les principales pertes économiques imputables à la néosporose bovine sont liées aux troubles de la reproduction notamment les avortements et l'allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante.

En plus des coûts directs impliqués dans la perte du fœtus, la néosporose induit des coûts indirects comprenant les prestations cliniques vétérinaires, les frais du diagnostic et du traitement. Par ailleurs, l'infection à *N. caninum* serait une cause de réforme précoce [107, 245, 311, 315, 325] et de réduction de la production laitière des vaches [148, 308].

Le risque d'abattage d'une vache séropositive a été 1,4 à 1,9 fois supérieur à celui d'une vache séronégative [32, 70, 310, 313, 325], entraînant de pertes génétiques liées à la réforme précoce des animaux. Cependant, CRAMER *et al.* [70] n'ont observé aucune différence entre les taux d'abattage des vaches séropositives et séronégatives. La taille de l'échantillon et la méthode d'étude influenceraient ce taux d'abattage.

La production laitière pourrait être affectée par une infection à *N. caninum* [148, 308, 310]. En effet, les vaches séropositives produisent moins de lait (2 à 4% par jour de lactation) que les séronégatives [148, 308]. Cependant, plusieurs études n'ont observé aucune influence de la séropositivité sur la production laitière [156, 319]. En revanche, une augmentation de la quantité de lait a été observée chez des vaches séropositives [265, 284]. Néanmoins, elle n'a persisté que les 100 premiers jours qui ont suivi la flambée d'avortements dans les exploitations [32]. Ainsi, la physiopathogénie de *N. caninum* sur la production laitière reste un mystère.

De même, une réduction significative du gain pondéral post sevrage, du poids carcasse ainsi que de l'efficacité alimentaire a été observé chez des veaux de boucherie séropositifs [21, 22]. Des études ont estimé l'effet des pertes dues à une infection à *N. caninum* sur l'abattage [177, 189], le poids au sevrage [177], le gain moyen quotidien en période d'engraissement [22] et les performances de reproduction [325] dans des troupeaux allaitants.

La réduction de ces caractéristiques zootechniques ainsi que l'impact des stratégies de contrôle chez les bovins allaitants [189] et chez les bovins laitiers [30, 61, 137, 138, 275] ont été évaluées à :

- 35 millions de dollars US par an en Californie [28];
- 100 millions de dollars australiens par an en Australie et en Nouvelle - Zélande [272];

- 9,7 millions d'euros par an dans des troupeaux laitiers en Suisse [137, 138];
 - 2304 dollars canadiens dans un troupeau de 50 vaches laitières au Canada [61];
 - 2000 euros par an sur 24% du cheptel dans lequel des épidémies d'avortements ont été observées en Hollande [30].
- En général, le coût des soins a toujours été significativement plus élevé chez des animaux séropositifs. Les pertes ont été estimées à 15,62 dollars américains [22].
- Le mode de gestion des troupeaux, les différences dans la conception des études et les méthodes d'analyse expliqueraient les variations observées dans l'estimation des pertes dues la néosporose [108].

5.2. Rendement des stratégies de lutte contre la néosporose bovine

Les avortements associés aux infections dues à *N. caninum* ont été influencés par plusieurs facteurs dans des élevages bovins laitiers et allaitants. En raison de la multitude de facteurs de risques [108, 176, 250], l'approche dans la stratégie de contrôle doit être régionale. Elle devrait être basée sur le rapport coût – bénéfice de la lutte et tenir compte des paramètres tels que le type de spéculation, le mode de gestion des troupeaux, la voie de transmission, la biosécurité dans les exploitations agricole ainsi que les effets de l'infection sur les paramètres et performances de reproduction [108].

Ainsi, en cas de prédominance de la transmission verticale, l'idéal serait d'identifier et de reformer les animaux infectés ou réaliser au préalable, du transfert d'embryons des donneuses séropositives à haut potentiel génétiques aux receveuses séronégatives [16, 38, 187, 227, 311].

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

- empêchant l'accès des hôtes définitifs (chiens, coyotes) excréteurs d'ookystes responsables de l'entretien du cycle de *N. caninum* [316],
 - détruisant toutes sources potentielles (avortons, placentas, aliments et litières contaminées) de formes parasitaires (Takyzoïtes, Kystes à bradyzoïtes, Ookystes) de *N. caninum*.
- Toutefois, la décision de la mesure de contrôle doit prendre en compte le coût et les risques qu'induirait une infection.
- Aux Etats – Unis, la réforme des femelles nées de vaches séropositives offre un meilleur rendement économique [189].
- En Nouvelle – Zélande et en Australie, l'entretien de l'infection dans le troupeau a été le meilleur choix économique, à condition que la séoprévalence n'excède pas 10% sur une année ou 14% sur 5 ans. Néanmoins, la vaccination [283, 330, 333] et la réforme [134] des infectés offriraient le meilleur choix économique en cas d'augmentation de la prévalence au sein du troupeau [275, 278].
- En Suisse, la néosporose a été enregistrée comme maladie à déclaration obligatoire depuis 2001 [138]. La prophylaxie est basée sur l'interdiction de la mise à la reproduction des animaux issus de vaches séropositives [137, 138].

Bibliographie

- 1 - AGUADO-MARTÍNEZ A.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; ARNAIZ-SECO I.; INNES E. et ORTEGA-MORA L.M., 2005. Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 17:442-450.
- 2 - AHN H.J.; KIM S.; KIM D.Y. et NAM H.W., 2003. ELISA detection of IgG antibody against a recombinant major surface antigen (Nc-p43) fragment of *Neospora caninum* in bovine sera. *Korean J. Parasitol.*, 41:175-177.
- 3 - AMMANN P.; WALDVOGEL A.; BREYER I.; ESPOSITO M.; MÜLLER N. et GOTTSTEIN B., 2004. The role of B- and T-cell immunity in toltrazuril-treated C57BL/6 WT, μ MT and nude mice experimentally infected with *Neospora caninum*. *Parasitol. Res.*, 93:178-187.
- 4 - ANDERSON B.C., 2000. Contamination of feedstuffs caused by farm dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217(9):1294-1299.
- 5 - ANDERSON M.L.; ANDRIANARIVO A.G. et CONRAD P.A., 2000. Neosporosis in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61:417-431.
- 6 - ANDERSON M.L.; BLANCHARD P.C.; BARR B.C.; DUBEY J.P.; HOFFMAN R.L. et CONRAD P.A., 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 198:241-244.
- 7 - ANDERSON M.L.; PALMER C.W.; THURMOND M.C.; PICANSO J.P.; BLANCHARD P.C.; BREITMEYER R.E.; LAYTON A.W.; McALLISTER M.; DAFT B.; KINDE H.; READ D.H.; DUBEY J.P.; CONRAD P.A. et BARR B.C., 1995. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 207:1206-1210.
- 8 - ANDERSON M.L.; REYNOLDS J.P.; ROWE J.D.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.E.; BARR B.C. et CONRAD P.A., 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210:1169-1172.
- 9 - ANDRIANARIVO A.G.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; GARDNER I.A.; REYNOLDS J.P.; CHOROMANSKI L. et CONRAD P.A., 2005. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.*, 96:24-31.
- 10 - ANDRIANARIVO A.G.; BARR B.C.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W. et CONRAD P.A., 2001. Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. *Parasitol. Res.*, 87(10):817-825.
- 11 - ANDRIANARIVO A.G.; CHOROMANSKI L.; MCDONOUGH S.P.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1999. Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J. Parasitol.*, 29(10):1613-1625.
- 12 - ANDRIANARIVO A.G.; ROWE J.D.; BARR B.C.; ANDERSON M.L.; PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W.; CHOROMANSKI L.; LOUI C.; GRACE A. et CONRAD P.A., 2000. A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.*, 30:985-990.
- 13 - ATKINSON R.A.; HARPER P.A.W.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2000. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol. Today* 16:110-114.
- 14 - AUGUSTINE P.C.; BARTA J.R.; INNES L. et MULLER N., 2001. Chasing coccidia-new tools enter the race. *Trends Parasitol.*, 17(11):509-511.
- 15 - BAE J.S.; KIM D.Y.; HWANG W.S.; KIM J.H.; LEE N.S. et NAM H.W., 2000. Detection of IgG antibody against *Neospora caninum* in cattle in Korea. *Korean J. Parasitol.*, 38:245-249.
- 16 - BAILLARGEON P.; FECTEAU G.; PARÉ J.; LAMOTHE P. et SAUVÉ R., 2001. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 218:1803-1806.
- 17 - BARBER J.S., 1998. Neosporose canine. *Waltham Focus*, 8:25-29.
- 18 - BARBER J.S., et TREES A.J., 1996. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.*, 139(18):439-443.
- 19 - BARICCO G.; COLOMBO N.; RICHARD A. et TAINURIER D., 2002. Utilisation du décoquinat à la posologie de 1 mg/kg pendant 2 mois dans un élevage allaitant atteint de néosporose pour réduire l'incidence des avortements. Observation clinique. *Revue Rech. Ruminants.*, 9:47.
- 20 - BARLING K.S.; LUNT D.K.; GRAHAM S.L. et CHOROMANSKI; L.J., 2003. Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef feedlot steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 222(5):624-627.
- 21 - BARLING K.S.; LUNT D.K.; SNOWDEN K.F.; THOMPSON J.A.; 2001. Association of serologic status for *Neospora caninum* and postweaning feed efficiency in beef steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 219:1259-1262.
- 22 - BARLING K.S.; McNEILL J.W.; THOMPSON J.A.; PASCHAL J.C.; MCCOLLUM E.T.; CRAIG T.M. et ADAMS L.G., 2000. Association of serologic status for *Neospora caninum* with post weaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217:1356-1360.
- 23 - BARR B.C.; ANDERSON M.L.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1995. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.*, 137(24):611 - 613.
- 24 - BARR B.C.; ANDERSON M.L.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1991. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet. Pathol.*, 28(2):110-116.
- 25 - BARR B.C.; ANDERSON M.L.; WOODS L.W.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1992. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 4:365-367.
- 26 - BARR B.C.; CONRAD P.A.; BREITMEYER R.; SVERLOW K.; ANDERSON M.L.; REYNOLDS J.; CHAUVET A.E.; DUBEY J.P. et ARDANS A.A., 1993. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: Four case (1990-1992). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 202: 113-117.
- 27 - BARR B.C.; CONRAD P.A.; DUBEY J.P. et ANDERSON M.L., 1991. *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 3(1):39-46.
- 28 - BARR B.C.; DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; REYNOLDS J.P. et WELLS S.J., 1998. Neosporosis: its prevalence and economic impact. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.*, 20:1-16.
- 29 - BARR B.C.; ROWE J.D.; SVELO K.W.; BONDURANT R.H.; ARDANS A.A.; OLIVER M.N. et CONRAD P.A., 1994. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 6:207-215.
- 30 - BARTELS C.J.M.; HOGEVEEN H.; VAN SCHAİK G.; WOUDA W. et DIJKSTRA T., 2006. Estimated economic losses due to *Neospora caninum* infection in dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics; SVEPM Ann. Meet., Exeter University, Devon, United Kingdom. p191-201.
- 31 - BARTELS C.J.M.; VAN MAANEN C.; VAN DER MEULEN A.M.; DIJKSTRA T. et WOUDA W., 2005. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Vet. Parasitol.*, 131:235-246.
- 32 - BARTELS C.J.M.; VAN SCHAİK G.; VELDHOUISEN J.P.; VAN DEN BORNE B.H.P.; WOUDA W. et DIJKSTRA T., 2006. Effect of *Neospora caninum* serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics. *Prev. Vet. Med.*, 77:186-198.
- 33 - BASSO W.; SCHARES S.; BÄRWALD A.; HERRMANN D.C.; CONRATHS F.J.; PANTCHEV N.; GLOBOKAR VRHOVEC M. et SCHARES G., 2009. Molecular comparison of *Neospora caninum* oocyst isolates from naturally infected dogs with cell culture-derived tachyzoites of the same isolates using nested polymerase chain reaction to amplify microsatellite markers. *Vet. Parasitol.*, 160:43-50.
- 34 - BASZLER T.V.; ADAMS S.; VANDER-SCHALIE J.; MATHISON B.A. et KOSTOVIC M., 2001. Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 39:3851-3857.
- 35 - BASZLER T.V.; GAY L.J.C.; LONG M.T.; MATHISON B.A., 1999. Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. *J. Clin. Microbiol.*, 37:4059-4064.
- 36 - BASZLER T.V.; KNOWLES D.P.; DUBEY J.P.; GAY J.M.; MATHISON B.A. et McELWAIN T.F., 1996. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 34:1423-1428.
- 37 - BASZLER T.V.; McELWAIN T.F. et MATHISON B.A., 2000. Immunization of BALB/c mice with killed *Neospora caninum* tachyzoite antigen induces a type 2 immune response and exacerbates encephalitis and neurological disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 7(6):893-898.
- 38 - BIELANSKI A.; ROBINSON J. et PHIPPS-TODD B., 2002. Effect of *Neospora caninum* on *in vitro* development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. *Vet. Rec.*, 150:316-318.
- 39 - BJERKÅS I.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1994. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1:214-221.
- 40 - BJERKÅS I.; MOHNS S.F. et PRESTHUS J., 1984. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.*, 70:271-274.
- 41 - BJÖRKMAN C.; ALENIUS S.; EMANUELSSON U. et UGGLA A., 2000. *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet. J.*, 159:201-206.
- 42 - BJÖRKMAN C.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; CONRATHS F.J.; MATTSSON J.G.; ORTEGA-MORA L.M.; SAGER H. et SCHARES G., 2006. *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. *Vet. Parasitol.*, 140:273-280.
- 43 - BJÖRKMAN C. et HEMPHILL A., 1998. Characterization of *Neospora caninum* iscom antigens using monoclonal antibodies. *Parasite Immunol.*, 20(2):73-80.
- 44 - BJÖRKMAN C.; HOLMDAHL O.J.M. et UGGLA A., 1997. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. *Vet. Parasitol.*, 68:251-260.
- 45 - BJÖRKMAN C.; JOHANSSON O.; STENLUND S.; HOLMDAHL O.J.M. et UGGLA A., 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 208:1441-1444.
- 46 - BJÖRKMAN C. et LUNDEN A., 1998. Application of iscom antigen preparations in ELISAs for diagnosis of *Neospora* and *Toxoplasma* infections. *Int. J. Parasitol.*, 28(1):187-193.
- 47 - BJÖRKMAN C.; LUNDEN A.; HOLMDAHL J.; BARBER J.; TREES A J. et UGGLA A., 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunol.*, 16(12):643-648.
- 48 - BJÖRKMAN C.; LUNDÉN A. et UGGLA A., 1994. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. *Acta Vet. Scand.*, 35:445-447.
- 49 - BJÖRKMAN C.; McALLISTER M.M.; FRÖSSLING J.; NÄSLUND K.; LEUNG F. et UGGLA A., 2003. Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 15:3-7.
- 50 - BJÖRKMAN C.; NÄSLUND K.; STENLUND S.; MALEY S.W.; BUXTON D. et UGGLA A., 1999. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 11:41-44.
- 51 - BJÖRKMAN C. et UGGLA A., 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, 29:1497-1507.
- 52 - BOULTON J.G.; GILL P.A.; COOK R.W.; FRASER G.C.; HARPER P.A.W. et DUBEY J.P., 1995. Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust. Vet. J.*, 72:119-120.
- 53 - BUXTON D.; BREBNER J.; WRIGHT S.; MALEY S.W.; THOMSON K.M. et MILLARD K., 1996. Decoquinat and the control of experimental ovine toxoplasmosis. *Vet. Rec.*, 138:434-436.
- 54 - BUXTON D.; CALDOW G.L.; MALEY S.W.; MARKS et J.; INNES E.A., 1997. Neosporosis and bovine abortion in Scotland. *Vet. Rec.*, 141:649-651.
- 55 - BUXTON D.; MALEY S.W.; WRIGHT S.; THOMSON K.M.; RAE A.G. et INNES E.A., 1998. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *J. Comp. Pathol.*, 118:267-279.
- 56 - BUXTON D.; McALLISTER M.M. et DUBEY J.P., 2002. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.*, 18(12):546-552.
- 57 - CANNAS A.; NAGULESWARAN A.; MÜLLER N.; EPERON S.; GOTTSTEIN B. et HEMPHILL A., 2003. Vaccination of mice against experimental *Neospora caninum* infection using NcSAG1 and NcSRS2-based recombinant antigens and DNA vaccines. *Parasitology*, 126:303-312.
- 58 - CANNAS A.; NAGULESWARAN A.; MÜLLER N.; GOTTSTEIN B. et

- HEMPHILL A., 2003. Reduced cerebral infection of *Neospora caninum*-infected mice after vaccination with recombinant microneme protein NcMIC3 and ribi adjuvant. *J. Parasitol.*, 89(1):44-50.
- 59 - CHAHAN B.; GATURAGA I.; HUANG X.; LIAO M.; FUKUMOTO S.; HIRATA H.; NISHIKAWA Y.; SUZUKI H.; SUGIMOTO C.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; IGARASHI I.; MIKAMI T. et XUAN X., 2003. Serodiagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle by enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant truncated NcSAG1. *Vet. Parasitol.*, 118:177-185.
- 60 - CHARTIER C.H.; BAUDRY C.; LOSSON B.; DE MEERSCHAM F.; ROMAND S. et THULLIEZ P., 2000. La néosporose chez la chèvre: résultat de deux enquêtes sérologiques dans l'ouest de la France. *Point Vét.*, 31 (209):433-437
- 61 - CHI J.; VANLEEUWEN J.A.; WEERSINK A. et KEEFE G.P., 2002. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*; and *Neospora caninum*. *Prev. Vet. Med.*, 55:137-153.
- 62 - CHOROMANSKI L. et BLOCK W., 2000. Humoral immune responses and safety of experimental formulations of inactivated *Neospora* vaccines. *Parasitol Res.*, 86(10):851-853
- 63 - COLE R.A.; LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et BLAGBURN B.L., 1993. Detection of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 5(4):579-584
- 64 - COLLANTES-FERNANDEZ E.; ZABALLOS A.; ALVAREZ-GARCIA G. et ORTEGA-MORA L.M., 2002. Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 40:1194-1198.
- 65 - COLLERY P.M., 1995. *Neospora* encephalomyelitis in a calf. *Vet. Rec.*, 137(2):52.
- 66 - CONRAD P.A.; SVERLOW K.; ANDERSON M.; ROWE J.; BONDURANT R.; TUTER G.; BREITMEYER R.; PALMER C.; THURMOND M.; ARDANS A.; DUBEY J.P.; DUHAMEL G. et BARR B., 1993. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 5:572-578.
- 67 - CORBELLINI L.G.; COLODEL E.M. et DRIEMEIER D., 2001. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 13:416-419.
- 68 - CORBELLINI L.G.; PESCADOR C.A.; FRANZ F.; WUNDER E.; STEFFEN D.; SMITH D.R. et DRIEMEIER D., 2006. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *Vet. J.*, 172:114-120.
- 69 - COSOROABA I. et CHITIMIA L., 2006. Neosporoză bovinelor. *Scientia Parasitologica*, 1-2:55-66
- 70 - CRAMER G.; KELTON D.; DUFFIELD T.F.; HOBSON J.C.; LISSEMORE K.; HIETALA S.K. et PEREGRINE A.S., 2002. *Neospora caninum* serostatus and culling of Holstein cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 221:1165-1168.
- 71 - CUTERI V.; PREZIUOSO S.; ATTILI A.; TRALDI G.; GUERRA M.; NISOLI L. et LULLA D., 2005. Application of a new therapeutic protocol against *Neospora caninum*-induced abortion in cattle: a field study. *J. An. Vet. Ad.*, 4:510-514
- 72 - DAFT B.M.; BARR B.C.; COLLINS N. et SVERLOW K., 1997. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. *Equine Vet. J.*, 29(3):240-243.
- 73 - DANNATT L.; GUY F. et TREES A.J., 1995. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Vet Rec.*, 137(22):566-567
- 74 - DARIUS A.K.; MEHLHORN H. et HEYDORN A.O., 2004. Effects of toltrazuril and ponazuril on the fine structure and multiplication of tachyzoites of the NC-1 strain of *Neospora caninum* (a synonym of *Hammondia heydorni*) in cell cultures. *Parasitol. Res.*, 92:453-458.
- 75 - DAVISON H.C.; OTTER A. et TREES A.J., 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int. J. Parasitol.*, 29:1683-1689.
- 76 - DAVISON H.C.; OTTER A. et TREES A.J., 1999. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.*, 29:1189-1194.
- 77 - DE MEERSCHAM F.; FOCANT C.; BOREUX R.; LECLIPTEUX T. et LOSSON B., 2000. Cattle neosporosis in Belgium: a case-control study in dairy and beef cattle. *Int. J. Parasitol.*, 30:887-890.
- 78 - DESMONTS D. et REMINGTON J.S., 1980. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J. Clin. Microbiol.*, 11:562-568.
- 79 - DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; EYSKER M.; HESSELINK J.W. et WOUDA W., 2002. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet. Parasitol.*, 105:99-104.
- 80 - DIJKSTRA T.; BARKEMA H.W.; HESSELINK J.W. et WOUDA W., 2002. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Vet. Parasitol.*, 105:89-98.
- 81 - DIJKSTRA T.; EYSKER M.; SCHARES G.; CONRATHS F.J.; WOUDA W. et BARKEMA H.W., 2001. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.*, 31:747-752.
- 82 - DUBEY J.P., 2003. Neosporosis in cattle. *J. Parasitol.*, 89(Suppl.):S42-S46.
- 83 - DUBEY J.P., 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, 41:1-16.
- 84 - DUBEY J.P., 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 84(3-4):349-367
- 85 - DUBEY J.P., 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 214:1160-1163.
- 86 - DUBEY J.P., 1989. Congenital neosporosis in a calf. *Vet Rec.*, 125(19):486.
- 87 - DUBEY J.P.; ACLAND H.M. et HAMIR A.N., 1992. *Neospora caninum* (apicomplexa) in a stillborn goat. *J. Parasitol.*, 78:532-534.
- 88 - DUBEY J.P.; CARPENTER J.L.; SPEER C.A.; TOPPER M.J. et UGGLA A., 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192:1269-1285.
- 89 - DUBEY J.P. et DE LAHUNTA A., 1993. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. *Appl. Parasitol.*, 34(4):229-233.
- 90 - DUBEY J.P.; DOROUGH K.R.; JENKINS M.C.; LIDDELL S.; SPEER C.A.; KWOK O.C.H. et SHEN S.K., 1998. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int. J. Parasitol.*, 28:1293-1304.
- 91 - DUBEY J.P.; HARTLEY W.J. et LINDSAY D.S., 1990. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197(8):1043-1044
- 92 - DUBEY J.P.; HARTLEY W.J.; LINDSAY D.S. et TOPPERT M.J., 1990. Fatal Congenital *Neospora caninum* Infection in a Lamb. *J. Parasitol.*, 76(1):127-130
- 93 - DUBEY J.P.; HATTEL A.L.; LINDSAY D.S. et TOPPER M.J., 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193:1259-1263.
- 94 - DUBEY J.P.; HOLLIS K.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H.; HUNGERFORD L.; ANCHOR C. et ETTER D., 1999. High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int. J. Parasitol.*, 29:1709-1711.
- 95 - DUBEY J.P.; JANOVITZ E.B. et SKOWRONEK A.J., 1992. Clinical neosporosis in a 4-week-old Hereford calf. *Vet. Parasitol.*, 43(1-2):137-141
- 96 - DUBEY J.P.; JENKINS M.C.; ADAMS D.S.; McALLISTER M.M.; ANDERSON-SPRECHER R.; BASZLER T.V.; KWOK O.C.H.; LALLY N.C.; BJÖRKMAN C. et UGGLA A., 1997. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Parasitol.*, 83:1063-1069.
- 97 - DUBEY J.P.; KERBER C.E. et GRANSTROM D.E., 1999. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215:970-972.
- 98 - DUBEY J.P.; LIDDELL S.; MATTSO D.; SPEER C.A.; HOWE D.K. et JENKINS M.C., 2001. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. *J. Parasitol.*, 87:345-353.
- 99 - DUBEY J.P. et LINDSAY D.S., 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67:1-59.
- 100 - DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; ADAMS D.S.; GAY J.M.; BASZLER T.V.; BLAGBURN B.L. et THULLIEZ P., 1996. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, 57:329-336.
- 101 - DUBEY J.P.; METZGER F.L.J.; HATTEL A.L.; LINDSAY D.S. et FRITZ D.L., 1995. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with climpamycin. *Vet. Dermatol.*, 6:37-43
- 102 - DUBEY J.P.; MILLER S.; LINDSAY D.S.; TOPPER M.J., 1990. *Neospora caninum*-associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 2:66-69
- 103 - DUBEY J.P.; MORALES J.A.; VILLALOBOS P.; LINDSAY D.S.; BLAGBURN B.L. et TOPPER M.J., 1996. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 208:263-265.
- 104 - DUBEY J.P.; RIGOLET J.; LAGOURETTE P.; GEORGE C.; LONGEART L. et LeNET J.L., 1996. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *J. Parasitol.*, 82:338-339.
- 105 - DUBEY J.P.; ROMAND S.; HILALI M.; KWOK O.C.H. et THULLIEZ P., 1998. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *Int. J. Parasitol.*, 28:527-529.
- 106 - DUBEY J.P.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H.; SHEN S.K. et GAMBLE H.R., 1999. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *J. Parasitol.*, 85:968-969.
- 107 - DUBEY J.P. et SCHARES G., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 141:1-34.
- 108 - DUBEY J.P.; SCHARES G. et ORTEGA-MORA L.M., 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev.*, 20:323-367.
- 109 - DUBEY J.P.; VENTURINI M.C.; VENTURINI L.; MCKINNEY J. et PECORARO M., 1999. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.* 86:59-62.
- 110 - DUBEY J.P.; VIANNA M.C.B.; KWOK O.C.H.; HILL D.E.; MISKA K.B.; TUO W.; VELMURUGAN G.V.; CONORS M. et JENKINS M.C., 2007. Neosporosis in Beagle dogs: Clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, 149:158-166
- 111 - ELLIS J.T., 1998. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, 28:1053-1060.
- 112 - ELLIS J.T.; AMOYAL G.; RYCE C.; HARPER P.A.W.; CLOUGH K.A.; HOMAN W.L. et BRINDLEY P.J., 1998. Comparison of the large subunit ribosomal DNA of *Neospora* and *Toxoplasma* and development of a new genetic marker for their differentiation based on the D2 domain. *Mol. Cell. Probes.* 12:1-13.
- 113 - ELLIS J.T.; LUTON K.; BAVERSTOCK P.R.; BRINDLEY P.J.; NIMMO K.A. et JOHNSON A.M., 1994. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 64(2):303-311
- 114 - ELLIS J.T.; McMILLAN D.; RYCE C.; PAYNE S.; ATKINSON R. et HARPER P.A.W., 1999. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. *Int. J. Parasitol.*, 29:1589-1596.
- 115 - ENGLAND I.V.; WALDELAND H.; ANDRESEN O.; LOKEN T., BJÖRKMAN C. et BJERKÅS I., 1998. Foetal loss in dairy goats: an epidemiological study in 22 herds. *Small Rum. Res.*, 30:37-48
- 116 - ESPOSITO M.; STETTLER R.; MOORES S.L.; PIDATHALA C.; MÜLLER N.; STACHULSKI A.; BERRY N.G.; ROSSIGNOL J.F. et HEMPHILL A., 2005. *In Vitro* Efficacies of Nitazoxanide and Other Thiazolidines against *Neospora caninum* Tachyzoites Reveal Antiparasitic Activity Independent of the Nitro Group. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49:3715-3723.
- 117 - FERROGLIO E.; et ROSSI L., 2001. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in wild ruminants from the Italian Alps. *Vet. Rec.*, 148:754-755.
- 118 - FISCHER I.; FURRER K.; AUDIGÉ L.; FRITSCHÉ A.; GIGER T.; GOTTSTEIN B. et SAGER H., 2003. Von der Bedeutung der bovinen Neosporose beim Abortgeschehen in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 145:114-123.
- 119 - FRENCH N.P.; CLANCY D.; DAVISON H.C. et TREES A.J., 1999. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int. J. Parasitol.*, 29:1691-1704.
- 120 - FRITZ D.; GEOGE. C. et DUBEY J.P., 1997. *Neospora caninum*: Associated nodular dermatitis in a middle-aged dog. *Canine Practice*, 22(4):21-24
- 121 - FRÖSSLING J.; BONNETT B.; LINDBERG A. et BJÖRKMAN C., 2003. Validation of a *Neospora caninum* iscom ELISA without a gold standard. *Prev. Vet. Med.*, 57:141-153.
- 122 - GATURAGA I.; CHAHAN B.; XUAN X.; HUANG X.; LIAO M.; FUKUMOTO S.; HIRATA H.; NISHIKAWA Y.; TAKASHIMA Y.; SUZUKI H.; FUJISAKI K. et SUGIMOTO C., 2005. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle

- by enzyme-linked immunosorbent assay with truncated NcSR2 expressed in *Escherichia coli*. *J. Parasitol.*, 91:191-192.
- 123-GONDIM L.F.P.; McALLISTER M.M.; PITT W.C. et ZEMLICKA D.E., 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 34:159-161.
- 124-GONZALEZ L.; BUXTON D.; ATXAERANDIO R; ADURIZ G.; MALEY S.; MARCO J.C. et CUERVO L.A., 1999. Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. *Vet. Rec.*, 144(6):145-150
- 125-GOTTSTEIN B.; EPERON S.; DAI W.J.; CANNAS A; HEMPHILL A. et GREIF G., 2001. Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol. Res.*, 87(1):43-48
- 126-GOTTSTEIN B.; HENTRICH B.; WYSS R.; THÜR B.; BUSATO A.; STÄRK K.D.C. et MÜLLER N., 1998. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int. J. Parasitol.*, 28:679-691.
- 127-GOTTSTEIN B.; RAZMI G.R.; AMMANN P.; SAGER H. et MÜLLER N., 2005. Toltrazuril treatment to control diaplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice. *Parasitology*, 130:41-48.
- 128-GRAHAM D.A.; SMYTH J.A.; McLAREN E. et ELLIS W.A., 1996. Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: serological examination for evidence of *Neospora caninum* infection. *Vet. Rec.*, 139(21):523-524
- 129-GREIF B.; ROSSOW D.K.; COLLINS J.E. et DUBEY J.P., 1995. *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 206(7):1000-1001
- 130-GREIF G.; HARDER A. et HABERKORN A., 2001. Chemotherapeutic approaches to protozoa: Coccidia-current level of knowledge and outlook. *Parasitol. Res.*, 87(11):973-975.
- 131-HABERKORN A., 1996. Chemotherapy of human and animal coccidiosis: state and perspectives. *Parasitol. Res.*, 82(3):193-199
- 132-HADDAD J.P.A.; DOHOO I.R. et VANLEEWEN J.A., 2005. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle - a Canadian perspective. *Can. Vet. J.*, 46:230-243.
- 133-HALDRONSON G.J.; MATHISON B.A.; WENBERG K.; CONRAD P.A.; DUBEY J.P.; TREES A.J.; YAMANE I. et BASZLER T.V., 2005. Immunisation with native surface protein NcSR2 induces a Th2 immune response and reduces congenital *Neospora caninum* transmission in mice. *Int. J. Parasitol.*, 35:1407-1415.
- 134-HALL C.A.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2005. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.*, 128:231-241.
- 135-HAMIR A.N.; TORNIQUIST S.J.; GERROS T.C.; TOPPER M.J. et DUBEY J.P., 1998. *Neospora caninum* - associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Parasitol.*, 79:269-274
- 136-HARKINS D.; CLEMENTS D.N.; MALEY S.; MARKS J.; WRIGHT S.; ESTEBAN I.; INNES E.A. et BUXTON D., 1998. Western blot analysis of the IgG responses of ruminants infected with *Neospora caninum* and with *Toxoplasma gondii*. *J. Comp. Pathol.*, 119(1):45-55
- 137-HÄSLER B.; REGULA G.; STÄRK K.D.C.; SAGER H.; GOTTSTEIN B. et REIST M., 2006. Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy cattle in Switzerland. *Prev. Vet. Med.*, 77:230-253.
- 138-HÄSLER B.; STÄRK K.D.C.; SAGER H.; GOTTSTEIN B. et REIST M., 2006. Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. *Prev. Vet. Med.*, 77:254-283.
- 139-HÄSSIG M. et GOTTSTEIN B., 2002. Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms. *Vet. Rec.*, 150:538-542.
- 140-HATTEL A.L.; CASTRO M.D.; GUMMO J.D.; WEINSTOCK D.; REED J.A. et DUBEY J.P., 1998. Neosporosis-associated bovine abortion in Pennsylvania. *Vet. Parasitol.*, 74(2-4):307-313
- 141-HAY W.H.; SHELL L.G.; LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1990. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 197:87-89.
- 142-HELMAN R.G.; STAIR E.L.; LEHENBAUER T.W.; RODGERS S. et SALIKI J.T., 1998. *Neospora* abortion in Oklahoma cattle with emphasis on the distribution of brain lesions in aborted fetuses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 10(3):292-295
- 143-HEMPHILL A., 1996. Subcellular localization and functional characterization of Nc-p43; a major *Neospora caninum* tachyzoite surface protein. *Infect. Immun.*, 64(10):4279-4287
- 144-HEMPHILL A.; FUCHS N.; SONDA S. et HEHL A., 1999. The antigenic composition of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 29(8):1175-1188
- 145-HEMPHILL A. et GOTTSTEIN B., 1996. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitol. Res.*, 82(6):497-504
- 146-HEMPHILL A.; GOTTSTEIN B.; CONRATHS F.J.; DEMEERSCHMAN F.; ELLIS J.T.; INNES E.A.; McALLISTER M.M.; ORTEGA-MORA L.M.; TENTER A.M.; TREES A.J.; UGGLA A.; WILLIAMS D.J.L. et WOUDA W., 2000. A European perspective on *Neospora caninum*; *Int. J. Parasitol.*, 30:877-924.
- 147-HEMPHILL A. GOTTSTEIN B. et KAUFMANN H., 1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, 112:183-197
- 148-HERNANDEZ J.; RISCO C. et DONOVAN A., 2001. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 219:632-635.
- 149-HEUER C.; NICHOLSON C.; RUSSEL D. et WESTON J., 2004. Field study in dairy cattle from New Zealand. *Vet. Parasitol.*, 125:137-146.
- 150-HILLALI M.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; KWOK O.C.H. et DUBEY J.P., 1998. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. *Vet. Parasitol.*, 75:269-271.
- 151-HILL D.E.; LIDDELL S.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 2001. Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally-infected dogs using the polymerase chain reaction. *J. Parasitol.*, 87(2):395-398.
- 152-HO M.S.Y.; BARR B.C.; MARSH A.E.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; TARANTAL A.F.; HENDRICKX A.G.; SVERLOW K.; DUBEY J.P. et CONRAD P.A., 1996. Identification of bovine *Neospora* parasites by PCR amplification and specific small subunit rRNA sequence probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, 34:1203-1208.
- 153-HO M.S.Y.; BARR B.C.; ROWE J.D.; ANDERSON M.L.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.; MARSH A.E. et CONRAD P.A., 1997. Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *J. Parasitol.*, 83:508-514.
- 154-HO M.S.; BARR B.C.; TARANTAL A.F.; TARANTAL A.F.; LAI L.T. Y.; HENDRICKX A.G.; MARSH A.E.; SVERLOW K.W.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1997. Detection of *Neospora* from tissues of experimentally infected Rhesus Macaques by PCR and species DNA probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, 35(7):1740-1745.
- 155-HOANE J.S.; YEARGAN M.R.; STAMPER S.; SAVILLE W.J.; MORROW J.K.; LINDSAY D.S. et HOWE D.K., 2005. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. *J. Parasitol.*, 91:446-452.
- 156-HOBSON J.C.; DUFFIELD T.F.; KELTON D.; LISSEMORE K.; HIETALA S.K.; LESLIE K.E.; McEWEN B.; CRAMER G. et PEREGRINE A.S., 2002. *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 221:1160-1164.
- 157-HOLMDAHL O.J.M. et MATSSON J.G., 1996. Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by in vitro amplification of the internal transcribed spacer 1. *Parasitology*, 112:177-182.
- 158-HOWE D.K.; TANG K.; CONRAD P.A.; SVERLOW K.; DUBEY J.P. et SIBLEY L.D., 2002. Sensitive and specific identification of *Neospora caninum* infection of cattle based on detection of serum antibodies to recombinant Ncp29. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 9:611-615.
- 159-HULTD G., 1981. Serodiagnosis of parasitic infection. *Parasitology*, 82:49-55.
- 160-HUONG L.T.T.; LJUNGSTRÖM B.L.; UGGLA A. et BJÖRKMAN C., 1998. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet. Parasitol.*, 75:53-57.
- 161-HURKOVÁ L.; HALOVA D. et MODRY D., 2005. The prevalence of *Neospora caninum* antibodies in bulk milk of dairy herds in the Czech Republic: a case report. *Vet. Med.*, (Czech) 50:549-552.
- 162-ILLANES O.; MOORE A; PRINGLE J. et SAINDON A., 1994. *Neospora*-induced congenital myelitis and polyradiculoneuritis in a one-month-old Holstein calf. *Can. Vet. J.*, 35(10):653-654
- 163-INNES E.A.; ANDRIANARIVO A.G.; BJÖRKMAN C.; WILLIAMS D.J.L. et CONRAD P.A., 2002. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.*, 18:497-504.
- 164-INNES E.A.; PANTO W.R.M.; MARKS J.; HOLMDAHL J. et BUXTON D., 1995. Interferon Gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora caninum*, as shown by incorporation of ³H-uracil. *J. comp. Pathol.*, 113:95-100.
- 165-INNES E.A. et VERMEULEN A.N., 2006. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*; *Toxoplasma* and *Neospora*. *Parasitology*, 133 Suppl:S145-68.
- 166-INNES E.A.; WRIGHT S.E.; MALEY S.; RAE A.; SCHOCK A.; KIRVAR E.; BARTLEY P.; HAMILTON C.; CAREY I.M. et BUXTON D., 2001. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, 31:1523-1534.
- 167-JACOBSON L.S. et JARDINE J.E., 1993. *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 64(1):47-51
- 168-JAKUBEK E.B. et UGGLA A., 2005. Persistence of *Neospora caninum* specific immunoglobulin G antibodies in bovine blood and lung tissue stored at room temperature. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 17:458-460.
- 169-JARDINE J.E. et LAST R.D., 1995. The prevalence of neosporosis in aborted bovine foetuses submitted to the Allerton Regional Veterinary Laboratory. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 62(3):207-209
- 170-JENKINS M.C., 2001. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, 101(3-4):291-310
- 171-JENKINS M.C.; BASZLER T.; BJÖRKMAN C.; SCHARES G. et WILLIAMS D., 2002. Diagnosis and sero-epidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int. J. Parasitol.*, 32:631-636.
- 172-JENKINS M.C.; FETTERER R.; SCHARES G.; BJÖRKMAN C.; WAPENAAR W.; McALLISTER M. et DUBEY J.P., 2005. HPLC purification of recombinant NcGRA6 antigen improves enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 131:227-234.
- 173-JENKINS M.C.; WOUDA W. et DUBEY J.P., 1997. Serological response over time to recombinant *Neospora caninum* antigens in cattle after a neosporosis-induced abortion. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 4(3):270-274
- 174-JOURNEL C.; CHATAGNON G.; MARTIN D.; RICHARD A. et TAINURIER D., 2000. Prévention des avortements et des infections foetales dus à *Neospora caninum* chez les génisses : essais de traitement pendant la gestation avec du décoquinat à la posologie de 2mg/kg/jour. *Rech. Ruminants*, 7:105.
- 175-JOURNEL C. et PTEL P.H., 2001. La lutte contre la neosporose en élevage bovin. *Point Vét.*, 32: 38-39
- 176-JOURNEL C.; TAINURIER D.; PTEL P.H. et CHATAGNON G., 1999. *Neospora caninum* : étude d'un élevage contaminé; quelques hypothèses de contamination. *Point Vét.*, 30:397-404.
- 177-KASARI T.R.; BARLING K. et McGRANN J.M., 1999. Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. *Bovine Pract.*, 33:113-120.
- 178-KAUFMANN H.; YAMAGE M.; RODITI I.; DOBBELAERE D.; DUBEY J.P.; HOLMDAHL O.J.M.; TREES A. et GOTTSTEIN B., 1996. Discrimination of *Neospora caninum* from *Toxoplasma gondii* and other apicomplexan parasites by hybridization and PCR. *Mol. Cell. Probes*, 10:289-297.
- 179-KHAN I.A.; SCHWARTZMAN J.D.; FONSEKA S. et KASPER L.H., 1997. *Neospora caninum* : Role for immune cytokines in host immunity. *Exp. Parasitol.*, 85:24-34.
- 180-KIM J.H.; LEE J.K.; LEE B.C.; PARK B.K.; YOO H.S.; HWANG W.S.; SHIN N.R.; KANG M.S.; JEAN Y.H.; YOON H.J.; KANG S.K. et KIM D.Y., 2002. Diagnostic survey of bovine abortion in Korea: with special emphasis on *Neospora caninum*. *J. Vet. Med. Sci.*, 64:1123-1127.
- 181-KIM J.T.; PARK J.Y.; SEO H.S.; OH H.G.; NOH J.W.; KIM J.H.; KIM D.Y. et YOUN H.J., 2002. In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, 103(1-2):53-63.
- 182-KNOWLER C. et WHEELER S.J., 1995. *Neospora caninum* infection in three dogs. *J. Small Anim. Pract.*, 36(4):172-177
- 183-KRITZNER S.; SAGER H.; BLUM J.; KREBBER R.; GREIF G. et GOTTSTEIN B., 2002. An explorative study to assess the efficacy of toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 1:4.
- 184-KWON H.J.; KIM J.H.; KIM M.; LEE; J.K.; HWANG W.S. et KIM D.Y., 2003. Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. *Vet. Parasitol.*, 112(4):269-276
- 185-LALLY N.C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1996. Development of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora caninum* 14-3-3 gene. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 75:169-178.

- 186-LALLY N.C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1996. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 3:275-279.
- 187-LANDMANN J.K.; JILLELLA D.; O'DONOGHUE P.J. et MCGOWAN M.R., 2002. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust. Vet. J.*, 80:502-503.
- 188-LA PERLE K.M.; DEI PIERO F.; CARR R.F.; HARRIS C. et STROMBERG P.C., 2001. Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive therapy. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 13(3):252-255.
- 189-LARSON R.L.; HARDIN D.K. et PIERCE V.L., 2004. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 224:1597-1604.
- 190-LIAO M.; ZHANG S.; XUAN S.; ZHANG G.; HUANG X.; IGARASHI I. et FUJISAKI K., 2005. Development of rapid immunochromatographic test with recombinant NcSAG1 for detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 12:885-887.
- 191-LIDDELL S.; JENKINS M.C.; COLLICA C.M. et DUBEY J.P., 1999. Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination. *J. Parasitol.*, 85:1072-1075.
- 192-LIDDELL S.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 1999. A competitive PCR assay for quantitative detection of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 29:1583-1587.
- 193-LINDSAY D.S.; BUTLER J.M. et BLAGBURN B.L., 1997. Efficacy of decoquinatol against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. *Vet. Parasitol.*, 68:35-40.
- 194-LINDSAY D.S.; BUTLER J.M.; RIPPEY N.S. et BLAGBURN N.L., 1996. Demonstration of synergistic effects of sulphonamide and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.*, 57:68-72.
- 195-LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 2000. Canine neosporosis. *J. Vet. Parasitol.*, 14(1):1-11.
- 196-LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1990. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J. Parasitol.*, 76:410-413.
- 197-LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1990. Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, 76:177-179.
- 198-LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1989. Evaluation of anti-coccidial drugs' inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. *J. Parasitol.*, 75(6):990-992.
- 199-LINDSAY D.S. et DUBEY J.P., 1989. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am. J. Vet. Res.*, 50(11):1981-1983.
- 200-LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et DUNCAN R.B., 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, 82:327-333.
- 201-LINDSAY D.S.; DUBEY J.P. et McALLISTER M., 1999. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 21:317-321.
- 202-LINDSAY D.S.; KELLY E.J.; MCKOWN R.; STEIN F.J.; PLOZER J.; HERMAN J.; BLAGBURN B.L. et DUBEY J.P., 1996. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *J. Parasitol.*, 82:657-659.
- 203-LINDSAY D.S.; LITTLE S.E. et DAVIDSON W.R., 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, from the Southeastern United States. *J. Parasitol.*, 88:415-417.
- 204-LINDSAY D.S.; RIPPEY N.S.; COLE R.A.; PARSONS L.C. DUBEY J.P.; TIDWELL R.R. et BLAGBURN B.L., 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am. J. Vet. Res.*, 55(7):976-981.
- 205-LINDSAY D.S.; SPENCER J.; RUPPRECHT C.E. et BLAGBURN B.L., 2001. Prevalence of agglutinating antibodies to *Neospora caninum* in Raton-laveurs, *Procyon lotor*. *J. Parasitol.*, 87:1197-1198.
- 206-LINDSAY D.S.; WESTON J.L. et LITTLE S.E., 2001. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Renard grises (*Urocyon cinereogenteus*) from South Carolina. *Vet. Parasitol.*, 97:159-164.
- 207-LOCATELLI-DITTRICH R.; RICHARTZ R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU M.E.; PINCKNEY R.D.; DE SOUSA R.S.; LEITE L.C. et THOMAZ-SOCCOL V., 2003. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. *Vet. Rec.*, 153:366-367.
- 208-LONG M.T.; BASZLER T.V. et MATHISON B.A., 1998. Comparison of intracerebral parasite load, lesion development, and systemic cytokines in mouse strains infected with *Neospora caninum*. *J. Parasitol.*, 84(2):316-320.
- 209-LÓPEZ-PÉREZ I.C.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; AGUADO-MARTÍNEZ A.; RODRÍGUEZ-BERTOS A. et ORTEGA-MORA L.M., 2008. Influence of *Neospora caninum* infection in BALB/c mice during pregnancy in post-natal development. *Vet. Parasitol.*, 155:175-183.
- 210-LOUIE K.; SVERLOW K.W.; BARR B.C.; ANDERSON M.L. et CONRAD P.A., 1997. Cloning and characterization of two recombinant *Neospora* protein fragments and their use in serodiagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 4:692-9.
- 211-MAGNINO S.; VIGO P.G.; BANDI C.; BAZZOCCHI C.; FABBÌ M. et GENCHI C., 2000. Small-subunit rDNA sequencing of the Italian bovine *Neospora caninum* isolate (NC-PVI strain). *Parassitologia*, 42:191-192.
- 212-MAGNINO S.; VIGO P.G.; FABBÌ M.; COLOMBO M.; BANDI C. et GENCHI C., 1999. Isolation of a bovine *Neospora* from a newborn calf in Italy. *Vet. Rec.*, 144:456.
- 213-MALEY S.W.; BUXTON D.; THOMSON K.M.; SCHRIEFER C.E.S. et INNES E.A., 2001. Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1-year study. *Vet. Parasitol.*, 96:1-9.
- 214-MARQUER A. et CHERMETTE R., 2000. La néosporose chez les bovins. *Point Vét.*, 31:293-298.
- 215-MARSH A.E.; BARR B.C.; PACKHAM A.E. et CONRAD P.A., 1998. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.*, 84:983-991.
- 216-MARSH A.E.; HOWE D.K.; WANG G.; BARR B.C.; CANNON N. et CONRAD P.A., 1999. Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1 and SRS2. *Int. J. Parasitol.*, 29(10):1575-1582.
- 217-McALLISTER M.M.; BJÖRKMAN C.; ANDERSON-SPRECHER R. et ROGERS D.G., 2000. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217:881-887.
- 218-McALLISTER M.M.; DUBEY J.P.; LINDSAY D.S.; JOLLEY W.R.; WILLS R.A. et MCGUIRE A.M., 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 28:1473-1478.
- 219-McGARRY J.W.; GUY F.; TREES A.J.; WILLIAMS D.J.L.; DAVISON H.C. et BJÖRKMAN C., 2000. Validation and application of an inhibition ELISA to detect serum antibodies to *Neospora caninum* in different host species. *Int. J. Parasitol.*, 30:880-884.
- 220-McINNES L.M.; RYAN U.M.; O'HANDLEY R.; SAGER H.; FORSHAW D.; PALMER D.G., 2006. Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum. *Vet. Parasitol.*, 142:207-213.
- 221-MILLER C.M.D.; QUINN H.; RYCE C.; REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2005. Reduction in transplacental transmission of *Neospora caninum* in outbred mice by vaccination. *Int. J. Parasitol.*, 35:821-828.
- 222-MOEN A.R.; WOUDA W.; MUL M.F.; GRAAT E.A.M. et VAN WERVEN T., 1998. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology*, 49:1301-1309.
- 223-MOORE D.P.; CAMPERO C.M.; ODEÓN A.C.; CHAYER R. et BIANCO M.A., 2003. Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina. *J. Vet. Med. B.*, 50:304-308.
- 224-MOORE D.P.; CAMPERO C.M.; ODEÓN A.C.; POSSO M.A.; CANO D.; LEUNDA M.R.; BASSO W.; VENTURINI M.C. et SPÁTH E., 2002. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol.*, 107:303-316.
- 225-MORALES E.; TRIGO F.J.; IBARRA F.; PUENTE E. et SANTACRUZ M., 2001. Neosporosis in Mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J. Comp. Pathol.*, 125:58-63.
- 226-MORGAN U.M.; DEPLAZES P.; FORBES D.A.; SPANO F.; HERTZBERG H.; SARGENT K.D.; ELLIOT A. et THOMPSON R.C., 1999. Sequence and PCR-RFLP analysis of the internal transcribed spacers of the rDNA repeat unit in isolates of *Cryptosporidium* from different hosts. *Parasitology*, 118:49-58.
- 227-MOSKWA B.; GOZDZIK K.; BIEN J. et CABAJ W., 2008. Studies on *Neospora caninum* DNA detection in the oocytes and embryos collected from infected cows. *Vet. Parasitol.*, 158:370-5.
- 228-MÜLLER N.; SAGER H.; HEMPHILL A.; MEHLHORN H.; HEYDORN A.O. et GOTTSTEIN B., 2001. Comparative molecular investigation of Nc5-PCR amplicons from *Neospora caninum* NC-1 and *Hammondia heydorni*-Berlin-1996. *Parasitol. Res.*, 87:883-885.
- 229-MÜLLER N.; VONLAUFEN N.; GIANINAZZI C.; LEIB S.L. et HEMPHILL A., 2002. Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue. *J. Clin. Microbiol.*, 40:252-255.
- 230-MÜLLER N.; ZIMMERMANN V.; HENTRICH B. et GOTTSTEIN B., 1996. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *J. Clin. Microbiol.*, 34:2850-2852.
- 231-NIETFLD J.C.; DUBEY J.P.; ANDERSON M.L.; LIBAL M.C.; YAEGER M.J. et NEIGER R.D., 1992. *Neospora*-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4(2):223-226.
- 232-NISHIKAWA Y.; IKEDA H.; FUKUMOTO S.; XUAN X.; NAGASAWA H.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2000. Immunization of dogs with a canine herpesvirus vector expressing *Neospora caninum* surface protein; NcSRS2. *Int. J. Parasitol.*, 30(11):1167-1171.
- 233-NISHIKAWA Y.; INOUE N.; MAKALA L. et NAGASAWA H., 2003. A role for balance of interferon-gamma and interleukin-4 production in protective immunity against *Neospora caninum* infection. *Vet. Parasitol.*, 116(3):175-184.
- 234-NISHIKAWA Y.; INOUE N.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Protective efficacy of vaccination by recombinant vaccinia virus against *Neospora caninum* infection. *Vaccine*, 19:1381-1390.
- 235-NISHIKAWA Y.; IWATA A.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Comparison of the growth inhibitory effects of canine IFN-alpha, -beta and -gamma on canine cells infected with *Neospora caninum* tachyzoites. *J. Vet. Med. Sci.*, 63(4):445-448.
- 236-NISHIKAWA Y.; KOUSAKA Y.; FUKUMOTO S.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2000. Delivery of *Neospora caninum* surface protein, NcSRS2 (Nc-p43), to mouse using recombinant vaccinia virus. *Parasitol. Res.*, 86(11):934-939.
- 237-NISHIKAWA Y.; KOUSAKA Y.; TRAGOOLPUA K.; XUAN X.; MAKALA L.; FUJISAKI K.; MIKAMI T. et NAGASAWA H., 2001. Characterization of *Neospora caninum* surface protein NcSRS2 based on baculovirus expression system and its application for serodiagnosis of *Neospora* infection. *J. Clin. Microbiol.*, 39:3987-3991.
- 238-NISHIKAWA Y.; MIKAMI T. et NAGASAWA H., 2002. Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Med. Sci.*, 64(1):1-5.
- 239-NISHIKAWA Y.; MISHIMA M.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Interferon-gamma-induced apoptosis in host cells infected with *Neospora caninum*. *Parasitology*, 123: 25-31.
- 240-NISHIKAWA Y.; XUAN X.; NAGASAWA H.; IGARASHI I.; FUJISAKI K.; OTSUKA H. et MIKAMI T., 2001. Prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in BALB/c mice by recombinant vaccinia virus carrying NcSRS2 gene. *Vaccine*, 19(13-14):1710-1716.
- 241-OBENDORF D.L.; MURRAY N.; VELDHIJS G.; MUNDAY B.L. et DUBEY J.P., 1995. Abortion caused by neosporosis in cattle. *Aust. Vet. J.*, 72(3):117-118.
- 242-ODIN M. et DUBEY J.P., 1993. Sudden death associated with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 203(6):831-833.
- 243-OGINO H.; WATANABE E.; WATANABE S.; AGAWA H.; NARITA M.; HARITANI M. et KAWASHIMA K., 1992. Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J. Comp. Pathol.*, 107(2):231-237.
- 244-O'HANDLEY R.M.; MORGAN S.A.; PARKER C.; JENKINS M.C. et DUBEY J.P., 2003. Vaccination of ewes for prevention of vertical transmission of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, 64(4):449-452.
- 245-ORTEGA-MORA L.M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA A. et GÓMEZ-BAUTISTA M., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta Parasitol.*, 51:1-14.
- 246-ORTUÑO A.; CASTELLA J. et ALMERIA S., 2002. Seroprevalence of

- antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Spain. *J. Parasitol.*, 88:1263–1266.
- 247-OSAWA T.; WASTLING J.; MALEY S.; BUXTON D. et INNES E.A., 1998. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera; bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet. Parasitol.*, 79:19–34.
- 248-OTTER A.; JEFFREY M.; GRIFFITHS I.B. et DUBEY J.P., 1995. A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales. *Vet. Rec.*, 136:602–606.
- 249-OTTER A.; WILSON B.W.; SCHOLES S.F.E.; JEFFREY M.; HELMICK B. et TREES A.J., 1997. Results of a survey to determine whether *Neospora caninum* is a significant cause of ovine abortion in England and Wales. *Vet. Rec.*, 140:175–177.
- 250-OULD-AMROUCHE A.; KLEIN F.; OSDOIT C.; MOHAMED H.O.; TOURATIER A.; SANAA M. et MIALOT J.P., 1999. Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.*, 30:531–538.
- 251-PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W.; CONRAD P.A.; LOOMIS E.F.; ROWE J.D.; ANDERSON M.L.; MARSH A.E.; CRAY C. et BARR B.C., 1998. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Diagn. Immunol.*, 5:467–473.
- 252-PALAVICINI P.; ROMERO J.J.; DOLZ G.; JIMÉNEZ A.E.; HILL D.E. et J.P. DUBEY, 2007. Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. *Vet. Parasitol.*, 149:265–270.
- 253-PARÉ J.; FECTEAU G.; FORTIN M. et MARSOLAIS G., 1998. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 213:1595–1598.
- 254-PARÉ J.; HIETALA S.K. et THURMOND M.C., 1995. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 7:352–359.
- 255-PARÉ J.; HIETALA S.K. et THURMOND M.C., 1995. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7(2):273–275.
- 256-PARÉ J.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.*, 83:82–87.
- 257-PARÉ J.; THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can. J. Vet. Res.*, 60:133–139.
- 258-PARISH S.M.; MAAG-MILLER L.; BESSER T.E.; WEIDNER J.P.; McELWAIN T.; KNOWLES D.P. et LEATHERS C.W., 1987. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 191(12):1599–1600.
- 259-PETERS M.; WAGNER F. et SCHARES G., 2000. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitol. Res.*, 86:1–7.
- 260-PAYNE S. et ELLIS J., 1996. Detection of *Neospora caninum* DNA by the polymerase chain reaction. *Int. J. Parasitol.*, 26:347–351.
- 261-PENA J.H.J.; SOARES R.M.; RAGOZO A.M.A.; MONTEIRO R.M.; YAI L.E.O.; NISHI S.M. et GENNARI S.M., 2007. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Vet. Parasitol.*, 147:61–66.
- 262-PEREIRA-BUENO J.; QUINTANILLA-GOZALO A.; PÉREZ-PÉREZ V.; ESPIL-FELGUEROSO A.; ÁLVAREZ-GARCÍA G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E. et ORTEGA-MORA L.M., 2003. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Vet. Parasitol.*, 111:143–152.
- 263-PERI S.; HARRUS S.; SATUCHNE C.; YAKOBSON B. et HAINES D., 1998. Cutaneous neosporosis in a dog in Israel. *Vet. Parasitol.*, 79(3):257–261.
- 264-PESCADOR C.A.; CORBELLINI L.G.; OLIVEIRA E.C.; RAYMUNDO D.L. et DRIEMEIER D., 2007. Histopathological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses. *Vet. Parasitol.*, 150:159–163.
- 265-PFEIFFER D.U.; WILLIAMSON N.B. et REICHEL M.P., 2000. Long-term serological monitoring as a tool for epidemiological investigation of *Neospora caninum* infection in a New Zealand dairy herd. p616–618. Proceedings of the 9th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Breckenridge, CO.
- 266-PINIKIATSAKUL S.; MATSSON J.G.; WIKMAN M.; FRIEDMAN M.; BENTSSON K.L.; STAHL S. et LUNDEN A., 2005. Immunisation of mice against neosporosis with recombinant NcSRS2 iscoms. *Vet. Parasitol.*, 129:25–34.
- 267-PITEL P.H.; PRONOST S.; CHATAGNON G.; TAINURIER D.; FORTIER G. et BALLET J.J., 2001. Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Vet. Parasitol.*, 102:269–277.
- 268-PITEL P.H.; PRONOST S.; ROMAND S.; THULLIEZ P.; FORTIER G. et BALLET J.J., 2001. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. *Equine Vet. J.*, 33:205–207.
- 269-PLUYE A., 1999. Un cas de néosporose chez un chiot. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 34:597–602.
- 270-RAMAMOORTHY S.; DUNCAN R.; LINDSAY D.S. et SRIRANGANATHAN N., 2007. Optimization of the use of C57BL/6 mice as a laboratory animal model for *Neospora caninum* vaccine studies. *Vet. Parasitol.*, 145:253–259.
- 271-RAZMI G.R.; MALEKI M.; FARZANEH N.; TALEBKHAN G.M. et FALLAH A.H., 2007. First report of *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Mashhad area. Iran. *Parasitol. Res.*, 100:755–757.
- 272-REICHEL M.P., 2000. *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Aust. Vet. J.*, 78:258–261.
- 273-REICHEL M.P. et DRAKE J.M., 1996. The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *N. Z. Vet. J.*, 44:151–154.
- 274-REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2008. Re-evaluating the economics of neosporosis control. *Vet. Parasitol.*, 156:361–362.
- 275-REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2006. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet. Parasitol.*, 142:23–34.
- 276-REICHEL M.P. et ELLIS J.T., 2002. Control options for *Neospora caninum* infections in cattle-current state of knowledge. *N. Z. Vet. J.*, 50:86–92.
- 277-REICHEL M.P. et PFEIFFER D.U., 2002. An analysis of the performance characteristics of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. *Vet. Parasitol.*, 107:197–207.
- 278-REICHEL M.P.; ROSS G.P. et McALLISTER M.M., 2008. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. *Vet. Parasitol.*, 151:323–326.
- 279-REITT K.; HILBE M.; VOEGTLIN A.; CORBOZ L.; HAESSIG M. et POSPISCHIL A., 2007. Aetiology of bovine abortion in Switzerland from 1986 to 1995-a retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. *J. Vet. Med. A.*, 54:15–22.
- 280-RITTER D.M.; KERLIN R.; SIBERT G. et BRAKE D., 2002. Immune factors influencing the course of infection with *Neospora caninum* in the murine host. *J. Parasitol.*, 88:271–280.
- 281-ROMAND S.; THULLIEZ P. et DUBEY J.P., 1998. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.*, 84:50–53.
- 282-ROMANO A.; TRISCIUOGGIO A.; GRANDE D. et FERROGLIO E., 2009. Comparison of two PCR protocols for the detection of *Neospora caninum* DNA in rodents. *Vet. Parasitol.*, 159:159–161.
- 283-ROMERO J.J.; PÉREZ E. et FRANKENA K., 2004. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Vet. Parasitol.*, 123:149–159.
- 284-ROMERO J.J.; VAN BREDA S.; VARGAS B.; DOLZ G. et FRANKENA K., 2005. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. *Theriogenology*, 64:1928–1939.
- 285-SAGER H.; FISCHER I.; FURRER K.; STRASSER M.; WALDVOGEL A.; BOERLIN P.; AUDIGÉ L. et GOTTSSTEIN B., 2001. A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR; histopathology and serology. *Vet. Parasitol.*, 102:1–15.
- 286-SAGER H.; GLOOR M.; BJÖRKMAN C.; KRITZNER S. et GOTTSSTEIN B., 2003. Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. *Vet. Parasitol.*, 112:1–10.
- 287-SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; SÖNDGEN P.; RAUSER M.; SCHROEDER R.; PETERS M.; WURM R.; SELHORST T. et CONRATHS F.J., 2002. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet. Parasitol.*, 106:293–305.
- 288-SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; WURM R.; RAUSER M.; CONRATHS F.J. et SCHROEDER C., 2004. Adaptation of a commercial ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk. *Vet. Parasitol.*, 120:55–63.
- 289-SCHARES G.; BÄRWALD A.; STAUBACH C.; ZILLER M.; KLÖSS D.; WURM R.; RAUSER M.; LABOHM R.; DRÄGER K.; FASEN W.; HESS R.G. et CONRATHS F.J., 2003. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modeled by logistic regression. *Int. J. Parasitol.*, 33:1631–1640.
- 290-SCHARES G.; CONRATHS F.J. et REICHEL M.P., 1999. Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand. *Int. J. Parasitol.*, 29:1659–1667.
- 291-SCHARES G.; DUBREMETZ J.F.; DUBEY J.P.; BARWALD A.; LOYENS A. et CONRATHS F.J., 1999. *Neospora caninum*: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies. *Exp. Parasitol.*, 92(2):109–119.
- 292-SCHARES G.; HEYDORN A.O.; CÜPPERS A.; CONRATHS F.J. et MEHLHORN H., 2001. Cyclic transmission of *Neospora caninum*: serological findings in dogs shedding oocysts. *Parasitol. Res.*, 87:873–877.
- 293-SCHARES G.; PETERS M.; WURM R.; BÄRWALD A. et CONRATHS F.J., 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. *Vet. Parasitol.*, 80:87–98.
- 294-SCHARES G.; RAUSER M.; SÖNDGEN P.; REHBERG P.; BÄRWALD A.; DUBEY J.P.; EDELHOFER R. et CONRATHS F.J., 2000. Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, 30:1123–1130.
- 295-SCHARES G.; RAUSER M.; ZIMMER K.; PETERS M.; WURM R.; DUBEY J.P.; DE GRAAF D.C.; EDELHOFER R.; MERTENS C.; HESS G. et CONRATHS F.J., 1999. Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. *J. Parasitol.*, 85:688–694.
- 296-SCHARES G.; WENZEL U.; MÜLLER T. et CONRATHS F.J., 2001. Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Parasitol.*, 31:418–423.
- 297-SERRANO-MARTÍNEZ E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ A.; RODRÍGUEZ-BERTOS A.; CASAS-ASTOS E.; RISCO-CASTILLO V.; ROSADIO-ALCANTARA R. et ORTEGA-MORA L.M., 2007. Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted fetuses from Peru. *Vet. Parasitol.*, 150:39–45.
- 298-SIMPSON V.R.; MONIES R.J.; RILEY P. et CROMEY D.S., 1997. Foxes and neosporosis. *Vet. Rec.*, 141:503.
- 299-SLOTVED H.C.; JENSEN L. et LIND P., 1999. Comparison of the IFAT and iscom-ELISA response in bovine fetuses with *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, 29:1165–1174.
- 300-SÖNDGEN P.; PETERS M.; BÄRWALD A.; WURM R.; HOLLING F.; CONRATHS F.J. et SCHARES G., 2001. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Vet. Parasitol.*, 102:279–290.
- 301-SOTIRAKI S.; BROZOS C.; SAMARTZI F.; SCHARES G.; KIOSSIS E. et CONRATHS F.J., 2008. *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds detected by two antibody assays in individual milk samples. *Vet. Parasitol.*, 152:79–84.
- 302-SPENCER J.A.; WITHEROW A. K. et BLAGBURN B.L., 2000. A random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique that differentiates between *Neospora* species. *J. Parasitol.*, 86(6):1366–1368.
- 303-STAUBLI D.; SANDRA NUNEZ S.; SAGER H.; SCHARES G.; GOTTSSTEIN B., 2006. *Neospora caninum* immunoblotting improves serodiagnosis of bovine neosporosis. *Parasitol. Res.*, 99:648–658.
- 304-TANAKA T.; HAMADA T.; INOUE N.; NAGASAWA H.; FUJISAKI K.; SUZUKI N. et MIKAMI L., 2000. The role of CD4(+) or CD8(+) T cells in the protective immune response of BALB/c mice to *Neospora caninum* infection. *Vet. Parasitol.*, 90(3):183–191.
- 305-THATE F.M. et LAANEN S.C., 1998. Successful treatment of neosporosis in an adult dog. *Vet. Q.*, 20:S113–S114.
- 306-THILSTED J.P. et DUBEY J.P., 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of

- dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1(3):205-209
- 307-THURMOND M.C.; ANDERSON M.L. et BLANCHARD P.C., 1995. Secular and seasonal trends of *Neospora abortion* in California dairy cows. *J. Parasitol.*, 81:364-367.
- 308-THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210:672-674.
- 309-THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1997. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 58:1381-1385.
- 310-THURMOND M.C. et HIETALA S.K., 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 57:1559-1562.
- 311-THURMOND M. et HIETALA S.K., 1995. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. *Bovine Pract.*, 29:60-63.
- 312-THURMOND M.C.; HIETALA S.K. et BLANCHARD P.C., 1997. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 9:44-49.
- 313-TIWARI A.; VANLEEUWEN J.A.; DOHOO I.R.; STRYHN H.; KEEFE G.P. et HADDAD J.P., 2005. Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. *Vet. Microbiol.*, 109:147-158.
- 314-TOOLAN D.P., 2003. *Neospora caninum* abortion in cattle - a clinical perspective. *Irish Vet. J.*, 56:404-410.
- 315-TREES A.J.; DAVISON H.C.; INNES E.A. et WASTLING J.M., 1999. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.*, 29:1195-1200.
- 316-TREES A.J. et WILLIAMS D.J.L., 2005. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.* 21:558-561.
- 317-UGGLA A. et BUXTON D., 1990. Immune responses to *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. *Rev. Sci. Tech.*, 4:441-462
- 318-UGGLA A.; STENLUND S.; HOLMDAHL O.J.M.; JAKUBEK E.B.; THEBO P.; KINDAHL H. et BJÖRKMAN C., 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *Int. J. Parasitol.*, 28:1467-1472.
- 319-VANLEEUWEN J.A.; KEEFE G.P. et TIWARI A., 2002. Seroprevalence and productivity effects of infection with bovine leukemia virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in maritime Canadian dairy cattle. *Bovine Pract.* 36:86-91.
- 320-VARCASIA A.; CAPELLI G.; RUIU A.; LADU M.; SCALA A. et BJÖRKMAN C., 2006. Prevalence of *Neospora caninum* infection in Sardinian dairy farms (Italy) detected by iscom ELISA on tank bulk milk. *Parasitol. Res.*, 98:264-267.
- 321-VEMULAPALLI R.; SANAKKAYALA N.; GULANI J.; SCHURIG G.G.; BOYLE S.M.; LINDSAY D.S. et SRIRANGANATHAN N., 2007. Reduced cerebral infection of *Neospora caninum* in BALB/c mice vaccinated with recombinant *Brucella abortus* RB51 strains expressing *N. caninum* SRS2 and GRA7 proteins. *Vet. Parasitol.*, 148:219-230
- 322-VON BLUMRÖDER D.; SCHARES G.; NORTON R.; WILLIAMS D.J.L.; ESTEBAN-REDONDO I.; WRIGHT S.; BJÖRKMAN C.; FRÖSSLING J.; RISCO-CASTILLO V.; FERNÁNDEZ-GARCÍA A.; ORTEGA-MORA L.M.; SAGER H.; HEMPHILL A.; VAN MAANEN C.; WOUDA W. et CONRATHS F.J., 2004. Comparison and standardisation of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in bovines. *Vet. Parasitol.*, 120:11-22.
- 323-WALDNER C.L., 2005. Serological status for *Neospora caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Anim. Reprod. Sci.*, 90:219-242.
- 324-WALDNER C.L.; CUNNINGHAM G. et CAMPBELL J.R., 2004. Agreement between three serological tests for *Neospora caninum* in beef cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 16:313-315.
- 325-WALDNER C.L.; JANZEN E.D. et RIBBLE C.S., 1998. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 213:685-690.
- 326-WALSH C.P.; DUNCAN R.B.; ZAJAC A.M.; BLAGBURN B. L. et LINDSAY D.S., 2000. *Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils, and dogs. *Vet. Parasitol.*, 92(2):119-128
- 327-WAPENAAR W.; BARKEMA H.W.; SCHARES G.; ROUVINEN-WATT K.; ZEJLEMAKER L.; POORTER B.; O'HANDLEY R.M.; KWOK O.C.H. et DUBEY J.P., 2007. Evaluation of four serological techniques to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) in Prince Edward Island, Canada. *Vet. Parasitol.*, 145:51-58.
- 328-WILLIAMS J.H.; ESPIE I.; VAN WILPE E. et MATTHEE A., 2002. Neosporosis in a white rhinoceros (*Carototherium simum*) calf. *Tydskr. S. Afr. Vet. Ver.*, 73:38-43.
- 329-WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; MCGARRY J.W.; GUY F.; TASKER L.; SMITH R.F.; MACEACHERN K.; CRIPPS P.J.; KELLY D.F. et TREES A.J., 2000. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology*, 121:347-358.
- 330-WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; SMITH R.F.; ELLIS J.; BJÖRKMAN C.; REICHEL M.P. et TREES A.J., 2007. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. *Infect. Immun.*, 75:1343-1348.
- 331-WILLIAMS D.J.L.; GUY C.S.; SMITH R.F.; GUY F.; MCGARRY J.W.; MCKAY J.S. et TREES A.J., 2003. First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, 33:1059-1065.
- 332-WILLIAMS D.J.L.; MCGARRY J.; GUY F.; BARBER J. et TREES A.J., 1997. Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. *Vet. Rec.*, 140:328-331.
- 333-WILLIAMS D.J.L. et TREES A.J., 2006. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunol.*, 28:61-67.
- 334-WOODS L.W.; ANDERSON M.L.; SWIFT P.K. et SVERLOW K.W., 1994. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). *J. Vet. Diagn. Investig.*, 6:508-510.
- 335-WOUDA W., 2000. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet. Q.*, 22(2):71-74
- 336-WOUDA W.; BARTELS C.J.M. et MOEN A.R., 1999. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995-1997). *Theriogenology*, 52:233-245.
- 337-WOUDA W.; BRINKHOF J.; VAN MAANEN C.; DE GEE A.L.W. et MOEN A.R., 1998. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: a comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 5:711-716.
- 338-WOUDA W.; DUBEY J.P. et JENKINS M.C., 1997. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. *J. Parasitol.*, 83(3):545-547
- 339-WOUDA W.; MOEN A.R.; DAMSMA A.; VISSER I.J.R. et VAN KNAPEN F., 1994. Lesions and parasites in aborted fetuses. Repeated transplacental transmission. *Proc. Meet. Eur. Soc. Vet. Pathol.*, 12:29.
- 340-WOUDA W.; MOEN A.R. et SCHUKKEN Y.H., 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, 49:1311-1316.
- 341-WOUDA W.; MOEN A.R.; VISSER I.J.R. et VAN KNAPEN F., 1997. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *J. Vet. Diagn. Investig.*, 9:180-185.
- 342-WU J.T.; DREGER S.; CHOW E.Y. et BOWLBY E.E., 2002. Validation of 2 commercial *Neospora caninum* antibody enzyme linked immunosorbent assays. *Can. J. Vet. Res.*, 66:264-271.
- 343-YAMAGE M.; FLECHTNER O. et GOTTSSTEIN B., 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally-infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *J. Parasitol.*, 82:272-279.
- 344-YOUN H.J.; LAKRITZ J.; KIM D.V.; ROTTINGHAUS G.E. et MARSH A.E. 2003. Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, 116(1):7-14
- 345-YOUN H.J.; LAKRITZ J.; ROTTINGHAUS G.E.; SEO H.S.; KIM D.Y.; CHO M.H. et MARSH A.E., 2004. Anti-protozoal efficacy of high performance liquid chromatography fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.*, 125(3-4):409-414.
- 346-ZHANG W.; DENG C.; LIU Q.; LIU J.; WANG M.; TIAN K.G.; YU X.L. et HU D.M., 2007. First identification of *Neospora caninum* infection in aborted bovine fetuses in China. *Vet. Parasitol.*, 149:72-76.
- 347-ZHANG H.; LEE E.; LIAO M.; COMPAORE K.A.M.; ZHANG G.; KAWASE O.; FUJISAKI K.; SUGIMOTO C.; NISHIKAWA Y. et XUAN X. 2007. Identification of ribosomal phosphoprotein P0 of *Neospora caninum* as a potential common vaccine candidate for the control of both neosporosis and toxoplasmosis. *Mol. Bioch. Parasitol.*, 153:141-148.

