

## **Que nous ont appris les recherches sur la néosporose bovine pour l'élaboration d'un traitement efficace ?**

**Auteur** : Colette, Guillaume

**Promoteur(s)** : Grobet, Luc

**Faculté** : Faculté de Médecine Vétérinaire

**Diplôme** : Master en médecine vétérinaire

**Année académique** : 2020-2021

**URI/URL** : <http://hdl.handle.net/2268.2/11930>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative" (BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

## Table des matières

- 1) Introduction
  - a. Relation hôte parasite
  - b. Conséquences économiques
- 2) Prévention
  - a. Diagnostic
  - b. Plan de lutte
- 3) Traitements potentiels
  - a. Bumped kinases inhibitors (BKI)

## 1) Introduction

### a. Relation hôte parasite

Le bovin n'est qu'un hôte accidentel de *Neospora caninum*. En effet, ce parasite ne peut se transmettre que de deux façons différentes. La première étant la transmission horizontale, qui va permettre au parasite d'infecter le bovin via de la nourriture ou de l'eau contaminée par des oocystes provenant de déjections canines (King et al., 2011). Dans le cas présent, deux scénarios sont ensuite envisageables.

Si la vache est infectée pendant les 2 premiers tiers de sa gestation, elle a de grandes chances d'avorter d'un embryon de façon discrète ou d'un fœtus qui sera a priori envoyé à l'ARSIA pour analyse. Dans ce cas de figure, elle ne pourra avorter qu'une seule fois voire deux dans de rares cas et surtout, elle ne pourra infecter qu'un canidé qui mangerait ses arrière-faix ou l'avorton.

En revanche, si la vache est infestée durant le dernier tiers de la gestation, le veau naîtra lui aussi infesté. Si le veau infesté est une femelle, elle représentera un gros foyer potentiel pour l'exploitation (Innes et al., 2005). Ces vaches infestées de façon congénitale pourront lors de leur gestation suivante, soit avorter et ainsi réinfester un chien, soit donner naissance à un veau lui-même infesté de façon endogène et congénitale (Dubey et al., n.d.).

Ces animaux ne sont donc pas à garder pour la reproduction. Cette transmission verticale peut aboutir à des foyers relativement importants au sein d'une exploitation. En dehors de cette situation, il n'existe aucune transmission de bovin à bovin (Innes et al., 2005).

### b. Conséquences économiques

## 2) Prévention

### a. Diagnostic

En Belgique, deux méthodes diagnostiques sont utilisées par l'ARSIA. La première est appelée diagnostic indirect et se fera via un test ELISA Ac sur sérum de la mère, du nouveau-né avant la prise de colostrum ou encore sur du sang complet d'avorton. Il s'agit ici de retrouver des anticorps contre le parasite ("Rapport annuel 2019," n.d.). Ici Lors de la détection sérologique, on se rend compte que les animaux infestés de façon exogène sont détectables sur une période de moins d'un an et que les animaux infectés de façon endogène le sont pendant toute leur vie de façon constante.

La seconde méthode ou méthode directe quant à elle, vise à retrouver des antigènes du parasite via une PCR sur un échantillon cérébral de l'avorton.

En cas d'avortement, la façon de procéder est donc la suivante. Un premier test ELISA est réalisé sur le sérum de la mère. S'il est négatif, la cause de l'avortement n'est pas la néosporose. S'il est faiblement positif, un second test ELISA sera réalisé sur le sang de l'avorton. Si celui-ci est positif, c'est qu'il s'agit de néosporose. Si le test sur l'avorton est négatif, l'avortement n'est pas dû à la néosporose. Le dernier cas de figure correspond à un test fortement positif sur le sang de la mère. Il

mènera donc en toute logique à un second test ELISA sur le sang de l'avorton. Si celui-ci est positif, l'avortement est dû à la néosporose. En revanche s'il est négatif, une PCR sera tout de même réalisée par précaution sur le cerveau de l'avorton. L'issue de cette PCR déterminera si l'on considère l'avortement comme dû à la néosporose ou non.

#### b. Plan de lutte

Deux possibilités, La première (BCP1) consiste la première année en un bilan complet via un test ELISA chez tous les animaux de plus de 6 mois. Il faudra ensuite dépister tous les nouveaux nés avant la prise de colostrum. Les années qui suivent, l'éleveur ne doit tester que les animaux nouvellement introduits dans le cheptel (qui n'ont donc jamais été testés) ainsi que les nouveaux nés, toujours avant la prise de colostrum. La seconde possibilité (BCP2) étant de dépister tous les animaux de plus de 6 mois chaque année et de laisser les nouveaux nés tranquilles.

Ces 2 plans de dépistages vont mener à un abattage systématique des animaux atteints. L'éleveur ne peut pas vendre d'animaux « suspects » ou « infectés verticalement ». Afin d'obtenir le statut indemne de néosporose, l'élevage ne doit plus contenir que des animaux « négatifs » et dans le cas où l'éleveur déciderait d'acheter des animaux infesté, ou du moins positifs, celui-ci devra faire valoir son droit de rétractatio. ("NEO\_Contrat-Plan-lutte.pdf," n.d.)

#### c.

### 3) Traitements potentiels

#### a. Bumped kinases inhibitor(BKIs)

Il a été prouvé plusieurs fois dans la littérature que les protéines kinases calcium dépendantes (CDPKs) peuvent servir de cible pour le traitement contre d'autres pathogènes apicomplexés comme *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum* ou *C.hominis*. Ceci est possible grâce à un inhibiteur de BUMPED kinase (BKI) (Huston et al., 2015; Ojo et al., 2012, 2010). Si nous prenons l'exemple d'autres apicomplexés comme *T. gondii*, Il existe un déjà plusieurs publications démontrant l'effet des BKIs dans la lutte contre l'invasion cellulaire de *T. gondii* (Ojo et al., 2010) ainsi que leur innocuité pour les mammifères, puisque les kinases de *T. gondii* diffèrent de celles des mammifères. Il n'y a donc pas d'inhibition possible chez le bovin notamment. Toutes ces affirmations sont à prendre en compte dans la lutte contre la néosporose, puisque *N. caninum* et *T. gondii* ont tous deux la même manière d'envahir un large panel de cellules (Hemphill et al., 2006, 2004, 1996). Il a d'ailleurs été expérimentalement démontré qu'un traitement à base de BKIs sur des souris infectées, s'il est appliqué pendant environ une semaine, résulte en un niveau presque indétectable de parasites. Et ce pendant encore deux semaines après l'arrêt du traitement. Cependant, il n'a pas été prouvé que

l'effet des BKIs sur l'invasion cellulaire peut durer plus longtemps (Ojo et al., 2014). Il reste à souligner qu'une étude plus récente sur les BKIs a démontré une certaine forme de résistance via la formation de complexes multinucléés (MNC) par les cellules infectées. Ces MNC contiennent des formes ressemblant aux bradyzoïtes de *N. caninum*. Ils sont appelés baryzoïtes et sont viables in vitro sous la pression médicamenteuse (Winzer et al., 2020).

### b. Colorant au phenothiazinium

Il est maintenant démontré, que le bleu de méthylène (faisant partie des colorants au phenothiazinium) enraille efficacement la prolifération de *N. caninum*. Une synergie a même été trouvée entre le bleu de méthylène et un de ses dérivés, le « new méthylène blue ». Il était historiquement utilisé pour traiter la malaria, mais a été délaissé pour d'autres traitements comme la Pyrimethamine. Le bleu de méthylène revient cependant à la mode, dans la mesure où les traitements plus novateurs sont sujet à des résistances de la part de plasmodium. Afin de compléter l'expérience, la Pyrimethamine a également été testée sur *N. caninum*.

## Remarques intéressantes à caser quelque part

Chemotherapy :

2. Muller, J. et al. Repurposing of antiparasitic drugs: the hydroxy-naphthoquinone buparvaquone inhibits vertical transmission in the pregnant neosporosis mouse model. *Vet. Res.* **47**, 32 (2016).
3. Loo, C. S., Lam, N. S., Yu, D., Su, X. Z. & Lu, F. Artemisinin and its derivatives in treating protozoan infections beyond malaria. *Pharmacol. Res.* **117**, 192–217 (2017).
4. Lindsay, D. S. & Dubey, J. P. Evaluation of anti-coccidial drugs' inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. *Parasitol.* **75**, 990–992 (1989).

Infection de bovins non pregnant :

Pathogène intra cellulaire obligé, on a donc essayé de combattre le parasite in vitro avec de l'INF gamma et TNF alpha. Inhibition significative de la multiplication du parasite. Les CD4+ dérivées de bovins infectés peuvent également tuer les cellules cibles infectées.

Est ce que la grossesse modifie la relation hôte parasite ? :

La réponse Th1 va être défavorisée en cas de grossesse, et la Th2 privilégiée par le facteur de croissance. Le contrôle de l'infection est donc altéré, car c'est la réponse Th1 qui va efficacement éliminer les pathogènes intra cellulaires. D'un autre côté, une réponse de type Th1 sera déleterie pour la grossesse et peut la compromettre.

Réponse immunitaire chez la vache pregnant :

Augmentation des anticorps en milieu de gestation va plus souvent mener à un avortement qu'une augmentation en fin de gestation

Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W., n.d. Pathogenesis of Bovine Neosporosis 23.

Dubey, J.P., Schares, G., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 140, 1–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.035>

Hemphill, A., Gottstein, B., Kaufmann, H., 1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology* 112, 183–197. <https://doi.org/10.1017/S0031182000084754>

Hemphill, A., Vonlaufen, N., Naguleswaran, A., 2006. Cellular and immunological basis of the host-parasite relationship during infection with *Neospora caninum*. *Parasitology* 133, 261–278.  
<https://doi.org/10.1017/S0031182006000485>

Hemphill, A., Vonlaufen, N., Naguleswaran, A., Keller, N., Riesen, M., Guetg, N., Srinivasan, S., Alaeddine, F., 2004. Tissue Culture and Explant Approaches to Studying and Visualizing *Neospora caninum* and Its Interactions with the Host Cell. *Microsc. Microanal.* 10, 602–620.  
<https://doi.org/10.1017/S1431927604040930>

Huston, C.D., Spangenberg, T., Burrows, J., Willis, P., Wells, T.N.C., van Voorhis, W., 2015. A Proposed Target Product Profile and Developmental Cascade for New Cryptosporidiosis Treatments. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, e0003987. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003987>

Innes, E.A., Wright, S., Bartley, P., Maley, S., Macaldowie, C., Esteban-Redondo, I., Buxton, D., 2005. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108, 29–36.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.07.004>

King, J.S., Jenkins, D.J., Ellis, J.T., Fleming, P., Windsor, P.A., Šlapeta, J., 2011. Implications of wild dog ecology on the sylvatic and domestic life cycle of *Neospora caninum* in Australia. *Vet. J.* 188, 24–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.002>

NEO\_Contrat-Plan-lutte.pdf, n.d.

Ojo, K.K., Larson, E.T., Keyloun, K.R., Castaneda, L.J., DeRocher, A.E., Inampudi, K.K., Kim, J.E., Arakaki, T.L., Murphy, R.C., Zhang, L., Napuli, A.J., Maly, D.J., Verlinde, C.L.M.J., Buckner, F.S.,

Parsons, M., Hol, W.G.J., Merritt, E.A., Van Voorhis, W.C., 2010. *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 1 is a target for selective kinase inhibitors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17, 602–607. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1818>

Ojo, K.K., Pfander, C., Mueller, N.R., Burstrem, C., Larson, E.T., Bryan, C.M., Fox, A.M.W., Reid, M.C., Johnson, S.M., Murphy, R.C., Kennedy, M., Mann, H., Leibly, D.J., Hewitt, S.N., Verlinde, C.L.M.J., Kappe, S., Merritt, E.A., Maly, D.J., Billker, O., Van Voorhis, W.C., 2012. Transmission of malaria to mosquitoes blocked by bumped kinase inhibitors. *J. Clin. Invest.* 122, 2301–2305. <https://doi.org/10.1172/JCI61822>

Ojo, K.K., Reid, M.C., Kallur Siddaramaiah, L., Müller, J., Winzer, P., Zhang, Z., Keyloun, K.R., Vidadala, R.S.R., Merritt, E.A., Hol, W.G.J., Maly, D.J., Fan, E., Van Voorhis, W.C., Hemphill, A., 2014. *Neospora caninum* Calcium-Dependent Protein Kinase 1 Is an Effective Drug Target for Neosporosis Therapy. *PLoS ONE* 9, e92929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092929>

Rapport annuel 2019, n.d.

Winzer, P., Müller, J., Imhof, D., Ritler, D., Uldry, A.-C., Braga-Lagache, S., Heller, M., Ojo, K.K., Van Voorhis, W.C., Ortega-Mora, L.-M., Hemphill, A., 2020. *Neospora caninum*: Differential Proteome of Multinucleated Complexes Induced by the Bumped Kinase Inhibitor BKI-1294. *Microorganisms* 8, 801. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060801>