

Université de Montréal

ÉVALUATION DE LA PRÉVALENCE INDIVIDUELLE ET DE TROUPEAU DE
QUATRE PATHOGÈNES D'IMPORTANCE DANS LES TROUPEAUX
LAITIERS BIOLOGIQUES DU QUÉBEC

par

RAMANANTOANINA ANDRIAMIALISOA FALIARIJAONA

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoires présenté à la Faculté de médecine vétérinaire

en vue de l'obtention du grade de

maître ès sciences (M. Sc.)

en sciences vétérinaires

option sciences cliniques

Août 2011

© Ramanantoanina Andriamialisoa Faliarijaona, 2011

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

ÉVALUATION DE LA PRÉVALENCE INDIVIDUELLE ET DE TROUPEAU DE
QUATRE PATHOGÈNES D'IMPORTANCE DANS LES TROUPEAUX
LAITIERS BIOLOGIQUES DU QUÉBEC

présenté par

RAMANANTOANINA ANDRIAMIALISOA FALIARIJAONA

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Alain Villeneuve, président-rapporteur

David Francoz, directeur de recherche

Gilles Fecteau, codirecteur

Denis Vaillancourt, membre du jury

Résumé

INTRODUCTION La production biologique contribue de façon significative aux défis du développement durable. Les infections à *Mycobacterium avium* sous-espèce *paratuberculosis* (MAP), *Neospora caninum* (NC), au virus de la diarrhée virale bovine (BVD) et au virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) sont bien reconnues pour affecter de manière significative la production dans les élevages laitiers. Il n'existe toutefois aucune donnée sur l'importance de ces pathogènes dans les troupeaux biologiques.

HYPOTHESE Ces quatre pathogènes sont présents dans les troupeaux laitiers biologiques, mais leur prévalence est moindre par rapport à l'élevage conventionnel.

OBJECTIFS Estimer les séroprévalences de NC, MAP, BVD, IBR dans les troupeaux laitiers biologiques québécois.

MÉTHODOLOGIE Dans la province du Québec, 60 troupeaux laitiers biologiques ont été sélectionnés aléatoirement. Un échantillon sanguin a été prélevé sur 30 vaches adultes, pour l'évaluation de NC et MAP, et sur 5 animaux plus de 6 mois non vaccinés, pour l'évaluation de BVD et IBR. Une détection d'anticorps par ELISA, pour NC et MAP, et par séroneutralisation pour BVD et IBR a été réalisée sur les sérums obtenus. Un questionnaire a été rempli par chaque éleveur.

RÉSULTATS La séroprévalence individuelle de NC et MAP, avec un intervalle de confiance de 95%, étaient de 4.1% (3.2%-5.2%) et 0.8% respectivement (0.0%-1.3%). La séroprévalence de troupeau de NC, MAP, BVD, IBR, si au moins un animal est positif dans un troupeau étaient de 50.8%, 20.3%, 37.3%, 31.0% respectivement. Ces séroprévalences étaient de 30.5%, 3.4%, 28.8% et 18.9%, respectivement, si au moins deux animaux sont positifs. La taille du troupeau a un effet significatif sur le statut de BVD ($p=0.02$) et il y a une bonne corrélation entre le statut BVD et IBR (Kappa-0.54).

DISCUSSION/CONCLUSION La séroprévalence individuelle de NC, MAP, IBR semblent être moindre dans les troupeaux laitiers biologiques comparativement au conventionnel. Il ne semble pas y avoir de grandes différences entre la séroprévalence du BVD des troupeaux biologiques et celle des conventionnels.

Mots clés : Prévalence, pathogènes, troupeaux, biologiques, Québec

Abstract

INTRODUCTION Organic herds are important component of sustainable development. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), *Neospora caninum* (NC), bovine viral diarrhoea (BVD) virus and infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus infections are well known to have major impact on dairy production. However, there are actually no data on the prevalence of these pathogens in organic dairy herds.

HYPOTHESIS These four pathogens are present among cattle organic herds but their prevalence is less than among conventional cattle herds.

OBJECTIVE To evaluate the seroprevalence of NC, MAP, BVD, IBR in cattle organic herds in Québec province.

METHODOLOGY In the province of Québec, 60 organic herds were randomly sampled. Thirty adult cows, to estimate NC and MAP, and 5 unvaccinated animals more than 6 months old, for BVD and IBR, were bled. An ELISA test, for NC and MAP, and seroneutralisation test for BVD and IBR were used to analyse the serum. A questionnaire was filled in by farmers.

RESULTS Individual prevalence of NC and MAP (IC=95%) were 4.1% (3.2%-5.2%) and 0.8% (0.0%-1.3%) respectively. Herd level prevalence of NC, MAP, BVD, IBR, based on a herd-test cut point of 1 positive animal, were 50.8%, 20.3%, 37.3%, and 31.0% respectively. Based on a herd-test cut point of 2 positive animals, these prevalence were 30.5%, 3.4%, 28.8% and 18.9% respectively. Herd size was significantly associated with BVD herd prevalence ($p=0.02$).... There was a good correlation between herd prevalence of BVD and herd prevalence of IBR (Kappa=0.54).

DISCUSSION/CONCLUSION Prevalence of NC, MAP, and IBR seem to be less among cattle organic herds than in cattle conventional herds. It seems that there is no difference between prevalence of BVD among organic herds and conventional herds.

Key words: Prevalence, pathogens, herds, organic, Québec

TABLES DES MATIÈRES

Résumé	i
Abstract	ii
Table des matières	iii
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xiii
Liste des sigles et des abréviations	xiv
Dédicace	xv
Remerciements	xvi
Introduction	1
Revue de littérature	2
1. La néosporose	2
1.1. Données épidémiologiques.....	3
1.1.1. Prévalences.....	3
1.1.2. Importance économique.....	5
1.1.3. Mode de transmission.....	5
1.1.4. Facteurs de risques.....	7
1.1.4.1. Âge des bovins.....	7
1.1.4.2. Hôtes définitifs (chiens).....	8
1.1.4.3. Hôtes intermédiaires autres que bovins.....	9
1.1.4.4. Pâturage, eau potable.....	9
1.1.4.5. Utilisation du colostrum ou lait.....	10
1.1.4.6. Densité de stockage des bovins.....	10
1.1.4.7. Taille du troupeau.....	10

1.1.4.8.	Source des génisses de remplacement.....	11
1.1.4.9.	Infection concomitante.....	11
1.1.4.10.	Race des bovins et conduite d'élevage.....	12
1.1.4.11.	Facteurs agroécologiques.....	12
1.2.	Signes cliniques.....	13
1.3.	Procédures diagnostiques.....	13
1.3.1.	La sérologie.....	14
1.3.1.1.	Technique d'immunofluorescence indirecte (IFAT).....	14
1.3.1.2.	Tests immunoenzymatiques (ELISA).....	14
1.3.1.3.	Immunobuvardage.....	15
1.3.1.4.	Agglutination directe.....	15
1.3.2.	Méthodes de détection des parasites.....	16
1.3.2.1.	Histopathologie.....	16
1.3.2.2.	Immunohistochimie.....	16
1.3.2.3.	Amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	16
1.3.3.	Stratégies de diagnostic.....	17
1.4.	Traitement.....	17
1.5.	Méthodes de prévention et de contrôle.....	18
1.5.1.	Prévention de l'introduction de l'infection dans l'élevage.....	18
1.5.2.	Identification et élimination des animaux infectés.....	18
1.5.3.	Vaccination.....	18
2.	La paratuberculose ou maladie de Johne.....	19
2.1.	Données épidémiologiques.....	19
2.1.1.	Prévalence.....	19
2.1.2.	Importance économique.....	22

2.1.3.	Mode de transmission.....	22
2.1.3.1.	Mode de transmission horizontale.....	22
2.1.3.2.	Mode de transmission verticale.....	23
2.1.4.	Facteurs de risques.....	23
2.1.4.1.	Vêlage.....	23
2.1.4.2.	Colostrum et lait.....	24
2.1.4.3.	Logement des veaux.....	24
2.1.4.4.	Achat d'animaux.....	24
2.1.4.5.	Taille du troupeau.....	25
2.1.4.6.	Contact entre animaux.....	25
2.1.4.7.	Race des bovins.....	25
2.1.4.8.	Infection concomitante.....	26
2.1.4.9.	Pâturage.....	26
2.1.4.10.	Facteurs de risque agroécologiques.....	26
2.2.	Signes cliniques.....	27
2.2.1.	Infection silencieuse (Stade I).....	27
2.2.2.	Forme subclinique (Stade II).....	27
2.2.3.	Forme clinique (Stade III).....	27
2.2.4.	Forme clinique avancée (Stade IV).....	28
2.3.	Le diagnostic de la paratuberculose.....	28
2.3.1.	Détection directe de l'organisme.....	28
2.3.1.1.	Culture.....	28
2.3.1.2.	Amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	29
2.3.1.3.	Biopsie.....	29
2.3.2.	Mise en évidence de la réponse immunitaire de l'organisme : la	30

sérologie.....	
2.3.2.1. Tests ELISA.....	30
2.3.2.2. Immunodiffusion sur gel d'agar (AGID).....	30
2.3.3. Stratégies de diagnostic.....	31
2.4. Traitement.....	32
2.5. Mesures de contrôles.....	32
2.5.1. Prévention de nouvelles infections – Biosécurité.....	32
2.5.2. Diminution de la prévalence d'une infection existante.....	33
3. La diarrhée virale bovine.....	34
3.1. Données épidémiologiques.....	34
3.1.1. Prévalence.....	34
3.1.2. Impact économique.....	36
3.1.2.1. Perte directe.....	36
3.1.2.2. Perte indirecte.....	37
3.1.3. Mode de transmission.....	37
3.1.3.1. Transmission directe.....	37
3.1.3.2. Transmission indirecte.....	38
3.1.4. Facteurs de risques.....	38
3.1.4.1. Achat de nouveaux animaux.....	38
3.1.4.2. Contact avec d'autres animaux.....	39
3.1.4.3. Région et gestion des pâturages.....	39
3.1.4.4. Taille du troupeau.....	39
3.1.4.5. Race, âge et sexe des animaux.....	40
3.1.4.6. Personnel de la ferme.....	40
3.2. Signes cliniques.....	41

3.2.1.	Vaches gestantes.....	41
3.2.2.	Forme aiguë de BVD.....	41
3.2.3.	Maladie des muqueuses.....	42
3.3.	Procédures diagnostiques.....	43
3.3.1.	Détection du virus.....	43
3.3.1.1.	Isolement du virus.....	43
3.3.1.2.	Tests ELISA.....	43
3.3.1.3.	Méthode immunohistochimique.....	43
3.3.1.4.	Amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	44
3.3.2.	Détection d'anticorps : sérologie.....	44
3.3.2.1.	Test de séroneutralisation.....	44
3.3.2.2.	Tests ELISA.....	44
3.3.3.	Stratégie de diagnostic.....	44
3.4.	Traitement.....	45
3.5.	Mesures de prévention et de contrôles.....	45
3.5.1.	Prévention de l'introduction de l'infection dans le troupeau (biosécurité).....	45
3.5.2.	Identification et élimination des animaux IT du troupeau.....	46
3.5.3.	Vaccination.....	46
4.	La Rhinotrachéite infectieuse bovine.....	47
4.1.	Données épidémiologiques.....	47
4.1.1.	Prévalence.....	47
4.1.2.	Importance économique.....	48
4.1.3.	Mode de transmission.....	48
4.1.4.	Facteurs de risques.....	49

4.1.4.1. Âge des animaux.....	49
4.1.4.2. Sexe des animaux.....	50
4.1.4.3. Achat, introduction de nouveaux animaux.....	50
4.1.4.4. Taille du troupeau.....	50
4.1.4.5. Visiteurs, travailleurs, équipements de protection.....	51
4.1.4.6. Infection concomitante.....	51
4.2. Signes cliniques.....	52
4.2.1. Forme respiratoire.....	52
4.2.2. Forme oculaire.....	52
4.2.3. Forme génitale.....	53
4.2.4. Forme encéphalique.....	53
4.2.5. Maladie systémique chez les veaux nouveau-nés.....	53
4.3. Procédures diagnostiques.....	54
4.3.1. Détection du virus.....	54
4.3.1.1. Isolement du virus.....	54
4.3.1.2. Histopathologie.....	54
4.3.1.3. Amplification en chaîne par polymérase (PCR).....	54
4.3.1.4. Microscopie électronique.....	55
4.3.2. Détection des anticorps.....	55
4.3.2.1. Tests ELISA.....	55
4.3.2.2. Tests de séroneutralisation.....	55
4.4. Traitement.....	56
4.5. Méthodes de prévention et de contrôle.....	56
4.5.1. Biosécurité.....	56
4.5.2. Vaccination.....	56

5. L'élevage laitier biologique	57
5.1. L'élevage laitier biologique dans le monde.....	57
5.2. L'élevage laitier biologique au Canada.....	58
5.3. Certification biologique et normes de l'élevage laitier biologique.....	58
Méthodologie	61
1. Sélection des troupeaux.....	61
2. Sélection des animaux.....	62
3. Visites des troupeaux et prélèvements.....	63
4. Questionnaire.....	63
5. Analyses de laboratoire.....	64
5.1. Néosporose.....	64
5.2. Paratuberculose.....	65
5.3. Diarrhée virale bovine.....	65
5.4. Rhinotrachéite infectieuse bovine.....	66
6. Analyses statistiques.....	66
6.1. Séroprévalence des agents infectieux.....	66
6.1.1. Séroprévalence individuelle.....	66
6.1.2. Séroprévalence de troupeaux.....	67
6.1.2.1. Néosporose.....	67
6.1.2.2. Paratuberculose.....	67
6.1.2.3. Diarrhée virale bovine.....	67
6.1.2.4. Rhinotrachéite infectieuse bovine.....	68
6.2. Analyses des facteurs de risque associés aux maladies.....	68
Résultats	70
1. Description des troupeaux.....	70

2. Séroprévalence des agents infectieux.....	73
2.1. Néosporose.....	73
2.2. Paratuberculose.....	74
2.3. Diarrhée virale bovine.....	75
2.4. Rhinotrachéite infectieuse bovine.....	77
3. Analyses des facteurs de risque associés aux maladies.....	78
Discussion	79
1. Séroprévalence de la néosporose.....	79
2. Séroprévalence de la paratuberculose.....	80
3. Séroprévalence de la diarrhée virale bovine.....	82
4. Séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine.....	83
5. Les problèmes de santé dans les troupeaux laitiers biologiques.....	84
6. Facteurs de risques.....	84
6.1. Taille du troupeau.....	84
6.2. Autres facteurs de risque.....	85
7. Statut des maladies.....	86
8. Études transversales.....	86
Conclusion	88
Bibliographie	89
Annexes	xvii

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I Séroprévalence de la néosporose de bovin laitier dans différents pays du monde.....	3
Tableau II Séroprévalence de la néosporose de bovin laitier au Canada.....	4
Tableau III Séroprévalence de la paratuberculose de bovin laitier dans différents pays du monde.....	20
Tableau IV Séroprévalence de la paratuberculose de bovin laitier au Canada.....	21
Tableau V Tests de diagnostics de la paratuberculose selon les stades de la maladie.....	31
Tableau VI Séroprévalence de la diarrhée virale bovine parmi les bovins laitiers dans différents pays du monde.....	35
Tableau VII Séroprévalence de la diarrhée virale bovine parmi les bovins laitiers au Canada.....	36
Tableau VIII Séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine de bovin laitier dans différents pays du monde.....	48
Tableau IX L'importance de l'agriculture biologique dans différents pays du monde (2005).....	57
Tableau X Répartition des troupeaux laitiers biologiques et des troupeaux participants selon les différentes régions administratives du Québec.....	70
Tableau XI Les problèmes de santé dans les troupeaux laitiers biologiques au Québec.....	72
Tableau XII Nombre de troupeaux et d'échantillons testés.....	73

Tableau XIII Séroprévalence de troupeau de BVD, BVD type I, BVD type II dans les troupeaux laitiers biologiques.....	76
--	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Mode de transmission connus de la néosporose.....	6
Figure 2 Agrandissement au microscope de germes de <i>M. paratuberculosis</i> adhérents à la zone pellucide (ZP).....	29
Figure 3 Signes cliniques de la diarrhée virale bovine selon le stage de la gestation.....	43
Figure 4 Données sur l'élevage laitier biologique au Canada.....	58
Figure 5 Répartition des troupeaux laitiers biologiques inclus dans l'étude selon le nombre d'année de certification.....	71
Figure 6 Nombre d'animaux séropositifs à NC par troupeau.....	74
Figure 7 Nombre d'animaux séropositifs au MAP par troupeau.....	75
Figure 8 Nombre d'animaux séropositifs au BVD par troupeau.....	76
Figure 9 Nombre d'animaux séropositifs à l'IBR par troupeau.....	77

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

BHV-1 : herpesvirus bovin type 1

BHV-1.1 : herpesvirus bovin type 1 sous type 1

BHV-1.2 : herpesvirus bovin type 1 sous type 2

BHV-1.3 : herpesvirus bovin type 1 sous type 3

BVD : diarrhée virale bovine

ELISA : méthode immunoenzymatique

IC : intervalle de confiance

IBR : rhinotrachéite infectieuse bovine

IFAT : technique d'immunofluorescence indirecte

IT : animaux immunotolérants au virus de BVD

MAP : *Mycobacterium avium* sous espèce *paratuberculosis*

NC : *Neospora caninum*

PCR : amplification en chaîne par polymérase

SN : essai par séroneutralisation

VBVD : virus de la diarrhée virale bovine

DÉDICACE

A mon Dieu, mon Créateur, ...

A ma famille, ...

REMERCIEMENTS

Un grand remerciement à Docteur Alain Villeneuve pour avoir accepté la présidence de ce jury de maîtrise.

Mes sincères remerciements à Docteur David Francoz d'avoir dirigé ce travail de maîtrise; merci pour sa patience, sa générosité et sa confiance.

Mes sincères remerciements à Docteur Gilles Fecteau d'avoir codirigé ce travail de maîtrise; merci pour sa disponibilité, sa détermination et son humour.

Un grand remerciement à docteur Denis Vaillancourt pour avoir accepté de participer à ce jury de maîtrise.

Merci à François Dubois pour son précieuse aide pendant le projet.

Merci aux techniciens du laboratoire du LEAQ et du laboratoire de la FMV pour votre professionnalisme et votre dynamisme.

Merci à Guy Beauchamp pour m'avoir aidé avec patience pour le volet statistique de ce projet.

Je tiens à remercier l'organisme subventionnaire et toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont aidé à effectuer ce travail de maîtrise

INTRODUCTION

La production laitière biologique au Canada a connu de grand développement ces dix dernières années. Le nombre de troupeaux laitiers biologiques, en 2009, était de 106 ce qui représentait une augmentation de 76% par rapport à 2004 (Grenier 2006). Dans la province du Québec la production de lait biologique est passée de 5 millions de litres à 24 millions de litres, de 1999 à 2006. Si avant 2005 une partie de la production de lait biologique de la province du Québec était exportée vers d'autres provinces, depuis 2006 cette production suffit à peine à la demande au Québec (Grenier 2006).

Plusieurs maladies infectieuses peuvent engendrer des pertes économiques sous forme de réduction de la productivité ou de mortalité. En plus, certaines infections sont soupçonnées d'être transmissibles aux humains. Il est alors utile de connaître le statut sanitaire des troupeaux. Si plusieurs études ont été effectuées pour déterminer le statut sanitaire des troupeaux laitiers conventionnels au Québec, celui des troupeaux laitiers biologiques reste encore inconnu. Les normes d'élevage ainsi que certaines caractéristiques, par exemple le mode de production, la gestion des génisses, le pâturage des animaux, peuvent être différents dans ces deux types d'élevage. Ces derniers peuvent représenter des facteurs de risques pour des maladies. Ceci porterait à croire que les facteurs de risques associés aux maladies dans les troupeaux bovins conventionnels seraient différents de ceux dans les troupeaux bovins laitiers biologiques. Les études épidémiologiques peuvent identifier ces facteurs de risque.

REVUE DE LITTÉRATURE

1. La néosporose

Neospora caninum (NC), un parasite protozoaire du phylum Apicomplexa, de la famille des Sarcocystidae, est l'agent infectieux de la néosporose. *N. caninum* infecte les chiens et les bovins, et presque tous les animaux domestiques. Les chiens et les coyotes sont les seuls hôtes définitifs connus et les bovins sont reconnus comme les principaux hôtes intermédiaires (Gondim, McAllister et al. 2004; Radostits, Done et al. 2007). NC fut isolé pour la première fois, en Norvège, chez le chien en 1984 (Bjerkas, Mohn et al. 1984). En Angleterre en 1987, O'Toole et Jeffrey avaient suspecté qu'un nouveau type de protozoaire était la cause d'avortements chez les vaches (O'Toole and Jeffrey 1987). Dubey et al. décrivent pour la première fois la néosporose chez les chiens en 1988.

Au Canada, le premier cas clinique de néosporose a été signalé en Alberta en 1994, chez un veau âgé de 3 jours présentant des signes cliniques neurologiques (Bryan, Gajadhar et al. 1994). Des examens histopathologiques avait révélé des kystes et des lésions dans les tissus du système nerveux central. Les premiers avortements causés par NC au Canada ont été observés en Ontario en 1994 dans un troupeau laitier où 15 vaches sur 80 ont avorté en une période de 18 jours. Des lésions typiques de NC, à partir de tissus d'avortons, ont été mises en évidence et le diagnostic a été confirmé par méthode de coloration immunohistochimique (Duivenvoorden and Lusi 1995). La plus grande importance de la néosporose réside dans son association à l'avortement épidémique et endémique chez les bovins (Radostits, Done et al. 2007), mais des infections naturelles sont également décrites chez les moutons, les chèvres et les cerfs (Dubey 1999).

1.1. Données épidémiologiques

1.1.1. Prévalence

Des études ont été effectuées dans de nombreux pays pour identifier l'infection à NC (voir tableau I). La séroprévalence individuelle de l'infection varie de 5.5% (Kyaw, Virakul et al. 2004) à 46% (Razmi, Mohammadi et al. 2006) et la séroprévalence de troupeau peut atteindre 100% (Razmi, Mohammadi et al. 2006).

Tableau I : Séroprévalence de la néosporose chez le bovin laitier dans différents pays du monde

Pays	Réfere.¹	Nb. vaches²	Nb. Troup.³	Anim. sérop.⁴	Troup. 1 sérop.⁵	Test
Brésil	Aguiar 2006	2109	86	10.4%	72.1%	IFAT
Uruguay	Banales 2006	4444	229	13.2%	73.8%	ELISA
Iran	Razmi 2006	337	30	46%	100%	ELISA
Italie	Rinaldi 2005	864	81	30.8%	77.8%	ELISA
Thaïlande	Kyaw 2004	549	59	5.5%	33.9%	ELISA
Japon	Koiwai 2006	2420	-	5.7%	-	IFAT

¹ Références. ² Nombre de vaches testées. ³ Nombre de troupeaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec 1 animal séropositif.

Dans les différentes provinces du Canada plusieurs études ont été effectuées pour évaluer la séroprévalence de l'infection à NC parmi les bovins laitiers.

Au Canada, la séroprévalence individuelle de l'infection à NC varie de 5.6% à 25.5% et la séroprévalence de troupeau varie de 44.0% à 98.7% selon que l'on considère le troupeau positif à partir d'un animal séropositif ou de deux animaux séropositifs (voir tableau II).

Les résultats de l'évaluation de la séroprévalence de l'infection à NC dépendent de plusieurs facteurs entre autres le mode d'échantillonnage (aléatoire ou non) des animaux, les caractéristiques (sensitivité, spécificité...) du test sérologique utilisé.

Tableau II : Séroprévalence de la néosporose chez le bovin laitier au Canada.

Province	Référe.¹	Nb. vaches²	Nb. troupe.³	Anim. sérop.⁴	Tr. 1 sérop⁵	Tr. 2 sérop⁶	Test
Alberta	Scott 2006	2816	77	18.5%	98.7%	88.5%	ELISA
Saskatch.	Vanleeu. 2005	1530	51	5.6%	71.0%	44.0%	ELISA
Manitoba	Vanleeu. 2006	1425	49	9.1%	85.7%	65.2%	ELISA
N. Bruns.	Haddad 2005	900	30	25.5%	90.0%	-	ELISA
N. Écosse	Haddad 2005	900	30	21.3%	83.0%	-	ELISA
I.P. Édouard	Haddad 2005	900	30	10.4%	63.0%	-	ELISA
Québec	Paré 1998	1463*	22	7.5%	73.0%	-	ELISA

*Estimation car le nombre exact du groupe contrôle n'est pas disponible.

¹ Références. ² Nombre de vaches testées. ³ Nombre de troupeaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif. ⁶ Troupeaux avec deux animaux séropositifs.

Pour le test ELISA, les trousseaux du laboratoire IDEXX ont été utilisés en Alberta et au Manitoba, celle de WT-IHCA au Nouveau Brunswick, en Nouvelle Écosse et à l'Île du prince Édouard. Au Saskatchewan et au Québec celle du laboratoire BIOVET.

1.1.2. Importance économique

Les pertes économiques sont associées aux coûts directs liés aux avortements et aux coûts indirects liés aux diagnostics et au remplacements des animaux (Radostits, Done et al. 2007). De plus, les vaches séropositives pourraient produire moins de lait par rapport aux vaches séronégatives (Thurmond, Hietala et al. 1997; Dubey 1999; Hernandez, Risco et al. 2001). Cependant, cette différence de production de lait entre les animaux séropositifs et séronégatifs n'est pas significative dans un troupeau sans problème d'avortement (Hobson, Duffield et al. 2002). Les estimations des pertes économiques associées aux avortements liés à NC sont de 35 millions \$US par an en Californie, 85 million \$AUS par an pour les bovins laitiers et 25 millions \$AUS par an pour les bovins de boucherie en Australie, et de 17.8 millions \$NZ par an pour l'industrie laitière en Nouvelle Zélande (Reichel and Ellis 2002). Au Canada les pertes annuelles dues à l'infection à NC sont estimées à 2304\$CAN par troupeau infecté, avec une taille moyenne de troupeau de 50 vaches et une prévalence intratroupeau moyenne de 24% (Tiwari, Vanleeuwen et al. 2007).

1.1.3. Mode de transmission

Le cycle de *N. caninum* nécessite l'infection d'un hôte intermédiaire (assurant la multiplication asexuée du parasite) et d'un hôte définitif (hébergeant la multiplication sexuée) (Dubey, Schares et al. 2007). Les modes de transmission du parasite ne sont pas entièrement connus. La figure suivante résume les modes de transmissions connus du parasite. (Paré, Fecteau et al. 1998)

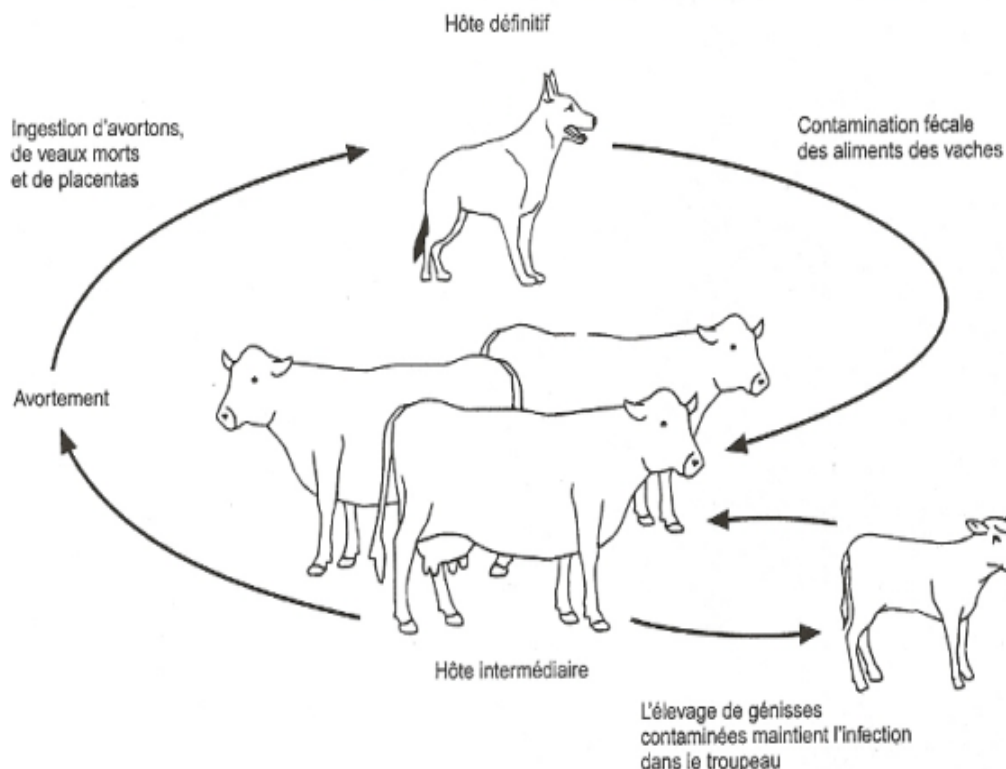


Figure 1 : Mode de transmission connu de la néosporose (Adapté de Paré, Fecteau et al. 1998).

Le chien est l'hôte définitif de NC. Comme hôte définitif, il répand des ookystes dans l'environnement. Dans l'environnement et dans l'intestin de son hôte définitif NC se trouve sous forme d'ookystes (Haddad, Dohoo et al. 2005) et peut former des kystes dans les différents tissus de ses hôtes intermédiaires (Dubey, Lindsay et al. 1996). La durée exacte de survie des ookystes dans l'environnement n'est pas clairement définie (Radostits, Done et al. 2007).

Les hôtes intermédiaires, tels que bovins, chats, félidés sauvages, buffles d'eau, chameaux, lamas, ingèrent les ookystes trouvés dans la nourriture et l'eau contaminées par les fèces de chiens (Haddad, Dohoo et al. 2005). Chez les hôtes intermédiaires, les tachyzoïtes (stade asexué) formées à partir des ookystes peuvent être localisés dans différentes cellules comme les cellules

nerveuses, les macrophages, les fibroblastes, les hépatocytes et les tissus musculaires (Dubey, Lindsay et al. 1996) ou encore dans le placenta des vaches gestantes (Shivaprasad, Ely et al. 1989). Les tachyzoites présents dans les tissus placentaires (ou les bradyzoites dans les kystes), si consommés par les chiens, se développent dans l'intestin de ce dernier, qui commence à répandre des ookystes, ce qui complète le cycle de la transmission horizontale de la maladie (Dijkstra, Eysker et al. 2001).

Dans des conditions de contamination expérimentale, le coyote (*Canis latrans*) et le dingo (*Canis lupus dingo*) excrétaient des ookystes de NC (Gondim, McAllister et al. 2004; King, Slapeta et al. 2010).

Expérimentalement, les veaux négatifs au test ELIA dans le sérum, nourris au colostrum contenant des tachyzoites séroconvertissent. On ne sait toutefois pas si, de façon naturelle, le colostrum d'une mère contaminée infecterait les veaux (Uggla, Stenlund et al. 1998).

La transmission verticale – de mère en fille - se produit chez les bovins et les chiens, et il s'agit du principal mode de transmission du parasite chez ces animaux (Schaes, Peters et al. 1998). La probabilité qu'une mère séropositive donne naissance à des animaux séropositifs (avant la consommation de colostrum) est élevée (Waldner, Henderson et al. 2001). La réactivation de l'infection à NC chez les vaches gestantes pourrait faire augmenter le taux de transmission verticale dans ces troupeaux (Bergeron, Fecteau et al. 2000).

Facteurs de risques

1.1.3.1. Âge des bovins

Le risque d'être séropositif à NC peut augmenter avec l'âge ou le nombre de gestation chez les bovins de boucherie et laitiers (Davison, Otter et al. 1999; Jensen, Bjorkman et al. 1999). Au Costa Rica, les résultats d'une étude de la séroprévalence de la néosporose parmi les troupeaux laitiers montrent que les vaches de plus de 3 ans ont un plus grand taux de séropositivité (Romero,

Perez et al. 2002). En Italie, les vaches et les taures ont une plus haute séroprévalence à NC par rapport aux veaux (Rinaldi, Fusco et al. 2005). Toutefois, une étude menée dans des troupeaux de bovins de boucherie, en Argentine, a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre la séroprévalence des taures gestantes et des vaches, suggérant que l'âge des animaux peut ne pas être un facteur important dans l'occurrence de la néosporose chez des animaux aux pâturages (Moore, Perez et al. 2009). Au Canada, Waldner et al. (1998) ont trouvé un effet négatif de l'âge sur la prévalence de la néosporose des bovins laitiers (Waldner, Janzen et al. 1998). La pratique dans les troupeaux de boucherie, comme la réforme des animaux avec des antécédents d'avortement, pourrait expliquer ces différences (Davison, French et al. 1999). Il est possible que l'effet de l'âge soit influencé par la variation de la probabilité de la transmission horizontale (le risque d'ingérer des ookystes), par la différence des taux de remplacement des animaux dans les différentes régions, et la conduite d'élevage comme la réforme des animaux séropositifs (Bartels, Arnaiz-Seco et al. 2006).

1.1.4.2. Hôtes définitifs (chiens)

Dans plusieurs études chez les bovins laitiers, la présence de chiens dans les fermes, au moment de l'étude ou pendant les dix dernières années avant l'étude (Paré, Fecteau et al. 1998), ou le nombre de chiens à la ferme (Paré, Fecteau et al. 1998; Mainar-Jaime, Thurmond et al. 1999; Corbellini, Smith et al. 2006) étaient des facteurs de risques de séropositivité. Plusieurs études ont trouvé une association positive significative entre la prévalence de NC et la présence de chiens dans les fermes et ceci qu'ils mangent ou non les placentas ou fœtus (Paré, Fecteau et al. 1998; Vanleeuwen, Haddad et al. 2010). Au Canada, en France, en Espagne, aux Pays-Bas, au Mexique, en Italie et en Jordanie la présence de chiens dans les fermes est associée significativement à une augmentation des taux d'anticorps sériques contre NC des bovins (Paré, Fecteau et al. 1998; Dubey, Schares et al. 2007; Gonzalez-Warleta, Castro-Hermida et al. 2008; Abo-Shehada and Abu-Halaweh 2010). Le risque, pour

chaque chien à la ferme, que le troupeau ait des avortements dus à NC augmente de 2.8 fois (Hobson, Duffield et al. 2002). La fréquence de défécation des chiens dans les mangeoires des bovins est significativement associée aux avortements dus à NC (Vanleeuwen, Haddad et al. 2010). La défécation des chiens dans les allées de l'étable, dans les entrepôts des nourritures des bovins (ensilage, foin) est associée significativement à la séroprévalence de l'infection à NC des bovins (Dijkstra, Eysker et al. 2001).

1.1.4.3. Hôtes intermédiaires autres que les bovins

Dans une étude sur la prévalence de la néosporose chez 42 troupeaux laitiers en France, 27 troupeaux positifs avaient des contacts avec des lapins, canards et des volailles (Ould-Amrouche, Klein et al. 1999). Une étude au Danemark a observé une association significative entre les épisodes d'avortements dus à NC et le nombre de volailles sur les fermes (Bartels, Wouda et al. 1999). Hobson et al. (2005) ont trouvé une association significative entre le nombre de chevaux dans les fermes et l'occurrence des avortements dus à NC. Ces résultats seraient une indication de la relation entre la densité et le contact des animaux de différentes espèces dans une ferme et l'occurrence des avortements dus à NC.

1.1.4.4. Pâturage, eau potable

Aux États-Unis et en Italie l'utilisation d'un pâturage des bovins en été est un facteur protecteur contre NC (Otranto, Llazari et al. 2003; Sanchez, Morales et al. 2003). En effet, même si les canidés ont accès au pâturage, le risque de contamination du pâturage par les ookystes serait très bas, vu la grande surface de pâturage, où les ookystes peuvent ne pas survivre s'il fait très chaud et sec (Dubey, Schares et al. 2007). En France, l'utilisation de puits, au lieu de l'eau du réseau public, comme source d'eau potable pour les bovins, est un facteur de risque de la néosporose pour les bovins (Ould-Amrouche, Klein et al. 1999).

1.1.4.5. *Utilisation de colostrum ou lait*

Des études expérimentales montrent que les nouveau-nés peuvent s'infecter en ingérant du lait contenant des tachyzoïtes (Uggla, Stenlund et al. 1998; Davison, Guy et al. 2001). Toutefois, une vache séropositive qui allaite un veau, né d'une mère séronégative, ne transmet pas l'infection à ce dernier (Davison, Guy et al. 2001). La transmission naturelle de NC par le lait n'est pas encore prouvée (Dubey, Schares et al. 2007).

1.1.4.6. *Densité de stockage des bovins*

Aux États-Unis, la forte densité de stockage est un facteur de risque de NC pour les bovins de boucherie (Barling, Sherman et al. 2000; Sanderson, Gay et al. 2000). De telles fermes utilisent plusieurs grands entrepôts de nourriture pour les bovins, qui peuvent attirer des rongeurs. Ceci pourrait augmenter le risque de contamination des entrepôts par les fèces des hôtes définitifs de NC, qui augmenterait le risque d'infection postnatale (Barling, Sherman et al. 2000).

1.1.4.7. *Taille du troupeau*

Des études ont trouvé une association significative entre la taille du troupeau et la séroprévalence de la néosporose. Au Brésil, les troupeaux qui ont plus de 25 vaches ont 9.7 fois plus de chance d'avoir des vaches séropositives que les troupeaux de moins de 25 vaches (Aguilar, Cavalcante et al. 2006); la risque qu'un troupeau ait un résultat positif au test sérologique du lait de réservoir augmente avec la taille du troupeau (Scharès, Barwald et al. 2004). Ces résultats pourraient indiquer que les plus grands troupeaux sont plus à risque que les plus petits dans la dissémination de NC dans une région donnée. On pourrait expliquer cette association par le fait que les plus grands troupeaux ont plus de chance de s'infecter de NC par l'achat de plus de génisses de remplacement par rapport aux plus petits troupeaux (Scharès, Barwald et al. 2004). Par contre d'autres études n'ont pas trouvé d'association significative entre la taille du troupeau et la séroprévalence de la néosporose (Banales, Fernandez et al. 2006; Scott, Sorensen et al. 2007).

1.1.4.8. Source des génisses de remplacement

L'élevage des génisses de remplacement au sein d'un troupeau infecté par NC, au lieu de les acheter d'un troupeau exempt, peut faire persister la prévalence de la maladie pendant plusieurs années dans le troupeau (Stenlund, Kindahl et al. 2003; Frossling, Ugglå et al. 2005). Si la prévalence de NC est plus haute dans la ferme qui achète les génisses, par rapport à la ferme qui les vend, l'achat des génisses de remplacement réduirait la prévalence de l'infection dans la première ferme (Dubey, Schares et al. 2007).

1.1.4.9. Infection concomitante

Plusieurs auteurs ont suspecté que des infections concomitantes pourraient provoquer une immunosuppression, permettant ainsi une recrudescence de la néosporose chez les animaux avec une infection latente de NC. Néanmoins, la séroprévalence de troupeau à Herpesvirus bovin 1, *Leptospira hardjo*, *Salmonella dublin*, n'est pas associée aux risques d'épidémie d'avortements dans les troupeaux laitiers au Danemark (Bartels, Wouda et al. 1999). L'augmentation des risques d'avortement est faible chez les vaches séropositives simultanément à NC et au virus de la diarrhée virale bovine (BVD) (Vanleeuwen, Haddad et al. 2010). Cependant, la séroprévalence de troupeau du virus de BVD a été associée significativement aux avortements dû à NC dans une étude de cas-témoin en Suisse (Hassig and Gottstein 2002). Par contre, les troupeaux bovins séropositifs à *Leptospira* et au virus de BVD, vraisemblablement dues à la vaccination, ont moins d'avortements associés à NC (Hassig and Gottstein 2002). Cependant, Hobson et al. (2005) ont trouvé que les avortements dus à NC sont associés significativement aux vaccinations inadéquates contre d'autres maladies des bovins. Toutefois, il serait logique de penser que le contrôle des autres causes d'avortement, par des vaccinations par exemple, diminuerait le « stress » au sein du troupeau, et ainsi diminuerait toutes les causes d'avortement (Hobson, Duffield et al. 2005).

1.1.4.10. Race des bovins et conduite d'élevage

En Argentine, les bovins laitiers ont plus de risque d'être séropositifs à la néosporose que les bovins de boucherie (Moore, Perez et al. 2009). On pourrait expliquer cela par les méthodes de conduite d'élevage très différentes entre ces 2 types de production. Ainsi, les troupeaux de bovins de boucherie sont élevés en système extensif, avec 0.8 animal/Ha alors que les troupeaux laitiers sont en système intensif avec 1.5 animal/Ha (Barling, McNeill et al. 2001; Moore, Perez et al. 2009). À l'inverse, au Brésil la prévalence de NC est significativement plus élevée chez les bovins de boucherie par rapport aux bovins laitiers, et s'explique par le fait que tous les troupeaux de bovins de boucherie comportaient plus de 25 vaches (Aguiar, Cavalcante et al. 2006). Les facteurs de conduite d'élevage seraient des facteurs de risques plus importants que la race.

1.1.4.11. Facteurs agroécologiques

En Italie, la température minimale au printemps est un facteur de risque de NC : plus la température minimale est élevée, plus la séroprévalence de la néosporose est haute (Rinaldi, Fusco et al. 2005). Ce résultat s'expliquerait par le fait que la sporulation des ookystes de NC est dépendante de la température. La température élevée serait optimale pour la sporulation des ookystes (Dijkstra, Eysker et al. 2001; Gondim, Gao et al. 2002) alors que la température des réfrigérateurs l'inhibe (Schaes, Barwald et al. 2003). Plus la moyenne des températures est haute en juillet plus la prévalence de NC du lait de réservoir est haute (Schaes, Barwald et al. 2003).

Signes cliniques

Chez les vaches adultes, l'avortement est le seul signe clinique observé. Les fœtus peuvent mourir *in utero*, être réabsorbés, ou momifiés, ou mort-nés. Les veaux peuvent naître malades ou sans signes cliniques, mais chroniquement infectés (Radostits, Done et al. 2007).

Si la vache n'est pas gestante lorsqu'elle est infectée, il n'y aura pas de signes cliniques mais la séroconversion se produit (Innes, Andrianarivo et al. 2002). Si la vache est gestante de moins de 2 à 3 mois lorsqu'elle est infectée, l'infection cause la mort du fœtus (Innes, Andrianarivo et al. 2002). Si la vache est gestante de 3 à 7 mois lorsqu'elle est infectée, l'infection peut conduire à un avortement ou à la naissance d'un veau faible, ou normal (Bryan, Gajadhar et al. 1994; Innes, Andrianarivo et al. 2002). Si la vache est à une phase avancée de gestation lorsqu'elle est infectée, l'infection conduit à la naissance d'un veau faible ou normal (Innes, Andrianarivo et al. 2002), mais chroniquement infecté (Dubey, Schares et al. 2007). L'infection peut, occasionnellement, se manifester par des anomalies congénitales telles qu'une ataxie, une paralysie des membres ou d'autres troubles neurologiques chez les veaux nouveau-nés (Gunning, Gumbrell et al. 1994). Néanmoins, la majorité des veaux infectés *in utero* naissent cliniquement normaux. Certaines études épidémiologiques montrent que l'infection *in utero* n'affecte pas nécessairement la santé ou la survie des veaux. Une vache infectée peut donc donner naissance à un veau normal, infecté, lors d'une gestation, et avorter à la prochaine gestation (Thurmond, Hietala et al. 1997).

1.2. Procédures diagnostiques

Outre les signes cliniques et l'examen pathologique lésionnel, le diagnostic repose sur la sérologie ou sur la recherche du parasite par immunohistochimie, ou PCR (Dubey, Schares et al. 2007).

1.3.1. La sérologie

Suite à un contact avec le parasite, l'animal développe des anticorps spécifiques dans le sérum. Les méthodes sérologiques visent à rechercher la présence de ces anticorps (Dubey, Schares et al. 2007). Cependant, l'absence d'anticorps spécifiques chez le fœtus n'exclut pas la présence de la maladie : le fœtus peut être trop jeune et être immuno-incompétent ou l'infection est trop récente donnant des tests sérologiques négatifs (Barr, Anderson et al. 1995).

1.3.1.1. Technique d'immunofluorescence indirecte (IFAT)

C'est le premier test (IFAT : technique d'immunofluorescence indirecte) utilisé pour la recherche d'anticorps spécifique à NC (Dubey, Carpenter et al. 1988) et le test de référence pour évaluer de nouveaux tests de diagnostic (Dubey, Schares et al. 2007) : la spécificité est élevée, et aucune réaction croisée n'a été observée vis-à-vis de *Babesia divergens*, *Sarcocystis* sp., et *Eimeria bovis*. Les sérums sont incubés en présence de tachyzoïtes de NC fixés sur une lame. Après lavage, les anticorps spécifiquement fixés sont mis en évidence par un anticorps secondaire. Les lames sont alors examinées par microscopie à fluorescence. Il faut prendre en considération l'âge de l'animal testé (Haddad, Dohoo et al. 2005) ainsi que l'espèce animale (Dubey, Schares et al. 2007) car le seuil de positivité varie selon ces facteurs.

1.3.1.2. Tests immunoenzymatiques (ELISA)

Cette méthode de diagnostic a connu des développements importants ces dernières années. L'antigène est déposé dans un puits de plaque multi-puits. Le sérum est ajouté et après lavage la présence d'anticorps spécifique est mise en évidence par un anticorps conjugué à un enzyme. La liaison de l'antigène conjugué est mise en évidence par une réaction enzymatique qui génère un produit coloré. La densité optique est alors déterminée. Les antigènes peuvent être des tachyzoïtes entiers, des tachyzoïtes lysés, ou divers extraits antigéniques (Dubey, Schares et al. 2007). Les tests ELISA présentent une bonne sensibilité pour dépister les animaux nouvellement infectés, ceux dont

l'infection latente a été réactivée, les vaches venant d'avorter et les animaux testés durant la mise bas dont les sérums contiennent des taux moyens ou élevés d'anticorps. (Dubey, Schares et al. 2007). Les taux d'anticorps tendent à diminuer fortement plusieurs mois après l'avortement (Stenlund, Kindahl et al. 1999), et à être faibles chez les animaux infectés depuis deux semaines (Lunden, Marks et al. 1998). Chez les veaux avec une infection congénitale le taux d'anticorps diminue fortement plusieurs mois après la naissance (Hietala and Thurmond 1999).

1.3.1.3. *Immunobuvardage*

Cette technique consiste à séparer les protéines du parasite sur une membrane, laquelle est ensuite hybridée avec le sérum. La présence d'anticorps fixés est mise en évidence par un anticorps conjugué à une enzyme. L'activité de ce dernier génère un précipité coloré des protéines du parasite reconnues par les anticorps du sérum. Cette technique est difficile à mettre en œuvre pour du diagnostic de routine du cheptel et elle est utilisée pour confirmer des tests sérologiques classiques (ELISA, IFAT) positifs ou douteux (Dubey, Schares et al. 2007).

1.3.1.4. *Agglutination directe*

Cette technique est basée sur l'agglutination de tachyzoïtes de NC. Elle permet de tester des sérums issus de n'importe quelle espèce animale sous réserve d'établir des seuils de positivité pour chaque espèce (Dubey, Schares et al. 2007). Ce test est facile à mettre en œuvre et ne nécessite pas de matériel particulier. Par rapport à l'IFAT, ce test a une bonne sensibilité relative mais une faible spécificité relative car des faux positifs sont observés sur les fluides fœtaux contenant du pus (Dubey and Schares 2006).

1.3.2. Méthodes de détection des parasites

Un résultat négatif des tests sérologiques n'exclut pas que l'animal soit effectivement infecté par NC. Il est donc important de pouvoir mettre en évidence le parasite directement à partir de tissu.

1.3.2.1. Histopathologie

Chez les avortons, des lésions inflammatoires et dégénératives peuvent être observées dans les tissus du système nerveux central, du cœur, du foie et des muscles. Chez les nouveau-nés, il est difficile de trouver NC histologiquement même chez un veau avec des signes cliniques de la maladie. NC n'a pas encore été identifié à l'histologie des tissus de bovins de plus de 2 mois, empêchant ainsi la différenciation de la spécificité des lésions associées à NC (Dubey and Schares 2006).

1.3.2.2. Immunohistochimie

Cette technique permet de mettre en évidence la présence des antigènes dans les tissus infectés tels que le cerveau, le foie et le cœur (Wouda, Dubey et al. 1997). Le tissu infecté est enrobé en bloc de paraffine et de fines coupes sont réalisées. Les coupes sont déparaffinées et un sérum spécifique de NC est appliqué sur la lame. Les anticorps fixés sont révélés par un anticorps conjugué. La réaction enzymatique provoque la formation d'un précipité coloré à l'endroit de fixation des anticorps conjugués (Dubey, Schares et al. 2007).

1.3.2.3. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

La présence d'ADN du parasite peut être mise en évidence au sein des tissus. Cette technique est basée sur la polymérisation cyclique de la séquence d'ADN choisie grâce à deux oligonucléotides bordant la séquence à amplifier et à une ADN polymérase thermostable (Dubey, Schares et al. 2007). La limite de la PCR est la susceptibilité aux contaminations par de l'ADN étranger qui peut être amplifié avec l'échantillon (Cimino, Metchette et al. 1991).

1.3.3. Stratégies de diagnostic

La détection des anticorps contre NC, dans le sérum ou le lait, par des techniques comme IFAT ou ELISA, est souvent utilisée pour identifier les animaux ou les troupeaux infectés (Dubey, Schares et al. 2007).

Pour les études épidémiologiques, le test sérologique des animaux adultes de plusieurs troupeaux peut être utilisé pour évaluer la séroprévalence de la néosporose dans une région ou un pays (Sanderson, Gay et al. 2000; Guimaraes, Souza et al. 2004; Frossling, Uggla et al. 2005).

Une autre stratégie, utilisée dans plusieurs études épidémiologiques, est l'échantillonnage aléatoire de 30 bovins adultes par troupeau, pour les tests sérologiques, pour identifier les troupeaux infectés par NC (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001; Hobson, Duffield et al. 2005; VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005; VanLeeuwen, Tiwari et al. 2006). Ainsi un troupeau est considéré infecté à partir d'un animal séropositif ou à partir de deux animaux séropositifs. Ces deux définitions sont utilisées pour éviter de considérer un troupeau infecté, à partir d'un animal séropositif (qui peut être un faux positif), vue l'imperfection de la spécificité des tests sérologiques (VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005).

1.4. Traitement

A ce jour il n'existe aucun traitement efficace contre la néosporose. Des sulfamides ont été utilisés chez des chiots, présentant des troubles neurologiques, avec plus ou moins de réussite (Dubey 2003; Dubey, Schares et al. 2007). Des d'anticoccidiens aviaires (Lindsay, Butler et al. 1997; Kim, Park et al. 2002) ont été testés seulement *in vitro*. L'extrapolation de ces résultats aux situations *in vivo* est douteuse vus les facteurs décisifs tels que le passage de la barrière digestive par la molécule, le passage de la barrière hémato-méningée si l'on souhaite agir sur les stades évolutifs du parasite dans les cellules du système nerveux (Pitel, Pronost et al. 2001).

1.5. Méthodes de prévention et de contrôle

1.5.1. *Prévention de l'introduction de l'infection dans l'élevage*

Pour réduire le risque d'introduire l'infection au sein d'un troupeau, il faut acheter des animaux séronégatifs. Il faut aussi réduire le risque de transmission horizontale de la maladie en réduisant au minimum possible l'accès des chiens (domestiques ou errants) aux ruminants et à leur nourriture ainsi que les aires de vêlages (Haddad, Dohoo et al. 2005). Les placenta, foetus avortés, et veaux morts doivent être éliminés et débarrassés de façon à ce que l'hôte définitif et les bovins n'y aient pas accès (Rinaldi, Fusco et al. 2005). La transplantation embryonnaire, qui consiste à transplanter des embryons de donneuses séropositives chez des receveuses séronégatives, pour obtenir des animaux séronégatifs est une approche intéressante (Baillargeon, Fecteau et al. 2001; Bielanski, Robinson et al. 2002).

1.5.2. *Identification et élimination des animaux infectés*

Un programme de test sérologique de NC des vaches qui ont avorté, de leurs foetus et de leurs placenta est recommandé (Haddad, Dohoo et al. 2005). L'élimination définitive des femelles séropositives de la reproduction est une nécessité. Pour des raisons financières et génétiques, cette approche n'est pas applicable aux élevages avec une forte séoprévalence (Wouda 2000).

1.5.3. *Vaccination*

Un vaccin tué a été approuvé aux États-Unis pour les vaches gestantes et est disponible sur le marché. Au Canada il n'est pas disponible actuellement. Pour le moment, il n'existe pas d'études sur son efficacité à diminuer les effets de la néosporose chez les bovins laitiers (Radostits, Done et al. 2007).

2. La paratuberculose ou maladie de Johne

Mycobacterium avium, sous espèce *paratuberculosis* (MAP) est la bactérie responsable de la paratuberculose ou maladie de Johne, une entérite chronique des ruminants domestiques et sauvages (Dieguez, Arnaiz et al. 2008). Collins et al. ont identifié deux souches de MAP : type bovin (C) et type mouton (S) (Collins, De Zoete et al. 2002). La paratuberculose chez les bovins, les chèvres, les cerfs, et les camélidés est causée principalement par le type C, alors que les moutons sont infectés par le type S. Cependant le type C peut infecter les moutons et *vice versa* (Ris, Hamel et al. 1987; Whittington, Taragel et al. 2001). Les hôtes naturels de MAP sont les ruminants sauvages et domestiques, incluant les bovins laitiers et de boucherie, moutons, les chèvres, les cervidés et les camélidés (Kennedy and Benedictus 2001). Toutefois d'autres non-ruminants sauvages comme les renards, belettes, corbeaux, rats, lapins, lièvres, blaireaux ont été identifiés comme porteurs de MAP (Beard, Daniels et al. 2001).

La maladie a été détectée la première fois en Allemagne en 1894 (Chiodini 1993). En moins de 20 ans après sa première description, la paratuberculose s'est propagée dans plusieurs pays de l'Europe et en Amérique du Nord, par l'exportation d'animaux infectés sans signes cliniques apparents de la maladie (Chiodini 1993; Radostits, Done et al. 2007). Elle a été introduite en Afrique du Sud vers 1967 par l'importation d'animaux (Higgs and Hawkins 1998). La paratuberculose a été confirmée pour la première fois en Australie en 1980 (Sergeant 2001).

2.1. Données épidémiologiques

2.1.1. Prévalence

La prévalence de la maladie dans une région est difficile à estimer à cause de l'incertitude des tests diagnostics et aussi des cas qui ne sont rapportés que lors d'études ou des programmes d'éradication. La prévalence de l'infection, dans le monde, a augmenté cette dernière décennie et les méthodes d'évaluation des

prévalences varient beaucoup (Radostits, Done et al. 2007). Le tableau suivant montre ces séroprévalences.

Tableau III : Séroprévalence de la paratuberculose chez le bovin laitier dans différents pays du monde.

Pays	Réfere.¹	Nb. anim. test.²	Nb. troupe. test.³	Anim. sérop.⁴	Tr. 1 sérop.⁵	Tr. 2 sérop.⁶	Test
États-Unis	Hirst 2004	10 280	15	4.1%	73.3%	-	ELISA
États-Unis	Roussel 2008	4579	115	3.0%	43.8%	-	ELISA
Danemark	Jakobsen 2000	1155	22	8.8%	86.4%	-	ELISA
Pays-Bas	Muskens 2000	15 822	378	2.5%	54.0%	28.0%	ELISA
Autriche	Gasteiner 1999	11 028	2757	1.9%	7%	-	ELISA
Belgique	Boealert 2000	13 317	556	0.8%	18.0%		ELISA

¹ Références. ² Nombre d'animaux testés. ³ Nombre de troupeaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif. ⁶ Troupeaux avec deux animaux séropositifs.

Les résultats de prévalence sont calculés avec un intervalle de confiance de 95%. Les trousse de la compagnie IDEXX (États-Unis) ont été utilisées dans ces études, sauf en Autriche où la trousse de la compagnie ALLIED (États-Unis) (Gasteiner, Wenzl et al. 1999) a été utilisée. Même si la comparaison entre différents pays doit être faite avec prudence, une grande différence des séroprévalences entre les pays apparait (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006).

Au Canada plusieurs études ont été effectuées pour estimer la séroprévalence de la paratuberculose (Tableau IV)

Tableau IV : Séroprévalence de la paratuberculose chez le bovin laitier au Canada

Province	Réfere. ¹	Nb. anim. test. ²	Nb. troupe. ³	Anim. séro. ⁴	Tr. 1 séro. ⁵	Tr. 2 séro. ⁶	Test
N. Écosse	Vanleeu. 2001	814	30	3.3%	53.3%	16.7%	ELISA
Ile P. Édouard	Vanleeu. 2001	816	30	1.3%	33.3%	16.7%	ELISA
N. Brunswick	Vanleeu. 2001	804	30	2.9%	43.3%	16.7%	ELISA
Ontario	Tiwari 2006	1530	51	2.2%	37.0%	9.8%	ELISA
Manitoba	Vanleeu. 2006	1204	40	4.5%	68.4%	43.1%	ELISA
Saskatchewan	Vanleeu. 2005	1530	51	2.7%	43.6%	24.3%	ELISA
Alberta	Sorensen. 2003	1500	50	7.0%	74.0%	40.0%	ELISA
Québec	Coté 2003	2591	108	2.4%	41.7%	12.1%	ELISA

¹ Références. ² Nombre d'animaux testés. ³ Nombre de troupeaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif. ⁶ Troupeaux avec deux animaux séropositifs.

Ces résultats ont été calculés avec un intervalle de confiance de 95%. Pour les tests ELISA, les trousse de la compagnie IDEXX (États-Unis) ont été utilisées dans ces études.

2.1.2. Importance économique

Les pertes économiques associées à la paratuberculose incluent la diminution de la production de lait (Benedictus, Dijkhuizen et al. 1987), la diminution du taux de protéine du lait, la diminution de la fertilité, l'augmentation des cas de mammites clinique et subcliniques (McKenna, Keefe et al. 2006), la réforme précoce et les mauvais état de chair des animaux (Benedictus, Dijkhuizen et al. 1987). Dans les provinces maritimes du Canada, selon des résultats à partir de tests ELISA, les pertes étaient estimées à 2472\$CAN par troupeau par an (une moyenne de 50 vaches par troupeau et une moyenne de prévalence apparente de 7%) (Chi, VanLeeuwen et al. 2002). Aux États-Unis, en 1996, les pertes dues à la paratuberculose étaient estimées à 200-250 million \$US (Ott, Wells et al. 1999). À la réforme, les animaux avec une forme subclinique de paratuberculose ont approximativement 59 Kg de moins que les animaux sains, soit l'équivalent d'une perte de 48\$US par animal (McKenna, Keefe et al. 2006).

2.1.3. Mode de transmission

2.1.3.1. Mode de transmission horizontale

La transmission se fait par voie féco-orale. L'infection des veaux tôt après la naissance par l'ingestion de MAP est le plus important mode de transmission de la paratuberculose (Sweeney 1996). Le colostrum d'une vache infectée, donné aux veaux, peut être une source de la maladie (Radostits, Done et al. 2007). MAP peut être retrouvée dans le colostrum d'animaux ayant la forme subclinique (Streeter, Hoffsis et al. 1995). Jusqu'à 45% des vaches infectées et présentant des signes cliniques de paratuberculose peuvent excréter l'organisme dans le lait (Giese and Ahrens 2000).

La contamination du lait, du colostrum et de la nourriture par les fèces est aussi importante dans la transmission de MAP, surtout en présence d'animaux au stade avancé de l'infection qui en excrètent en grande quantité dans les fèces (Sweeney 1996). La sévérité ainsi que la progression de l'infection dépendent de la quantité de MAP au moment de l'exposition de l'animal, ainsi que l'âge de

ce dernier (Sweeney 1996). Les animaux infectés peuvent excréter l'organisme dans leurs fèces pendant 15 à 18 mois avant que les signes cliniques n'apparaissent. Les animaux élevés dans un environnement contaminé peuvent devenir excréteurs temporaires ou permanents de l'organisme sans être cliniquement affectés (Radostits, Done et al. 2007).

2.1.3.2. *Mode de transmission verticale*

C'est un autre mode de transmission de la paratuberculose. MAP a été isolé des organes génitaux et des semences de taureaux infectés (Radostits, Done et al. 2007). Une transmission transplacentaire, même si ce n'est pas systématique, peut aussi se produire (Sweeney 1996; Radostits, Done et al. 2007). Approximativement 17% des vaches, avec une forme subclinique de MAP, donnent des veaux qui ont un résultat positif de culture d'organes (Sweeney, Whitlock et al. 1992). La prévalence de l'infection fœtale peut varier entre 37%, chez les vaches avec des signes cliniques de la maladie, et 8.6%, chez les vaches sans signes cliniques de la maladie (Whittington and Windsor 2009).

2.1.4. *Facteurs de risques*

2.1.4.1. *Vêlage*

Des études ont montré que l'environnement du vêlage peut être un facteur de risque pour la paratuberculose. La propreté de la vache au moment du vêlage, l'utilisation de l'aire de vêlage pour les animaux malades (Berghaus, Lombard et al. 2005) et un nombre élevé de vaches parturientes dans l'aire de vêlage (Berghaus, Lombard et al. 2005; Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009) sont associés à plus de vaches séropositives à MAP. En plus, la durée de temps que le veau est laissé avec sa mère après le vêlage ainsi que loger les animaux sevrés près des vaches adultes sont significativement associés à la séroprévalence de la paratuberculose (Berghaus, Lombard et al. 2005).

2.1.4.2. Colostrum et lait

La source du colostrum ou du lait pour nourrir les veaux peut-être un facteur de risque pour la paratuberculose. Ainsi, les troupeaux, dans lesquels le pis des vaches est contaminé par du fumier, ont 6.4 fois plus de chances d'être séropositifs à la paratuberculose (Ansari-Lari, Haghkhah et al. 2009). Nourrir les veaux avec du colostrum ou du lait provenant de vaches infectées par MAP est un facteur de risque élevé pour la transmission de la paratuberculose (Sweeney 1996). L'utilisation de colostrum ou de lait provenant de plusieurs vaches est aussi un facteur de risque d'infection à MAP (Berghaus, Lombard et al. 2005; Nielsen, Bjerre et al. 2008).

2.1.4.3. Logement des veaux

Le logement des veaux près des vaches adultes, en groupe avant leur sevrage et des génisses de remplacement, avant l'âge de 6 mois, avec les vaches adultes sont associés à plus de vaches séropositives à MAP dans le troupeau (Berghaus, Lombard et al. 2005; Dieguez, Arnaiz et al. 2008; Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009). Le nettoyage des huttes ou enclos pour veaux après chaque utilisation est associé à un risque réduit d'infection du troupeau par MAP (Johnson-Ifearulundu and Kaneene 1998).

2.1.4.4. Achat d'animaux

L'achat de bovins infectés par MAP est la plus importante voie d'introduction de la maladie au sein d'un troupeau (Sweeney 1996; Fridriksdottir, Gunnarsson et al. 2000). Ainsi, différentes études ont montré que l'achat d'animaux est significativement associé à la séoprévalence intratroupeau de la paratuberculose (Chi, VanLeeuwen et al. 2002; Hirst, Garry et al. 2004; Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009). Toutefois, dans leur étude, Dieguez et al. ont observé que l'achat de bovins pendant les 3 années précédents l'étude étaient associés à moins de vaches séropositives dans les élevages (Dieguez, Arnaiz et al. 2008).

2.1.4.5. Taille du troupeau

Des études ont observé que la taille du troupeau peut être un facteur de risque pour la paratuberculose (Jakobsen, Alban et al. 2000; Daniels, Hutchings et al. 2002). Les vaches provenant de troupeaux avec 600 vaches en lactation avaient 3.12 fois plus de chance d'être séropositives par rapport aux vaches de troupeaux de < 600 vaches en lactation (Hirst, Garry et al. 2004). D'autres études ont observé que la taille du troupeau n'a pas d'effet significatif sur la séroprévalence de la paratuberculose au sein du troupeau (Lombard, Wagner et al. 2006; Ansari-Lari, Haghkhah et al. 2009).

2.1.4.6. Contact entre animaux

L'utilisation d'un parc d'exercice pour les vaches en lactation est un facteur de risque pour l'infection du troupeau puisque la densité des animaux est nettement plus grande que lors de pâturages (Johnson-Ifearegula and Kaneene 1998). Le contact entre les bovins de boucherie et les bovins laitiers est significativement associé à la séroprévalence de la paratuberculose dans les troupeaux laitiers (Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009). Des études ont montré une association significative entre la présence d'animaux avec des signes cliniques de l'infection à MAP et la séroprévalence de cette maladie au sein du troupeau (Hirst, Garry et al. 2004; Ansari-Lari, Haghkhah et al. 2009).

2.1.4.7. Race des bovins

Roussel et al. (2005) ont trouvé que la séropositivité à MAP est significativement associée à la race de bovins de boucherie; les bovins de race *Bos indicus* avaient 17 fois plus de chance d'être séropositifs que les bovins de race *Bos taurus*. (Roussel, Libal et al. 2005) Pour les troupeaux laitiers, les vaches de race *Jersey* ont plus de risques d'être séropositives à cette infection (Jakobsen, Alban et al. 2000).

2.1.4.8. Infection concomitante

La présence du virus de la diarrhée virale bovine (BVD) dans un élevage laitier semble être un facteur de risque pour la présence de MAP. Ainsi, un programme de vaccination adéquat contre le VBVD est associé à une diminution de la séoprévalence de la paratuberculose dans les élevages; les troupeaux séropositifs au VBVD sont associés à une plus grande séoprévalence de paratuberculose (Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009).

2.1.4.9. Pâturage

Les fermes de > 200 acres de pâturages sont associées à moins de vaches séropositives par rapport à celles qui ont 100 acres de pâturages (Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009). Le chaulage des champs de pâturage est associé à un risque réduit d'infection du troupeau (Johnson-Ifearegulu and Kaneene 1998).

2.1.4.10. Facteurs de risques agroécologiques

Région -. Aux États-Unis, une association significative a été trouvée entre les résultats de la culture fécale de l'environnement et la région : la région du centre-ouest avait le plus grand pourcentage de résultats positifs à MAP tandis que la région nord-est avait le plus bas pourcentage. Ceci pourrait être lié à la température et à l'humidité dans ces régions. (Lombard, Wagner et al. 2006).

Concentration en fer - Pour une augmentation de 1 ppm de la concentration en fer du sol, il y a une augmentation de 1.4% de risque qu'un troupeau soit séropositif à MAP; une augmentation de 10 ppm de la concentration en fer du sol est associée à une augmentation de 4% du nombre de vaches séropositives à MAP (Johnson-Ifearegulu and Kaneene 1999).

pH - Les animaux élevés sur des terrains au sol basique avaient moins de risques d'infection à MAP (Scott, Sorensen et al. 2007). Une augmentation de 0.1 du pH du sol est associée à une diminution de 5% du nombre de vaches séropositives (Johnson-Ifearegulu and Kaneene 1999).

2.2. Signes cliniques

2.2.1. *Infection silencieuse (Stade I)*

Chez les animaux de moins de deux ans : il n'y a pas de signes cliniques ni d'effet de la maladie sur les gains de poids ou l'état général de l'animal mais ce dernier peut excréter la bactérie (faible excrétion transitoire) (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006).

2.2.2. *Forme subclinique (Stade II)*

Les animaux adultes, de 2 ans à 4 ans, porteurs de MAP ne manifestent pas de signes cliniques mais peuvent être affectés par des mammites (Radostits, Done et al. 2007). Les animaux excrètent la bactérie dans les fèces, la production de lait peut être anormale ainsi que l'état de chair. La fiabilité des résultats de tests sérologique est moindre car la présence d'anticorps sur un animal infecté par la paratuberculose n'est pas systématique. On peut détecter l'infection par culture fécale (Merkal and Thurston 1966; Radostits, Done et al. 2007).

2.2.3. *Forme clinique (Stade III)*

Cette forme de la maladie se manifeste chez les animaux de 5-6 ans : perte de poids malgré un appétit normal, diarrhée persistante ou intermittente, diminution de la production de lait et température corporelle normale (Whitlock and Buergelt 1996). La plupart des animaux à ce stade ont des résultats positifs lors de culture fécale et les anticorps contre MAP dans le sérum peuvent être détectés par des tests sérologiques tels que l'ELISA ou l'AGID (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006). Seulement 10% à 15% des animaux infectés atteignent ce stade en raison de la réforme précoce due à la diminution de la production (Riemann and Abbas 1983).

2.2.4. *Forme clinique avancée (Stade IV)*

Il est rare que les animaux atteignent ce stade de la maladie. Ils présentent alors une diarrhée liquide profuse incoercible, ils sont cachéxiques, abattus et ont de l'œdème en raison d'une hypoprotéïnémie marquée. Pour les vaches en lactation, la production de lait est nulle. La réforme et l'euthanasie des animaux sont nécessaires (Radostits, Done et al. 2007).

2.3. Le diagnostic de la paratuberculose

Les tests diagnostiques pour détecter la paratuberculose peuvent être catégorisés en ceux qui identifient la bactérie et ceux qui identifient la réaction immunologique contre la bactérie (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006). Des recommandations ont été établies quant à l'utilisation de ces différents tests pour le diagnostic de la paratuberculose (Collins, Gardner et al. 2006). Il est important de noter que la capacité de diagnostiquer la paratuberculose dépend grandement du test mais aussi du stade de l'infection.

2.3.1. *Détection directe de l'organisme*

2.3.1.1. *Culture*

Différents substrats sont utilisés pour la culture de MAP. La culture est fastidieuse, longue et requiert des équipements spécialisés. Elle peut être faite à partir d'échantillons d'organes infectés, de lait (Buergelt and Williams 2004) ou de matières fécales (de l'environnement, en groupe ou individuelle) (Collins, Gardner et al. 2006). La culture fécale individuelle peut être utilisée comme méthode de standard. La sensibilité du test varie de 40% à 60% pour une infection subclinique et de 60% à 95% pour des animaux en phase clinique (Chastel 2008). La sensibilité de la coproculture de mélange était de 46% (IC 95% :29-63%) avec 5 animaux par mélange, et 48% (IC 95% : 28-68%) avec 10 animaux.

La figure 2 montre un agrandissement de MAP au microscope électronique.

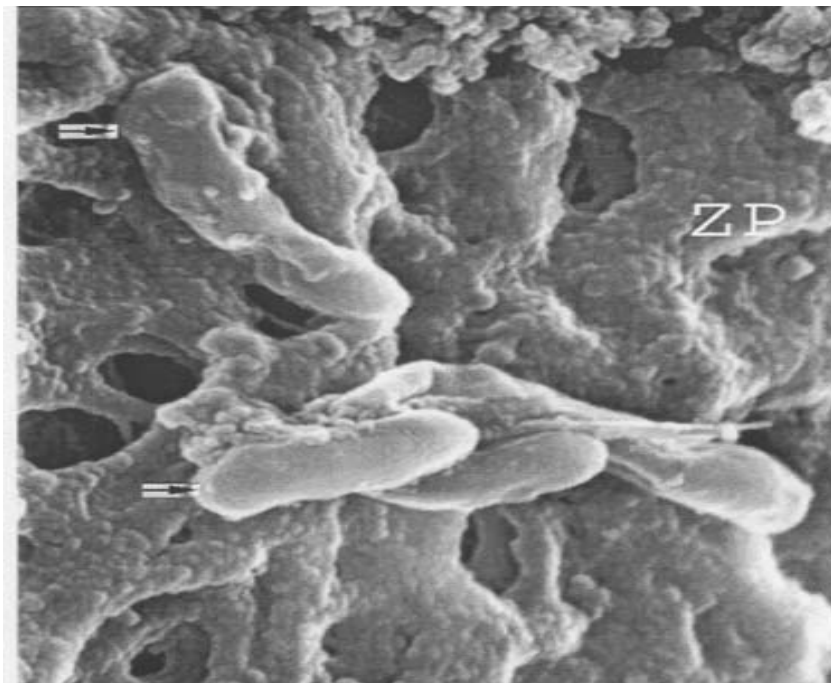


Figure 2 : Agrandissement au microscope de germes de *M. paratuberculosis* adhérents à la zone pellucide (ZP) (Adapté de Chastel 2008)

2.3.1.2. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

Cette technique est beaucoup moins longue que la culture. Cependant elle est moins sensible que la culture due à la présence d'inhibiteurs dans les matières fécales (Englund, Bolske et al. 2002). Cette technique est utilisée pour confirmer des résultats positifs de culture fécale. Elle peut avoir des résultats faux-positifs à moins d'éviter la contamination des échantillons (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006).

2.3.1.3. Biopsie

Cette technique permet de détecter MAP à partir de la biopsie de l'iléon et des nœuds lymphatiques mésentériques ainsi que la mise en évidence d'anomalies histologiques (McConnel, Churchill et al. 2004).

2.3.2. *Mise en évidence de la réponse immunitaire de l'organisme : la sérologie*

2.3.2.1. *Tests ELISA*

Cette technique est fondée sur la mise en évidence de la réaction immunitaire suite à la présence de MAP et la détection de la densité optique des anticorps spécifiques à MAP dans le sérum (Yokomizo, Merkal et al. 1983) ou le lait (Sweeney, Whitlock et al. 1994; Hardin and Thorne 1996). Elle est très utilisée, vu la facilité d'obtenir les échantillons, la rapidité des résultats et le coût très abordable (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2006). Un des inconvénients des tests ELISA est sa sensibilité relativement faible par rapport à la culture fécale, menant à des résultats faux-négatifs (McKenna, Keefe et al. 2006). Le test ELISA dans le lait détecte 12% moins d'animaux infectés que dans le du sérum (Hendrick, Duffield et al. 2005) puisque le taux d'anticorps dans le lait varie avec la production de lait (Hendrick, Duffield et al. 2005), la parité, et le nombre de jours en lait (Nielsen, Enevoldsen et al. 2002). Il peut y avoir des résultats faux-positifs des tests ELISA puisque la spécificité des tests est de 99.7% (Collins, Sockett et al. 1991; Dargatz, Byrum et al. 2001).

2.3.2.2. *Immunodiffusion sur gel d'agar (AGID)*

C'est un test rapide pour les animaux qui manifestent des signes cliniques de la paratuberculose. Sa sensibilité est relativement faible, 18.9%, pour le stade subclinique de la maladie (Sherman, Gay et al. 1990).

La sensibilité et spécificité des tests diagnostiques pour la paratuberculose sont présentées dans le Tableau V.

Tableau V : Tests de diagnostic de la paratuberculose selon les stades de la maladie (Sylvestre 2007)

Tests	Sensibilité	Spécificité	Délai	Stade
Culture de matières fécales	45%	100%	6-8 semaines	(15%-25% II), III, IV
PCR (fèces)	34%-51%	100%	3 jours	II à IV
ELISA (lait/sérum)	43%-59%	99.7%	1 jour	(15% II), III, IV

2.3.3. Stratégies de diagnostic

La culture du fumier, individuelle ou en groupe, ainsi que des tests sérologiques, individuels ou du troupeau, peuvent être effectués pour identifier les animaux ou troupeaux infectés par MAP.

Pour les études épidémiologiques, plusieurs études testent tous les animaux de plusieurs troupeaux pour évaluer la prévalence de la paratuberculose dans une région ou un pays (Thorne and Hardin 1997; Tiwari, VanLeeuwen et al. 2005; Dieguez, Arnaiz et al. 2007). D'autres études échantillonnent le même nombre d'animaux (30 animaux adultes) dans chaque troupeau pour les tests sérologiques afin d'identifier les troupeaux infectés par MAP (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001; VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005; VanLeeuwen, Tiwari et al. 2006). Vu qu'un grand nombre d'animaux est testé lors de ces études, des définitions d'un troupeau positif ont été élaborées. Un troupeau est considéré positif à partir d'un animal positif ou à partir de deux animaux positifs. Ces deux définitions sont utilisées pour éviter de considérer un troupeau positif avec un seul animal positif (VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005).

2.4. Traitement

Actuellement, aucun antibiotique n'est efficace pour le traitement de la paratuberculose et le traitement n'est donc pas recommandé (Radostits, Done et al. 2007).

2.5. Mesures de contrôle

En raison de la phase préclinique très longue de la paratuberculose, de la faible performance des tests de diagnostic pour identifier les animaux infectés (Whitlock and Buergelt 1996) et la capacité de la bactérie à survivre dans l'environnement, les méthodes de contrôle de la paratuberculose reposent sur la diminution de l'exposition des veaux aux fèces (diminuer l'apparition de nouvelles infections) et la diminution du nombre d'animaux pouvant excréter la bactérie dans l'environnement (diminuer la prévalence d'une infection existante) (McKenna, Keefe et al. 2006).

2.5.1. *Prévention de nouvelles infections-Biosécurité*

Comme mentionné précédemment, l'achat d'un animal infecté est reconnu comme un moyen important d'introduction de MAP dans les élevages. En raison de la faible performance des tests diagnostiques, il est recommandé d'acheter des animaux dans des troupeaux à risque moins élevé de MAP que le troupeau acheteur. Dans les programmes de contrôle de la paratuberculose, les troupeaux à faible risque de la maladie sont des sources essentielles de bovins non-infectés (Radostits, Done et al. 2007). Comme les animaux se contaminent à un jeune âge, les méthodes d'élevage des veaux et des sujets de remplacement sont fondamentales pour le contrôle de la paratuberculose (Radostits, Done et al. 2007). On pourrait émettre quelques recommandations :

- 1- les vaches parturientes doivent être séparées des vaches en lactation et mises dans un parc de vêlage;
- 2- les nouveau-nés doivent être séparés de leur mère immédiatement après la naissance et élevés dans des parcs individuels;
- 3- même si l'infection congénitale est possible, il faut élever les veaux bien séparés des vaches adultes, si possible dans des parcs individuels pour éviter

la propagation de la maladie parmi les veaux; 4- ne pas utiliser de colostrum mélangés de plusieurs vaches et assurer une bonne hygiène lors de la récolte du colostrum (nettoyage des trayons) (Radostits, Done et al. 2007). Mettre les abreuvoirs assez haut, clôturer les sources d'eau potable, clôturer les champs de pâturage infectés pendant trois ans, sont des mesures intéressantes pour éviter la contamination de la nourriture et des eaux par les matières fécales (Radostits, Done et al. 2007).

2.5.2. Diminution de la prévalence d'une infection existante

Si aucun cas clinique de la paratuberculose n'a été identifié dans un troupeau, alors qu'on le suspecte, ou si la prévalence de la maladie est faible à modérée, une culture de matière fécale par groupe des vaches adultes serait une bonne stratégie pour identifier les animaux infectés, même si la dilution de l'échantillon par plusieurs vaches peut donner de faux-négatifs (McKenna, Keefe et al. 2006). Il faut aussi faire des cultures individuelles pour identifier les vaches infectées dans un groupe positif (McKenna, Keefe et al. 2006). Une culture de matière fécale par groupe de 5 vaches (Kalis, Hesselink et al. 2000) peut identifier 87% des animaux positifs, tandis que la culture de matière fécale individuelle identifie 96% des animaux positifs (Kalis, Hesselink et al. 2000).

Pour les troupeaux avec une prévalence modérée à haute de la maladie (>30%), la culture fécale, à intervalle régulier, du troupeau pourrait garantir l'identification des vaches qui excrètent MAP dans l'environnement (Rossiter and Burhans 1996). Pour les troupeaux de plus de 300 animaux avec une haute prévalence de la maladie, un test ELISA de tout le troupeau suivi de culture fécale des échantillons positifs à ELISA serait une bonne approche (Collins 2002). C'est une stratégie peu coûteuse mais qui peut manquer des vaches infectées avec un taux d'anticorps non détectable par ELISA mais qui excrètent MAP dans les fèces (McKenna, Keefe et al. 2006).

3. La diarrhée virale bovine

La diarrhée virale bovine (BVD) est une maladie infectieuse causée par le virus de la diarrhée virale bovine, qui appartient au genre des *Pestivirus* de la famille des *Flaviridae*. Le virus de la diarrhée virale bovine (VBVD) a été identifié pour la première fois en 1946 aux États-Unis comme la cause d'une maladie infectieuse aigue, et très contagieuse (Olafson, Mac et al. 1946). Les différences antigéniques et génétiques divisent le VBVD en type 1 et type 2 (Radostits, Done et al. 2007). Le virus du BVD est endémique dans plusieurs pays du monde où il existe des élevages de bovins. L'apparition d'une souche virulente du virus aux États-Unis (Corapi, French et al. 1989) et la forme aigue de la maladie en Grande Bretagne en 1992 (David, Crawshaw et al. 1994) ont précédé l'apparition de la forme aigue de BVD au Canada (Québec et Ontario) en 1993 (Carman, van Dreumel et al. 1998).

3.1. Données épidémiologiques

3.1.1. Prévalence

La prévalence de l'infection au VBVD a été estimée dans plusieurs études (Houe 1995). Les différentes études montrent des variations considérables des séroprévalences (Tableau VI). Des différences dans la structure des troupeaux, dans les systèmes de logements ainsi que le mode d'élevage peuvent expliquer ces variations (Houe 1999). Dans les pays scandinaves, la prévalence de BVD est plus élevée dans le nord (forte densité de bovins et grands troupeaux) par rapport au sud (faible densité de bovins et petits troupeaux) (Loken, Krogsrud et al. 1991). La transmission de BVD au sein du troupeau est plus lente quand les bovins sont logés dans des bâtiments ou enclos séparés (Taylor, Janzen et al. 1997).

La séroprévalence individuelle de la diarrhée virale bovine varie de 7.4% à 69.0% parmi les troupeaux bovins dans le monde. La séroprévalence de troupeau de la maladie peut atteindre 100% dans certains pays.

Tableau VI : Séroprévalence de la diarrhée virale bovine chez le bovin laitier dans différents pays du monde

Pays	Réfer. ¹	Nb. troupe. ²	Nb. anim. ³	Anim. sérop. ⁴	Tr.1 anim. sérop. ⁵	Test
Italie	Luzzago 2008	62	1430	31.1%	71.1%	SN-ELISA
Lituanie	Mockeliuniene 2004	147	3798	58.2%	-	ELISA
Espagne	Mainar-Jaime 2001	28	529	21.1%	86.0%	ELISA
Suède	Bjorkman		780	32.0%		ELISA
Jordanie	Talafha 2009	62	671	30.8%	77.4%	ELISA
États-Unis	Munoz-Zanzi 2003	2	446	7.4%	-	SN
Mexique	Solis-Calder. 2005	40	630	14.0%	60.0%	ELISA
Uruguay	Guarino 2008	230	6538	69.0%	100.0%	ELISA

¹ Références. ² Nombre de troupeaux testés. ³ Nombre d'animaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif.

Dans les différentes provinces du Canada plusieurs études ont été effectuées pour estimer la séroprévalence de la diarrhée virale bovine (tableau VII). Les données de prévalence pour la province du Québec ne sont pas disponibles. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces différences observées dans ces études, entre autres la différence dans la distribution de la maladie d'une province à une autre, le type de production, les méthodes d'échantillonnage des animaux, la vaccination des troupeaux contre cette maladie, ainsi que la présence ou non d'animaux immunotolérants dans les troupeaux (Walz, Grooms et al. 2010).

Tableau VII : Séroprévalence de la diarrhée virale bovine chez le bovin laitier au Canada

Province	Réfere ¹	Nb. Troup. ²	Nb. anim. ³	Anim. sérop. ⁴	Tr.1 anim. sérop. ⁵	Tr.1 anim. 1/64 ⁶	Test
Maritimes	Vanleeuw. 2006	89	445	37.6%	66.3%	46.1%	SN
Saskatch.	Vanleeuw. 2005	36	185	28.1%	48.7%	29.2%	SN
Manitoba	Vanleeuw. 2001	26	128	16.4%	32.0%	28.1%	SN

¹ Références. ² Nombre de troupeaux testés. ³ Nombre d'animaux testés. ⁴ Animaux séropositifs. ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif. ⁶ Troupeaux avec un animal qui a un titre d'anticorps $\geq 1/64$.

3.1.2. *Impact économique*

Les pertes économiques de la diarrhée virale bovine peuvent être divisés en deux grands groupes : pertes directes dues à la maladie et pertes indirectes associées aux traitements de la maladie (Chi, VanLeeuwen et al. 2002).

3.1.2.1. *Perte directe*

Les pertes économiques suivant l'introduction de BVD dans un troupeau de vaches susceptibles sont dues aux diminutions de la production de lait, aux avortements, aux malformations congénitales, à l'augmentation de la mortalité néonatale, à la diminution de la performance de reproduction à cause de l'infertilité et à la mortalité causée par la maladie des muqueuses (Radostits, Done et al. 2007). Au Royaume Uni, lors d'apparition de l'infection au VBVD, la production de lait des vaches infectées, dans les troupeaux non vaccinés, a chuté de 30% en trois semaines (Bennett, Christiansen et al. 1999). Au Danemark et en Angleterre, la mortalité due au VBVD sont de 4.8% et 26% respectivement (Meyling, Houe et al. 1990; Murray 1990). Le risque de réforme des animaux varie de 2.8% à 11% dans les troupeaux non vaccinés (Bennett, Christiansen et al. 1999).

Dans les provinces maritimes du Canada la séroprévalence de VBVD n'a pas d'effets significatifs sur la production de lait vu l'endémicité de la maladie parmi les troupeaux laitiers et l'utilisation de vaccins parmi ces troupeaux (Chi, VanLeeuwen et al. 2002). La mortalité et les avortements dus à VBVD, dans les troupeaux vaccinés adéquatement, sont estimés à 0% dans certaines études (Ellis, West et al. 2001; Chi, VanLeeuwen et al. 2002).

3.1.2.2. *Perte indirecte*

Les pertes indirectes incluent le coût des soins et les surplus de travail lors d'infection (Chi, VanLeeuwen et al. 2002) ainsi que l'augmentation des risques de développer d'autres maladies, dont des mammites (Radostits, Done et al. 2007). Tiwari et al. rapportent que le taux de vaches réformées à cause de la diminution de la production de lait ou à cause de mammites est plus élevé dans les troupeaux séropositifs au VBVD.que dans troupeaux séronégatifs (Tiwari, VanLeeuwen et al. 2005).

3.1.3. *Mode de transmission*

La principale source d'infection parmi les vaches est la présence d'animaux immunotolérants (IT- un animal dont le système de défense tolère la présence du virus, sans pouvoir l'éliminer) dans le troupeau (Houe 1995) ainsi que les animaux en phase aigue de l'infection (Brownlie, Clarke et al. 1987). En Norvège, les rennes sont suspectés être le réservoir de VBVD (Loken 1995).

3.1.3.1 *Transmission directe*

Transmission horizontale

La transmission du virus du BVD se produit par le contact direct entre un animal susceptible et un IT ou un animal en phase aigue de la maladie qui excrète le virus (Talafha, Hirche et al. 2009) par les sécrétions nasales, oculaires ou génitales (Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2005). Les taureaux immunotolérants ou en phase aigue de la maladie excrètent le virus de BVD dans leur semence (Houe 1999). Des taures séronégatives séroconvertissent

après insémination artificielle avec la semence de taureau immunotolérant (Meyling and Jensen 1988).

Transmission verticale

La transmission transplacentaire de la maladie, verticalement de la mère infectée au fœtus, peut se produire (Radostits, Done et al. 2007). Le transfert d'embryons de même que le sérum de veau contaminé par VBVD qu'on utilise lors de ces transferts peuvent transmettre la maladie (Wentink, Aarts et al. 1991; Houe 1999).

3.1.3.2. *Transmission indirecte*

Dans certaines conditions (exemple densité animale élevée), en bâtiment, voire entre bâtiments proches, le VBVD peut être transmis par aérosols (Radostits, Done et al. 2007) ainsi que par l'intermédiaire des vêtements et équipements des travailleurs (Guarino, Nunez et al. 2008). Le virus a été transmis expérimentalement par des mouches qui sucent le sang des animaux (Houe 1995). L'infection à VBVD est transmise par des animaux IT à des génisses susceptibles, lors d'examen rectal, en utilisant le même gant (Lang-Ree, Vatn et al. 1994) et par des aiguilles hypodermiques utilisées pour des flacons de vaccins, souillés par les sécrétions nasales d'animaux IT (Niskanen and Lindberg 2003).

3.1.4. *Facteurs de risques*

3.1.4.1. *Achat de nouveaux animaux*

L'achat de nouveaux animaux a été identifié comme un facteur de risque pour les infections au virus du BVD dans différentes études effectuées en Norvège (Valle, Martin et al. 1999), au Mexique (Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2005), et en Jordanie (Talafha, Hirche et al. 2009). L'achat fréquent d'animaux est un facteur de risque d'introduction et de propagation du VBVD. En plus, le fait de ne pas isoler les animaux achetés était significativement associé à la séropositivité des animaux à VBVD (Talafha, Hirche et al. 2009). Mainar-Jaime

et al. (2001) ont trouvé une plus haute séroprévalence de VBVD parmi les animaux achetés; l'origine de ce résultat pourrait être la vaccination ou le contact avec le virus avant l'achat.

3.1.4.2. *Contact avec d'autres animaux*

Une étude effectuée en Norvège rapporte que le contact entre les animaux à travers les clôtures est une source potentielle de l'infection BVDV (Valle, Martin et al. 1999). Ceci est en accord avec le fait que l'agent infectieux de BVD est présent dans les sécrétions nasales et que le contact "nez-à-nez" est un contact suffisant pour la propagation de l'infection (Brownlie, Clarke et al. 1987). Une étude en Espagne montre que le contact avec des animaux sauvages (chevreuil, orignal, élan) n'était pas associé au statut de BVD des troupeaux bovins (Mainar-Jaime, Berzal-Herranz et al. 2001); toutefois d'autres études ont rapporté que les animaux sauvages portent des anticorps dirigés contre VBVD (Radostits, Done et al. 2007).

3.1.4.3. *Région et gestion des pâturages*

Au Canada, la séropositivité des bovins au VBVD est significativement associée à la région où se trouvent ces animaux (Durham and Hassard 1990). Le pâturage commun des troupeaux bovins est un facteur de risque (Valle, Martin et al. 1999; Luzzago, Frigerio et al. 2008). En Espagne, la séropositivité des bovins au virus du BVD augmente lorsque les distances entre les fermes voisines augmentent. Cette relation pourrait s'expliquer par le fait que les pâturages peuvent être proches même si les fermes sont éloignées l'une de l'autre (Mainar-Jaime, Berzal-Herranz et al. 2001).

3.1.4.4. *Taille du troupeau*

Talafha et al. (2009) ont trouvé que la séroprévalence du virus du BVD est significativement associée à la taille du troupeau. Ceci est en accord avec les résultats d'autres études qui montrent que le nombre moyen de bovins affectés par VBVD dans les petits troupeaux (3-15 animaux) est statistiquement inférieur

à ceux des grands troupeaux (>50 animaux) (Mockeliuniene, Salomskas et al. 2004).

3.1.4.5. Race, âge et sexe des animaux

Les anticorps contre VBVD sont plus fréquents chez les animaux adultes de race Holstein que ceux des autres races de bovins, moins fréquents chez les bovins de race Charolais et chez les jeunes bovins de race Herefords (Durham and Hassard 1990). En général, les jeunes animaux sont plus susceptibles au VBVD mais les adultes peuvent développer une maladie aigue s'ils sont infectés par le génotype virulent du virus de BVD (Radosits, Done et al. 2007). Une étude menée parmi des bovins au Canada montre que la prévalence des anticorps contre VBVD est moindre chez les mâles que chez les femelles, pour les animaux âgés entre 4 mois et 10 mois (Durham and Hassard 1990). Une autre étude n'a pas trouvé d'effet significatif du sexe des bovins sur la prévalence de VBVD (Mockeliuniene, Salomskas et al. 2004).

3.1.4.6. Personnel de la ferme

Le fait que les travailleurs d'une ferme visitent d'autres fermes est significativement associé au statut de BVD des bovins (Talafta, Hirche et al. 2009). Ceci est en accord avec le mode de transmission de VBVD parmi les vaches et entre les troupeaux par le vêtement des travailleurs, les équipements contaminés, les injections contaminées par les sécrétions nasales d'animaux IT (Bitsch and Ronsholt 1995; Lindberg and Houe 2005). Cependant Valle et al. (1999) rapportent que la routine d'hygiène du personnel qui visite les fermes (vétérinaires, inséminateurs, pareurs d'onglons,...) n'est pas associée au statut BVD des bovins.

3.2. Signes cliniques

Le virus du BVD est associé à une atteinte des différents systèmes du corps incluant le système reproducteur, respiratoire, digestif, cardiovasculaire, immunitaire, musculosqueletique, et le système nerveux central (Talafha, Hirche et al. 2009).

3.2.1. *Vaches gestantes*

Les conséquences d'une infection au BVD d'une vache gestante sont différentes selon le stade de gestation (figure 3).

L'infection de la vache avant 30 à 40 jours de gestation résulte en une mort embryonnaire et les infections avant 125 jours de gestation provoquent la mort du fœtus, l'avortement, la momification, ou la naissance d'animaux immunotolérants. Ces derniers ne vivent pas plus de 30 mois (Munoz-Zanzi, Hietala et al. 2003). L'infection du fœtus avant l'âge de 125 jours peut aussi causer des malformations congénitales telles qu'hypoplasie cérébelleuse, cataractes, hypoplasie oculaire, des mort-nés ou la naissance de veaux faibles (Munoz-Zanzi, Hietala et al. 2003). L'infection de la vache pendant le dernier trimestre de gestation n'affecte pas la santé du fœtus qui devient immunocompétent et peut montrer une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis du virus (Ohmann, Jensen et al. 1982). L'infection postnatale des bovins par VBVD peut causer une immunosuppression et accroît le développement d'autres maladies infectieuses (Potgieter, McCracken et al. 1984).

3.2.2. *Forme aiguë de BVD*

Cette forme de la maladie se manifeste par une pyrexie, la diarrhée et la diminution de la production avec forte morbidité mais faible mortalité des animaux (Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2005).

Au Canada, en 1993, on a enregistré une forme aiguë de la maladie, avec de la fièvre, des pneumonies, de la diarrhée parmi les bovins de tous âges, et des avortements parmi les vaches gestantes. Les lésions macro et microscopiques

du système digestif étaient similaires à celles de la maladie des muqueuses. . On enregistré de la mortalité des animaux de tous âges, incluant les adultes (Carman, van Dreumel et al. 1998)

3.2.3. *Maladie des muqueuses*

La maladie des muqueuses est une autre manifestation clinique de BVD. Elle se rencontre chez les animaux immunotolérants, 6 à 24 mois d'âge, infectés par une souche cytopathogène du virus de BVD (Carman, van Dreumel et al. 1998). Chez les veaux, les signes les plus communs de la maladie des muqueuses se caractérisent par une diarrhée abondante, avec des ulcères sévères des muqueuses (gueule, naseaux), souvent avec des conséquences fatales (Mainar-Jaime, Berzal-Herranz et al. 2001).

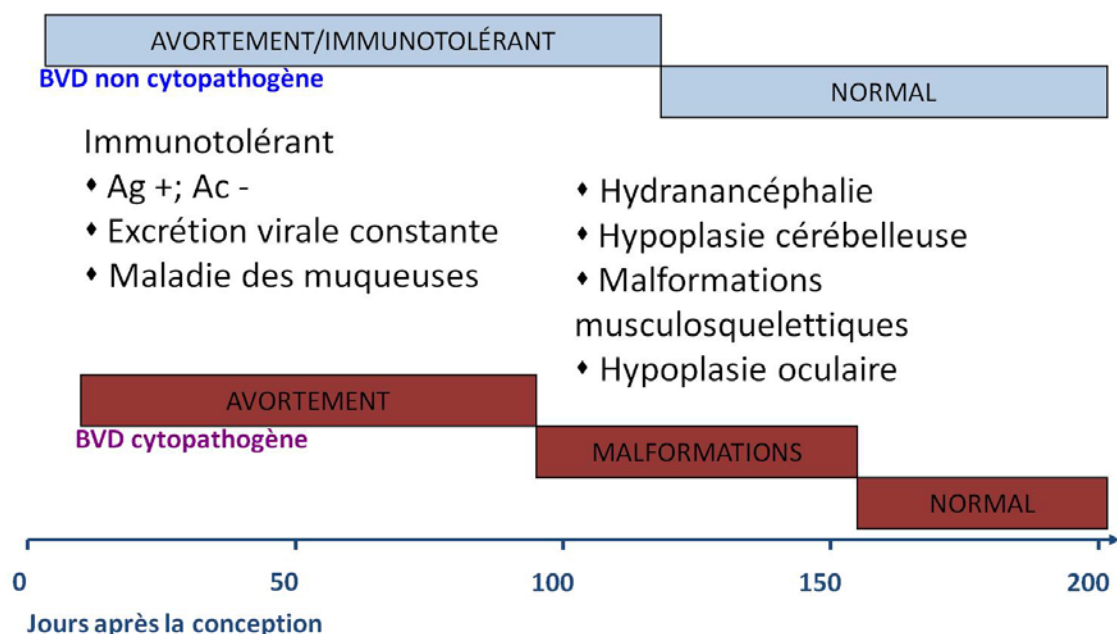


Figure 3 : Signes cliniques de la diarrhée virale bovine selon le stage de gestation.

3.3. Procédures diagnostiques

Le diagnostic du BVD peut se faire par les signes cliniques et des tests en laboratoire : a) détection du virus dans différents tissus ou le sang, b) tests sérologiques, pour détecter les anticorps dirigés le VBVD, ou c) la nécropsie (Radostits, Done et al. 2007).

3.3.1. Détection du virus

3.3.1.1. Isolement du virus

Le virus du BVD peut être isolé, par inoculation de cultures cellulaires, à partir d'échantillons de sang, de lait, ou d'écouillons nasaux (Radostits, Done et al. 2007). On peut ainsi identifier l'antigène du virus par immunofluorescence ou par coloration avec immunoperoxidase après 3-5 jours. La quantification du virus dans l'échantillon se fait par titration (Houe, Lindberg et al. 2006).

3.3.1.2. Tests ELISA

Les antigènes du VBVD peuvent être détectés par des tests ELISA qui mesurent la densité optique relative sur des échantillons de sang ou de lait (Houe, Lindberg et al. 2006). C'est une technique assez rapide, moins chère par rapport à l'isolement du virus et qui ne requiert pas de culture cellulaire (Houe, Lindberg et al. 2006). Le test est adéquat pour la détection d'antigène des animaux IT (Radostits, Done et al. 2007).

3.3.1.3. Méthode immunohistochimique

L'antigène de VBVD peut aussi être détecté à partir de biopsie de la peau ou de l'oreille selon une méthode immunohistochimique. Cette technique peut être utilisée pour détecter les animaux immunotolérants (IT) et a l'avantage de ne pas être affectée par la présence d'anticorps du colostrum (Houe, Lindberg et al. 2006) Les animaux de tous âges peuvent ainsi être échantillonnés (Radostits, Done et al. 2007).

3.3.1.4. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

La présence de VBVD peut être détectée par PCR, une technique pour identifier des spécimens avec une faible quantité de virus, comme un échantillon de lait de réservoir, de sérum et de tissus d'animaux temporairement infectés, ou d'animaux IT (Radwan, Brock et al. 1995; Munoz-Zanzi, Johnson et al. 2000). Cependant il faut considérer le coût, l'expertise technique, l'équipement et l'automatisation pour le comparer aux tests standards d'isolement du virus (Radostits, Done et al. 2007).

3.3.2. Détection d'anticorps : sérologie

3.3.2.1. Test de séroneutralisation

Cette technique est basée sur l'effet inhibiteur des anticorps sur la reproduction du virus sur des cultures cellulaires. Elle est laborieuse et assez chère, utilisée pour la titration des anticorps dans des échantillons de sang ou de lait (Houe, Lindberg et al. 2006). En Europe, cette technique est souvent utilisée comme test de référence (Sandvik 2005).

3.3.2.2. Tests ELISA

Étant une alternative au test de séroneutralisation, cette technique est basée sur la mesure de la densité optique d'échantillons de sang ou de lait, permettant ainsi des mesures quantitatives des anticorps (Houe, Lindberg et al. 2006). Le test est rapide et peu coûteux, ne nécessitant pas l'utilisation de culture cellulaire (Graham, Mawhinney et al. 1997).

3.3.3. Stratégies de diagnostic

Pour détecter la présence ou l'absence de BVD au sein d'un troupeau, des tests sérologiques ou des tests de détection du virus du lait de réservoir, ainsi que des tests sérologiques d'un groupe d'animaux représentatifs du troupeau sont utilisés (Houe, Lindberg et al. 2006). Le principe d'animaux sentinelles est souvent utilisé : il consiste à faire des tests sérologiques de 5 animaux âgés de

plus de 6 mois non vaccinés contre le BVD pour déterminer le statut du troupeau. La présence d'animaux sentinelles séropositifs indiquerait la présence du VBVD dans le troupeau. (Houe, Lindberg et al. 2006).

Dans les troupeaux positifs, l'identification des animaux IT se fait par des tests de détection du virus de tous les animaux âgés de plus de 3 mois; et tous les veaux nés jusqu'à neuf mois après l'élimination du dernier animal IT doivent être testés pour détecter le virus (Houe, Lindberg et al. 2006). Après il faut tester les vaches qui ont donné des veaux IT ou les vaches qui n'ont pas de veau dans le troupeau (Houe, Lindberg et al. 2006).

3.4. Traitement

Il n'existe pas de traitement contre le BVD. Pour les animaux atteints de la maladie des muqueuses, le pronostic est fatal, et l'abattage ou l'euthanasie devraient être considéré (Radostits, Done et al. 2007).

3.5. Mesures de prévention et de contrôles

L'efficacité des mesures de prévention et de contrôle de BVD dépend de plusieurs facteurs.

3.5.1. *Prévention de l'introduction de l'infection dans le troupeau (biosécurité)*

Dans certains pays européens, comme le Danemark, la Suède, le Finlande et la Norvège, des mesures de contrôles systématiques ont été élaborées pour éradiquer l'infection. Des tests de détection du virus permettent d'assurer qu'aucun animal IT ne participe aux encans ou aux foires, ou ne passe d'un troupeau à un autre (Houe, Lindberg et al. 2006). Les vaches gestantes séropositives doivent être isolées. Leurs progénitures doivent être testées pour le statut d'IT, et la vente de tels animaux est à éviter. Pour éviter l'introduction d'animaux avec une forme aigue de la maladie, les animaux nouvellement acquis doivent passer une période de quarantaine de 3 semaines avant

d'intégrer le troupeau. Les tests utilisés ainsi que la fréquence des tests varient d'un pays à l'autre (Houe, Lindberg et al. 2006).

Les taureaux doivent passer des tests de détection du virus, et passer une période de quarantaine avant d'intégrer les centres d'insémination artificielle pour éviter la contamination du troupeau (Houe, Lindberg et al. 2006). En plus, les tests à intervalles réguliers des taureaux, pour la séroconversion et la détection du virus dans la semence, dans les centres d'insémination artificielle sont essentiels (Houe, Lindberg et al. 2006).

3.5.2. Identification et élimination des animaux IT du troupeau

En général, les animaux IT jouent un plus grand rôle dans la transmission du virus de BVD que les animaux temporairement infectés, rendant ainsi leur identification et leur élimination importantes (Lindberg and Houe 2005). Les veaux, les génisses de remplacement, les taureaux et les taures doivent être testés pour éliminer les IT. Les femelles gestantes au moment du test du troupeau doivent être isolées jusqu'au moment où son leur veau soit testé et ait un résultat négatif (Radostits, Done et al. 2007).

3.5.3. Vaccination

Plusieurs vaccins sont disponibles et autorisés dans plusieurs pays : des vaccins atténués et des vaccins inactivés. Ces vaccins doivent protéger la mère et le fœtus ainsi que les animaux de différents âges contre VBVD.

Une vaccination efficace contre le BVD doit protéger contre la virémie, bloquer l'infection des systèmes reproducteur et lymphatique pour éviter l'infection fœtale et l'immunosuppression (Radostits, Done et al. 2007). Un troupeau, d'où le BVD a été éliminé, n'est pas à l'abri d'une réinfection. En Amérique du Nord et dans d'autres régions où le BVD est endémique ou la réexposition à la maladie toujours possible, il est prudent de continuer la vaccination après élimination du VBVD du troupeau (Smith and Grotelueschen 2004).

4. La rhinotrachéite infectieuse bovine

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie causée par le Herpesvirus bovin type-1 (BHV-1), un des 8 types d'Herpesvirus qui peuvent affecter les bovins (Muylkens, Thiry et al. 2007). Jusqu'au début des années 50, on pensait que les seules manifestations cliniques associées à l'infection par le BHV-1 étaient des vulvovaginites chez les vaches et des balanoposthites chez les taureaux (Muylkens, Thiry et al. 2007). A ce moment une forme respiratoire de la maladie s'est manifestée en Amérique du Nord et fut nommée la rhinotrachéite infectieuse bovine (Schroeder and Moys 1954). La maladie s'est ensuite propagée en Europe lorsque des bovins d'Amérique du nord ont été importés pour améliorer la production laitière en Europe (Muylkens, Thiry et al. 2007). Les infections à Herpesvirus bovin type-1 existent aussi chez les ruminants sauvages (Rimstad, Krona et al. 1992). L'infection peut être endémique chez le chevreuil dans certaines parties du Canada, et on pense qu'une forme bénigne de la maladie se produit chez ces animaux (Radostits, Done et al. 2007). Il existe trois sous-types de BHV-1 : respiratoire (BHV-1.1), génital (BHV-1.2), et encéphalique (BHV-1.3) (Gogev, Vanderheijden et al. 2002; Radostits, Done et al. 2007).

4.1. Données épidémiologiques

4.1.1. Prévalence

Plusieurs études ont été effectuées pour déterminer la séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine parmi les troupeaux laitiers dans le monde (tableau VIII). Au Québec, les données de prévalence de cette maladie chez les bovins ne sont pas disponibles. La séroprévalence individuelle de l'IBR varie de 12.0% à 60.0%, et de 50% à 100% des troupeaux ont au moins 1 animal séropositif à BHV-1 dans certains pays. Ces différences dans la prévalence peuvent être dues à plusieurs facteurs tels que la vaccination contre BHV, la distribution naturelle de l'infection dans les différents pays, le mode d'échantillonnage des animaux, l'âge des animaux, les tests utilisés.

Tableau VIII. Séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine chez le bovin laitier dans différents pays du monde

Pays	Réfere.¹	Nb. troupe.²	Nb. anim.³	Anim. sérop.⁴	Tr. 1 anim. sérop.⁵	Test
Écosse	Msolla 1981	114	1152	12.0%	51.0%	SN
Inde	Tragandia 2010	4	595	60.8%	100%	ELISA
Mexique	Solis-Cald. 2003	35	564	54.4%	97.2%	SN
Canada (Saskatch. et Alberta)	Durham 1990	295	1745	37.8%	59.5%	ELISA

¹ Références. ² Nombre de troupeaux testés. ³ Nombre d'animaux testés. ⁴ Animaux séropositifs ⁵ Troupeaux avec un animal séropositif.

4.1.2. Importance économique

L'infection à BHV-1 peut avoir des conséquences majeures dans les troupeaux laitiers et de boucherie. Les pertes sont dues aux défauts de production : la diminution de la production de lait et de gain de poids et les épidémies d'avortements, et donc perte de sujets de remplacement. Il faut aussi ajouter les pertes dues à la réforme des animaux, à la mortalité, à cause de la forme respiratoire de la maladie, et au coût des traitements à cause des infections bactériennes secondaires. (Radostits, Done et al. 2007).

4.1.3. Mode de transmission

Les principales portes d'entrée de l'infection à BHV-1 sont les membranes muqueuses de l'appareil respiratoire et des organes génitaux. L'infection se transmet aussi par inoculation oculaire (Muylkens, Thiry et al. 2007). Le principal mode de transmission de la maladie est le contact direct, nez-à-nez, ou par voie génitale lors de la reproduction, entre les animaux porteurs sains ou malades et

les animaux susceptibles (Muylkens, Thiry et al. 2007). Le virus peut être transmis par la semence suite à la saillie. Les bovins infectés peuvent ensuite transmettre le virus à d'autres bovins par contact (van Oirschot 1995). Le virus peut survivre jusqu'à un an dans la semence congelée à -196°C (Radostits, Done et al. 2007).

La transmission par aérosol également a été démontrée (Mars, de Jong et al. 2000). L'introduction d'animaux dans un groupe précède souvent l'apparition de la maladie. Cependant, l'infection peut se produire simultanément dans des élevages d'une même région et se propager aux fermes voisines et ainsi infecter la région entière (Radostits, Done et al. 2007).

4.1.4. Facteurs de risques

4.1.4.1. Âge des animaux

En Belgique, une étude a montré que l'augmentation de l'âge est un facteur de risque de séropositivité des bovins de boucherie (Boelaert, Speybroeck et al. 2005). Au Mexique, la probabilité de séropositivité des animaux en production était six à huit fois plus élevée que celle des animaux en pleine croissance (Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2003). Ces résultats sont en accord avec une étude effectuée au Canada (Saskatchewan et Alberta) où la prévalence des anticorps contre BHV-1 était moindre chez les animaux âgés de 4 à 10 mois, et augmentait considérablement à l'âge de 1 an à 2 ans, puis graduellement par la suite (Durham and Hassard 1990). L'association entre l'âge des animaux et la séroprévalence de l'infection à BHV-1 est probablement due au fait que les animaux plus âgés ont un risque exposés au virus plus longtemps que les jeunes animaux (McDermott, Kadohira et al. 1997).

4.1.4.2. Sexe des animaux

Une étude effectuée en Belgique a montré que les taureaux de troupeaux laitier et de boucherie étaient plus à risque d'être séropositifs à BHV-1 que les vaches (Boelaert, Speybroeck et al. 2005). Une explication à cette observation est que, les bovins qui s'échappent de leur troupeau et se mélangent avec les bovins d'un autre troupeau sont un risque d'introduire le BHV-1 au sein d'un troupeau (Boelaert, Speybroeck et al. 2005).

4.1.4.3. Achat, introduction de nouveaux animaux

En France, la séroprévalence de BHV-1 parmi les bovins importés d'Amérique du Nord, la plupart de race Holstein, est significativement plus élevée que ceux nés et élevés en France (Dannacher and Fedida 1978). En Écosse, l'introduction de bovins de race Holstein dans plusieurs troupeaux a significativement augmenté la séroprévalence de BHV-1 dans ces troupeaux par rapport à ceux où l'on a introduit d'autres races (Msolla, Wiseman et al. 1981). Des études ont montré que l'achat de nouveaux animaux est un facteur de risque d'introduction de l'infection à BHV-1 au sein d'un troupeau. L'achat de bovins dans les marchés ou à l'encan est un facteur de risque d'introduire le BHV-1 dans les troupeaux laitiers (van Schaik, Schukken et al. 2001; van Schaik, Schukken et al. 2002). Les troupeaux bovins, constitués exclusivement de veaux, et où aucune vache n'a été introduite pour plusieurs années, sont 2.8 fois moins séropositifs que ceux où des vaches ont été introduites récemment (Msolla, Wiseman et al. 1981).

4.1.4.4. Taille du troupeau

Dans une étude sur les infections à BHV-1 chez les troupeaux de bovins laitiers et de boucherie en Écosse, Msolla et al. (1981) ont trouvé que la proportion d'animaux avec des anticorps à BHV-1 est significativement plus grande dans les troupeaux avec plus de 100 vaches que dans les troupeaux de moins de 100 vaches. Au Mexique, une autre étude a montré que les plus grands troupeaux ont un risque de séropositivité significativement plus élevé (Solis-Calderon,

Segura-Correa et al. 2003). Ces résultats sont en accord avec McDermott et al. (1997) qui ont rapporté que les plus grands troupeaux sont associés à un risque plus élevé de l'IBR. Les plus grands troupeaux ont un risque plus élevé d'introduire l'infection dans le troupeau à cause d'une plus grande fréquence d'achats d'animaux (van Schaik, Dijkhuizen et al. 1998). Par contre, dans leur étude sur les facteurs de risques liés à la présence d'animaux séropositifs à BHV-1 dans les troupeaux laitiers non-vaccinés aux Pays-Bas, Van Schaik et al. (2002) ont trouvé que la taille du troupeau n'était pas un facteur de risque (van Schaik, Schukken et al. 2002).

4.1.4.5. Visiteurs, travailleurs, équipements de protection

Au Pays-Bas, les troupeaux qui n'ont jamais vacciné contre le BHV-1 et qui sont séropositifs avaient des employés temporaires qui travaillaient dans d'autres troupeaux, et avaient plus de visiteurs occasionnels dans l'étable (van Schaik, Dijkhuizen et al. 1998). Les troupeaux où les techniciens inséminateurs (ou les autres visiteurs) utilisent des vêtements de protection ou des bottes sont moins à risque d'être séropositifs au BHV-1 que ceux où ces travailleurs n'utilisent pas d'équipements (vêtements, bottes) de protection (van Schaik, Dijkhuizen et al. 1998). Le fait que les visiteurs professionnels utilisent des vêtements de protection au sein d'un troupeau est un facteur de protection contre l'introduction de BHV-1 dans un troupeau (van Schaik, Schukken et al. 2001).

4.1.4.6. Infection concomitante

Une étude effectuée en Estonie montre que la présence de l'infection à BVD est significativement associée à une plus haute séroprévalence intratroupeau de BHV-1 (Raaperi, Nurmoja et al. 2010). D'autres études ont montré que des troupeaux peuvent être séropositifs aux deux infections en même temps (Kampa, Stahl et al. 2004). On connaît l'effet immunosuppresseur de l'infection à BVD qui pourrait être un facteur prédisposant à d'autres infections virales ou bactériennes, incluant l'infection à BHV-1 (Raaperi, Nurmoja et al. 2010).

4.2. Signes cliniques

La période d'incubation de l'infection à BHV-1 varie de 10 à 20 jours (Nandi, Kumar et al. 2009). La sévérité de la maladie dépend de plusieurs facteurs comme la virulence de la souche de BHV-1 (Kaashoek, Straver et al. 1996), l'âge des animaux, et les facteurs environnementaux (Muylkens, Thiry et al. 2007). Les signes cliniques varient et peuvent être groupés en forme respiratoire, forme oculaire, forme génitale ou forme encéphalique (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.2.1. *Forme respiratoire*

L'infection peut être subclinique, bénigne, ou aigue. Dans les cas bénins de la maladie, on peut voir des écoulements nasaux et oculaires séreux. La forme aigue de la maladie est caractérisée par de la fièvre, de l'inappétence, de la dyspnée, une toux persistante, des signes de bronchite ou de pneumonie, et une diminution de la production de lait chez la vache (Nandi, Kumar et al. 2009). Les muqueuses nasales sont hyperémiques et présentent des lésions de nécrose ou ulcérées (Nandi, Kumar et al. 2009). Une forme aigue de l'infection à BHV-1 peut durer 5 à 10 jours, puis l'animal se rétablit vite mais peut rester un porteur à vie du virus (Tikoo, Campos et al. 1995). L'avortement est une conséquence de la forme respiratoire de l'IBR sur une vache séronégative, et est observée du 4^{ème} au 8^{ème} mois de la gestation (Muylkens, Thiry et al. 2007).

4.2.2. *Forme oculaire*

Cette forme de la maladie est caractérisée par une conjonctivite et un écoulement oculaire abondant. En cas d'infection bactérienne secondaire, l'écoulement oculaire devient purulent avec une kératite ou une ulcération de la cornée (Turin, Russo et al. 1999). La forme oculaire peut se produire avec la forme respiratoire de la maladie. En l'absence de complication bactérienne les symptômes disparaissent en 5 à 10 jours (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.2.3. *Forme génitale*

Cette forme de la maladie se développe de 1 à 3 jours suivant la reproduction et est caractérisée par de la fièvre, une dépression et une anorexie. Les muqueuses vaginales sont hyperémiques, présentent des pustules qui peuvent se fusionner pour donner des ulcères. Une infection bactérienne secondaire se produit souvent et on remarque alors des écoulements purulents (Nandi, Kumar et al. 2009). Les lésions guérissent en 10 à 14 jours après l'apparition des symptômes mais les écoulements peuvent persister pendant plusieurs semaines (Turin, Russo et al. 1999).

4.2.4. *Forme encéphalique*

Les bovins affectés présentent une incoordination des mouvements qui progressent vers l'ataxie et des spasmes cloniques des pattes, du cou et des muscles lombaires (Nandi, Kumar et al. 2009). La mort peut survenir 4 jours après l'apparition des problèmes neurologiques; certains animaux peuvent guérir mais restent aveugles (Schudel, Carrillo et al. 1986).

4.2.5. *Maladie systémique chez les veaux nouveau-nés*

Cette forme de la maladie se produit après une infection néonatale par le BHV-1 (Muylkens, Thiry et al. 2007). Elle se manifeste par une soudaine anorexie, de la fièvre, une salivation excessive, une hyperémie de la membrane muqueuse de la bouche, une pharyngite, un œdème du larynx et une diarrhée accompagnée de déshydratation (Radostits, Done et al. 2007). Cette forme de la maladie peut être fatale en 4 à 5 jours après l'apparition des signes cliniques (Muylkens, Thiry et al. 2007).

Période de latence de l'infection à BHV-1

BHV-1 peut devenir latent chez un animal après une première infection naturelle ou une vaccination avec un vaccin atténué. La vaccination ne protège pas l'animal contre une infection latente de BHV-1 (Nandi, Kumar et al. 2009). Le vêlage et le transport des animaux porteurs latents peuvent réactiver le virus,

provoquant une excrétion du virus et une augmentation des titres des anticorps contre le virus dans le sang (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.3. Procédures diagnostiques

L'infection à BHV-1 peut être détectée par des méthodes d'isolement et d'identification du virus ou par des méthodes de détection des anticorps contre le virus.

4.3.1. Détection du virus

4.3.1.1. Isolement du virus

Le virus de l'IBR peut être isolé sur des cultures de cellules de reins, de poumons ou de testicules de bovins. Le virus peut être isolé à partir d'écouvillons nasaux ou vaginaux, de placentas, de foie, du poumons, des reins, des muqueuses d'animaux infectés (Homan and Easterday 1980) et d'échantillon de semence (Nandi, Kumar et al. 2009). La présence du virus est identifiée par les effets cytopathiques caractéristiques qui apparaissent 3 jours après l'inoculation (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.3.1.2. Histopathologie

Les inclusions virales intranucléaires de Cowdry peuvent être observées à partir du cerveau des animaux atteints de la forme encéphalique de la maladie, ou du vagin d'animaux infectés. L'utilisation de cette méthode est limitée pour le diagnostic de la maladie puisque ces inclusions sont transitoires (Turin, Russo et al. 1999; Nandi, Kumar et al. 2009).

4.3.1.3. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

C'est une méthode rapide qui peut donner un résultat après 12 heures comparativement à 7 jours pour l'isolement du virus. Le virus peut être détecté à partir d'écouvillons nasaux, de sérum de fœtus, ou de la semence (Fuchs, Hubert et al. 1999). Cette méthode est supérieure pour détecter le virus dans la semence par rapport à la méthode d'isolement viral (Xia, Lofstedt et al. 1995),

mais il faut prendre des précautions pour éviter la contamination des échantillons (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.3.1.4. Microscopie électronique

L'utilisation de la microscopie électronique pour identifier les particules virales dans des échantillons de différents organes d'animaux infectés est une méthode rapide pour le diagnostic de l'infection à BHV-1. L'utilisation de cette technique a des limites, vu le coût de l'équipement (Nandi, Kumar et al. 2009).

4.3.2. Détection des anticorps

4.3.2.1. Test ELISA

Plusieurs tests ELISA sont utilisés pour détecter les anticorps contre le BHV-1 à partir de sérum d'animaux avec des signes cliniques de la maladie, ou de lait de réservoir. Les tests ELISA sont spécifiques, sensibles et pratiques pour la détection des anticorps contre BHV-1 (Kaashoek, Straver et al. 1996). Les animaux avec une infection en latence peuvent avoir des résultats négatifs avec ces tests (Deregt, Cho et al. 1993). Si les anticorps contre le BHV-1 sont détectés dans le lait de réservoir, il est très probable que plus d'un animal dans le troupeau est infecté et que l'infection est répandue dans le troupeau (Hartman, van Wuijckhuise et al. 1997). Le test du lait de réservoir pour les anticorps de BHV-1 peut être utile au programme de surveillance et d'éradication car c'est un dépistage rapide et peu coûteux, mais il est moins spécifique par rapport au test de séroneutralisation (Nylin, Stroger et al. 2000).

4.3.2.2. Test de séroneutralisation

Le test de séroneutralisation est utilisé pour le diagnostic de l'infection à BHV-1. La présence d'anticorps contre BHV-1 peut être détectée par SN sur des cultures de cellules de rein ou de testicule de bovin (Homan and Easterday 1980), à partir de sérum d'animaux infectés, avec des signes cliniques de la maladie. L'absence d'effets cytopathiques du virus sur les cultures de cellules

montre la présence d'anticorps contre BHV-1 dans les échantillons (Deregt, Cho et al. 1993).

4.4. Traitement

Il n'existe pas de traitement spécifique contre l'infection à BHV-1. L'approche thérapeutique consiste à prévenir et traiter les surinfections bactériennes.

4.5. Méthodes de prévention et de contrôle

4.5.1. Biosécurité

Le maintien d'un troupeau fermé est une méthode efficace pour la prévention de l'infection à BHV-1 mais aussi la moins pratique (Radostits, Done et al. 2007). Une des méthodes de prévention de la transmission de l'infection est la restriction du commerce de bovins, l'abattage des animaux avec des anticorps contre le BHV-1 pour éradiquer la maladie des troupeaux, la détection et l'éradication des réservoirs de BHV-1 des troupeaux reproducteurs (Ackermann, Müller et al. 1990). Les animaux nouvellement acquis doivent être mis en quarantaine pour quelques semaines avant d'être introduits au sein du troupeau (Wells 2000).

4.5.2. Vaccination

Puisque les tests de diagnostic disponibles ne détectent pas toujours l'infection latente à BHV-1, la vaccination des animaux du troupeau est recommandée. Plusieurs vaccins sont disponibles, dont des vaccins vivants atténués et des vaccins inactivés. Les programmes de vaccination dépendent du statut de chaque troupeau par rapport à l'infection à BHV-1. Une vaccination efficace contre IBR doit donner une réponse immunitaire adéquate qui protégerait la mère et le fœtus et les animaux de différents âges contre cette maladie (Castrucci, Frigeri et al. 2002).

5. L'élevage laitier biologique

5.1. L'élevage laitier biologique dans le monde

L'agriculture biologique est en pleine effervescence depuis des années un peu partout dans le monde. Elle vise à créer un écosystème global qui travaille à garder en équilibre le sol, les plantes, les animaux et les humains. Le nombre de fermes qui font la conversion vers l'agriculture biologique est aussi en croissance. Cette croissance et le développement de l'agriculture biologique sont appuyés par différents centres de recherches et universités ainsi que par l'aide économique des gouvernements.

Tableau IX : L'importance de l'agriculture biologique dans différents pays du monde (2005) (Labrecque 2007)

Pays	Superficie bio (Ha)	Superficie bio (%)	Vaches laitières bio	% vaches laitières bio
Autriche	360 972	14.16	86 896	16.10
France	560 838	2.03	66 123	1.80
Allemagne	807 406	4.74	101 000	2.40
Grande Bretagne	619 852	3.90	83 252	4.00
Suède	200 010	6.27	22 321	5.60
Australie	11 800 000	2.68	-	-
États-Unis	1 620 350	0.50	-	-
Canada	578 874	0.86		

5.2. L'élevage laitier biologique au Canada

Au Canada, dans la province du Québec, la production de lait biologique connaît une forte croissance depuis plus de dix ans. (Figure 4). Une aide financière est accordée aux producteurs pour les services-conseils spécialisés par l'entremise du réseau UPA-MAPAQ. Valacta et le Centre d'insémination artificielle du Québec (CIAQ) offrent des services spécialisés en production laitière biologique.

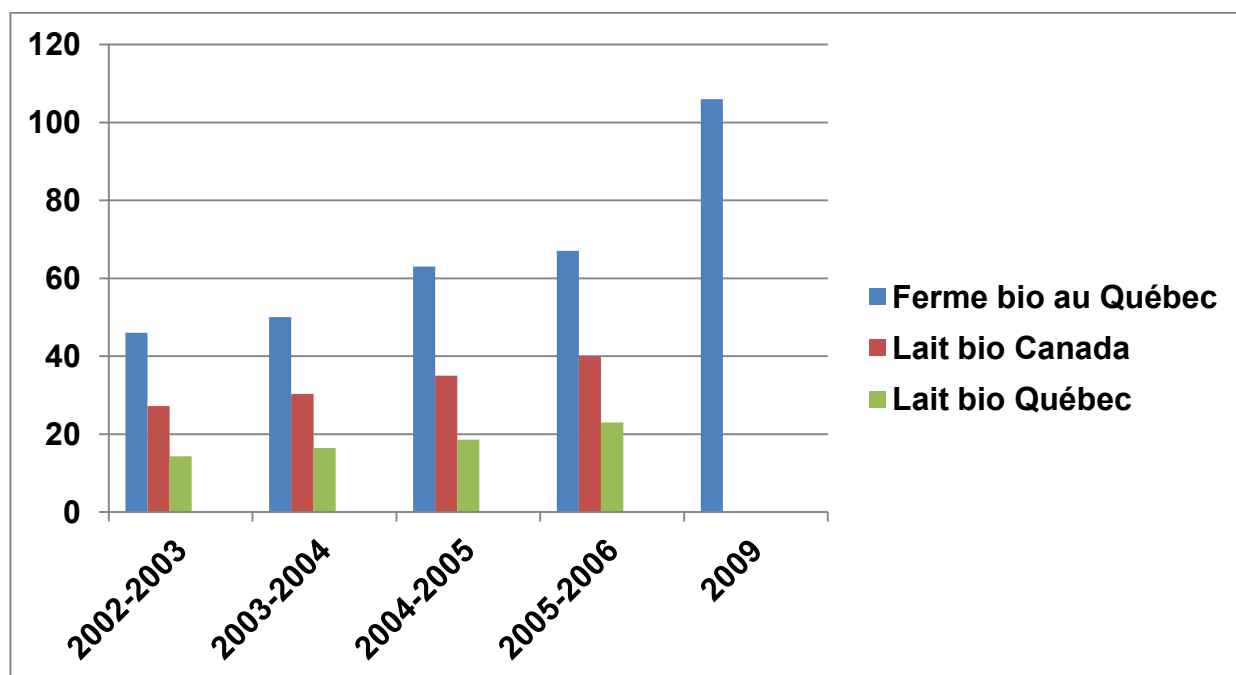


Figure 4 : Données sur l'élevage laitier biologique au Canada (Grenier 2006)

En 2006 le Québec produisait 52% du volume de lait biologique au Canada, ce qui représentait 0.65% du total du lait produit au Québec (Grenier 2006).

5.3. Certification biologique et normes de l'élevage laitier biologique

Créé en 1988, le Conseil des appellations agroalimentaires du Québec (CAAQ) régie les normes de certification au Québec, lesquelles sont conformes aux normes internationales. Plusieurs organismes de certification sont accrédités par le CAAQ pour certifier les produits agricoles biologiques au Québec.

Chaque organisme de certification a son propre cahier de charges, avec quelques ajouts et particularités.

En élevage laitier biologique, des normes et des recommandations sont en vigueur concernant les conditions d'élevage, l'alimentation, la santé et la reproduction, entre autres : le pâturage obligatoire pour les animaux, l'alimentation certifiée biologique, le registre de troupeau et de santé individuelle obligatoire, les génisses qui doivent consommer durant trois mois du lait biologique, la vaccination si la maladie est présente au sein du troupeau et l'achat de sujets de remplacement certifiés biologiques ou en transition d'un an (Grenier 2006).

Certaines de ces normes, tels que le pâturage, l'achat de nouveaux animaux peuvent être des facteurs de risques associés à la néosporose, à l'IBR et au BVD dans les élevages laitiers conventionnels. Dans l'élevage biologique les veaux doivent être alimentés au lait, non avec des substituts de lait ou de colostrum car ces derniers ne sont pas biologiques. Les normes biologiques exigent le sevrage des animaux à un âge minimal de trois mois. De telles pratiques présentent des risques pour certaines maladies, dont l'infection par le MAP.

En plus, à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible concernant la prévalence de ces maladies dans les élevages laitiers biologiques.

Ainsi notre étude a plusieurs objectifs, dont :

- estimer la prévalence des agents de la néosporose, de la paratuberculose, de la diarrhée virale bovine et de la rhinotrachéite infectieuse bovine dans les troupeaux laitiers biologiques au Québec
- comparer la prévalence de ces agents dans les troupeaux biologiques à celle dans les troupeaux conventionnels au Québec
- évaluer certains facteurs tels que la région, la vaccination contre la diarrhée virale bovine et/ou contre la rhinotrachéite infectieuse bovine, le

suivi de troupeau, l'achat de nouveaux animaux et la taille du troupeau sur la séroprévalence de ces quatre agents.

MÉTHODOLOGIE

1. Sélection des troupeaux

Une étude transversale a été effectuée pour estimer la séroprévalence individuelle et de troupeau de NC, de MAP, du BVD et de l'IBR, dans les troupeaux laitiers biologiques au Québec. La population cible était l'ensemble des troupeaux laitiers certifiés biologiques dans la province du Québec. En 2009, le nombre de troupeaux laitiers certifiés par les organismes de certification biologique au Québec était de 106. Toutefois, afin d'avoir accès aux données de production de chaque troupeau, les troupeaux laitiers biologiques inscrits au contrôle laitier du Québec ont été sélectionnés préférentiellement.

Un échantillonnage aléatoire simple, stratifié par région – le nombre de troupeaux échantillonnés est proportionnel au nombre de troupeaux dans chaque région -, a été effectué pour avoir une bonne représentativité de la province. Le calcul de la taille minimum de l'échantillon de troupeaux à sélectionner, par le logiciel Winepiscop2, est basé sur les données provenant d'autres études au Canada. On a estimé la prévalence de troupeaux de NC, MAP, BVD, IBR, respectivement à 70%, 20%, 50%, 40%, avec un intervalle de confiance de 95%, une précision de 10%.

La taille d'échantillon de troupeaux a été fixée à 60. En utilisant des nombres aléatoires générés par ordinateur les troupeaux répondants au critère de sélection ont été échantillonnés par fonction aléatoire Excel jusqu'à en recruter 60.

2. Sélection des animaux

Un échantillonnage aléatoire simple a été effectué pour la sélection des animaux dans chaque troupeau, en utilisant des nombres aléatoires générés par fonction aléatoire Excel.

Pour la paratuberculose et la néosporose, 30 vaches adultes ont été échantillonnées aléatoirement dans chaque troupeau, indépendamment de la taille du troupeau. Pour les troupeaux ayant moins de 30 vaches, toutes les vaches adultes ont été échantillonnées. Ce nombre de vaches par troupeau sont nécessaires pour détecter au moins un animal séropositif dans un troupeau, basé sur une séroprévalence approximative de 10%, avec un intervalle de confiance de 95%, vu la sensibilité relativement faible du test ELISA pour la détection de la paratuberculose (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001).

Pour la diarrhée virale bovine et la rhinotrachéite infectieuse bovine, cinq animaux de plus de 6 mois et jamais vaccinés contre aucune de ces deux maladies ont été échantillonnés aléatoirement dans chaque troupeau. Pour les troupeaux qui ne vaccinent contre aucune de ces deux maladies, ces 5 animaux étaient sélectionnés parmi les 30 vaches adultes échantillonnées pour la paratuberculose et néosporose. Pour les troupeaux qui vaccinent contre une de ces deux maladies, 5 génisses de plus de 6 mois jamais vaccinées ont été prélevées, en plus de 30 vaches adultes. Des vérifications ont été effectuées auprès des éleveurs pour que ces cinq animaux ne soient ni vaccinés contre aucune des deux maladies, ni achetés dans un troupeau qui vaccine contre une de ces deux maladies.

Cette méthode d'échantillonnage est basée sur une autre étude qui a trouvé que la sensibilité et spécificité au sein du troupeau étaient $\geq 95\%$ et $\geq 98\%$ respectivement, pour identifier correctement les troupeaux infectés ou non par le virus de la diarrhée virale bovine, avec un échantillon de cinq animaux jamais vaccinés par troupeau (VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005).

3. Visite des troupeaux et prélèvements

Les visites de troupeaux se sont déroulées entre septembre 2009 et janvier 2010. Pendant la visite de chaque troupeau, un prélèvement sanguin était effectué, à partir de la veine coccygienne, sur chaque animal adulte, et à partir de la veine jugulaire pour les jeunes animaux sélectionnés. Le prélèvement sanguin était effectué avec une aiguille 20G (BD, Vacutainer, Franklin Lakes, États-Unis) et un tube stérile à vacuum de 10 ml (BD, Vacutainer, Franklin Lakes, États-Unis). En moins de 24 heures, le sang récolté dans les tubes était centrifugé à 3500 tours/minute, pendant 10 minutes. Le sérum ainsi récolté a été transféré, à l'aide de pipettes stériles, dans des tubes en plastique stérile de 2 ml (Progene, Québec, Canada). Les tubes plastiques avec le sérum ont été conservés à -70°C à la Faculté de médecine vétérinaire de Saint-Hyacinthe, Québec, jusqu'au test sérologique aux laboratoires.

En plus des prélèvements de sang un questionnaire, traitant des différents aspects de l'élevage, a été soumis à chaque élevage.

4. Questionnaire

Un questionnaire, adapté d'autres questionnaires d'études sur la paratuberculose, sur les problèmes respiratoires, sur la néosporose, sur le BVD et sur la leucose réalisées dans les autres provinces canadiennes a été élaboré. Des questions ont été ajoutées concernant les facteurs de risque associés aux maladies étudiées selon les connaissances du moment. Le questionnaire contenait différents types de question : questions ouvertes sur des données qualitatives, quantitatives et données catégoriques, et des questions fermées sous formes de questions à choix multiples ou à échelle d'évaluation.

Ce questionnaire a été relu et corrigé par les personnes impliquées dans le projet. Il a également été soumis à 2 éleveurs et à un médecin vétérinaire pour évaluer la durée nécessaire pour le compléter et sa clarté. Préalablement à chaque visite, le questionnaire et un formulaire de consentement avec autorisation d'obtenir les données du contrôle laitier, ont été envoyés aux

éleveurs. Lors de la visite, le questionnaire et le formulaire de consentement ont été récupérés et une copie de la fiche de santé de chacun des animaux prélevés. À ce moment là, le questionnaire était revu avec l'éleveur et toujours par la même personne.

Les données des questionnaires ont été archivées dans un fichier Excel. Afin de minimiser les erreurs d'entrée de données, celles-ci ont été entrées deux fois.

Pour la première étape de cette étude, nous avons étudié 5 questions relatives aux éventuels facteurs de risques associés à la néosporose, à la paratuberculose, au BVD et à l'IBR, telles que la région, la vaccination contre BVD/IBR, le suivi de troupeau, l'achat de nouveaux animaux et la taille du troupeau. Ainsi l'association entre chacun de ces facteurs et la séroprévalence de troupeau de chacune des maladies a été analysée, ainsi que les relations entre le statut des troupeaux vis-à-vis de chacune des maladies.

5. Analyses de laboratoire

Les sérums préparés et conservés ont été soumis à des tests sérologiques au Laboratoire d'épidémiosurveillance animal du Québec (LEAQ) de Saint-Hyacinthe, pour la néosporose et la paratuberculose, et au laboratoire de la Faculté de médecine vétérinaire de Saint-Hyacinthe, pour le BVD et l'IBR.

5.1. Néosporose

La présence de l'infection à NC a été détectée par test ELISA avec des antigènes du parasite. La trousse utilisée pour le test est fabriquée par Biovet (produit # B012), Saint-Hyacinthe, Québec, Canada. Les tests ont été effectués selon les recommandations du fabricant des trousse. Selon le test, un échantillon de sérum peut être négatif, douteux ou positif. En considérant les résultats douteux comme étant positifs, la sensibilité relative de l'épreuve est de 99.4% (IC=95%), et la spécificité relative de l'épreuve est de 99.1% (IC=95%).

En considérant les résultats douteux comme étant des négatifs, la sensibilité relative du test est de 88.2% (IC=95%) et la spécificité relative du test est de 100% (IC=95%).

5.2. Paratuberculose

Un test ELISA à extrait protoplasmique de MAP a été effectué pour déterminer l'état sérologique. Deux trousse de l'institut Pourquier, France, (version P07130/10) ont été utilisées. Les tests ont été effectués selon les recommandations du fabricant des trousse. Selon le test un échantillon de sérum est considéré soit négatif, soit douteux, soit positif. La sensibilité et la spécificité du test sont de 47.3% et 99.0% respectivement (Coté 2003).

Pour la néosporose et la paratuberculose, un deuxième test sérologique était effectué sur les échantillons avec un résultat douteux. Douze échantillons pour NC et 5 pour MAP ont eu des résultats douteux. Si le résultat du deuxième test s'avérait douteux, l'échantillon était considéré négatif.

5.3. Diarrhée virale bovine

Un test de séroneutralisation a été effectué pour déterminer l'exposition au VBVD. L'épreuve de séroneutralisation a pour but de déterminer la quantité d'anticorps neutralisant présent dans le sérum et les souches virales NADL pour BVD type 1, et 104 pour BVD type 2 ont été utilisées. Le test a été effectué selon les recommandations du Laboratoire de la Faculté de médecine vétérinaire de Saint Hyacinthe, Québec. La première étape du test consiste à incuber ensemble anticorps et virus afin de permettre l'inactivation (neutralisation du pouvoir infectieux) du virus par les anticorps. La deuxième étape consiste à ajouter des cultures de cellules au mélange anticorps et virus pour évaluer les effets cytopathiques des virus. Pour l'épreuve de séroneutralisation. Selon les recommandations du laboratoire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Saint-Hyacinthe, un échantillon est considéré positif au VBVD1 ou au VBVD2 si le test de séroneutralisation est positif à une dilution de 1/8.

5.4. *Rhinotrachéite infectieuse bovine*

L'infection à BHV-1 a été déterminée par test de séroneutralisation au Laboratoire de la Faculté de médecine vétérinaire de Saint Hyacinthe, Québec. La souche virale Colorado a été utilisée pour ce faire. La plus grande dilution de l'échantillon, où l'on n'observe pas d'effets cytopathiques des virus indique le titre des anticorps séroneutralisants de l'échantillon. Un échantillon est considéré positif si le test de séroneutralisation est positif à une dilution de 1/8.

6. Analyses statistiques

Des analyses statistiques ont été réalisées pour déterminer la proportion d'animaux et de troupeaux infectés par la paratuberculose, la néosporose, la diarrhée virale bovine et la rhinotrachéite infectieuse bovine, ainsi que pour traiter les données du questionnaire.

6.1. *Séroprévalence aux agents infectieux*

6.1.1. *Séroprévalence individuelle*

La séroprévalence individuelle de la paratuberculose et de la néosporose ont été calculées avec un intervalle de confiance de 95%. Les séroprévalences individuelles réelles pour ces deux maladies aussi ont été calculées, selon la formule (Dohoo, Martin et al. 2009) :

$$Pr = \frac{Pa + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$$

Pr : prévalence individuelle réelle; Pa : prévalence individuelle apparente; Se : sensibilité du test; Sp : spécificité du test.

6.1.2. Séroprévalence de troupeaux

Pour calculer les séroprévalences de troupeau, différentes définitions ont été utilisées pour considérer un troupeau positif pour les quatre maladies.

6.1.2.1. Néosporose

Pour la néosporose, un troupeau a été considéré positif si au moins un animal était positif dans le troupeau. La séroprévalence de troupeau de la maladie à partir de deux animaux positifs a également été utilisée. Ces deux définitions servent à déterminer le troupeau positif à NC, mais à notre avis la deuxième définition s'approcherait beaucoup plus de la réalité puisque les sensibilités et spécificité des tests sont loin d'être 100%.

6.1.2.2. Paratuberculose

Pour interpréter la séroprévalence de troupeau de la paratuberculose, deux définitions ont été utilisées pour définir un troupeau positif :

- 1) si au moins un animal est séropositif dans le troupeau.
- 2) si au moins deux animaux sont séropositifs dans le troupeau.

Si notre premier objectif est de bien identifier un troupeau comme étant infecté, la deuxième définition, au moins deux animaux séropositifs, serait plus appropriée, vu qu'elle donne le plus de valeurs prédictives positives, que la première (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001).

6.1.2.3. Diarrhée virale bovine

Quant à la diarrhée virale bovine, la séroprévalence de troupeau de cette maladie a été calculée à partir de trois définitions utilisées dans les études canadiennes (Houe 1992; VanLeeuwen, Keefe et al. 2001) qui définissent un troupeau positif :

- 1) si au moins un animal est séropositif.

2) si au moins deux animaux sont séropositifs.

3) si au moins un animal a un titre d'anticorps séroneutralisants $\geq 1/64$.

La troisième définition, un troupeau qui a un animal avec un titre d'anticorps séroneutralisants $\geq 1/64$, représenterait une récente exposition du troupeau au VBVD, soit un animal avec une infection aigüe ou avec une infection persistante (VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005).

6.1.2.4. *Rhinotrachéite infectieuse bovine*

Pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, un troupeau était considéré positif si au moins un animal était séropositif dans le troupeau. La séroprévalence de troupeau de cette maladie a aussi été calculée en considérant un troupeau positif si au moins deux animaux étaient séropositifs.

6.2. *Analyse des facteurs de risques associés aux maladies*

Le logiciel SAS version 9.2 (Cary, N.C.) a été utilisé pour effectuer les analyses des facteurs de risques. Les calculs ont été effectués avec un intervalle de confiance de 95%.

Cinq variables, - la taille du troupeau, le suivi de troupeau, l'achat de nouveaux animaux, la vaccination contre le BVD et/ou l'IBR et la région -, ont été analysées dans cette étude. Ces variables sont considérées comme des facteurs de risque de NC, MAP, BVD ou IBR dans d'autres études chez les troupeaux conventionnels (Jakobsen, Alban et al. 2000; Mockeliuniene, Salomskas et al. 2004; Corbellini, Smith et al. 2006; Vanleeuwen, Haddad et al. 2010). Ces variables ont été choisies parmi les autres car nous pensions qu'elles pourraient refléter plus les caractéristiques des troupeaux laitiers biologiques au Québec. Un modèle de régression logistique mixte a été utilisé pour étudier les effets de chacune des cinq variables, avec le troupeau comme effet aléatoire et chacune des cinq variables comme facteur fixe, pour tenir compte de la non-indépendance des données à l'intérieur du même troupeau.

La variable a un effet statistiquement significatif sur la séroprévalence de troupeau de chacune des maladies si $p < 0.05$.

Les relations possibles entre les séroprévalences de troupeau des quatre maladies ont également été étudiées à l'aide du test de corrélation de Kappa.

L'interprétation des résultats du test de corrélation de Kappa est comme suit (Dohoo, Martin et al. 2009) :

≤ 0	Accord faible
0.01 à 0.2	Accord léger
0.21 à 0.4	Accord « mince »
0.41 à 0.6	Accord modéré
0.61 à 0.8	Accord considérable
0.81 à 1	Accord presque parfait

RÉSULTATS

1. Description des troupeaux

Cinquante neuf troupeaux, parmi les soixante échantillonnés, ont été inclus dans l'étude. Un troupeau a été éliminé du projet car il manquait des informations et le propriétaire n'a pas retourné le questionnaire. Ces troupeaux étaient répartis dans 8 régions administratives différentes. Cette répartition ainsi que le nombre de troupeaux laitiers biologiques selon les régions administratives sont présentés dans le tableau XI.

Tableau X : Répartition des troupeaux laitiers biologiques et des troupeaux participants selon les différentes régions administratives du Québec

Régions	Nombre Troupeaux	Troupeaux participant au projet
Abitibi-Témiscamingue	1	0
Bas-St-Laurent	31	17
Capitale Nationale	4	2
Centre du Québec	15	9
Chaudière-Appalaches	24	14
Estrie	11	6
Lanaudière	1	0
Laurentides	1	0
Mauricie	3	2
Montérégie	3	2
Saguenay Lac St Jean	12	7
TOTAL	106	59

En moyenne, les troupeaux laitiers ont eu leur certification biologique depuis 7 ans, la plus ancienne depuis 24 ans et la plus récente depuis 1 an. La répartition des troupeaux selon leur année de certification est présentée dans la Figure 5.

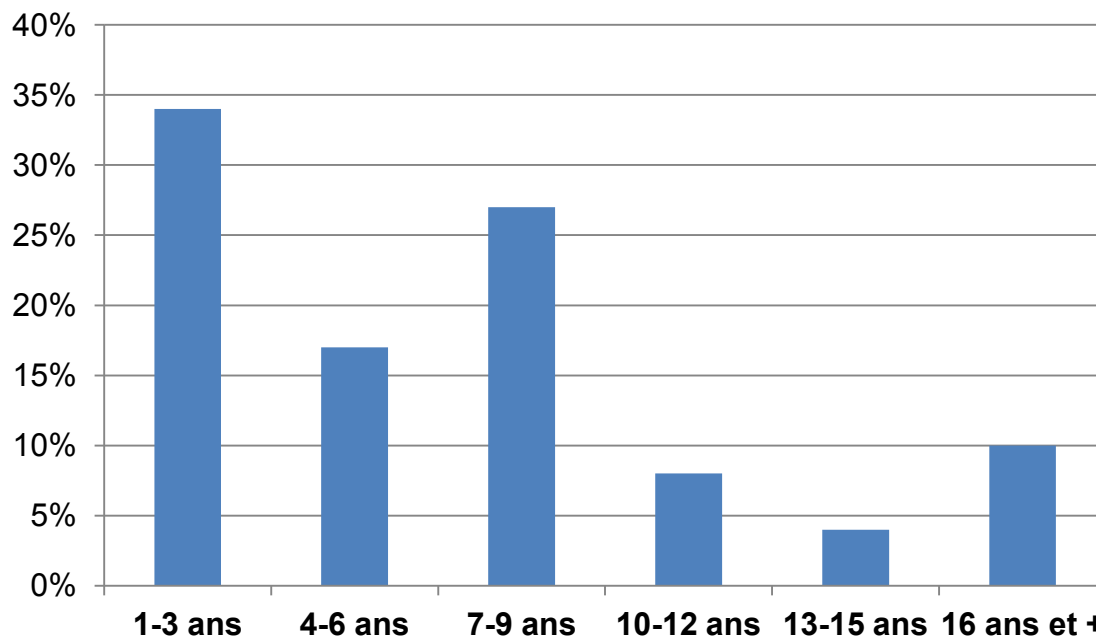


Figure 5 : Répartition des troupeaux laitiers biologiques inclus dans l'étude selon le nombre d'année de certification

La taille moyenne des troupeaux était de 95 animaux, variant de 30 à 195. Le nombre moyen de vaches en lactation par troupeau était de 49, avec un minimum de 18 et un maximum de 108. La production moyenne est estimée à 6922 kg/vache/an avec un minimum de 3408 kg/vache/an et un maximum de 9861 kg/vache/an. Cinquante quatre troupeaux étaient inscrits au contrôle laitier.

La race prédominante des troupeaux laitiers biologiques au Québec était la race Holstein, qu'on retrouve dans 86.5% (51/59) des troupeaux.

En ce qui concerne la vaccination des troupeaux, 22% (13/59) d'entre eux vaccinaient contre le BVD et l'IBR; un troupeau sur les 59 vaccinait seulement contre la rhinotrachéite infectieuse bovine. Quant à d'autres vaccinations, 8.5% (5/59) des troupeaux vaccinaient contre d'autres maladies (charbon, diarrhée néonatale, mammites).

Vingt et huit troupeaux ont un suivi de troupeaux régulier par un vétérinaire, tandis que 40.7% (24/59) des élevages ont effectué des achats de nouveaux animaux les 5 dernières années.

Le Tableau XI montre les problèmes de santé observés dans les troupeaux, au moment de notre visite, selon les éleveurs.

Tableau XI : Les problèmes de santé dans les troupeaux laitiers biologiques au Québec au moment de l'étude

	Total (n=59)	Troupeaux non vaccinés BVD/IBR (n=45)	Troupeaux vaccinés BVD/IBR (n=14)
Mammite	54.2%	23 (51.1%)	9 (64.2%)
Boiterie	16.9%	9 (20.0%)	1 (7.1%)
Système reproducteur	16.9%	9 (20.0%)	0 (0%)
Acétonémie	8.5%	3 (6.7%)	2 (14.3%)
Respiratoire	6.8%	4 (8.9%)	0 (0%)
Hypocalcémie	3.4%	1 (2.2%)	1 (7.2%)
Diarrhée	1.7%	1 (2.2%)	0 (0%)
Néosporose	1.7%	1 (2.2%)	0 (0.0%)
Leucose	1.7%	1 (2.2%)	0 (0%)
Aucun	3.4%	1 (2.2%)	1 (7.2%)

Les problèmes de santé les plus fréquents dans les troupeaux biologiques, au moment de l'étude, sont la mammite et les problèmes de boiterie qui affectent 54.3% (32/59) et 10.1% (6/59), respectivement, des troupeaux. Ensuite viennent les problèmes liés à la reproduction, les problèmes respiratoires et l'acétonémie. Un troupeau avait un problème lié à la néosporose et un autre un problème lié à la leucose.

2. Séroprévalence des agents infectieux

Dans un des 59 troupeaux pour lesquels les informations étaient disponibles, les analyses sérologiques pour la rhinotrachéite infectieuse bovine n'ont pu être faites en raison de l'absence d'animaux de plus de 6 mois non vaccinés contre cette maladie.

Le Tableau XII résume le nombre de troupeaux et d'animaux testés pour chacune des maladies.

Tableau XII: Nombre de troupeaux et d'échantillons testés

	MAP	NC	BVD	IBR
Nombre de troupeaux	59	59	59	58
Nombre d'animaux	1747	1747	295	290

2.1. Néosporose

Pour la néosporose, 71 animaux sur les 1747 testés ont eu un résultat positif. La séroprévalence individuelle apparente de la néosporose, avec un intervalle de confiance de 95%, est de 4.1% (3.2%-5.2%). En ajustant la séroprévalence individuelle apparente de la néosporose à la sensibilité et à la spécificité du test (Dohoo, Martin et al. 2009), qui sont respectivement de 88.2% et 100%, la séroprévalence individuelle réelle de cette maladie est de 4.6%.

Pour les troupeaux, 30 avaient au moins 1 animal séropositif pour NC et 17 avaient plus de 2 animaux séropositifs. La séroprévalence de troupeau de cette maladie, avec un intervalle de confiance de 95%, était de 50.8% (38.0%-63.6%) et de 28.8% (19.2%-43.9%) en considérant un troupeau comme positif si au moins 1 animal dans le troupeau était séropositif et si au moins 2 animaux étaient séropositifs, respectivement. La répartition des troupeaux positifs à NC est représentée dans la Figure 6. La plupart des troupeaux ont entre 1 et 4

animaux séropositifs, et. 35.6% (21/59) des troupeaux ont 1 ou 2 animaux séropositifs.

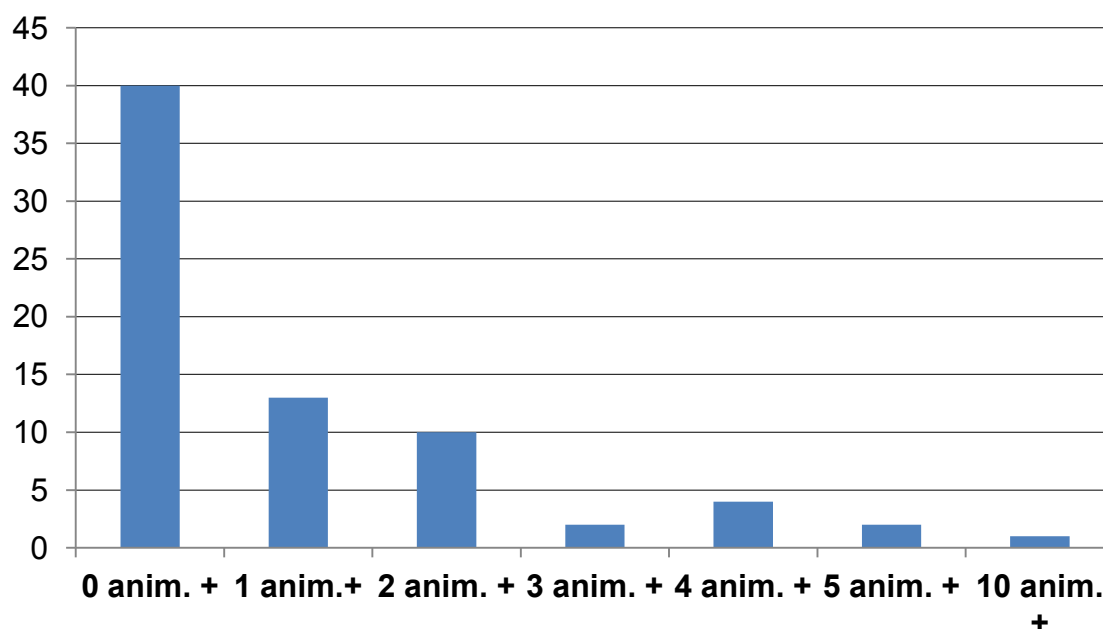


Figure 6 : Nombre d'animaux séropositifs à NC par troupeau.

2.2. Paratuberculose

Pour l'infection à MAP, 14 animaux sur les 1747 testés ont eu un résultat positif. La séroprévalence individuelle apparente de la paratuberculose, avec un intervalle de confiance de 95%, est de 0.8% (0.0%-1.3%). La sensibilité et la spécificité du test utilisé sont de 47.3% et 99.0% respectivement. En ajustant la séroprévalence individuelle apparente de la paratuberculose à ces valeurs, la séroprévalence individuelle réelle de cette maladie serait de 0.4%.

En ce qui concerne les troupeaux, 12 d'entre eux avaient 1 animal séropositif et 2 troupeaux plus de 2 animaux séropositifs à MAP. La séroprévalence de troupeau de la paratuberculose, avec un intervalle de confiance de 95%, est de 20.3% (10.0%-32.8%) et 3.4% (0.0%-8.0%), selon si on considère un troupeau positif à partir d'un animal positif ou de deux animaux positifs, respectivement. Les séroprévalences de troupeau et intratroupeau de cette maladie sont représentées dans la Figure 7. Les troupeaux positifs à MAP dans notre étude

avaient un ou deux animaux positifs dans chaque troupeau. Il y a six fois plus de troupeaux avec un animal positif que de troupeaux avec deux animaux positifs.

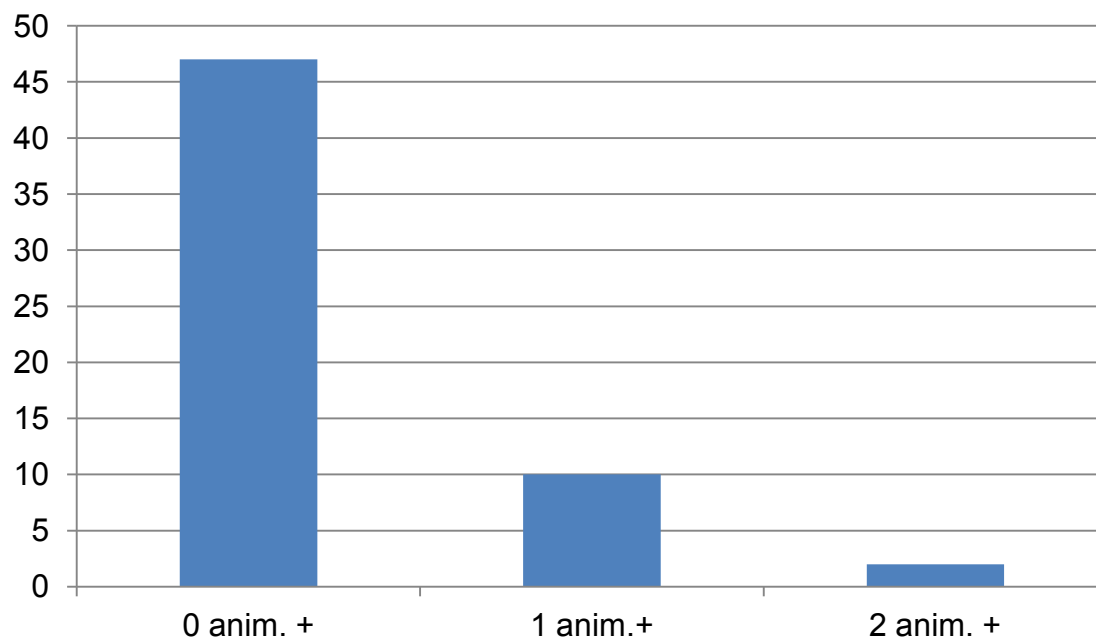


Figure 7 : Nombre d'animaux séropositifs au MAP par troupeau.

2.3. Diarrhée virale bovine

En ce qui concerne la diarrhée virale bovine, 55 animaux sur les 295 testés ont eu un résultat positif. Pour les troupeaux, 22 d'entre eux avaient au moins un animal séropositif, 17 troupeaux avaient plus de 2 animaux séropositifs et 16 troupeaux avaient au moins un animal avec des titres d'anticorps supérieur à 1/64. Les séroprévalences de troupeau, avec un intervalle de confiance de 95%, selon ces trois définitions sont présentées dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Séroprévalence de troupeau de BVD, BVD type I, BVD type II dans les troupeaux laitiers biologiques.

	1 animal +	2 animaux +	1 animal > 1/64
Séroprévalence	37.3%	28.8%	27.1%
BVD	(24.9%-49.6%)	(17.2%-40.4%)	(15.8%-38.5%)
Séroprévalence	35.6%	23.8%	22.0%
BVD I	(23.4%-47.8%)	(12.9%-34.6%)	(11.5%-32.6%)
Séroprévalence	32.2%	23.8%	22.0%
BVD II	(20.3%-44.1%)	(12.9%-34.6%)	(11.5%-32.6%)

La répartition de la séroprévalence entre troupeau est représentée à la Figure 8.

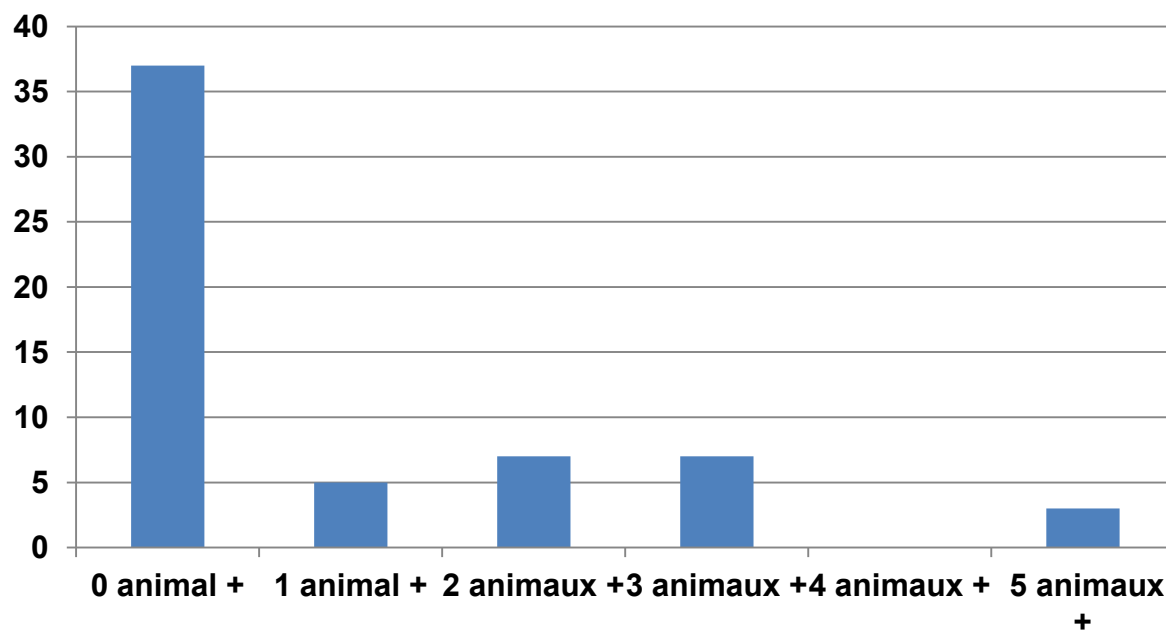


Figure 8 : Répartition des troupeaux laitiers biologiques selon la prévalence à la diarrhée virale bovine.

La plupart des troupeaux avaient entre 1 à 3 animaux séropositifs et un troupeau sur quatre a entre 2 et 3 animaux séropositifs au VBVD.

2.4. Rhinotrachéite infectieuse bovine

Pour la rhinotrachéite infectieuse bovine, 39 animaux sur les 290 testés ont eu un résultat séropositif. En ce qui concerne les troupeaux, 18 d'entre eux avaient au moins un animal séropositif et 11 troupeaux avaient plus de deux animaux séropositifs. La séroprévalence de troupeau de la rhinotrachéite infectieuse bovine, avec un intervalle de confiance de 95%, varie de 31.0% (19.1%-42.9%) à 18.9% (8.9%-29.0%) selon si on considère le troupeau positif à partir de 1 animal séropositif ou à partir de 2 animaux séropositifs.

La répartition de la séroprévalence entre intratroupeaux est présentée à la Figure 9. Un troupeau sur quatre avait entre 1 et 3 animaux séropositifs à la rhinotrachéite infectieuse bovine et 22% des troupeaux ont entre 1 et 2 animaux séropositifs à cette maladie.

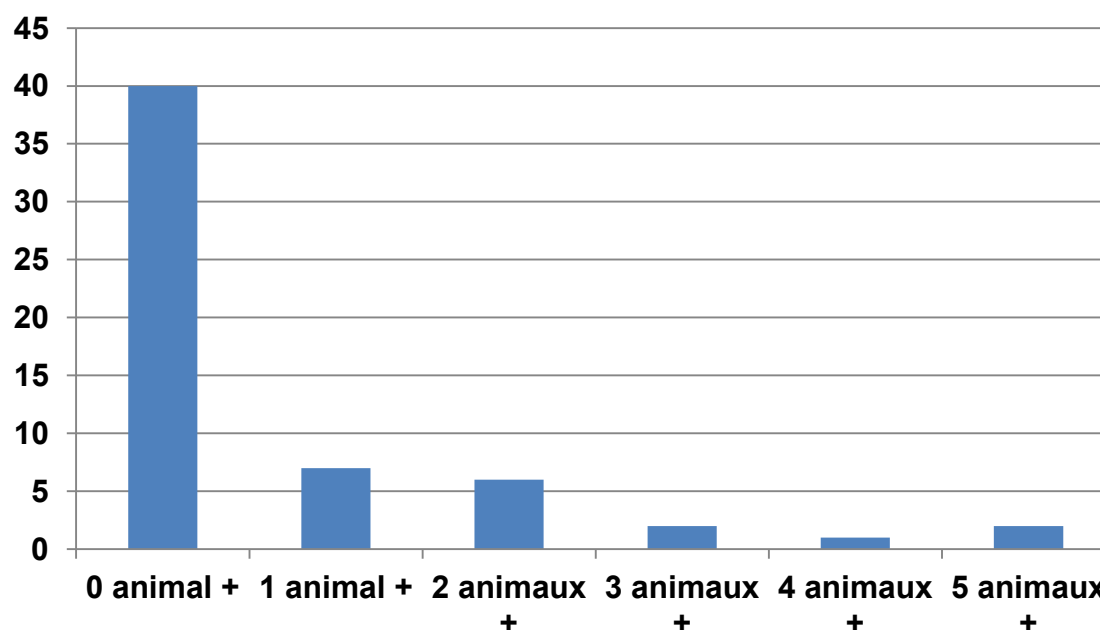


Figure 9 : Répartition des troupeaux laitiers biologiques selon la prévalence à la rhinotrachéite infectieuse bovine.

3. Analyse des facteurs de risque associés aux maladies

Parmi les cinq variables étudiées dans cette étude que sont la région, la vaccination contre IBR et/ou BVD, le suivi de troupeau par un médecin vétérinaire, les achats d'animaux, et la taille du troupeau, seule la taille du troupeau était associée de façon significative au statut du troupeau par rapport à la diarrhée virale bovine (troupeau considéré positif à partir d'un animal séropositif). Le risque que le troupeau soit considéré positif à la diarrhée virale bovine, avec un animal positif, augmentait de 1.7% par animal ($p=0.02$).

De plus, l'analyse des corrélations des statuts des troupeaux vis-à-vis des 4 maladies a montré une bonne corrélation entre le statut de troupeau par rapport à la diarrhée virale bovine (troupeau considéré positif à partir d'un animal séropositif) et le statut de troupeau par rapport à la rhinotrachéite infectieuse bovine (troupeau considéré positif à partir d'un animal séropositif) (Kappa= 0.54).

DISCUSSION

Plusieurs études ont été effectuées pour évaluer la séroprévalence de NC, de MAP, du VBVD et de l'IBR parmi les troupeaux laitiers conventionnels, au Canada et dans d'autres pays, mais à notre connaissance aucune étude n'a été effectuée chez les troupeaux laitiers biologiques. Cette étude constitue donc une première.

Dans notre étude, la méthode d'échantillonnage ainsi que le nombre d'animaux sélectionnés dans chaque troupeau, pour chacune des quatre maladies, sont similaires à ceux utilisés dans d'autres pays (Johnson-Ifeorunlu and Kaneene 1999; Valle, Martin et al. 1999) et surtout au Canada (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001; VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005; Scott, Sorensen et al. 2006; VanLeeuwen, Tiwari et al. 2006; Scott, Sorensen et al. 2007). Cette similarité dans la méthodologie nous permet de faire des comparaisons, avec certaines limites dont on discutera plus bas, quand aux séroprévalences de NC, de MAP, de BVD et de l'IBR.

1. Séroprévalence de la néosporose

Dans plusieurs provinces du Canada, les études effectuées parmi les troupeaux laitiers conventionnels rapportent que la séroprévalence individuelle de la néosporose varie de 7.5% (Haddad, Dohoo et al. 2005) à 25.5% (Haddad, Dohoo et al. 2005). La séroprévalence de troupeau de cette maladie varie de 98.7% (Scott, Sorensen et al. 2006) à 37.0% (VanLeeuwen, Tiwari et al. 2006) selon que l'on considère un troupeau positif à partir d'un animal séropositif ou de deux animaux séropositifs. Pour la province de Québec, la séroprévalence individuelle de cette maladie est de 7.5% et la séroprévalence de troupeau de 73%, si on considère le troupeau positif si au moins un animal est séropositif (Paré, Fecteau et al. 1998). Dans notre étude la séroprévalence individuelle de NC est de 4.1% et la séroprévalence de troupeau varie de 50.8% à 30.5% selon que l'on considère le troupeau positif à partir d'un animal séropositif ou de deux animaux séropositifs. Selon ces résultats, les séroprévalences individuelles et

de troupeau de la néosporose seraient moindres dans les troupeaux laitiers biologiques par rapport à celles dans les troupeaux laitiers conventionnels au Québec et les autres provinces du Canada. Dans les autres études, le mode d'échantillonnage des animaux ainsi que les tests de laboratoire utilisés étaient les mêmes que dans notre étude. Cependant, les normes d'élevage dans les troupeaux conventionnels et dans les troupeaux biologiques ne sont pas les mêmes. Si le pâturage est obligatoire dans l'élevage biologique, il ne l'est pas dans l'élevage conventionnel. Le pâturage est considéré comme un facteur protecteur contre NC, vu que la surface de pâturage est assez grande et les oocystes de NC peuvent ne pas survivre s'il fait chaud et sec (Otranto, Llazari et al. 2003). Au Canada le nombre moyen de vache était de 62 par troupeau en 2006, et ce chiffre ne cesse d'augmenter (Chotteau 2010), alors que dans les troupeaux laitiers biologiques du Québec, le nombre moyen de vache était de 49. Des études ont rapportés que les plus grands troupeaux ont plus de risques d'être positif au NC (Schaes, Barwald et al. 2004; Aguiar, Cavalcante et al. 2006). Ainsi, le pâturage obligatoire et la taille des troupeaux biologiques pourraient expliquer le fait que la séroprévalence individuelle et de troupeau de la néosporose serait moindre dans les troupeaux biologiques par rapport aux troupeaux conventionnels au Québec. A part ces facteurs de risques mentionnés ci-dessus, la présence de chiens dans les fermes, l'achat de nouveaux animaux pourraient aussi expliquer la présence de NC dans les troupeaux biologiques.

2. Séroprévalence de la paratuberculose

Des études ont été effectuées dans les différentes provinces du Canada pour évaluer la séroprévalence de la paratuberculose dans les troupeaux laitiers conventionnels. Des tests ELISA ont été utilisés dans ces études. Ainsi dans les troupeaux laitiers conventionnels au Canada, la séroprévalence individuelle de la paratuberculose varie de 2.6% (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001) à 9.6% (Scott, Sorensen et al. 2006); la séroprévalence de troupeau de cette maladie varie de 70.2% à 16.7% selon si on considère un troupeau positif à partir de 1

animal positif ou de 2 animaux positifs. Au Québec, la séroprévalence individuelle de la paratuberculose est de 2.4% et la séroprévalence de troupeau varie de 41.7% à 12.1% selon si on considère le troupeau positif à partir d'un animal positif ou à partir de deux animaux positifs (Coté 2003). Dans notre étude la séroprévalence individuelle de MAP est de 0.8% et la séroprévalence de troupeau varie de 20.3% à 3.4% selon que l'on considère un troupeau positif à partir d'un animal séropositif ou de deux animaux séropositifs. Il semblerait que les séroprévalences individuelles et de troupeau de la paratuberculose dans les troupeaux laitiers biologiques sont moindres par rapport à celles dans les élevages conventionnels au Québec et dans les autres provinces du Canada. Au Québec, la production laitière est beaucoup plus élevée dans l'élevage conventionnel comparativement à l'élevage biologique. Ainsi, la production de lait est de 8504 Kg/vache/an dans l'élevage conventionnel au Québec (Durocher 2011), tandis que dans l'élevage biologique, elle est de l'ordre de 6922 Kg/vache/an. Les vaches à forte production sont dans l'impossibilité d'obtenir de leur alimentation tous les éléments dont elles ont besoin pour produire une telle quantité de lait, surtout en début de lactation. Le stress qui en résulte peut rendre les animaux plus sensibles aux maladies infectieuses en déprimant leur système immunitaire (Collard, Boettcher et al. 2000). Une autre hypothèse qui pourrait expliquer la différence de la séroprévalence de MAP dans les deux troupeaux serait la taille du troupeau. Comme on a vu précédemment, les troupeaux laitiers conventionnels sont plus grands que les troupeaux biologiques au Québec. Des études ont montré que les vaches des plus grands troupeaux ont plus de risques d'être séropositives au MAP par rapport à celles des plus petits (Jakobsen, Alban et al. 2000; Hirst, Garry et al. 2004). En plus les plus grands troupeaux ont plus de chance d'acheter de nouveaux animaux (Chi, VanLeeuwen et al. 2002), alors que l'achat de nouveaux animaux est significativement associé à la séroprévalence de MAP (Tiwari, Vanleeuwen et al. 2009). Ainsi la production de lait, la taille du troupeau et l'achat de nouveaux animaux pourraient expliquer le fait qu'au Québec la séroprévalence de la

paratuberculose est moindre dans l'élevage biologique par rapport à l'élevage conventionnel.

3. Séroprévalence de la diarrhée virale bovine

Des études de la séroprévalence de la diarrhée virale bovine ont été effectuées parmi les troupeaux laitiers conventionnels en Saskatchewan (VanLeeuwen, Forsythe et al. 2005), au Manitoba (VanLeeuwen, Tiwari et al. 2006) et dans les provinces maritimes du Canada (VanLeeuwen, Keefe et al. 2001). Le test de séroneutralisation pour le VBVD a été utilisé dans ces études. Les résultats de ces études rapportent que de 32.0% (12.5%-51.5%) à 66.3% (56.3%-76.3%) des troupeaux laitiers avaient au moins un animal séropositifs au VBVD. De 28.1% (9.3%-47.0%) à 48.7% (31.4%-65.9%) des troupeaux avaient au moins un animal avec un titre $\geq 1/64$. Dans notre étude 37.3% des troupeaux avaient au moins un animal séropositif au BVD et 27.1% avaient au moins un animal avec un titre $\geq 1/64$. À la lumière de ces résultats, il ne semble pas y avoir une grande différence entre la séroprévalence de troupeau de la diarrhée virale bovine dans les troupeaux laitiers conventionnels et des troupeaux biologiques au Québec. Les troupeaux biologiques sont moins grands que les conventionnels au Québec., ce qui porterait à croire qu'ils achètent moins de sujets de remplacement. Comme la taille du troupeau, l'achat de nouveaux animaux est un facteur de risque d'introduction et de propagation de VBVD au sein d'un troupeau (Talafha, Hirche et al. 2009). On pouvait s'attendre à avoir moins de troupeaux positifs au BVD dans les troupeaux biologiques que les conventionnels, ce qui n'est pas le cas. Dans les études canadiennes chez les troupeaux conventionnels, le seuil de positivité du test de SN était à une dilution de 1/2, tandis qu'elle était de 1/8 dans notre étude. Certains animaux classés séropositifs dans notre étude seraient classés séronégatifs si on a pris un seuil de positivité à une dilution de 1/2. Ainsi nous pensons que même si on s'attendait à avoir moins de troupeaux positifs au BVD dans les troupeaux biologiques que dans les conventionnels, la séroprévalence de BVD dans ces

deux troupeaux ne diffèrent pas beaucoup vu que les seuils de positivité des tests n'étaient pas les mêmes.

4. Séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine

Il n'existe pas de données récentes quant à la séroprévalence de la rhinotrachéite infectieuse bovine parmi les troupeaux laitiers conventionnels au Canada. Les dernières données remontent à une étude réalisée en 1990 dans les troupeaux laitiers en Saskatchewan. Dans cette étude, l'infection à BHV-1 a été détectée par un test ELISA au laboratoire et un animal qui a une densité optique > 10 (équivalent à un titre d'anticorps séroneutralisants 1/3) était considéré positif (Durham and Hassard 1990). Selon les résultats, 59,5% des troupeaux étaient considérés comme positifs. Dans notre étude, la séroprévalence de troupeau de l'IBR varie de 31.0% à 18.9% selon qu'on considère un troupeau positif à partir d'un animal séropositif ou de deux animaux séropositifs. Si on considère ces résultats, il semblerait que la séroprévalence de l'IBR est moindre dans l'élevage biologique que dans l'élevage conventionnel au Canada. Cette comparaison doit être faite avec prudence car dans l'étude effectuée en Saskatchewan, des animaux de différents groupes d'âge (veau, vache adulte) ainsi que des deux sexes faisaient parti de l'étude. L'âge et le sexe des animaux sont considérés comme des facteurs de risques de l'IBR dans plusieurs études : la séroprévalence de l'IBR est plus élevée chez les adultes et chez le mâle (Boelaert, Speybroeck et al. 2005; Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2005). De plus, la production intensive pourrait rendre les animaux à risque à des maladies infectieuses (Collard, Boettcher et al. 2000). Ces deux facteurs, l'âge et le sexe des animaux inclus dans l'étude, ainsi que le mode de production intensive chez les troupeaux conventionnels par rapport aux troupeaux biologiques, pourraient expliquer le fait que la séroprévalence de l'IBR serait plus importante dans l'élevage conventionnel que dans l'élevage biologique au Canada.

5. Les problèmes de santé dans les troupeaux laitiers biologiques

Selon les réponses fournies par les éleveurs, certains problèmes de santé se rencontrent plus souvent que d'autres dans les troupeaux laitiers biologiques au Québec. La mammite, les problèmes de boiterie, les problèmes de reproduction et les problèmes respiratoires, peuvent être infectieuses. Les fréquences de ces problèmes sont plus importantes dans les troupeaux qui vaccinent contre BVD/IBR comparativement à ceux qui ne vaccinent pas contre ces deux maladies. La fréquence des problèmes de boiterie, de problèmes liés à la reproduction, de problèmes respiratoires et de diarrhée est beaucoup plus élevé dans les troupeaux qui ne vaccinent pas contre BVD/IBR. Les effets immunosuppresseurs de BVD et de l'IBR sur les animaux infectés sont bien connus (Lindberg and Houe 2005; Muylkens, Thiry et al. 2007). Cet effet immunosuppresseur rend ces animaux plus vulnérables aux actions d'autres microorganismes présents au sein du troupeau. Cependant, la vaccination adéquate contre ces deux maladies est un moyen de les prévenir, et peut aussi arrêter leur propagation et l'immunosuppression. Ainsi la vaccination contre BVD/IBR pourrait expliquer le fait que certains problèmes de santé sont moins fréquents dans les troupeaux qui vaccinent par rapport à ceux qui ne vaccinent pas contre BVD/IBR. Ce qui est le cas dans notre étude.

6. Facteurs de risque

6.1. Taille du troupeau

Parmi les facteurs de risque que nous avons étudié, la taille du troupeau avait un effet statistiquement significatif sur la séroprévalence. Ainsi la taille du troupeau a un effet statistiquement significatif sur la séroprévalence de troupeau de la diarrhée virale bovine si le troupeau est considéré positif à partir d'un animal positif. Ce résultat est en accord avec d'autres études effectuées sur les troupeaux laitiers conventionnels qui montrent que dans les petits troupeaux (3-15 animaux) le nombre moyen d'animaux infectés était significativement moindre par rapport aux plus grands troupeaux (>50 animaux) (Mockeliuniene,

Salomskas et al. 2004; Talafha, Hirche et al. 2009). Ces résultats peuvent indiquer que le risque de dissémination de VBVD est plus élevé dans les grands troupeaux. En considérant que les plus grands troupeaux seraient plus susceptibles d'acheter de nouveaux animaux, on pourrait supposer que la plus grande séroprévalence des plus grands troupeaux serait liée aux achats de plus d'animaux infectés (Talafha, Hirche et al. 2009).

6.2. *Autres facteurs de risque*

Les autres facteurs de risques, à savoir la région, la vaccination contre BVD et IBR, le suivi de troupeau, l'achat de nouveaux animaux, n'ont pas d'effets significatifs sur les séroprévalences de NC, de MAP, de BVD et de l'IBR dans notre étude. Ces facteurs de risques étaient associés à la présence de ces quatre agents dans les troupeaux laitiers conventionnels selon d'autres études (Durham and Hassard 1990; Sanderson, Gay et al. 2000; Mainar-Jaime, Berzal-Herranz et al. 2001; Hirst, Garry et al. 2004; Boelaert, Speybroeck et al. 2005; Solis-Calderon, Segura-Correa et al. 2005; Raaperi, Nurmoja et al. 2010). Ainsi les facteurs de risque des agents sont présents dans les troupeaux biologiques alors que la prévalence de NC, MAP et BVD sont moindres que dans les troupeaux conventionnels. Une des explications pourraient être qu'ils n'y avaient pas assez de troupeaux pour observer des différences significatives. De plus, certaines caractéristiques, comme la vaccination, peut être mise en place suite à une problématique plutôt que comme une pratique de routine et ainsi parfois apparaître comme un facteur de risque positif et parfois comme un facteur de risque négatif. Enfin on a effectué des analyses univariées des facteurs de risques, ce qui ne nous permet pas de voir les interactions entre les caractéristiques d'élevage. D'autres études (exemple étude de cohorte) seront nécessaires pour bien identifier les facteurs de risques de ces agents et aussi expliquer la prévalence moindre de ces agents dans les troupeaux laitiers biologiques.

7. Statut des maladies

Selon les résultats, les deux sérotypes (type-1 et type-2) de VBVD circulent dans les troupeaux biologiques au Québec et nous avons trouvé une association entre le statut de troupeau BVD et le statut de troupeau IBR. Cette association entre les statuts de troupeau est en accord avec des études effectuées sur des troupeaux laitiers conventionnels (Potgieter, McCracken et al. 1984; Paton, Christiansen et al. 1998; Kampa, Stahl et al. 2004). L'effet immunosuppresseur de la diarrhée virale bovine est connu, particulièrement chez les jeunes animaux. Cet effet pourrait être un facteur prédisposant pour d'autres infections bactériennes ou virales, incluant la rhinotrachéite infectieuse bovine (Potgieter, McCracken et al. 1984). Il est difficile de voir la cause et l'effet, parmi ces deux maladies avec notre étude, et comme mentionné précédemment une étude cohorte pourrait répondre à cette question. Toutefois on pourrait dire qu'une immunisation contre VBVD dans les troupeaux biologiques serait efficace avec des vaccins qui contiennent les deux sérotypes du virus. On pourrait aussi suggérer une vaccination contre le BVD et l'IBR dans les troupeaux biologiques comme prévention de ces deux maladies.

8. Études transversales

Les études transversales font partie des études observationnelles, et ont pour but de mesurer la prévalence, mais aussi d'autres facteurs, comme les facteurs de risques associés aux maladies, surtout celles à forte prévalence. Comme dans notre étude, l'échantillonnage aléatoire des sujets est essentiel dans ce dernier cas (Dohoo, Martin et al. 2009).

Cependant vu que les études transversales mesurent surtout la prévalence, d'une maladie, il est difficile de différencier les facteurs qui favorisent la persistance de la maladie des facteurs qui favorisent le développement de la maladie. Il est ainsi impossible de différencier la cause de l'effet. Comme dans notre étude la corrélation entre le statut de BVD et le statut de IBR ne permet pas de savoir laquelle de ces deux maladies est la cause ou l'effet de l'autre, ou

que la vaccination contre le BVD et/ou l'IBR pourrait être une prévention ou décision prise après l'apparition de ces maladies

Toutefois ce type d'étude a ses avantages par rapport aux autres. Elle est plus facile à effectuer, que ce soit pour les participants que pour les chercheurs, et demande peu de temps. Comme dans notre étude chaque troupeau est visité une seule fois et les échantillons sont pris lors de ces visites. Elle est moins coûteuse aussi par rapport aux autres types d'études dont la collecte des données peut s'étaler sur une longue période.

Cette étude m'a permis de voir la réalité et les caractéristiques des élevages laitiers biologiques dans plusieurs régions de la province du Québec. Ce type d'élevage est assez distinct de l'élevage conventionnel de par ces normes. A mon avis, l'élevage biologique est bien adapté au contexte de l'agriculture au Québec, vu que le nombre de troupeaux biologiques ne cesse de croître ces dernières années.

Cette étude m'a aussi permis de réaliser les défis, auxquels il faut s'attendre : refus ou acceptation des éleveurs à participer à l'étude, le choix des tests au laboratoire en fonction des objectifs et des ressources disponibles et les pertes de données qui peuvent se produire tout au long l'étude.

Même si notre étude ne permettait pas d'identifier tous les facteurs de risques de ces quatre maladies dans les troupeaux laitiers biologiques, les résultats que nous avons obtenus peuvent être un point de départ pour des futures études parmi ces troupeaux.

CONCLUSION

Selon les résultats de cette étude, la néosporose, la paratuberculose, la diarrhée virale bovine ainsi que la rhinotrachéite infectieuse bovine sont présentes parmi les troupeaux laitiers biologiques au Québec. L'étude nous a aussi permis d'avoir des données concernant les séroprévalences de ces quatre maladies dans les troupeaux laitiers biologiques de la province.

La néosporose était présente dans 50% des troupeaux testés et 4.1% des animaux testés étaient séropositifs. Pour la paratuberculose, 0.8% des animaux testés étaient séropositifs et 20.3% des troupeaux laitiers sont infectés par cette maladie. Pour la diarrhée virale bovine, 37.3% des troupeaux biologiques étaient positifs tandis que 31% étaient positifs à la rhinotrachéite infectieuse bovine. Les séroprévalences de la néosporose, de la paratuberculose et de la rhinotrachéite infectieuse bovine dans les troupeaux biologiques semblent moindres par rapport à celles des troupeaux conventionnels. Il ne semble pas y avoir de grandes différences entre les séroprévalences de la diarrhée virale bovine dans les troupeaux biologiques et dans les troupeaux conventionnels.

Notre étude ne permettait pas d'identifier tous les facteurs de risques associés à la présence de ces quatre maladies dans les troupeaux laitiers biologiques du Québec. D'autres analyses du questionnaire seraient nécessaires pour identifier ces facteurs de risques. Cette étude est la première parmi les troupeaux laitiers biologiques au Québec. Les résultats obtenus sur les caractéristiques des élevages laitiers biologiques pourraient être intéressants pour de futures études sur ces élevages.

BIBLIOGRAPHIE

- Abo-Shehada, M. N. and M. M. Abu-Halaweh (2010). "Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan." Prev Vet Med **93**(1): 25-32.
- Ackermann, M., H. Müller, et al. (1990). "Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects." Vet Microbiol **23**(1-4): 365-370.
- Aguiar, D. M., G. T. Cavalcante, et al. (2006). "Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors." Vet Parasitol **142**(1-2): 71-77.
- Ansari-Lari, M., M. Haghkhal, et al. (2009). "Risk factors for *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Fars province (Southern Iran) dairy herds." Trop Anim Health Prod **41**(4): 553-557.
- Baillargeon, P., G. Fecteau, et al. (2001). "Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle." J Am Vet Med Assoc **218**(11): 1803-1806.
- Banales, P., L. Fernandez, et al. (2006). "A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay." Vet Parasitol **139**(1-3): 15-20.
- Barling, K. S., J. W. McNeill, et al. (2001). "Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA." Prev Vet Med **52**(1): 53-61.
- Barling, K. S., M. Sherman, et al. (2000). "Spatial associations among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves." J Am Vet Med Assoc **217**(9): 1361-1365.
- Barr, B. C., M. L. Anderson, et al. (1995). "Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test." Vet Rec **137**(24): 611-613.
- Bartels, C. J., J. I. Arnaiz-Seco, et al. (2006). "Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden." Vet Parasitol **137**(1-2): 17-27.
- Bartels, C. J., W. Wouda, et al. (1999). "Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)." Theriogenology **52**(2): 247-257.
- Beard, P. M., M. J. Daniels, et al. (2001). "Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland." J Clin Microbiol **39**(4): 1517-1521.
- Benedictus, G., A. A. Dijkhuizen, et al. (1987). "Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle." Vet Rec **121**(7): 142-146.
- Bennett, R., K. Christiansen, et al. (1999). "Preliminary estimates of the direct costs associated with endemic diseases of livestock in Great Britain." Prev Vet Med **39**(3): 155-171.

- Bergeron, N., G. Fecteau, et al. (2000). "Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec." Can Vet J **41**(6): 464-467.
- Berghaus, R. D., J. E. Lombard, et al. (2005). "Factor analysis of a Johne's disease risk assessment questionnaire with evaluation of factor scores and a subset of original questions as predictors of observed clinical paratuberculosis." Prev Vet Med **72**(3-4): 291-309.
- Bielanski, A., J. Robinson, et al. (2002). "Effect of *Neospora caninum* on in vitro development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida." Vet Rec **150**(10): 316-318.
- Bitsch, V. and L. Ronsholt (1995). "Control of bovine viral diarrhoea virus infection without vaccines." Vet Clin North Am Food Anim Pract **11**(3): 627-640.
- Bjerkas, I., S. F. Mohn, et al. (1984). "Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs." Z Parasitenkd **70**(2): 271-274.
- Boelaert, F., N. Speybroeck, et al. (2005). "Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity." Prev Vet Med **69**(3-4): 285-295.
- Brownlie, J., M. C. Clarke, et al. (1987). "Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle." Ann Rech Vet **18**(2): 157-166.
- Bryan, L. A., A. A. Gajadhar, et al. (1994). "Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp. protozoan." Can Vet J **35**(2): 111-113.
- Buergelt, C. D. and J. E. Williams (2004). "Nested PCR on blood and milk for the detection of *Mycobacterium avium* subsp paratuberculosis DNA in clinical and subclinical bovine paratuberculosis." Aust Vet J **82**(8): 497-503.
- Carman, S., T. van Dreumel, et al. (1998). "Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario, 1993-1995." J Vet Diagn Invest **10**(1): 27-35.
- Castrucci, G., F. Frigeri, et al. (2002). "Vaccination of calves against bovine herpesvirus-1: assessment of the protective value of eight vaccines." Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. **25**(1): 29-41.
- Chastel, M. (2008). Épidémiologie de la paratuberculose des ruminants: conséquences sur les mesures de contrôle et de prévention, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- Chi, J., J. A. VanLeeuwen, et al. (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**(2): 137-153.
- Chi, J., J. A. VanLeeuwen, et al. (2002). "Management factors related to seroprevalences to bovine viral diarrhoea virus, bovine-leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in dairy herds in the Canadian Maritimes." Prev Vet Med **55**(1): 57-68.
- Chiodini, R. J. (1993). The history of paratuberculosis (Johne's disease): a review of the literature 1895 to 1992. Providence, RI, International Association for Paratuberculosis.
- Chotteau, P. (2010). "CANADA: Lait et viande entre gestion de l'offre et agressivité à l'exportation." Renc Rech Ruminants **17**: 195-198.

- Cimino, G. D., K. C. Metchette, et al. (1991). "Post-PCR sterilization: a method to control carryover contamination for the polymerase chain reaction." Nucleic Acids Res **19**(1): 99-107.
- Collard, B. L., P. J. Boettcher, et al. (2000). "Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation." J Dairy Sci **83**(11): 2683-2690.
- Collins, D. M., M. De Zoete, et al. (2002). "Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis strains from cattle and sheep can be distinguished by a PCR test based on a novel DNA sequence difference." J Clin Microbiol **40**(12): 4760-4762.
- Collins, M. T. (2002). "Interpretation of a commercial bovine paratuberculosis enzyme-linked immunosorbent assay by using likelihood ratios." Clin Diagn Lab Immunol **9**(6): 1367-1371.
- Collins, M. T., I. A. Gardner, et al. (2006). "Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States." J Am Vet Med Assoc **229**(12): 1912-1919.
- Collins, M. T., D. C. Sockett, et al. (1991). "Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for Johne's disease." J Clin Microbiol **29**(2): 272-276.
- Corapi, W. V., T. W. French, et al. (1989). "Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus." J Virol **63**(9): 3934-3943.
- Corbellini, L. G., D. R. Smith, et al. (2006). "Herd-level risk factors for Neospora caninum seroprevalence in dairy farms in southern Brazil." Prev Vet Med **74**(2-3): 130-141.
- Coté, G. (2003). Enquete de prévalence de la paratuberculose, de la leucose bovine enzootique et des immunotolérants à la diarrhée virale bovine dans les troupeaux laitiers du Québec, Institut national de santé animale: 29.
- Daniels, M. J., M. R. Hutchings, et al. (2002). "Risk factors for Johne's disease in Scotland--the results of a survey of farmers." Vet Rec **150**(5): 135-139.
- Dannacher, G. and M. Fedida (1978). "Epidemiological survey of infectious bovine rhinotracheitis in France." Cur Top Vet Med **3**: 21-29.
- Dargatz, D. A., B. A. Byrum, et al. (2001). "Evaluation of a commercial ELISA for diagnosis of paratuberculosis in cattle." J Am Vet Med Assoc **218**(7): 1163-1166.
- David, G. P., T. R. Crawshaw, et al. (1994). "Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection." Vet Rec **134**(18): 468-472.
- Davison, H. C., N. P. French, et al. (1999). "Herd-specific and age-specific seroprevalence of Neospora caninum in 14 British dairy herds." Vet Rec **144**(20): 547-550.
- Davison, H. C., C. S. Guy, et al. (2001). "Experimental studies on the transmission of Neospora caninum between cattle." Res Vet Sci **70**(2): 163-168.

- Davison, H. C., A. Otter, et al. (1999). "Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle." Int J Parasitol **29**(10): 1683-1689.
- Deregt, D., H. J. Cho, et al. (1993). "A comparative evaluation of two sensitive serum neutralization tests for bovine herpesvirus-1 antibodies." Can J Vet Res **57**(1): 56-59.
- Dieguez, F. J., I. Arnaiz, et al. (2007). "Prevalence of serum antibodies to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in Galicia (northwest Spain)." Prev Vet Med **82**(3-4): 321-326.
- Dieguez, F. J., I. Arnaiz, et al. (2008). "Management practices associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection and the effects of the infection on dairy herds." Vet Rec **162**(19): 614-617.
- Dijkstra, T., M. Eysker, et al. (2001). "Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites." Int J Parasitol **31**(8): 747-752.
- Dohoo, I. R., S. W. Martin, et al. (2009). Veterinary epidemiologic research. Charlottetown, P.E.I., VER Inc.
- Dubey, J. P. (1999). "Neosporosis in cattle: biology and economic impact." J Am Vet Med Assoc **214**(8): 1160-1163.
- Dubey, J. P. (2003). "Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals." Korean J Parasitol **41**(1): 1-16.
- Dubey, J. P., J. L. Carpenter, et al. (1988). "Newly recognized fatal protozoan disease of dogs." J Am Vet Med Assoc **192**(9): 1269-1285.
- Dubey, J. P., D. S. Lindsay, et al. (1996). "Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*." Am J Vet Res **57**(3): 329-336.
- Dubey, J. P. and G. Schares (2006). "Diagnosis of bovine neosporosis." Vet Parasitol **140**(1-2): 1-34.
- Dubey, J. P., G. Schares, et al. (2007). "Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*." Clin Microbiol Rev **20**(2): 323-367.
- Duivenvoorden, J. and P. Lusi (1995). "Neospora abortions in eastern Ontario dairy herds." Can Vet J **36**(10): 623.
- Durham, P. J. and L. E. Hassard (1990). "Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhoea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta." Can Vet J **31**(12): 815-820.
- Durocher, J. (2011). "La reproduction en 2011... en production laitière biologique." Journée INPACQ Lait Bio 2011, Présentation ppt, from www.mapaq.gouv.qc.ca/.../ConferencesINPACQ2011/INPACQ-Lait.
- Ellis, J., K. West, et al. (2001). "Effect of maternal antibodies on induction and persistence of vaccine-induced immune responses against bovine viral diarrhoea virus type II in young calves." J Am Vet Med Assoc **219**(3): 351-356.
- Englund, S., G. Bolske, et al. (2002). "An IS900-like sequence found in a *Mycobacterium* sp. other than *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*." FEMS Microbiol Lett **209**(2): 267-271.

- Fridriksdottir, V., E. Gunnarsson, et al. (2000). "Paratuberculosis in Iceland: epidemiology and control measures, past and present." Vet Microbiol **77**(3-4): 263-267.
- Frossling, J., A. Uggla, et al. (2005). "Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds." Vet Parasitol **128**(3-4): 209-218.
- Fuchs, M., P. Hubert, et al. (1999). "Detection of bovine herpesvirus type 1 in blood from naturally infected cattle by using a sensitive PCR that discriminates between wild-type virus and virus lacking glycoprotein E." J Clin Microbiol **37**(8): 2498-2507.
- Gasteiner, J., H. Wenzl, et al. (1999). "Serological cross-sectional study of paratuberculosis in cattle in Austria." Zentralbl Veterinarmed B **46**(7): 457-466.
- Giese, S. B. and P. Ahrens (2000). "Detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in milk from clinically affected cows by PCR and culture." Vet Microbiol **77**(3-4): 291-297.
- Gogev, S., N. Vanderheijden, et al. (2002). "Induction of protective immunity to bovine herpesvirus type 1 in cattle by intranasal administration of replication-defective human adenovirus type 5 expressing glycoprotein gC or gD." Vaccine **20**(9-10): 1451-1465.
- Gondim, L. F., L. Gao, et al. (2002). "Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts." J Parasitol **88**(6): 1159-1163.
- Gondim, L. F., M. M. McAllister, et al. (2004). "Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*." Int J Parasitol **34**(2): 159-161.
- Gonzalez-Warleta, M., J. A. Castro-Hermida, et al. (2008). "Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain)." Parasitol Res **102**(2): 243-249.
- Graham, D. A., K. A. Mawhinney, et al. (1997). "Standardization of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for quantitative estimation of antibodies specific for infectious bovine rhinotracheitis virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and bovine viral diarrhea virus." J Vet Diagn Invest **9**(1): 24-31.
- Grenier, C. L., N. Viens (2006). *Trouse de transition vers l'agriculture biologique, production laitière*, Fédération d'agriculture du Québec: 1-37.
- Guarino, H., A. Nunez, et al. (2008). "Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhea virus in beef cattle in Uruguay." Prev Vet Med **85**(1-2): 34-40.
- Guimaraes, J. S., Jr., S. L. Souza, et al. (2004). "Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Parana state, Brazil." Vet Parasitol **124**(1-2): 1-8.
- Gunning, R. F., R. C. Gumbrell, et al. (1994). "Neospora infection and congenital ataxia in calves." Vet Rec **134**(21): 558.
- Haddad, J. P., I. R. Dohoo, et al. (2005). "A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle--a Canadian perspective." Can Vet J **46**(3): 230-243.

- Hardin, L. E. and J. G. Thorne (1996). "Comparison of milk with serum ELISA for the detection of paratuberculosis in dairy cows." J Am Vet Med Assoc **209**(1): 120-122.
- Hartman, A., L. van Wuijckhuise, et al. (1997). "Within-herd BHV-1 prevalence prediction from an ELISA on bulk milk." Vet Rec **140**(18): 484-485.
- Hassig, M. and B. Gottstein (2002). "Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms." Vet Rec **150**(17): 538-542.
- Hendrick, S. H., T. E. Duffield, et al. (2005). "Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays performed on milk and serum samples for detection of paratuberculosis in lactating dairy cows." J Am Vet Med Assoc **226**(3): 424-428.
- Hernandez, J., C. Risco, et al. (2001). "Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows." J Am Vet Med Assoc **219**(5): 632-635.
- Hietala, S. K. and M. C. Thurmond (1999). "Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies." Int J Parasitol **29**(10): 1669-1676.
- Higgs, A. R. and C. D. Hawkins (1998). "Ovine Johne's disease: the risk associated with sheep imported into Western Australia." Aust Vet J **76**(8): 546-550.
- Hirst, H. L., F. B. Garry, et al. (2004). "Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp paratuberculosis infection among dairy cows in Colorado and herd-level risk factors for seropositivity." J Am Vet Med Assoc **225**(1): 97-101.
- Hobson, J. C., T. F. Duffield, et al. (2002). "*Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle." J Am Vet Med Assoc **221**(8): 1160-1164.
- Hobson, J. C., T. F. Duffield, et al. (2005). "Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds." Vet Parasitol **127**(3-4): 177-188.
- Homan, E. J. and B. C. Easterday (1980). "Isolation of bovine herpesvirus-1 from trigeminal ganglia of clinically normal cattle." Am J Vet Res **41**(8): 1212-1213.
- Houe, H. (1992). "Serological analysis of a small herd sample to predict presence or absence of animals persistently infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds." Res Vet Sci **53**(3): 320-323.
- Houe, H. (1995). "Epidemiology of bovine viral diarrhea virus." Vet Clin North Am Food Anim Pract **11**(3): 521-547.
- Houe, H. (1999). "Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections." Vet Microbiol **64**(2-3): 89-107.
- Houe, H., A. Lindberg, et al. (2006). "Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe." J Vet Diagn Invest **18**(5): 427-436.
- Innes, E. A., A. G. Andrianarivo, et al. (2002). "Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination." Trends Parasitol **18**(11): 497-504.

- Jakobsen, M. B., L. Alban, et al. (2000). "A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows." Prev Vet Med **46**(1): 15-27.
- Jensen, A. M., C. Bjorkman, et al. (1999). "Associations of Neospora caninum seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds." Prev Vet Med **40**(3-4): 151-163.
- Johnson-lfearulundu, Y. and J. B. Kaneene (1999). "Distribution and environmental risk factors for paratuberculosis in dairy cattle herds in Michigan." Am J Vet Res **60**(5): 589-596.
- Johnson-lfearulundu, Y. J. and J. B. Kaneene (1998). "Management-related risk factors for M. paratuberculosis infection in Michigan, USA, dairy herds." Prev Vet Med **37**(1-4): 41-54.
- Kaashoek, M. J., P. H. Straver, et al. (1996). "Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects." Vet Rec **139**(17): 416-421.
- Kalis, C. H., J. W. Hesselink, et al. (2000). "Culture of strategically pooled bovine fecal samples as a method to screen herds for paratuberculosis." J Vet Diagn Invest **12**(6): 547-551.
- Kampa, J., K. Stahl, et al. (2004). "BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand." Acta Vet Scand **45**(3-4): 181-192.
- Kennedy, D. J. and G. Benedictus (2001). "Control of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in agricultural species." Rev. Sci. Tech. **20**(1): 151-179.
- Kim, J. T., J. Y. Park, et al. (2002). "In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on Neospora caninum." Vet Parasitol **103**(1-2): 53-63.
- King, J. S., J. Slapeta, et al. (2010). "Australian dingoes are definitive hosts of Neospora caninum." Int J Parasitol **40**(8): 945-950.
- Kyaw, T., P. Virakul, et al. (2004). "Neospora caninum seroprevalence in dairy cattle in central Thailand." Vet Parasitol **121**(3-4): 255-263.
- Labrecque, L. (2007). L'ABC de la production bio. 31e Symposium sur les bovins laitiers, CRAAQ.
- Lang-Ree, J. R., T. Vatn, et al. (1994). "Transmission of bovine viral diarrhoea virus by rectal examination." Vet. Rec. **135**(17): 412-413.
- Lindberg, A. and H. Houe (2005). "Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control." Prev Vet Med **72**(1-2): 55-73; discussion 215-219.
- Lindsay, D. S., J. M. Butler, et al. (1997). "Efficacy of decoquinat against Neospora caninum tachyzoites in cell cultures." Vet Parasitol **68**(1-2): 35-40.
- Loken, T. (1995). "Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep." Vet Clin North Am Food Anim Pract **11**(3): 597-614.
- Loken, T., J. Krogsrud, et al. (1991). "Pestivirus infections in Norway. Serological investigations in cattle, sheep and pigs." Acta Vet. Scan. **32**(1): 27-34.
- Lombard, J. E., B. A. Wagner, et al. (2006). "Evaluation of environmental sampling and culture to determine Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis distribution and herd infection status on US dairy operations." J Dairy Sci **89**(11): 4163-4171.

- Lunden, A., J. Marks, et al. (1998). "Cellular immune responses in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*." Parasite Immunol **20**(11): 519-526.
- Luzzago, C., M. Frigerio, et al. (2008). "A scoring system for risk assessment of the introduction and spread of bovine viral diarrhoea virus in dairy herds in Northern Italy." Vet J **177**(2): 236-241.
- Mainar-Jaime, R. C., B. Berzal-Herranz, et al. (2001). "Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain." Prev Vet Med **52**(1): 63-73.
- Mainar-Jaime, R. C., M. C. Thurmond, et al. (1999). "Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain." Vet Rec **145**(3): 72-75.
- Mars, M. H., M. C. de Jong, et al. (2000). "Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions." Vet Microbiol **76**(1): 1-13.
- McConnel, C. S., R. C. Churchill, et al. (2004). "Surgical method for biopsy of terminal ileum and mesenteric lymph node of sheep for detection of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis*." Aust Vet J **82**(3): 149-151.
- McDermott, J. J., M. Kadohira, et al. (1997). "A comparison of different models for assessing variations in the sero-prevalence of infectious bovine rhinotracheitis by farm, area and district in Kenya." Prev Vet Med **32**(3-4): 219-234.
- McKenna, S. L., G. P. Keefe, et al. (2006). "Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers." Can Vet J **47**(11): 1089-1099.
- Merkal, R. S. and J. R. Thurston (1966). "Comparison of *Mycobacterium paratuberculosis* and other mycobacteria, using standard cytochemical tests." Am J Vet Res **27**(117): 519-521.
- Meyling, A., H. Houe, et al. (1990). "Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus." Rev Sci Tech **9**(1): 75-93.
- Meyling, A. and A. M. Jensen (1988). "Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull." Vet Microbiol **17**(2): 97-105.
- Mockeliuniene, V., A. Salomskas, et al. (2004). "Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania." Vet Microbiol **99**(1): 51-57.
- Moore, D. P., A. Perez, et al. (2009). "Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina." Vet Parasitol **161**(1-2): 122-125.
- Msolla, P. M., A. Wiseman, et al. (1981). "The prevalence of serum neutralizing antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in Scotland." J Hyg (Lond) **86**(2): 209-215.
- Munoz-Zanzi, C. A., S. K. Hietala, et al. (2003). "Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy calves." Am J Vet Res **64**(3): 358-365.

- Munoz-Zanzi, C. A., W. O. Johnson, et al. (2000). "Pooled-sample testing as a herd-screening tool for detection of bovine viral diarrhoea virus persistently infected cattle." J Vet Diagn Invest **12**(3): 195-203.
- Murray, R. D. (1990). "A field investigation of causes of abortion in dairy cattle." Vet Rec **127**(22): 543-547.
- Muylkens, B., J. Thiry, et al. (2007). "Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis." Vet Res **38**(2): 181-209.
- Nandi, S., M. Kumar, et al. (2009). "Bovine herpes virus infections in cattle." Anim Health Res Rev **10**(1): 85-98.
- Nielsen, S. S., H. Bjerre, et al. (2008). "Colostrum and milk as risk factors for infection with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in dairy cattle." J Dairy Sci **91**(12): 4610-4615.
- Nielsen, S. S., C. Enevoldsen, et al. (2002). "The Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis ELISA response by parity and stage of lactation." Prev Vet Med **54**(1): 1-10.
- Niskanen, R. and A. Lindberg (2003). "Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens." Vet J **165**(2): 125-130.
- Nylin, B., U. Stroger, et al. (2000). "A retrospective evaluation of a Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds." Prev Vet Med **47**(1-2): 91-105.
- O'Toole, D. and M. Jeffrey (1987). "Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf." Vet Rec **121**(24): 563-566.
- Ohmann, H. B., M. H. Jensen, et al. (1982). "Experimental fetal infection with bovine viral diarrhoea virus. I. Virological and serological studies." Can J Comp Med **46**(4): 357-362.
- Olafson, P., C. A. Mac, et al. (1946). "An apparently new transmissible disease of cattle." Cornell Vet **36**: 205-213.
- Otranto, D., A. Llazari, et al. (2003). "Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy." Vet Parasitol **118**(1-2): 7-18.
- Ott, S. L., S. J. Wells, et al. (1999). "Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations." Prev Vet Med **40**(3-4): 179-192.
- Ould-Amrouche, A., F. Klein, et al. (1999). "Estimation of Neospora caninum seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France." Vet Res **30**(5): 531-538.
- Paré, J., G. Fecteau, et al. (1998). "Seroepidemiologic study of Neospora caninum in dairy herds." J Am Vet Med Assoc **213**(11): 1595-1598.
- Paton, D. J., K. H. Christiansen, et al. (1998). "Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and other viruses in bulk tank milk in England and Wales." Vet Rec **142**(15): 385-391.
- Pitel, P. H., S. Pronost, et al. (2001). "Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of Neospora caninum DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of N. caninum in cattle and dogs." Vet Parasitol **102**(4): 269-277.

- Potgieter, L. N., M. D. McCracken, et al. (1984). "Effect of bovine viral diarrhea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves." Am J Vet Res **45**(4): 687-690.
- Raaperi, K., I. Nurmoja, et al. (2010). "Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds." Prev Vet Med **96**(1-2): 74-81.
- Radostits, O. M., S. H. Done, et al. (2007). Veterinary medicine : a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. New York, Elsevier Saunders.
- Radwan, G. S., K. V. Brock, et al. (1995). "Development of a PCR amplification assay as a screening test using bulk milk samples for identifying dairy herds infected with bovine viral diarrhea virus." Vet Microbiol **44**(1): 77-91.
- Razmi, G. R., G. R. Mohammadi, et al. (2006). "Seroepidemiology of Neospora caninum infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran." Vet Parasitol **135**(2): 187-189.
- Reichel, M. P. and J. T. Ellis (2002). "Control options for Neospora caninum infections in cattle--current state of knowledge." N Z Vet J **50**(3): 86-92.
- Riemann, H. P. and B. Abbas (1983). "Diagnosis and control of bovine paratuberculosis (Johne's disease)." Adv Vet Sci Comp Med **27**: 481-506.
- Rimstad, E., R. Krona, et al. (1992). "Comparison of herpesviruses isolated from reindeer, goats, and cattle by restriction endonuclease analysis." Arch Virol **123**(3-4): 389-397.
- Rinaldi, L., G. Fusco, et al. (2005). "Neospora caninum in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems." Vet Parasitol **128**(3-4): 219-230.
- Ris, D. R., K. L. Hamel, et al. (1987). "Can sheep become infected by grazing pasture contaminated by cattle with Johne's disease?" N Z Vet. J. **35**(8): 137.
- Romero, J. J., E. Perez, et al. (2002). "Factors associated with Neospora caninum serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds." Prev Vet Med **53**(4): 263-273.
- Rossiter, C. A. and W. S. Burhans (1996). "Farm-specific approach to paratuberculosis (Johne's disease) control." Vet Clin North Am Food Anim Pract **12**(2): 383-415.
- Roussel, A. J., M. C. Libal, et al. (2005). "Prevalence of and risk factors for paratuberculosis in purebred beef cattle." J Am Vet Med Assoc **226**(5): 773-778.
- Sanchez, G. F., S. E. Morales, et al. (2003). "Determination and correlation of anti-Neospora caninum antibodies in dogs and cattle from Mexico." Can J Vet Res **67**(2): 142-145.
- Sanderson, M. W., J. M. Gay, et al. (2000). "Neospora caninum seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States." Vet Parasitol **90**(1-2): 15-24.
- Sandvik, T. (2005). "Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes." Prev Vet Med **72**(1-2): 3-16; discussion 215-219.

- Schares, G., A. Barwald, et al. (2004). "Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers." Parasitology **129**(Pt 3): 301-309.
- Schares, G., A. Barwald, et al. (2003). "Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression." Int J Parasitol **33**(14): 1631-1640.
- Schares, G., M. Peters, et al. (1998). "The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques." Vet Parasitol **80**(2): 87-98.
- Schroeder, R. J. and M. D. Moys (1954). "An acute upper respiratory infection of dairy cattle." J Am Vet Med Assoc **125**(933): 471-472.
- Schudel, A. A., B. J. Carrillo, et al. (1986). "Infections of calves with antigenic variants of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) and neurological disease." Zentralbl Veterinarmed B **33**(4): 303-310.
- Scott, H. M., O. Sorensen, et al. (2007). "Seroprevalence of and agroecological risk factors for *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and *Neospora caninum* infection among adult beef cattle in cow-calf herds in Alberta, Canada." Can Vet J **48**(4): 397-406.
- Scott, H. M., O. Sorensen, et al. (2006). "Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, *Neospora caninum*, Bovine leukemia virus, and Bovine viral diarrhoea virus infection among dairy cattle and herds in Alberta and agroecological risk factors associated with seropositivity." Can Vet J **47**(10): 981-991.
- Sergeant, E. S. (2001). "Ovine Johne's disease in Australia--the first 20 years." Aust Vet J **79**(7): 484-491.
- Sherman, D. M., J. M. Gay, et al. (1990). "Comparison of the complement-fixation and agar gel immunodiffusion tests for diagnosis of subclinical bovine paratuberculosis." Am J Vet Res **51**(3): 461-465.
- Shivaprasad, H. L., R. Ely, et al. (1989). "A *Neospora*-like protozoon found in an aborted bovine placenta." Vet Parasitol **34**(1-2): 145-148.
- Smith, D. R. and D. M. Grotelueschen (2004). "Biosecurity and biocontainment of bovine viral diarrhoea virus." Vet Clin North Am Food Anim Pract **20**(1): 131-149.
- Solis-Calderon, J. J., V. M. Segura-Correa, et al. (2005). "Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: seroprevalence and risk factors." Prev Vet Med **72**(3-4): 253-262.
- Solis-Calderon, J. J., V. M. Segura-Correa, et al. (2003). "Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico." Prev Vet Med **57**(4): 199-208.
- Stenlund, S., H. Kindahl, et al. (1999). "Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*." Vet Parasitol **85**(4): 227-234.
- Stenlund, S., H. Kindahl, et al. (2003). "A long-term study of *Neospora caninum* infection in a Swedish dairy herd." Acta Vet Scand **44**(1-2): 63-71.
- Streeter, R. N., G. F. Hoffsis, et al. (1995). "Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from colostrum and milk of subclinically infected cows." Am J Vet Res **56**(10): 1322-1324.

- Sweeney, R. W. (1996). "Transmission of paratuberculosis." Vet Clin North Am Food Anim Pract **12**(2): 305-312.
- Sweeney, R. W., R. H. Whitlock, et al. (1994). "Diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle, using enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against Mycobacterium paratuberculosis in milk." Am J Vet Res **55**(7): 905-909.
- Sweeney, R. W., R. H. Whitlock, et al. (1992). "Mycobacterium paratuberculosis isolated from fetuses of infected cows not manifesting signs of the disease." Am J Vet. Res **53**(4): 477-480.
- Sylvestre, F. (2007). Programme de prévention et de contrôle de la paratuberculose au Québec. 31e Synposium sur les bovins laitiers, CRAAQ.
- Talafha, A. Q., S. M. Hirche, et al. (2009). "Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan." Trop Anim Health Prod **41**(4): 499-506.
- Taylor, L. F., E. D. Janzen, et al. (1997). "Losses over a 2-year period associated with fetal infection with the bovine viral diarrhoea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan." Can Vet J **38**(1): 23-28.
- Thorne, J. G. and L. E. Hardin (1997). "Estimated prevalence of paratuberculosis in Missouri, USA cattle." Prev Vet Med **31**(1-2): 51-57.
- Thurmond, M. C., S. K. Hietala, et al. (1997). "Herd-based diagnosis of Neospora caninum-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission." J Vet Diagn Invest **9**(1): 44-49.
- Tikoo, S. K., M. Campos, et al. (1995). "Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): biology, pathogenesis, and control." Adv Virus Res **45**: 191-223.
- Tiwari, A., J. A. Vanleeuwen, et al. (2009). "Risk factors associated with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis seropositivity in Canadian dairy cows and herds." Prev Vet Med **88**(1): 32-41.
- Tiwari, A., J. A. Vanleeuwen, et al. (2007). "Production effects of pathogens causing bovine leukosis, bovine viral diarrhoea, paratuberculosis, and neosporosis." J Dairy Sci **90**(2): 659-669.
- Tiwari, A., J. A. VanLeeuwen, et al. (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**(3-4): 147-158.
- Tiwari, A., J. A. VanLeeuwen, et al. (2006). "Johne's disease in Canada Part I: clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis, and prevalence in dairy herds." Can Vet J **47**(9): 874-882.
- Turin, L., S. Russo, et al. (1999). "BHV-1: new molecular approaches to control a common and widespread infection." Mol Med **5**(5): 261-284.
- Uggla, A., S. Stenlund, et al. (1998). "Oral Neospora caninum inoculation of neonatal calves." Int J Parasitol **28**(9): 1467-1472.
- Valle, P. S., S. W. Martin, et al. (1999). "Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea (BVD) seropositive dairy herd in the More and Romsdal County of Norway." Prev Vet Med **40**(3-4): 165-177.

- van Oirschot, J. T. (1995). "Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review." Vet Q **17**(1): 29-33.
- van Schaik, G., A. A. Dijkhuizen, et al. (1998). "Risk factors for existence of Bovine Herpes Virus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms." Prev Vet Med **34**(2-3): 125-136.
- van Schaik, G., Y. H. Schukken, et al. (2002). "Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study." Prev Vet Med **54**(3): 279-289.
- van Schaik, G., Y. H. Schukken, et al. (2001). "Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free Dutch dairy farms: a case-control study." Vet Q **23**(2): 71-76.
- VanLeeuwen, J. A., L. Forsythe, et al. (2005). "Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in dairy cattle in Saskatchewan." Can Vet J **46**(1): 56-58.
- Vanleeuwen, J. A., J. P. Haddad, et al. (2010). "Risk factors associated with Neospora caninum seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds." Prev Vet Med **93**(2-3): 129-138.
- VanLeeuwen, J. A., G. P. Keefe, et al. (2001). "Seroprevalence of infection with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhea virus in maritime Canada dairy cattle." Can Vet J **42**(3): 193-198.
- VanLeeuwen, J. A., A. Tiwari, et al. (2006). "Seroprevalences of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in beef and dairy cattle in Manitoba." Can Vet J **47**(8): 783-786.
- Waldner, C. L., J. Henderson, et al. (2001). "Reproductive performance of a cow-calf herd following a Neospora caninum-associated abortion epidemic." Can Vet J **42**(5): 355-360.
- Waldner, C. L., E. D. Janzen, et al. (1998). "Determination of the association between Neospora caninum infection and reproductive performance in beef herds." J Am Vet Med Assoc **213**(5): 685-690.
- Walz, P. H., D. L. Grooms, et al. (2010). "Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants." J. Vet. Intern. Med. **24**(3): 476-486.
- Wells, S. J. (2000). "Biosecurity on dairy operations: hazards and risks." J. Dairy Sci. **83**(10): 2380-2386.
- Wentink, G. H., T. Aarts, et al. (1991). "Calf from a persistently infected heifer born after embryo transfer with normal immunity to BVDV." Vet Rec **129**(20): 449-450.
- Whitlock, R. H. and C. Buergelt (1996). "Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology)." Vet Clin North Am Food Anim Pract **12**(2): 345-356.
- Whittington, R. J., C. A. Taragel, et al. (2001). "Molecular epidemiological confirmation and circumstances of occurrence of sheep (S) strains of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in cases of paratuberculosis in cattle in Australia and sheep and cattle in Iceland." Vet Microbiol **79**(4): 311-322.

- Whittington, R. J. and P. A. Windsor (2009). "In utero infection of cattle with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis: a critical review and meta-analysis." Vet J **179**(1): 60-69.
- Wouda, W. (2000). "Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review." Vet Q **22**(2): 71-74.
- Wouda, W., J. P. Dubey, et al. (1997). "Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis." J Parasitol **83**(3): 545-547.
- Xia, J. Q., R. M. Lofstedt, et al. (1995). "Detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of experimentally infected bulls by dot-blot hybridisation, polymerase chain reaction and virus isolation." Res Vet Sci **59**(2): 183-185.
- Yokomizo, Y., R. S. Merkal, et al. (1983). "Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of bovine immunoglobulin G1 antibody to a protoplasmic antigen of *Mycobacterium paratuberculosis*." Am J Vet Res **44**(11): 2205-2207.

ANNEXE 1

Test ELISA pour la paratuberculose

La technique mise en œuvre dans cette trousse est celle décrite dans les recommandations de l'O.I.E.

La trousse contient des plaques de cupules à fond plat, qui contiennent l'antigène de MAP, et différentes solutions de réactifs. L'antigène fixé au fond des cupules est un extrait protoplasmique de MAP. Les plaques contiennent 96 cupules dont une utilisée pour le contrôle négatif, deux pour le contrôle positif et les autres pour les échantillons. Les échantillons sont préalablement mis en contact avec un extrait de *Mycobacterium phlei* permettant de neutraliser d'éventuelles réactions croisées avec des mycobactéries atypiques.

On distribue 100 µl de solution de contrôle négatif et 100 µl de solution de contrôle positif dans les cupules correspondantes respectivement. Après une incubation de 15 minutes à 21°C on distribue 100µl de chaque échantillon de sérum dans les autres cupules. Couvrir les microplaques avec des couvercles adhésifs et incuber pendant 45minutes (± 5 min.) à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) sur un agitateur de microplaque. Si l'échantillon contient des anticorps spécifiques à MAP, ils forment un complexe antigène-anticorps qui sera fixé au fond de la cupule. Pour éliminer les substances non liées on effectue 3 cycles de lavages avec 30µl de solution de lavage, préalablement diluée, en vidant le contenu de la plaque après chaque lavage; après le dernier lavage, drainer le liquide résiduel sur du papier absorbant.

On ajoute 100µl de conjugué, préalablement diluée à 1/100, dans chaque cupule. Cette solution contient une enzyme, anti-IgG peroxydase, des ruminants. Couvrir la microplaque avec un couvercle adhésif et incuber pendant 30 minutes (± 3 min.) à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$). Ce conjugué va s'attacher au complexe antigène-anticorps. Ensuite effectuer 3 cycles de lavages avec 30µl de solution, en vidant le contenu de la plaque après chaque lavage pour éliminer les

substances non liées; après le dernier lavage drainer le liquide résiduel sur du papier absorbant.

Distribuer 100µl de solution de révélation dans chaque cupule et incuber pendant 10 minutes à 21°C (± 5°C) à l'abri de la lumière; puis ajouter 100µl de solution d'arrêt dans chaque cupule et agiter légèrement. Si le conjugué est attaché, l'enzyme formera un composé bleu qui virera au jaune après l'ajout de la solution d'arrêt.

Mettre ensuite la plaque dans le spectrophotomètre pour la lecture des résultats.

On fait la lecture de la densité optique à 450nm (DO_{450}). Les résultats sont valides si :

- le contrôle positif a une valeur DO_{450} moyenne minimale de 0.350, et
- si le rapport entre la valeur DO_{450} moyenne du contrôle positif et la valeur OD_{450} du contrôle négatif est ≥ 3 .

Pour chaque échantillon on calcule le rapport S/P :

$$S/P = \frac{100 \times (DO_{450} \text{ échantillon} - DO_{450} \text{ contrôle négatif})}{(DO_{450} \text{ moyenne contrôle positif} - DO_{450} \text{ contrôle négatif})}$$

- Un échantillon qui a un $S/P \leq 60\%$ provient d'un animal non infecté par MAP.
- Un échantillon qui a un S/P entre 60% et 70% est considéré douteux. Un deuxième test est nécessaire pour conformer son statut.
- Un échantillon qui a un $S/P > 70\%$ provient d'un animal infecté par MAP.

ANNEXE 2

Test ELISA pour la néosporose

Distribuer 100µl de solution de lavage diluée dans les puits A1 et A2; distribuer 100µl de contrôle négatif dans les puits B1 et B2; distribuer 100µl de contrôle positif dans les puits C1 et C2. Distribuer 100µl d'échantillons, préalablement dilués à 1/200, dans les puits D1/D2, E1/E3.... Ensuite on incube pendant 45 minutes à 37°C. Les anticorps spécifiques à NC, dans les échantillons de sérum positifs, se fixent aux antigènes dans les puits.

Après on lave chacun des puits 3 fois avec 300µl de solution de lavage, en éliminant la solution dans les puits après chaque lavage, pour éliminer les substances non liées. Après le dernier lavage, drainer le liquide résiduel sur du papier absorbant.

Ensuite on distribue 100µl de conjugué, préalablement dilué, dans chaque puits. Ce conjugué contient des anticorps couplés à une enzyme qui seront dirigés contre les anticorps bovins. Incuber pendant 30 minutes à 37°C. Après on lave chacun des puits 4 fois avec 300µl de solution de lavage, pour éliminer les substances non liées, en éliminant le liquide dans les puits après chaque lavage. Distribuer 100µl de substrat, une substance chromogène, dans chacun des puits et incuber, à l'abri de la lumière, pendant 15 minutes à $23 \pm 2^\circ\text{C}$. En présence de la portion enzymatique du conjugué, le chromogène réagit et provoque le développement d'une coloration verte. Pour arrêter cette réaction enzymatique on ajoute 100µl de solution d'arrêt dans chacun des puits.

Mettre la plaque dans le photospectromètre pour la lecture des densités optiques (DO) de chaque puits. La lecture doit être effectuée au plus tard 15 minutes après l'arrêt des réactions.

On mesure la DO de chacun des puits à 405nm.

Pour chacun des échantillons (E) et des contrôles, il faut calculer la moyenne (M) des densités optiques (DO) obtenues. A ces résultats, on soustrait la moyenne des DO obtenues pour la solution de lavage (B) afin d'obtenir la DO corrigée. Pour obtenir le ratio de l'échantillon, on divise chaque DO corrigée de l'échantillon par la DO du contrôle positif (P).

$$\text{Ratio} = \frac{M \text{ DO}_E - M \text{ DO}_B}{M \text{ DO}_P - M \text{ DO}_B}$$

L'épreuve est considéré valide si le ratio obtenu pour le contrôle négatif est < 0.25 et la moyenne des DO obtenues pour le contrôle positif est ≥ 0.75 .

- Si le ratio de l'échantillon éprouvé est < 0.45, il est considéré négatif.
- Si le ratio de l'échantillon éprouvé est ≥ 0.45 mais < 0.60, il est considéré douteux.
- Si le ratio de l'échantillon éprouvé est ≥ 0.60 , il est considéré positif.

En considérant les résultats douteux comme étant positifs, la sensibilité relative de l'épreuve est de 99.4% (IC=95%), et la spécificité relative de l'épreuve est de 99.1% (IC=95%).

En considérant les résultats douteux comme étant des négatifs, la sensibilité relative du test est de 88.2% (IC=95%) et la spécificité relative du test est de 100% (IC=95%).

ANNEXE 3

Test de séroneutralisation pour la diarrhée virale bovine et la rhinotrachéite infectieuse bovine

On prépare les échantillons de sérum en mélangeant, dans des tubes stériles, 87.5µl de sérum avec 12.5µl de milieu de maintien MEM Earl, ce qui donne une dilution à 1/8 de l'échantillon de sérum. On distribue 100µl de chaque échantillon, dilué à 1/8, dans trois puits : un puits à tester contre BoHV1 et les deux autres contre VBVD1 et VBVD2 respectivement, sur la première rangée de la microplaque. Dans les 7 rangées suivantes on distribue 50µl de milieu de maintien MEM Earl.

On effectue une dilution de chaque échantillon, de 1/8 à 1/16, en transférant stérilement 50µl d'échantillon de la première rangée à la deuxième rangée, ce qui donne une dilution de 1/16 de chaque échantillon à la deuxième rangée. On effectue la même procédure 6 fois, successivement, en transférant 50µl de chaque échantillon de la rangée précédente à la rangée suivante, pour avoir une dilution à 1/1028 de chaque échantillon à la dernière rangée de la microplaque.

Sur une autre plaque on effectue les mêmes procédures de dilution, de 1/8 à 1/1028, d'un échantillon positif et d'un échantillon négatif à BoHV1 sur une colonne de puits, et de VBVD1 et VBVD2 sur deux autres colonnes de puits, respectivement.

Ensuite on ajoute 50µl de virus, qui contient approximativement 10^2 virus, dans chaque puits des microplaques et on incube pendant 2 heures à température pièce. S'il y a des anticorps dans les échantillons de sérum cette période de temps permet aux anticorps de neutraliser les virus.

Après on ajoute 50µl de cultures de cellules de testicule de veau dans chaque puits et on incube pendant 4 jours, à 37°C pour les échantillons éprouvés pour BoHV1, et à 4°C pour les échantillons éprouvés pour VBVD1 et VBVD2.

La lecture des résultats des tests sérologiques s'effectue par microscopie pour voir les effets cytopathiques des virus.

S'il y a des anticorps dans l'échantillon de sérum, ils auraient neutralisé les virus et "protégé" la culture de cellules, ainsi on n'observera pas d'effets cytopathiques des virus sur les cellules (échantillon positif)

En l'absence d'anticorps dans l'échantillon de sérum, les virus seraient "libres", les cellules non "protégées" et on observera des effets cytopathiques des virus sur les cellules (échantillon négatif).

La plus grande dilution de l'échantillon, où l'on n'observe pas d'effets cytopathiques des virus indique le titre des anticorps séroneutralisants de l'échantillon. Un échantillon est considéré positif si le test de séroneutralisation est positif à une dilution de 1/8.