



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

MEMOIRE DE MASTER

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : Biologie

OPTION : Parasitologie

Thème

**Contribution à l'étude de la prévalence de
Cryptosporidium spp sur des élevages bovins de la région
de Laghouat.**

Présenté par :

-Benmebarek Maamar-Gourine Ahmed Abdchafik -Remma Fadia Kamilia

Jury de soutenance :

Nom	Grade	qualité
Becheur M.	MAA	Président
Mokhtar Rahmani M.	MA A	Examineur
Saidi R.	PROF.	Rapporteur
Mimoune Nora	MCA	Co-rapportrice

Promotion : Juillet 2021



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة عمار ثلجي - الأغواط

كلية: العلوم
قسم: البيولوجيا

مذكرة ماستر

ميدان: علوم الطبيعة و الحياة
شعبة: البيولوجيا
تخصص: علم الطفيليات
موضوع البحث

المساهمة في مدى انتشار *Cryptosporidium* spp في مزارع الابقار في منطقة الأغواط.

- قورين أحمد عبد الشفيق--بن مبارك معمر رمة فادية كاميلية

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية	الصفة
السيد بوشور مراد	استاذ مساعد	رئيس
السيد مختار رحمانى محمد	استاذ مساعد	ممتحن
السيد سعدي رضوان	بروفيسور	مقرا
السيدة ميمون نورة	استاذة محاضرة	مقرر مساعد

دفعة جويلية 2021

Remerciement

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes. On remercie tout d'abord le tout puissant qui, par sa grâce nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé, la force, le courage et en nous faisant entourer des merveilleuses personnes dont on tient à remercier.

On remercie :

Tout d'abord notre encadreur monsieur SAIDI RADHWANE

A l'examineur monsieur MOKHTAR RAHMANI M

Et au président de jury monsieur BECHEUR M

Nos très chers remerciements.

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À ma mère et mon père pour leurs affections et amours

À ma femme et mes enfants

À mes frères et mes sœurs

À toute ma famille

À tout mes collègues

À mes amis

Benmebarek Maamar

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À ma mère et mon père pour leurs affections et amours

À mes frères

À toute ma famille

À mes amis

Ahmed Abdchafik Gourine

Dédicace

Je dédie ce memoire

*A mon Papa qui m'a soutenu et encouragé durant ces années
d'études.*

Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

*A ma très chère défunte maman dont son amour nous a jamais
quitté et ses encouragements les plus vifs depuis son paradis.*

A ma seconde maman fatima qui m'a toujours soutenu et aimé.

*A mes frères Islam, Zinedinne, Chakib, Wassim qui ont partagé
avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce
travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au
long de mon parcours.*

*A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et
de l'affection.*

*A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite
plus de succès.*

A tous ceux que j'aime

Fadia Kamilia Remma

Table des matières

Remerciement
Dédicaces
Table des matières
Résumé
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations

Table des matières	Page
Introduction	1
Chapitre I : Cryptosporidium	3
1. BIOLOGIE DES CRYPTOSPORIDIES	3
1.1. Découverte du parasite	3
1.2. Taxonomie	4
1.3. Cycle évolutif	4
1.3.1. Caractéristiques	4
1.3.2. Déroulement du cycle	5
1.3.2.1. Excystation	5
1.3.2.2. Mérogonie (anciennement dénommée schizogonie)	6
1.3.2.3. Gamétogonie	8
1.3.2.4. Sporogonie ou sporulation	9
1.3.3. Particularités du cycle de Cryptosporidium	9
1.3.4. Position dans la cellule-hôte	10
1.4. Propriétés de l'oocyste	11
1.4.1. Structure	11
1.4.2. Résistance des oocystes	12
1.4.2.1. Mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes	12

1.4.2.1.1. Viabilité des oocystes	12
1.5. Espèces de cryptosporidies	13
1.5.1. La notion d'espèce	13
CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES ANIMAUX	15
2.1. Espèces affectées	15
2.1.1. Ruminants	15
2.1.2. Autres Mammifères	15
2.1.3. Oiseaux et Reptiles	15
2.2. Epidémiologie	16
2.2.1. Répartition géographique et prévalence de la cryptosporidiose	16
2.2.2. Facteurs de risque	17
3. Pathogénie	19
4. Diagnostic	21
4.1. Diagnostic épidémiologique et clinique	21
4.2. Diagnostic différentiel	21
4.3. Diagnostic de laboratoire	21
4.3.1. Microscopie conventionnelle	22
4.3.2. Méthodes de concentration	22
4.3.3. Méthodes de coloration	22
4.4. Méthodes d'immunomarquage	24
4.5. Cytométrie de flux	25
5. Traitement symptomatique et adjuvant	26
5.1. Chez l'animal	26
5.2. Chez l'Homme	27

5.2.1. Traitement symptomatique	28
5.2.2. Traitements antirétroviraux	28
6. Mesures hygiéniques et prévention	29
6.1. Prévention de la contamination animale	29
6.2. Prévention de la contamination humaine	30
6.3. Désinfection des locaux	32
6.4. Traitement de l'eau	33
4.5. Traitement des aliments	35
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	37
Materiel et Methodes	37
Objectif	37
III.1. Période l'étude	38
III.2 Climat de la région d'étude	38
III.3 Population d'étude	38
III.4 Échantillonnage	39
III.5 Calcul de la prévalence totale	43
III.6 Traitement statistique des données	43
IV. Cryptosporidium spp observé chez les animaux étudiés	43
V.1 Prévalence générale de Cryptosporidium spp	44
V.2 Etude de l'influence de certains paramètres sur le taux d'infestation par Cryptosporidium spp	44
Discussion	51
Conclusion	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
ANNEXES	60

Promoteur : Saidi Radwane.

Titre du mémoire : Contribution à l'étude de la prévalence de *Cryptosporidium* spp sur des élevages de la région de Laghouat.

Resumé

Le but de notre étude a été d'évaluer la prévalence de *Cryptosporidium* spp dans les élevages bovins laitiers modernes de la région de Laghouat et mettre en évidence une éventuelle influence de certains facteurs : Age, Sexe, Race, Mode de stabulation, mode d'allaitement et en dernier selon leurs état sanitaire sur la distribution de *Cryptosporidium* spp. Pour cela, 04 élevages bovins laitiers de la région de Laghouat ont été choisis avec un total de 431 bovins prélevés pour analyse coproscopique par la technique de Ziehl Neeelsen Modifiée. Suite à cette analyse, 245 prélèvements étaient positifs et 186 étaient négatifs. Le parasite était observé dans toutes les classes d'âge avec une prévalence plus élevée chez les veaux de moins de 02 mois. L'excrétion d'oocystes de *Cryptosporidium* spp. a été très significativement associée aux diarrhées, notamment chez les veaux âgés de moins de 02 mois. Ce travail montre l'importance de *Cryptosporidium* spp chez les bovins laitiers de la région de Laghouat.

Mots clés : *Cryptosporidium*, Prévalence, Facteurs De Risque, Laghouat.

Promoter: Saidi Radwane.

Thesis title: Contribution to the study of the prevalence of *Cryptosporidium* spp on herds in the Laghouat region.

Abstract

The aim of our study was to assess the prevalence of *Cryptosporidium* spp in modern dairy cattle farms in the Laghouat region and to highlight a possible influence of certain factors: Age, Sex, Race, Mode of stabling, mode of breastfeeding and last according to their health status on the distribution of *Cryptosporidium* spp. For this, 04 dairy cattle farms in the Laghouat region were chosen with a total of 431 cattle taken for coproscopic analysis by the modified Ziehl Neelsen technique. Following this analysis, 245 samples were positive and 186 were negative. The parasite was observed in all age groups with a higher prevalence in calves less than 02 months old. The excretion of oocysts of *Cryptosporidium* spp. was very significantly associated with diarrhea, especially in calves under 02 months of age. This work shows the importance of *Cryptosporidium* spp in dairy cattle in the Laghouat region.

Keywords: *Cryptosporidium*, Prevalence, Risk Factors, Laghouat.

مقررًا : سعدي رضوان.

عنوان المذكرة: المساهمة في دراسة انتشار *Cryptosporidium spp* على قطاع منطقة الأغواط.

ملخص

كان الهدف من دراستنا هو تقييم انتشار *Cryptosporidium spp* في مزارع الأبقار الحلوب الحديثة في منطقة الأغواط و ابراز التأثير المحتمل لبعض العوامل : العمر و الجنس و العرق و طرق التوزيع في الاسطبلات و طرق الرضاعة و الحالة الصحية للحيوانات .

لهذا الغرض تم اختيار 04 مزارع للأبقار الحلوب الحديثة في منطقة الأغواط بإجمال 431 رأس من الأبقار تم أخذ عينات لتحليلها بواسطة تقنية Ziehl neelsen المعدلة , بعد عملية التحليل كانت 245 عينة ايجابية و 186 عينة سلبية . لوحظ وجود الطفيلي في جميع الفئات العمرية مع انتشار أعلى في العجول التي يقل عمرها عن شهرين . كما لوحظ افراس لبويضات *Cryptosporidium spp* يشكل أكبر عند الحيوانات المصابة بالإسهال . هذا العمل يبين مدى أهمية انتشار *Cryptosporidium spp* عند الأبقار الحلوب في منطقة الأغواط.

الكلمات المفتاحية: الكريبتوسبورديوم ، الانتشار ، عوامل الخطر ، الأغواط.

Figure	Liste des Figures	Page
Figure 01	Représentation schématique du cycle évolutif de <i>Cryptosporidium</i> spp.	04
Figure 02	Image au microscope électronique de trophozoïtes de <i>Cryptosporidium</i> localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc.	05
Figure 03	Image au microscope électronique d'un trophozoïte en cours de mérogonie ou méronite immature.	06
Figure 04	Image au microscope électronique d'un méronite immature contenant des mérozoïtes.	06
Figure 05	Image au microscope électronique d'un macrogamonte.	07
Figure 06	Image au microscope électronique d'un microgamonte.	08
Figure 07	Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoïtes matures.	09
Figure 08	Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de <i>C. parvum</i> .	12
Figure 09	Coloration d'oocystes de <i>Cryptosporidium</i> à l'auramine-rhodamine.	22
Figure 10	Coloration d'oocystes de <i>Cryptosporidium</i> à la fuschine.	23
Figure 11	Prélevement des matières fécale.	38
Figure 12	Mettre les matières fécales dans des récipients.	38
Figure 13	Etalement de la goutte sur la lame.	39
Figure 14	Fixation a l'éthanol.	39
Figure 15	Recouvrement par la fuschine.	40
Figure 16	Coloration avec le vert de malachite.	40
Figure 17	Observation au microscope	40
Figure 18	Oocystes de <i>Cryptosporiduium</i> spp. Observés sous microscope optique : Gx1000, huile à immersion.	41
Figure 19	La prévalence générale de <i>Cryptosporidium</i> spp chez les bovins étudiés.	41
Figure 20	Représentatif graphique du taux de parasitisme selon l'âge.	43
Figure 21	Représentation graphique du taux de parasitisme chez les deux sexes.	44
Figure 22	Représentation graphique du taux de parasitisme selon la race.	45
Figure 23	Représentation graphique du taux de parasitisme selon le mode de stabulation.	46
Figure 24	Représentation graphique du taux de parasitisme selon le mode d'allaitement.	47
Figure 25	Représentation graphique du taux de parasitisme selon l'état sanitaire de l'animal.	48

Tableau	Liste des tableaux	Page
Tableau 01	Représentation des différentes exploitations.	38
Tableau 02	Prévalence des cryptosporidium selon l'âge.	44
Tableau 03	Prévalence des cryptosporidium selon le sexe	45
Tableau 04	Prévalence des cryptosporidium selon la race.	46
Tableau 05	Prévalence des cryptosporidium selon le mode de satbulation.	47
Tableau 06	Prévalence des cryptosporidium selon le mode d'allaitement.	48
Tableau 07	Prévalence des cryptosporidium selon l'état sanitaire.	49
Tableau 08	Comparaison de la prévalence de Cryptosporidium spp chez les bovins dans plusieurs régions.	50

Liste des abréviations

CDC :CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION.

DSA: DIRECTION DES SERVICES AGRICOLES .

KJP : KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

NARO : NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION.

Introduction

Introduction

L'élevage bovin représente en Algérie une grande importance économique ; il joue un rôle important dans la sécurité alimentaire en fournissant le lait et viande,... Dans ce cadre, le développement de cette filière figure parmi les priorités du ministère de l'agriculture et du développement rural pour faire face à la demande croissante en lait et ses dérivés et en viande, et réduire la facture d'importation. Pour cela, la tutelle planifie une politique de soutien pour les éleveurs a fins d'augmenter l'effectif des bovins laitiers moderne (B.L.M) en travaillant sur les points suivants:

-l'importation des génisses pleines contribue à la production du lait.

-la production des génisses localement en utilisant l'insémination artificiel :

Parmi les problèmes qui entravent cette politique l'importante perte des veaux nouveaux nés causée essentiellement par les diarrhées. Cette dernière est causée parfois par un parasite nommé *Cryptosporidium*, lequel occasionne une diarrhée liquide et profuse. En fait, ce parasite s'intègre aux cellules intestinales des jeunes veaux et cause une destruction de l'épithélium de l'intestin. A la suite de la diarrhée, les veaux atteints de cryptosporidiose souffrent de déshydratation, une perte d'appétit et d'un retard de croissance. Certains peuvent remettre de la maladie sans traitement spécifique alors qu'une fluidothérapie de support est nécessaire pour les cas les plus sévères. De plus, aucun vaccin ou médicament ne sont actuellement disponibles pour prévenir ou traiter cette maladie qui peut mener à des pertes économiques importantes pour le producteur (Congrès du Bœuf, 2009).

La bibliographie notamment été enrichie de quelques recherches sur la cryptosporidiose bovine en Algérie (Akram et al ; 2007 ; Khelef er al 2007 ;Ouchene et al ;2012) mais, les travaux sur ce parasite sont rares à Laghouat (Laameche et Bailleche, 2018). Dans ce contexte, notre étude vise à rechercher et identifier les cryptosoridies chez les bovins dans notre région de (Laghouat) et plus précisément dans les bovins laitier modernes ; le but est d'évaluer la prévalence des cryptosporidies et d'étudier l'influence de certains facteurs comme: Age, sexe, race, le mode de stabulation...

Introduction

Ce mémoire se divise en 03 parties :

-La première partie est une recherche bibliographique comprenant des généralités sur la cryptosporidiose chez les bovins en suivant le squelette général d'une pathologie quelconque, puis une deuxième partie qui est la partie expérimental présentant la méthode et les résultats et la discussion.

Enfin, on clôture par une conclusion générale ou on donne une synthèse des résultats, et les perspectives attendues en termes aussi bien de développement ou de recherche.



Chapitre I : Cryptospridium



Chapitre I: Cryptospridium

1. BIOLOGIE DES CRYPTOSPORIDIES

1.1. Découverte du parasite

Le genre *Cryptospridium* fut décrit pour la première fois en 1907 par Ernest Edward Tyzzer suite à l'observation du parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire. Le parasite nouvellement découvert fut ainsi nommé *Cryptospridium muris*. En 1912, Tyzzer mit en évidence chez la souris une autre espèce du même genre localisée dans l'intestin grêle et de plus petite taille qu'il nomma *Cryptospridium parvum* (Fayer, 2004 ; Tzipori et Widmer, 2008 ; Fayer, 2010).

En 1955, la survenue de diarrhée aiguë chez des dindes permit à Slavin de décrire une nouvelle espèce, *Cryptospridium meleagridis*. Dans les vingt années qui suivirent, le genre *Cryptospridium* fut retrouvé dans les intestins de veaux diarrhéiques confirmant ainsi l'importance pathogénique du parasite (O'donoghue, 1995 ; Fayer, 2004). Dès lors, des recherches permirent la découverte de nouvelles espèces du genre *Cryptospridium* et leur pathogénicité.

C'est avec la découverte des premiers cas humains de cryptosporidiose en 1976 et le développement du SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) que le monde médical s'est tourné vers le parasite, son pouvoir pathogène et son opportunisme (Bonnin et Camerlynck, 1989 ; O'donoghue, 1995 ; Tzipori et Widmer, 2008 ; Guyot et al., 2012). Cependant, ce n'est qu'en 1993, suite à l'épidémie de Milwaukee dans le Wisconsin (États-Unis) qui a touché plus de 400 000 personnes, que la cryptosporidiose a été reconnue comme un problème de santé publique à part entière (Fayer, 2004).

Enfin les techniques de biologie moléculaire dans les années 1990 ont permis une meilleure connaissance sur la taxonomie du genre *Cryptospridium* ainsi que l'identification des espèces (Xiao, 2010).

1.2. Taxonomie

Cryptospridium est un protozoaire de l'embranchement des Apicomplexa.

La classification historique apparente les cryptosporidies aux coccidies en raison de similitudes dans leur cycle biologique respectif. Cependant les données de la biologie moléculaire laissent penser que le genre Cryptospridium est apparenté aux Gregarinidia (Fayer, 2004).

1.3. Cycle évolutif

1.3.1. Caractéristiques

Toutes les espèces de Cryptospridium sont des parasites intracellulaires obligatoires (Fayer, 2004).

Le cycle du parasite est un cycle monoxène, ainsi toutes les étapes du développement interviennent chez un hôte unique (O'donoghue, 1995).

Le cycle se déroule dans les cellules épithéliales de l'intestin ou du tractus gastro-intestinal plus généralement, cependant des localisations erratiques sont possibles comme l'arbre respiratoire, la vésicule biliaire, le foie ou le pancréas (Fayer, 2004).

La période pré-patente, c'est-à-dire la durée s'écoulant entre le moment de l'ingestion des oocystes et leur excrétion, est comprise entre 3 et 5 jours mais elle peut durer de 2 à 14 jours (O'donoghue, 1995 ; Fayer, 2004).

La période patente, correspondant à la durée totale d'excrétion des oocystes, est comprise entre quelques jours et quelques mois. Cette grande variabilité est fonction de l'immunocompétence de l'hôte et de l'espèce de Cryptospridium incriminée (O'donoghue, 1995).

L'oocyste est le seul stade parasitaire retrouvé dans l'environnement. Après son ingestion par l'hôte, le cycle se déroule en différentes étapes illustrées et décrites par la Figure 1.

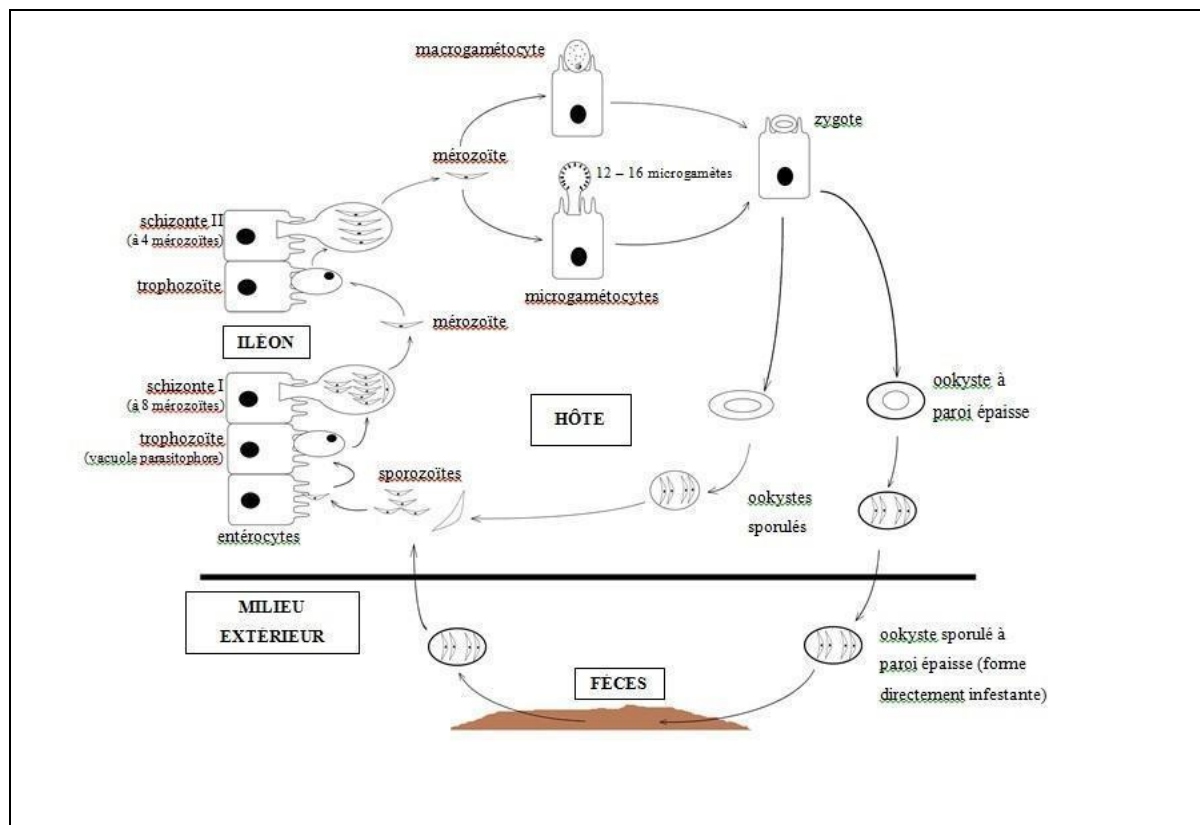


Figure 1 : Représentation schématique du cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. dans l'intestin grêle, montrant les étapes "intracellulaires" et extracellulaires connues (Marion Manent-manent 2014).

1.3.2. Déroulement du cycle

1.3.2.1. Excystation

L'oocyste à paroi épaisse est ingéré par l'hôte et subit une excystation dans l'iléon.

Sous l'effet des conditions du milieu (température, présence de dioxyde de carbone, enzymes, sels biliaires, conditions réductrices), la paroi de l'oocyste est altérée et se fend libérant ainsi 4 sporozoïtes nus.

Les sporozoïtes s'attachent alors à la membrane apicale de la cellule épithéliale de la bordure en brosse et forment un trophozoïte (Figure 2) en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui lui confère une position intracellulaire mais extracytoplasmique. Le trophozoïte ainsi formé possède des organelles d'attachement avec le cytoplasme de la cellule-hôte participant notamment à sa nutrition (O'donoghue, 1995 ; Chalmers et Davies, 2010).

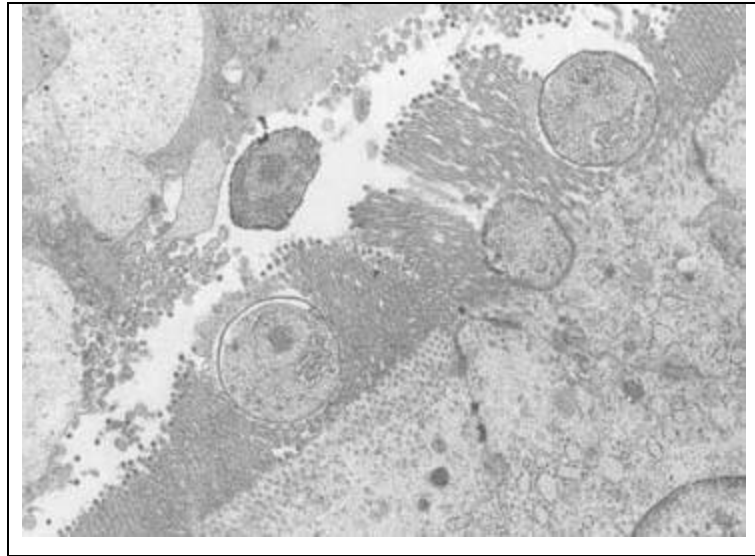


Figure 2 : Image au microscope électronique de trophozoïtes de *Cryptosporidium* localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc (Source : NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION (NARO)).

1.3.2.2. Mérogonie (anciennement dénommée schizogonie)

La première génération de reproduction asexuée transforme les trophozoïtes en mérontes ou schizontes de type I contenant chacun 6 ou 8 mérozoïtes arrangés parallèlement les uns aux autres (Figures 3 et 4). Une fois matures, les mérozoïtes sont libérés de la vacuole parasitophore et deux devenir sont alors possibles : soit les mérozoïtes envahissent les cellules épithéliales voisines formant ainsi des mérontes ou schizontes de type II contenant 4 mérozoïtes (2^{ème} génération de la reproduction asexuée), soit ils peuvent initier un cycle auto-infectieux reformant des mérontes de type I (O'donoghue, 1995 ; Chalmers et Davies, 2010). Cette rétro-infection permet d'allonger la période d'excrétion, d'augmenter le nombre d'oocystes excrétés mais également la pathogénicité et ce même si un petit nombre d'oocystes a été ingéré initialement.

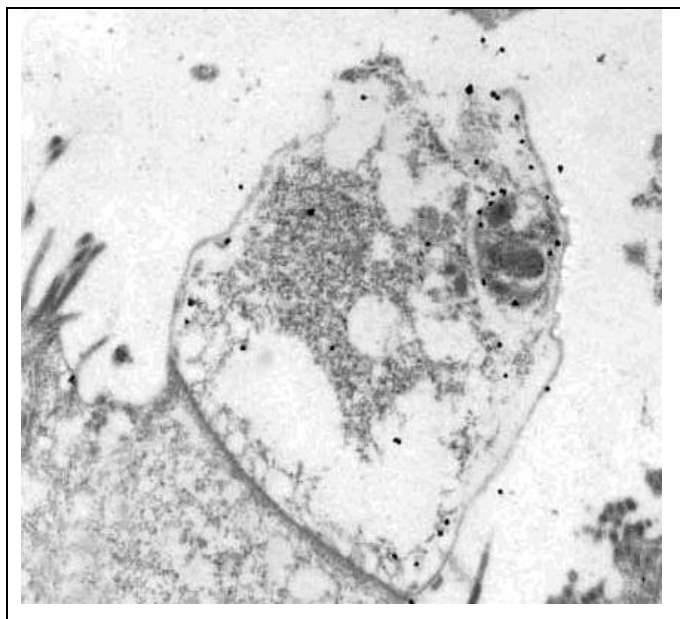


Figure 3 : Image au microscope électronique d'un trophozoïte en cours de mérogonie ou méronite immature (Source : KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY (KJP)).

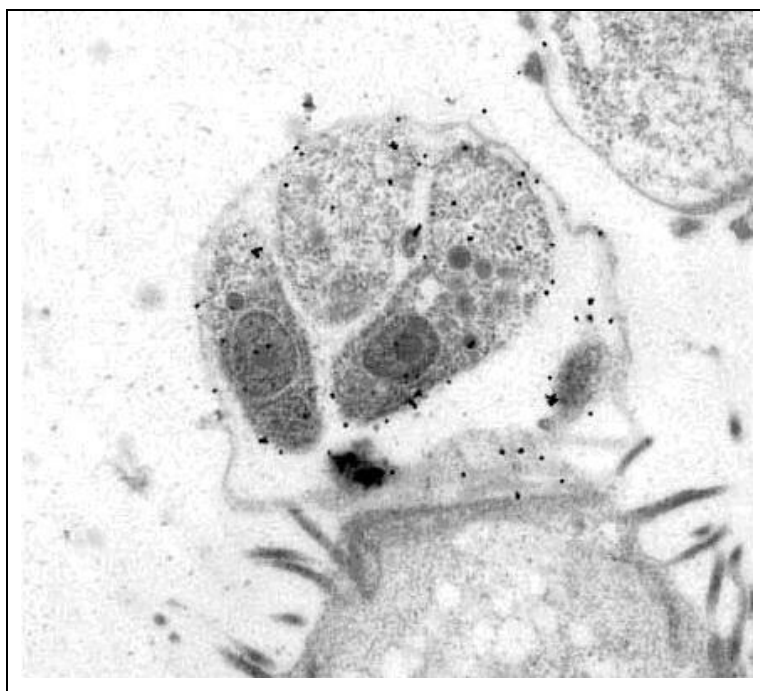


Figure 4 : Image au microscope électronique d'un méronite immature contenant des mérozoïtes (Source : KJP).

1.3.2.3. Gamétogonie

Les mérozoïtes de 2^{ème} génération vont ensuite initier le cycle sexuel du parasite. Ils sont libérés puis envahissent de nouvelles cellules épithéliales se différenciant en microgamontes mâles ou en macrogamontes femelles, illustrés sur les Figures 5 et 6.

Le microgamonte mâle produit jusqu'à 16 microgamètes qui, une fois à maturité, sont libérés dans la lumière de l'iléon. Ceux-ci s'attachent et pénètrent dans la vacuole parasitophore pour féconder le macrogamète et former un zygote (O'donoghue, 1995 ; Chalmers et Davies, 2010).

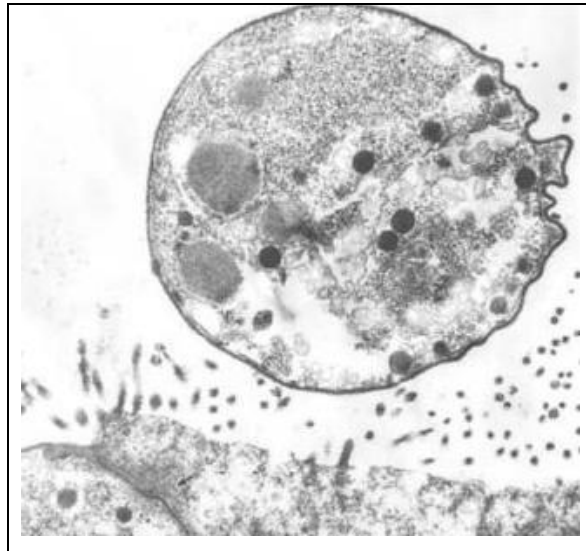


Figure 5 : Image au microscope électronique d'un macrogamonte (Source : NARO).



Figure 6 : Image au microscope électronique d'un microgamonte (Source : KJP).

1.3.2.4. Sporogonie ou sporulation

Une fois formé, le zygote subit une phase de sporulation (par méiose) aboutissant à la formation d'un oocyste sporulé et directement infectant contenant 4 sporozoïtes (Figure 7). Il existe 2 sortes d'oocystes en fonction de l'épaisseur de leur paroi : les oocystes à paroi épaisse excrétés dans les fèces et retrouvés dans l'environnement et les oocystes à paroi fine libérant les sporozoïtes dans la lumière intestinale à l'origine d'une réinfection de l'hôte. Les oocystes à paroi épaisse disséminés dans le milieu extérieur sont prêts à infecter un nouvel hôte (O'donoghue, 1995 ; Chalmers et Davies, 2010).

1.3.3. Particularités du cycle de *Cryptosporidium*

L'existence d'une auto-infestation à partir du recyclage des mérontes de type I et des oocystes à paroi fine serait à l'origine du caractère chronique de la maladie chez certains individus sans que ceux-ci ne soient en contact avec des oocystes d'origine exogène (O'donoghue, 1995 ; Chalmers et Davies, 2010 ; Chartier et Paraud, 2010).

Le cycle du parasite est court et permet une surinfection de l'hôte de même qu'une libération massive d'oocystes à paroi épaisse dans le milieu extérieur à l'origine d'une infection rapide de nouveaux hôtes.

1.3.4. Position dans la cellule-hôte

Le genre *Cryptosporidium* occupe une place tout à fait unique dans la cellule puisque le parasite est en position intracellulaire mais extra-cytoplasmique.

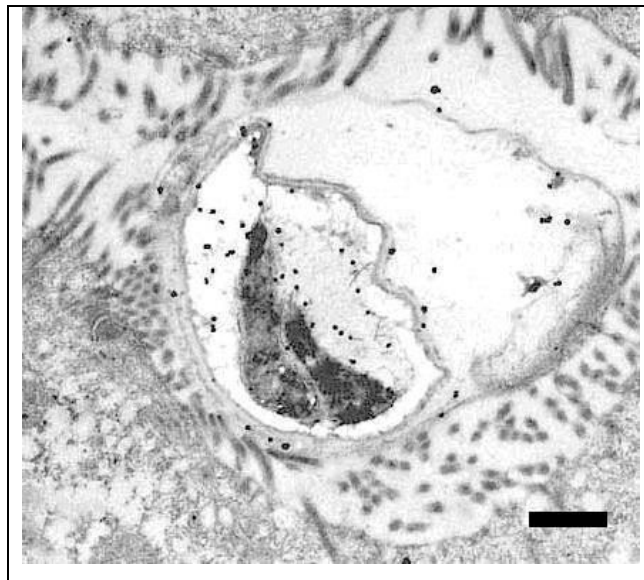


Figure 7 : Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoïtes matures (Source : KJP).

Lors du contact du parasite avec la cellule-hôte, des enzymes (notamment des rhoptries et des micronèmes) sont libérées entraînant l'englobement du parasite par des microvillosités de la membrane apicale de l'hôte et ainsi la formation de la membrane de la vacuole parasitophore.

Cependant *Cryptosporidium* n'est qu'en partie entouré de cette membrane et prélève une majorité de ses nutriments grâce à l'organe de nutrition. Celui-ci a une origine double puisqu'il dérive à la fois du parasite et de l'hôte.

L'organe de nutrition est situé à la base de chaque vacuole parasitophore, sa membrane basale est plissée permettant une augmentation de sa surface et donc des échanges entre la cellule- hôte et le parasite.

La localisation très protégée de *Cryptosporidium* au sein de la cellule-hôte peut expliquer les échecs de traitement contre le parasite. L'organe de nutrition pourrait notamment bloquer l'entrée de molécules dans le parasite protégeant celui-ci de l'action de molécules à activité intracellulaire (O'donoghue, 1995).

1.4. Propriétés de l'oocyste

Les oocystes à paroi épaisse sont les seuls stades de développement de *Cryptosporidium* retrouvés dans l'environnement et à l'origine de l'infection de nouveaux hôtes en raison notamment de leur grande résistance.

1.4.1. Structure

L'oocyste est de forme variable, ovoïde à elliptique, et mesure entre 4,5 et 7,9 μm de long pour 4,2 à 6,5 μm de large (O'donoghue, 1995).

La paroi de l'oocyste est constituée de 4 couches (Figure 8) :

- o La couche externe, le glycocalyx, est principalement composée de sucres. Cette structure apparaît dense aux électrons en microscopie électronique. Elle confère les caractères d'immunogénicité ainsi que d'attachement du parasite à la cellule-hôte. Les préparations pour l'étude microscopique des oocystes peuvent provoquer des altérations du glycocalyx ;

- o La deuxième couche, majoritairement composée de lipides complexes, laisse passer les électrons en microscopie électronique. Elle serait à l'origine de la faiblesse de la paroi de l'oocyste ;

- o La troisième couche est une fine couche apparaissant dense aux électrons. Elle abrite les principales protéines structurales de la paroi de l'oocyste, à l'origine de sa force et de sa flexibilité ;

- o La couche interne est composée d'hydrates de carbone et de polysaccharides de structure (Jenkins et al., 2010).

1.4.2. Résistance des oocystes

1.4.2.1. Mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes

La mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes est une étape primordiale visant à évaluer la résistance des oocystes en conditions naturelles ou expérimentales et ainsi valider ou non des études sur la désinfection.

1.4.2.1.1. Viabilité des oocystes

La viabilité des oocystes est la capacité d'un oocyste à libérer les 4 sporozoïtes qu'il contient. Elle peut être évaluée par la mise en évidence du dékystement des oocystes in vitro ou par différentes colorations vitales.

Le dékystement in vitro consiste à provoquer l'excystation de l'oocyste en reproduisant les conditions du milieu intestinal. Après un marquage par un anticorps monoclonal fluorescent et une observation au microscope à épifluorescence, le pourcentage d'oocystes dékystés peut être calculé. Il s'agit de la différence entre le nombre d'oocystes intacts dénombrés avant et après dékystement, divisée par le nombre d'oocystes comptés avant dékystement, multiplié par 100. La détermination du pourcentage d'oocystes dékystés est également possible par cytométrie en flux (Rapport AFSSA, 2002). Cependant la méthode de dékystement in vitro demeure peu précise puisque le dékystement peut ne pas se produire sur des oocystes qui se révèlent infectants in vivo (Fayer et al., 2000).

L'estimation de la viabilité du parasite peut également être obtenue par l'utilisation de colorants vitaux : le 4,6, diamidino-2'- phenylindole (DAPI) qui traverse les membranes et l'iodure de propidium (PI) qui a pour particularité de ne pas pénétrer les oocystes viables (Rapport AFSSA, 2002). Cette technique est bien corrélée avec la méthode de dékystement in vitro mais surestime la viabilité des oocystes par rapport à la technique d'infectiosité in vivo sur les souris (Fayer et al., 2000).

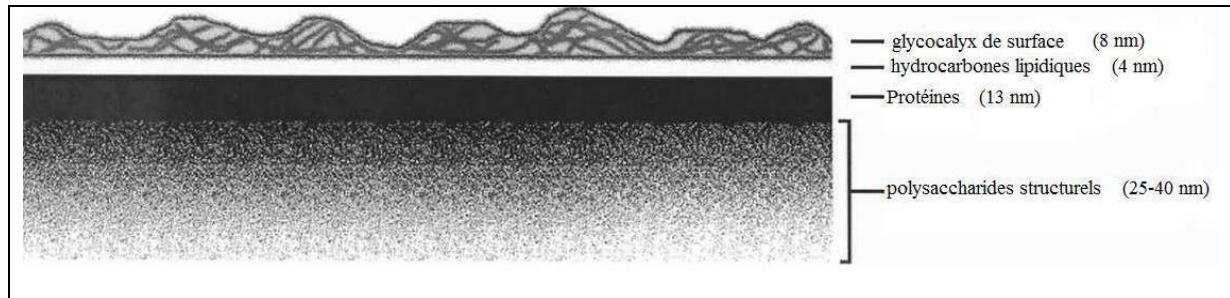


Figure 8 : Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de *C. parvum* (Source : JENKINS et al., 2010).

1.5. Espèces de cryptosporidies

1.5.1. La notion d'espèce

A ce jour, on dénombre 26 espèces de cryptosporidies infectant aussi bien les mammifères, les reptiles et les oiseaux que les amphibiens et les poissons. A celles-ci, s'ajoutent plus de 60 génotypes de *Cryptosporidium spp* recensés dans la littérature scientifique et en attente d'être reconnus comme des espèces à part entière par l'International Code for Zoological Nomenclature (ICZN) (Fayer, 2010 ; Elwin et al., 2012 ; Slapeta, 2012).

Bien qu'autrefois la reconnaissance des espèces était basée sur des critères morphologiques tant au niveau du parasite que de ses oocystes, aujourd'hui ils apparaissent insuffisants (Xiao et al., 2004 ; Fayer, 2010).

Pour être acceptées comme des espèces en tant que telles, celles-ci doivent satisfaire à plusieurs critères :

- Des critères morphologiques concernant la taille, la forme et la structure des différents stades de développement et notamment de l'oocyste ;
- Des critères biologiques : le site de prédilection de l'infection, la durée des périodes pré-patentes et patentes, l'intensité de l'excrétion des oocystes, le degré du pouvoir infectieux et des précisions (espèce, âge, statut immunitaire) sur les hôtes infectés naturellement et expérimentalement ;
- Des critères génétiques : des différences dans la séquence nucléotidique de gènes bien connus, codant pour de l'ARNr ou des protéines structurales et/ou fonctionnelles,

l'homogénéité des isolats issus d'une même espèce lors de l'analyse phylogénétique, l'absence de recombinaison entre deux espèces supposées différentes (Xiao et al., 2000 ; Fayer, 2010).

Des critères biochimiques peuvent également être retenus pour différencier les espèces mais ceux-ci requièrent des méthodes coûteuses et difficiles à mettre en place (Xiao et al., 2004).



**CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ
LES ANIMAUX**

CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES ANIMAUX

2.1. Espèces affectées

2.1.1. Ruminants

De nombreuses espèces de Ruminants, domestiques ou sauvages, peuvent être atteintes de cryptosporidiose. Ainsi la maladie a, par exemple, été décrite chez des cerfs, des oryx (*Oryx gazella dammah*, *Oryx gazella callotis*), des antilopes (*Antilope cervicapra*, *Addax nasomaculatus*) et des hippotragues noirs (*Hippotragus niger*) (Fayer et Ungar, 1986).

Les élevages bovins, ovins et caprins sont les plus touchés par la cryptosporidiose qui, en plus d'entraîner des pertes économiques importantes, pose également des problèmes de santé publique.

2.1.2. Autres Mammifères

Le genre *Cryptosporidium spp* est rencontré chez un grand nombre de Mammifères.

Parmi les différents ordres atteints par la cryptosporidiose, on peut par exemple citer les Rongeurs (rat, souris, cochon d'Inde, écureuil), les Lagomorphes (lapin), les Carnivores domestiques (chien, chat) et sauvages (*Procyon lotor*), les Equidés, les Porcins, et les Primates (*Macaca mulatta*, *Macaca radiata*, *Macaca fascicularis*) (Fayer et Ungar, 1986).

Il est également à noter que des espèces de *Cryptosporidium spp* ont été isolées chez de nombreuses espèces de mammifères maintenues en captivité et chez des mammifères marins (*Dugong dugong*, *Zalophus californianus*, *Pusa hispida*) (Appelbee et al., 2005).

2.1.3. Oiseaux et Reptiles

La cryptosporidiose a été mise en évidence chez plus de 30 espèces d'oiseaux différentes. La plupart des espèces atteintes appartiennent aux ordres suivants: les Ansériformes, les Charadriiformes, les Columbiformes, les Galliformes, les Psittaciformes et les Struthioniformes (O'donoghue, 1995).

La cryptosporidiose aviaire est une maladie de premier ordre en raison des pertes économiques qu'elle entraîne dans les élevages de poulets, dindes, cailles et faisans (Fayer et Ungar, 1986 ; O'donoghue, 1995).

Dans le groupe des Reptiles, l'infection a été répertoriée chez plus de 57 espèces différentes dont 40 espèces de serpents, 15 espèces de lézards et 2 espèces de tortues. Dans la plupart des cas, le genre *Cryptosporidium spp* a été mis en évidence chez des espèces en captivité mais l'infection a également été observée dans de rares cas chez des populations sauvages de Reptiles (O'donoghue, 1995).

2.2.Epidémiologie

2.2.1. Répartition géographique et prévalence de la cryptosporidiose

La cryptosporidiose animale est présente sur les six continents, aussi bien dans des zones tropicales que tempérées (O'donoghue, 1995).

La prévalence de la maladie représente le nombre d'animaux infectés par le genre *Cryptosporidium spp*, à un moment donné et dans une population donnée. Cependant, la plupart des études menées sur le sujet visent à déterminer la prévalence d'excrétion, c'est-à-dire le nombre d'animaux excréant des oocystes indépendamment de leur statut clinique à un moment donné.

La détermination de la prévalence d'excrétion chez les espèces domestiques a fait l'objet d'un grand nombre d'études.

Chez les bovins, des variations de la prévalence d'excrétion sont observées selon les différentes classes d'âge des animaux. Les études s'accordent sur le fait que la prévalence décroît avec l'âge (DE Graaf et al., 1999(a) ; Santin et al., 2008). Selon l'étude de Santin et al. (2008), elle est maximale chez les veaux non sevrés (45,8%) puis elle diminue chez les veaux sevrés (18,5%) et chez les génisses (2,2%). La prévalence d'excrétion est aussi fonction du type de race : elle est plus élevée pour les veaux allaitants que pour les veaux laitiers (Naciri et al., 1999).

2.2.2. Facteurs de risque

a. La saison

Plusieurs auteurs ont tenté de mettre en évidence le caractère saisonnier de la cryptosporidiose chez les Ruminants. Dans une étude au Canada sur des veaux allaitants, la prévalence de l'infection est plus élevée en hiver et au printemps, coïncidant ainsi avec la période des vêlages. En revanche, une autre étude, menée dans un élevage laitier aux Etats-Unis avec des vêlages tout au long de l'année, a montré que la prévalence est plus élevée pendant l'été (DE Graaf et al., 1999(a)). L'étude de Trotz-williams et al. (2007) au Canada dans un élevage laitier a mis en évidence que l'excrétion d'oocystes est plus élevée chez les veaux nés en été que chez ceux nés en hiver.

Cependant, l'effet saison observé pourrait être dû à un regroupement des animaux pendant ces périodes et donc à une contamination de l'environnement plus importante. Ainsi de manière générale, le pic d'incidence de la cryptosporidiose est observé lors du pic d'incidence des naissances (Paoletti, 2002).

b. La densité animale

Une forte densité animale facilite les contacts entre les individus et ainsi la transmission du parasite. Cette situation peut se retrouver dans des élevages avec une mauvaise conception des bâtiments, qui, associée à une hygiène défailante des locaux et à un renouvellement de l'air insuffisant, facilite la contamination des animaux (Paoletti, 2002).

C. La conduite d'élevage

La gestion de l'élevage dans son ensemble peut être à l'origine d'une augmentation de la prévalence de la cryptosporidiose.

De nombreuses études ont pu mettre en évidence différents facteurs de risque tels que la présence de nurseries dans l'élevage, le stress d'un sevrage trop précoce, les transports etc.

La mise en place d'une prophylaxie chez les mères contre les diarrhées néonatales est associée à une augmentation de la prévalence d'excrétion du parasite. Ceci pourrait être dû au fait que de telles prophylaxies sont souvent mises en place dans des élevages présentant une forte incidence de diarrhées chez les veaux, cependant ces mesures prophylactiques s'avèrent inefficaces contre les cas de cryptosporidiose (Trotz-williams et al., 2008).

Chez les animaux logés sur un sol en béton, la prévalence d'excrétion des oocystes est plus faible. En effet, ce type de sol facilite son nettoyage régulier par rapport aux sols de type sable, terre ou graviers. De la même manière, l'utilisation de savon ou de détergent pour le nettoyage des ustensiles ayant servis à nourrir les animaux est associée à une diminution du risque d'excrétion des oocystes (Trotz-williams et al., 2008).

En contradiction avec certains auteurs, l'étude de Trotz-williams et al. (2008) a montré que la prévalence de l'infection est plus importante dans les élevages où les animaux sont nourris avec un lactoreemplaceur, c'est-à-dire dans les élevages à fort effectif.

D. Le rôle de l'épandage du fumier

L'épandage de fumier ou de lisier dans le but d'enrichir ou de fertiliser les sols conduit à un recyclage des micro-organismes qui peuvent persister pendant de longues périodes aussi bien sur les végétaux que dans les couches supérieures du sol.

En ce qui concerne *Cryptosporidium*, la survie des oocystes après l'épandage peut être à l'origine de la contamination d'animaux qui pâturent sur ces terres ou qui consomment de l'ensilage d'herbe contaminée.

Les différentes méthodes de conservation de l'ensilage (aucun traitement, inoculation de *Lactobacillus plantarum* ou ajout d'acide formique) ne permettent pas une destruction totale du parasite. Ainsi pour un ensilage de ray-grass contaminé initialement par $5,9 \times 10^4$ oocystes de *Cryptosporidium parvum*, le nombre d'oocystes passe à environ 10^4 après 3 mois. Quel que soit le mode de conservation de l'ensilage, le taux de viabilité des oocystes à la fin de l'étude oscille autour de 30% : le pouvoir infectieux de l'ensilage n'est donc pas négligeable (Merry et al., 1997).

L'épandage du fumier entraînerait également la contamination des cours d'eau situés à proximité des exploitations agricoles, en raison des phénomènes de ruissellement (Paoletti, 2002).

3. Pathogénie

Chez les Ruminants, *Cryptosporidium parvum* affecte principalement la partie distale du jéjunum et l'iléon, cependant des lésions ont été retrouvées dans le cæcum, le côlon et, plus rarement le duodénum (DE Graaf et al., 1999(a) ; Paraud et Chartier, 2012).

L'invasion de la muqueuse entraîne une atrophie modérée à sévère des villosités associée à une réduction de la surface totale de la muqueuse intestinale. Celle-ci est due à une destruction d'entérocytes matures, à l'atrophie des microvillosités et à une augmentation de la perméabilité intestinale (Wyatt et al., 2010).

L'augmentation de la perméabilité intestinale (suite à l'augmentation des taux d'interféron gamma), la perturbation du transport des nutriments (suite à la détérioration des villosités) et la baisse des activités enzymatiques (inhibition de l'absorption du sodium, augmentation des sécrétions de Cl^- et HCO_3^- sous l'action de prostaglandines locales) sont responsables de la diarrhée et des pertes hydriques (Wyatt et al., 2010 ; Paraud et Chartier, 2012).

La cytotoxicité directe du parasite intervient peu dans son pouvoir pathogène ; 15 à 20% seulement des cellules infectées rentrent en apoptose. Des études ont montré que dans les stades précoces de l'infection le parasite rend les cellules-hôtes réfractaires à l'apoptose lui permettant ainsi de réaliser son cycle et de se propager. Pendant les stades plus tardifs, la tendance s'inverse, les gènes antiapoptotiques sont sous-exprimés tandis que les proapoptotiques sont surexprimés (Wyatt et al., 2010).

Une entérotoxine de type « choléra-like » est suspectée d'être impliquée dans le développement de la diarrhée sécrétoire mais son existence n'a pas été démontrée à ce jour (Thompson et al., 2008).

Chez l'animal atteint que l'on continue à nourrir normalement, les nutriments vont persister dans l'intestin en quantité plus importante que ce que les villosités endommagées peuvent absorber. De plus, la fermentation des nutriments en excès dans le côlon va permettre la

croissance exacerbée de bactéries et la production de composés délétères. Ceci est à l'origine d'un effet osmotique qui provoque un appel d'eau vers l'intestin donc de la diarrhée (Smith, 2008).

La présence d'autres agents pathogènes agissant en synergie avec *Cryptosporidium parvum* peut amplifier ou prolonger l'infection (O'donoghue, 1995).

Les effets de la diarrhée sont principalement dus aux pertes de fluides et d'électrolytes par l'animal. Dès lors que celui-ci ne parvient plus à compenser les pertes, les effets systémiques de la déshydratation et de l'acidose vont être visibles.

La perte de fluides, qui s'effectue essentiellement dans le compartiment vasculaire, peut conduire à un effondrement de la fonction cardiovasculaire.

La perte fécale de bicarbonates, la synthèse endogène d'acide L-lactique (en réponse à la déshydratation et à une mauvaise perfusion tissulaire) et la production d'acide D-lactique (par fermentation bactérienne de lait non ou mal digéré) entraînent une acidose. Celle-ci provoque une augmentation de la résistance vasculaire et altère la fonction cardiaque par des effets directs ou via l'inhibition de l'action des catécholamines. Chez les veaux acidotiques, une altération de la fonction œsophagienne est également observée : elle favorise le phénomène de « ruminal drinker » qui entraîne une acidose ruminale par production d'acide D-lactique dans le rumen (Smith, 2008).

L'animal malade présente ainsi de la dépression, une perte du réflexe de succion, une faiblesse ; si l'infection progresse un décubitus prolongé et un coma peuvent survenir. Les pertes de potassium liées à la diarrhée et la redistribution de celui-ci du compartiment cellulaire vers le compartiment extracellulaire (suite à l'acidose), associées ou non à une hypothermie, peuvent être à l'origine d'un arrêt cardiaque et donc de la mort de l'animal (Smith, 2008).

4. Diagnostic

4.1. Diagnostic épidémiologique et clinique

Les signes cliniques et les critères épidémiologiques permettent de suspecter mais pas de confirmer la cryptosporidiose.

Les critères de suspicion sont l'apparition d'une diarrhée chez des animaux âgés de 5 à 21 jours, dont la prévalence augmente à mesure que la saison des mises-bas avance, et résistante aux traitements habituellement utilisés. Dans les élevages de type mixte, la sévérité de l'infection apparaît plus élevée chez les chevreaux que chez les agneaux (Paraud et Chartier, 2012).

4.2. Diagnostic différentiel

Chez les Ruminants, le diagnostic différentiel comprend les affections regroupées dans le complexe des gastro-entérites néonatales :

- Des affections bactériennes : *E.coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter...*
- Des affections virales : rotavirus, coronavirus, virus du BVD/MD, *torovirus*, *astrovirus*, *calicivirus...*
- Des protozooses : *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Eimeria spp....*
- Des causes non infectieuses, alimentaires ou dues au stress.

Dans les autres espèces animales, le diagnostic différentiel se fait avec les causes de diarrhée (virus, bactéries, parasites).

4.3. Diagnostic de laboratoire

Les techniques de laboratoire permettent de mettre en évidence le parasite dans les fèces ou dans d'autres types de prélèvement supposés contaminés.

4.3.1. Microscopie conventionnelle

L'observation directe de l'échantillon au microscope est réalisable cependant les techniques de concentration et de coloration facilitent celle-ci. En effet, l'échantillon peut contenir un faible nombre d'oocystes, qu'il sera alors utile de concentrer, et la coloration permet de différencier les oocystes d'autres composants de l'échantillon (O'donoghue, 1995).

4.3.2. Méthodes de concentration

La concentration de l'échantillon est une étape préalable indispensable lorsqu'une faible concentration d'oocystes est présente.

La première étape consiste à suspendre les fèces par l'addition d'eau et à retirer les particules les plus grosses à l'aide d'un tamis ou d'une gaze. Une centrifugation de l'échantillon permet ensuite de séparer le surnageant contenant les particules les plus petites et légères (Wyatt et al., 2010).

Le culot contenant les oocystes de *Cryptosporidium* peut alors être soumis à différentes techniques : la centrifugation au gradient de Percoll[®], la flottation au chlorure de sodium saturé, la flottation au sucrose, la flottation au sulphate de magnésium ou de zinc mais également des filtrations à travers du polypropylène tissé ou des filtres en polycarbonate dans le cas des échantillons d'eau (O'donoghue, 1995 ; Wyatt et al., 2010).

Dans le cas de fèces avec un taux élevé de lipides, il est recommandé d'effectuer des étapes supplémentaires utilisant du formol-éthyl acétate ou du diéthyl éther (Wyatt et al., 2010).

Il semblerait que les méthodes les plus adaptées soient celles utilisant des solutions de densité élevée. Il est cependant recommandé d'examiner l'échantillon le plus rapidement possible après la préparation en raison des effets délétères de ces solutions sur les oocystes (O'donoghue, 1995).

4.3.3. Méthodes de coloration

Avant toute coloration, il est recommandé de fixer l'échantillon à l'aide d'un fixateur de type formol à 10% ou de SAF (Sodium Acetate – acetic acid – Formaldehyde) (O'donoghue, 1995). De nombreuses techniques de coloration sont disponibles.

CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES ANIMAUX

Les colorations au bleu de méthylène-safranine, Kinyoun, Ziehl-Neelsen et à la carbol-fuchsine-DMSO font apparaître les oocytes de *Cryptosporidium* en rouge tandis que le fond et les autres particules de l'échantillon ne sont pas colorés (Fayer et al., 2000).

Des fluorochromes, tels que l'auramine-rhodamine et l'auramine carbol-fuchsine, peuvent également être utilisés, ils sont très sensibles mais demeurent coûteux (Fayer et Ungar, 1986 ; O'donoghue, 1995).

Il existe également des colorations dites « négatives », comme le vert de malachite, la merbromine ou la nigrosine, qui colorent le fond, les bactéries et les levures mais pas les oocystes. Cependant ces techniques sont chronophages et nécessitent un manipulateur expérimenté (Fayer et al., 2000).

Dans de nombreux laboratoires, la technique de choix reste la coloration acidophile utilisant par exemple la fuchsine basique (O'donoghue, 1995).

La sensibilité, la spécificité ainsi que les résultats fournis par les techniques de coloration varient de façon très importance selon les laboratoires. A ce jour, la coloration « négative » au vert de malachite est la technique ayant obtenu les meilleurs résultats (Thompson et al., 2008).

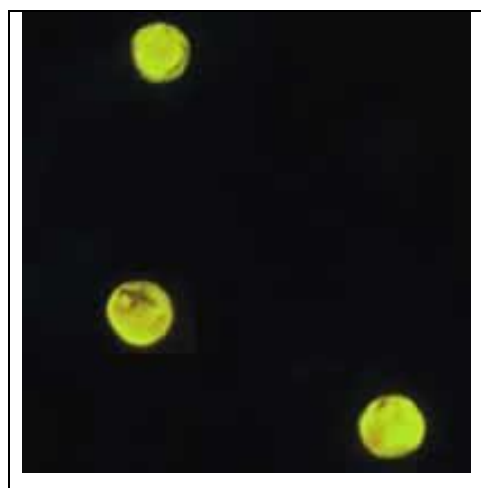


Figure 09: Coloration d'oocystes de *Cryptosporidium* à l'auramine-rhodamine (Source : CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC))

4.4. Méthodes d'immunomarquage

Les techniques d'immunomarquage permettent la mise en évidence des oocystes dans l'échantillon grâce à deux réactions immunologiques de type antigène-anticorps. En effet, un antigène de surface de l'oocyste est reconnu spécifiquement par un anticorps dit primaire, lui-même reconnu spécifiquement par un anticorps secondaire portant un marqueur. Ceci permet une amplification du signal mais également une détection du parasite présent en faible quantité.

Ces techniques incluent entre autres l'utilisation d'anticorps polyclonaux fluorescents, l'immunofluorescence basée sur des anticorps monoclonaux les ELISAs (Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assays), la RPH (Reverse Passive Haemagglutination), l'immunosérologie basée sur la détection par immunofluorescence ou ELISA, et l'immunochromatographie en phase solide (Fayer et al., 2000).

Le seuil de détection des oocystes par ELISA utilisant des anticorps monoclonaux est de 3×10^5 opg contre 1×10^6 lors de l'utilisation d'une coloration acidophile. Ce seuil passe à 1×10^3 opg dans le cas de l'immunofluorescence indirecte (Smith, 2008).

Ainsi ces tests sont intéressants pour mettre en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* présents en faible quantité parmi un nombre important de débris (O'donoghue, 1995).

Cependant, des réactions croisées sont possibles entre les anticorps et d'autres microorganismes révélant un manque de spécificité de ces méthodes (Fayer et al., 2000).

Des kits de diagnostic utilisant ces techniques sont aujourd'hui commercialisés dans de nombreux pays. Ils permettent une détection rapide et peu onéreuse des cryptosporidies à un seuil de 1×10^3 opg (O'donoghue, 1995 ; Smith, 2008). Par exemple, SPEED V-DIAR® des laboratoires BVT utilise le principe d'immunochromatographie sur bandelette, ce test est réalisable au chevet du malade et délivre un diagnostic dans les 15 minutes.

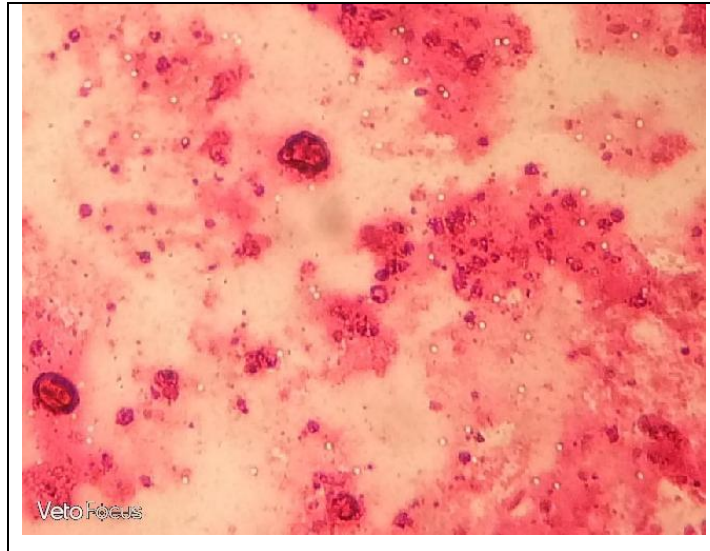


Figure 10 : Coloration d’oocystes de *Cryptosporidium* à la fuschine (Source : MEYUS sur le site internet VETOFOCUS).

4.5. Cytométrie de flux

La cytométrie de flux se définit comme l’étude précise de cellules isolées entrainées par un flux liquide. L’analyse de signaux optiques ou physiques émis par les particules coupant le faisceau lumineux d’un laser permet une caractérisation individuelle, qualitative et quantitative de celles-ci.

Dans le cas de la détection des oocystes de *Cryptosporidium*, le marquage de ceux-ci avec des anticorps fluorescents est effectué préalablement au passage dans le cytomètre de flux. La combinaison de ces deux méthodes permet la détection de faibles quantités d’oocystes, cependant les seuils de sensibilité et les taux de récupération des oocystes varient selon les études (Jex et al., 2008 ; Leconte, 2013).

Les techniques de cytométrie de flux et de tri cellulaire auraient une meilleure sensibilité que les techniques de microscopie conventionnelle (O’donoghue, 1995).

5. Traitement symptomatique et adjuvant

5.1. Chez l'animal

Un traitement de soutien peut être entrepris chez les animaux. S'il est fréquent chez les bovins, il est rarement mis en place chez les ovins et les caprins en raison de la faible valeur économique des animaux à l'âge où ils développent la maladie.

Préalablement à la mise en place de tout traitement, l'animal doit subir un examen clinique complet afin d'évaluer le degré de déshydratation, la présence ou l'absence d'acidose, d'une surinfection, d'une hypothermie, d'une hypoglycémie et d'une hyperkaliémie (Smith, 2008). Ainsi tout animal présentant de la diarrhée associée à des symptômes systémiques, de la fièvre, de la léthargie et de l'anorexie devrait être traité (Constable, 2009).

La fluidothérapie vise à corriger l'hypovolémie, les pertes électrolytiques mais également l'état d'acidose de l'animal. La détermination du volume de fluide à administrer doit tenir compte de l'état de déshydratation du veau, de la nature et du volume de la diarrhée, mais également du fait que seuls 60 à 80% des fluides administrés par voie orale sont absorbés par l'animal. L'équation habituellement utilisée pour calculer les besoins en fluides nécessaires à la correction des pertes dues à la diarrhée est donnée ci-dessous :

$$\text{Volume (L)} = \% \text{ de déshydratation} \times \text{Poids du veau (kg)}$$

Le pourcentage de déshydratation est déterminé par l'enfoncement des globes oculaires, la persistance du pli de peau au niveau de l'encolure et la sécheresse des muqueuses.

Après un dosage des gaz sanguins ou sur la base d'éléments cliniques, les besoins en bicarbonate peuvent être calculés à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Bicarbonate (mmol)} = \text{Poids du veau (kg)} \times \text{Déficit en base (mmol/L)} \times 0,5$$

L'administration des fluides peut être réalisée par voie orale si l'animal présente un réflexe de succion ou par voie parentérale s'il est léthargique ou déprimé. Dans le cas d'animaux hypothermiques, les fluides doivent être réchauffés avant leur administration afin d'éviter une diminution du débit cardiaque pouvant entraîner la mort de l'animal.

Une large variété de réhydratants pour une utilisation par voie orale ou intraveineuse existe sur le marché.

En ce qui concerne les veaux hypoglycémiques, une supplémentation en glucose peut être mise en place afin d'obtenir une concentration de 2,5 à 5% de glucose dans le fluide qui sera administré par voie parentérale.

De son côté, l'hyperkaliémie tend à se réguler avec la correction de la déshydratation de l'animal : restauration de la perfusion rénale, dilution et redistribution du potassium dans les cellules.

L'arrêt de l'allaitement est conseillé chez les veaux déprimés ou en l'absence de réflexe de succion ; après fluidothérapie, la réintroduction du lait se fait par petites quantités tout au long de la journée. En revanche chez les veaux en bon état général, l'allaitement peut être poursuivi puisqu'il permettrait dans ces cas-là de maintenir la prise de poids des animaux (Smith, 2008).

Un traitement antibiotique doit être mis en place en cas de coinfection avérée, le plus souvent due à *Escherichia coli*. Les animaux vont alors présenter des signes systémiques tels que de la léthargie, de l'anorexie et de la fièvre, en association avec la diarrhée. La voie parentérale est préférée à la voie orale, de même il est conseillé de choisir un antibiotique avec un spectre Gram négatif (Constable, 2009).

L'administration d'AINS (Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens) tels que le méloxicam ou la flunixin méglumine est recommandée chez les veaux présentant des signes systémiques. En effet, ces molécules possèdent des actions analgésiques, anti-inflammatoires, anti-sécrétoires et des effets sur la motilité intestinale intéressants lors de diarrhée (Constable, 2009).

Enfin l'utilisation d'absorbants (kaolin, pectine, charbon activé), de probiotiques ou de modificateurs de la motricité gastro-intestinale (N-butylbromide, atropine) est controversée (Smith, 2008 ; Constable, 2009).

5.2. Chez l'Homme

A ce jour, il n'existe aucune molécule complètement efficace contre la cryptosporidiose. Bien que la maladie soit auto-résolutive chez les sujets immunocompétents, elle peut évoluer vers

la chronicité et entraîner des signes cliniques graves chez les personnes ayant un système immunitaire défaillant.

5.2.1. Traitement symptomatique

Dans un premier temps, un traitement symptomatique peut être mis en place. Il vise notamment à corriger la déshydratation et les pertes en électrolytes à l'aide d'une fluidothérapie par voie intraveineuse et d'anti-diarrhéiques.

L'apport d'un support nutritionnel adéquat est parfois nécessaire chez les individus atteints de la forme fulgurante de la cryptosporidiose.

Enfin une antibiothérapie à base de paromomycine ou d'un macrolide est conseillée lorsque l'infection persiste chez les personnes immunocompétentes (O'donoghue, 1995 ; Griffiths, 1998).

5.2.2. Traitements antirétroviraux

Chez les patients séropositifs, la restauration de la fonction immunitaire par le biais d'antirétroviraux est d'une importance capitale car elle réduit la sévérité de l'infection et peut aboutir à une guérison tant sur les plans clinique que microbiologique et histologique (O'donoghue, 1995 ; Griffiths, 1998 ; Zardi et al., 2005 ; Abubakar et al., 2007).

Dans les années 1990, l'avènement des thérapies anti-rétrovirales hautement actives, également appelées HAART (Highly Active AntiRetroviral Therapy), a conduit à une diminution drastique de la prévalence et de la mortalité due à la cryptosporidiose dans cette population (Griffiths, 1998 ; Zardi et al., 2005). Néanmoins, dans les pays en voie de développement, les traitements antirétroviraux ne constituent pas une solution acceptable en raison de leur faible disponibilité et de leur coût (Abubakar et al., 2007).

Les résultats observés sur les patients semblent dus aux inhibiteurs des protéases du VIH qui bloquent la réplication du virus et permettent ainsi une augmentation des lymphocytes CD4+ (jusqu'à 200-300 cellules par mm³ après 2 à 4 années de traitement) et une restauration de la fonction immunitaire plus à même de lutter contre une infection parasitaire.

De plus, des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que ces molécules pourraient agir directement sur le cycle de *Cryptosporidium* en diminuant le nombre de parasites intracellulaires ainsi que leur excrétion.

Enfin, les inhibiteurs des protéases du VIH possèderaient un effet indirect sur la production d'interleukine-2 et d'interféron gamma, ce dernier étant considéré comme un inhibiteur majeur de l'infection par *Cryptosporidium parvum* (Zardi et al., 2005).

En raison du phénomène de malabsorption induit par la cryptosporidiose, il est conseillé d'administrer les antirétroviraux en privilégiant les formes les plus absorbables (voie intraveineuse par exemple), faute de quoi la concentration de ceux-ci sera trop faible dans l'organisme.

6. Mesures hygiéniques et prévention

6.1. Prévention de la contamination animale

Le contrôle de la cryptosporidiose passe par des mesures hygiéniques et préventives pour limiter la contamination des animaux. Ces recommandations sanitaires, identiques à celles mises en place pour lutter contre les autres agents de GENN, permettent de réduire la pression infectieuse du milieu mais pourraient également permettre le développement d'une réponse adéquate à un vaccin chez les animaux. Trotz-williams et al. (2008) ont montré que les facteurs significativement associés à une prévalence accrue d'excrétion d'oocystes de *C.parvum* étaient une prophylaxie contre les diarrhées néonatales chez les vaches et les veaux ainsi que l'alimentation à base d'un lactoremplacéur pendant la première semaine de vie. En revanche, un revêtement en béton dans les enclos des veaux et l'utilisation de savon ou de détergent pour nettoyer les systèmes d'alimentation avaient un effet protecteur.

En ce qui concerne la gestion du troupeau, la densité animale devrait être restreinte pour limiter au maximum les contacts entre les animaux. De même, la séparation des animaux selon les classes d'âge, la limitation des contacts entre le personnel de l'élevage et les jeunes et l'amélioration des performances de croissance (dans le but de regrouper les vêlages) permettent de diminuer les risques d'expansion de l'infection à tout le troupeau. L'introduction d'animaux issus d'un élevage au statut sanitaire inconnu doit être évitée (DE Graaf et al., 1999(a) ; Saini et al., 2000 ; Ramirez et al., 2004 ; Paraud et Chartier, 2012).

En raison des phénomènes de ruissellement, les bâtiments de l'élevage ne devraient pas être situés à proximité des cours d'eau. Les effluents doivent être stockés et traités, l'épandage limité pour éviter la contamination des eaux de surface. Enfin, les animaux à la pâture doivent avoir accès à un point d'eau artificiel plutôt qu'à un cours d'eau, contribuant ainsi à la préservation des bandes enherbées qui possèdent un rôle important dans la réduction de la pollution de l'eau et par extension de sa contamination par les oocystes de *C.parvum* (Ramirez et al., 2004).

La gestion des animaux malades passe en premier lieu par l'isolement de ceux-ci. Le personnel de l'élevage veillera à s'occuper des animaux en bonne santé avant de s'occuper des malades ; le port d'une tenue différente entre ces deux groupes d'animaux est recommandé ainsi qu'un nettoyage soigneux après les soins aux malades (Harp et Goff, 1998). Une attention particulière sera portée à la prise du colostrum chez les nouveau-nés et à la qualité de l'alimentation (Harp et Goff, 1998 ; Paraud et Chartier, 2012).

L'hygiène de l'élevage doit être maintenue à un niveau élevé notamment dans la maternité et dans les locaux des veaux. Une désinfection des bâtiments utilisant la chaleur humide ou des désinfectants chimiques avec une période de séchage est recommandée. Les équipements et plus particulièrement les systèmes d'alimentation doivent faire l'objet d'un nettoyage quotidien (Harp et Goff, 1998 ; DE Graaf et al., 1999(a) ; Wyatt et al., 2010 ; Paraud et Chartier, 2012).

6.2. Prévention de la contamination humaine

De la même manière que pour les animaux, la prévention de la contamination de l'environnement d'origine humaine repose sur le contrôle des effluents des stations d'épuration et l'épandage des boues produites ainsi que sur le choix des emplacements par rapport à la situation des captages d'eau pour l'alimentation humaine. De plus, les risques de surcharge de ces installations lors de forte pluviométrie ou de dysfonctionnement doivent être pris en compte (Rapport AFSSA, 2002).

Des mesures hygiéniques doivent être prises au niveau individuel en tenant compte des catégories le plus à risque d'être infectées par *C.parvum*. Pour les individus de la population générale, les recommandations sont les suivantes :

CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES ANIMAUX

- o Lavage des mains après un passage aux toilettes, un changement de couches, la manipulation d'animaux, les activités de jardinage, le nettoyage de matériel souillé et Lecontact direct avec une personne infectée ;
- o Lavage à l'eau du robinet de tout fruit ou légume susceptible d'avoir été souillé par de la terre ou de l'eau sale avant leur consommation ;
- o Eviter la consommation de coquillages crus provenant d'une zone de récolte non identifiée ou non autorisée, de lait cru ne comportant pas de garantie sanitaire et d'eau de surface à risque d'être souillée ;
- o Eviter tout contact avec de jeunes animaux (moins de 6 mois), et plus particulièrement s'ils sont diarrhéiques ;
- o Eviter les baignades dans les lacs et les rivières en dehors des zones prévues à cet effet ;
- o Le personnel travaillant dans la restauration ou dans les collectivités de personnes réceptives ne doit pas se rendre sur son lieu de travail jusqu'à 48h après le dernier épisode de diarrhée. Les personnes exerçant une profession à risque, comme le personnel hospitalier, de laboratoire, les éleveurs, les vétérinaires et le personnel des abattoirs, doivent, en plus des mesures précitées, porter des protections (gants, blouse, masque) lors de tout contact avec un sujet infecté (O'donoghue, 1995; Rapport AFSSA, 2002; Ramirez et al., 2004; Chalmers et Davies, 2010). Les individus infectés doivent être identifiés et isolés, l'accès aux espaces de baignade devrait être évité pendant deux semaines (O'donoghue, 1995; Chalmers et Davies, 2010). Chez les personnes immunodéprimées, des recommandations supplémentaires doivent s'appliquer :
- o Consommation exclusive d'eau embouteillée pour les personnes séropositives ayant moins de 100 lymphocytes T CD4 par mm³. De même, la consommation de glaçons préparés à partir d'eau du robinet doit être évitée. L'utilisation de l'eau du robinet est possible après l'avoir fait bouillir pendant une minute ; en revanche, l'efficacité des systèmes de filtration (de diamètre 1 µm) est controversée ;
- o Consommation des fruits et des légumes cuits ou épluchés, elle est à éviter pour les personnes très immunodéprimées ;
- o Ne pas consommer de jus de fruits non pasteurisés;
- o Eviter les pratiques sexuelles pouvant entraîner une contamination oro-fécale ;
- o A l'hôpital, les malades doivent être isolés afin d'éviter une transmission nosocomiale de

la maladie. La consommation d'eau issue de fontaines de distribution ou de glaçons est à proscrire (O'donoghue, 1995 ; Saini et al., 2000 ; Rapport AFSSA, 2002 ; Chalmers et Davies, 2010).

Il est à noter qu'une bonne qualité de l'eau de boisson réduit fortement les risques de cryptosporidiose dans la population. Cependant, dans les pays où son incidence est la plus forte, la qualité de celle-ci s'avère mauvaise en raison d'un défaut de traitement des eaux (Chalmers et Davies, 2010).

6.3. Désinfection des locaux

La survie des oocystes de *C.parvum* dans le milieu extérieur est approximativement de 3 mois à 15-20°C et peut atteindre plus d'un an à 4-6°C dès lors qu'ils ne sont exposés ni à des températures extrêmes ni à la dessiccation (Paraud et Chartier, 2012).

La plupart des désinfectants chimiques disponibles dans le commerce se sont montrés inefficaces lorsque les instructions du fabricant étaient suivies. Certains, lors d'une utilisation prolongée et à une forte concentration, permettent de détruire les oocystes mais un tel usage dans des espaces confinés n'est pas recommandé en pratique en raison des risques pour les opérateurs. Parmi eux, les désinfectants suivants s'avèrent efficaces : eau de Javel à 70%, formaldéhyde à 10%, ammoniacale de 5 à 50%, peroxyde d'hydrogène à 3%, oxyde d'éthylène, méthyl bromide et ozone (O'donoghue, 1995 ; Saini et al., 2000 ; Fayer, 2004 ; Paraud et Chartier, 2012).

Des études ont été conduites afin d'évaluer l'efficacité de certains désinfectants chimiques *in vitro* et *in vivo*.

Le Neopredisan® est un désinfectant à base de chlorocrésol dont l'activité contre *C.parvum* a été démontrée *in vitro*. (Keidel et Dausgies, 2013) ont mené une étude sur des veaux pour étudier l'efficacité de ce désinfectant associé à un traitement à base de lactate d'halofuginone (120 µg/kg/j pendant 7 jours). Alors que la désinfection seule à base de Neopredisan® à 3% n'a eu aucun effet sur l'excrétion d'oocystes et la diarrhée, le traitement des veaux de manière prophylactique a entraîné une réduction de l'excrétion ainsi que de la diarrhée de manière significative. L'association du traitement et de la désinfection a permis un contrôle total de la cryptosporidiose pendant les deux premières semaines de vie des animaux.

Cependant, dès la troisième semaine, l'intensité et la prévalence de l'excrétion des oocystes et de la diarrhée étaient supérieures à celles observées chez les veaux des autres groupes. Cette protection optimale pendant les deux semaines suivant la naissance prolongerait la susceptibilité des animaux à l'infection en raison d'une stimulation insuffisante de leur système immunitaire. Ainsi, l'activité du désinfectant n'apparaît pas satisfaisante pour réduire le nombre d'oocystes à un niveau suffisant pour prévenir l'infection des veaux par *C.parvum*.

Le KENOTMCOX est une formulation à base d'amine possédant un large spectre d'action. L'étude de (Naciri et al.2011) rapporte que son utilisation à des concentrations de 2% et 3% in vitro permet une réduction de la viabilité et une lyse des oocystes de 89% et 91% respectivement. Chez des souriceaux, le traitement des oocystes par le KENOTMCOX induisait une diminution de la charge parasitaire intestinale de l'ordre de 97,5%. Ces résultats montrent que, combinée à des techniques de nettoyage adéquates, son utilisation aide à réduire la charge infectieuse de *C.parvum* dans les élevages.

La décontamination des locaux par chaleur humide ou par fumigation (gaz de formaldéhyde ou d'ammoniac) est également recommandée (O'donoghue, 1995).

6.4. Traitement de l'eau

Le captage de l'eau pour la consommation humaine s'effectue dans des eaux de surface, telles que les rivières ou les lacs, ou dans les nappes souterraines. Le choix des traitements à appliquer à cette eau « brute » pour la rendre potable dépend de la contamination de la ressource : pour les eaux souterraines, considérées comme saines, une simple désinfection est utilisée ; en revanche, pour les eaux de surface fréquemment contaminées par les activités humaines et agricoles, les procédés de filtration et de désinfection sont nécessaires à minima.

Bien que la législation française ne fournisse aucune limite de qualité spécifique relative aux parasites, la fréquence des contrôles peut être augmentée lorsque la présence du parasite dans l'eau est avérée. Seul le Royaume-Uni a établi un seuil pour la présence de *Cryptosporidium* dans les eaux de boisson, il ne doit pas dépasser 1 oocyste pour 10 litres d'eau.

CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES ANIMAUX

Deux types de traitement sont employés en ce qui concerne *Cryptosporidium*: les techniques de rétention des oocystes et les procédés possédant des effets biocides.

Les procédés de rétention des oocystes incluent :

o Les traitements membranaires qui regroupent les techniques de filtration : la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse qui permettent de retenir respectivement des molécules de 0,1-5 μm , 0,01 μm -0,1 μm et $>0,01 \mu\text{m}$;

o Les procédés de clarification qui comprennent la coagulation, la floculation, la séparation et la filtration rapide habituellement utilisées : le passage à travers des grilles permet l'élimination des particules les plus volumineuses, l'eau passe ensuite dans un bassin de décantation puis est filtrée (sur du sable par exemple) pour éliminer les particules les plus fines. Cette étape est facilitée par l'ajout d'un coagulant qui va permettre à ces particules de s'agglomérer et de former des éléments floculants (ou « floccs »). Ils peuvent cependant être remplacés par des procédés biologiques ou mixtes: filtration en surface et biocoagulation en profondeur (Rapport AFSSA, 2002 ; Betancourt et Rose, 2004).

Les procédés ayant des effets biocides sont de deux types :

o Les traitements chimiques : les oocystes de *Cryptosporidium* sont résistants aux désinfectants utilisés de manière conventionnelle dans le traitement de l'eau. Ainsi, le chlore, aux concentrations usuelles, présente peu ou pas d'effet sur la viabilité des oocystes. L'utilisation de l'ozone est controversée même s'il semblerait qu'elle donne de bons résultats lors d'association avec la monochloramine (O'donoghue, 1995 ; Rapport AFSSA, 2002 ; Betancourt et Rose, 2004 ; Fayer, 2004) ;

o Les traitements physiques : les radiations par les ultraviolets s'avèrent efficaces pour inactiver les oocystes de *C.parvum*. Dans la pratique, une dose de 25 à 40 mJ.cm^{-2} permet d'obtenir une diminution de 2 à 3 logs (O'donoghue, 1995 ; Rapport AFSSA, 2002 ; Fayer, 2004). Gómez-couso et al. (2012) rapportent que l'utilisation de réacteurs solaires statiques de 2,5 litres remplis de CPCs (Concentrateurs Paraboliques Composés) améliore significativement l'efficacité des techniques de désinfection solaire en réduisant le temps d'exposition aux radiations solaires et en diminuant les effets négatifs de la turbidité. Cette

technologie représente une alternative intéressante pour améliorer la qualité de l'eau de boisson dans les pays en voie de développement.

4.5. Traitement des aliments

La contamination des aliments par *Cryptosporidium* peut avoir lieu à l'occasion d'une mauvaise manipulation (à l'abattoir par exemple, où le contenu des intestins peut se retrouver accidentellement en contact avec le muscle), par de l'eau contaminée entrant dans la chaîne de fabrication, par contamination des surfaces, par contamination des mains des opérateurs ou par une infestation de nuisibles.

Bien qu'il soit incapable de se multiplier dans l'environnement ou les aliments, le parasite peut être largement disséminé en raison de sa résistance aux procédés de désinfection conventionnels.

La présence et le contrôle de la présence d'oocystes de *C.parvum* font l'objet de procédures HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) dépendant du type d'aliment produit et de la chaîne de fabrication (Saini et al., 2000 ; Millar et al., 2002).

Les traitements des aliments autorisés pour la maîtrise du risque concernent essentiellement la température : traitement par la chaleur, congélation et dessiccation. Ainsi, par exemple, la pasteurisation du lait à 71,1°C pendant 15 secondes permet l'élimination des oocystes de *C.parvum* (Saini et al., 2000 ; Rapport AFSSA, 2002).

En revanche, l'emploi d'agents chimiques contre *Cryptosporidium* dans l'industrie agroalimentaire doit faire l'objet d'une homologation au cas par cas (Rapport AFSSA, 2002).

Le traitement des différents supports du parasite ainsi que les mesures hygiéniques préconisées permettent de réduire efficacement les risques de contamination des animaux et des hommes.

Parfois les traitements provoquent une absence d'efficacité voire une résistance de l'individu aux molécules (Griffiths, 1998).

En ce qui concerne les autres catégories de personnes immunodéprimées, tout facteur immunodépresseur, comme les traitements immunosuppresseurs et l'alcool par exemple, sont

à proscrire lors de cryptosporidiose. Des cas de guérison ont été rapportés chez des patients atteints de cancer à l'arrêt du traitement immunosuppresseur (O'donoghue, 1995 ; Griffiths, 1998).



CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

Materiel et Méthodes

Cette étude a été conduite sur la présence des *Cryptosporidium* sur le cheptel bovin laitier, dans la région de Laghouat.

Nous avons choisi ce thème en raison de l'importance que jouent les cryptosporidium spp dans les diarrhées néonatales chez les veaux car elle peut être responsable d'un taux de mortalité important des jeunes bovins et un retard de croissance considérable, et peut entraîner des dégâts économiques catastrophiques.

Notre étude a été menée dans 04 exploitations. Ce sont des élevages professionnels ; les éleveurs ont eu la gentillesse de nous donner toutes les informations dont nous avons besoin.

Après la collecte des données, nous avons commencé notre analyse statistique afin de répondre aux questions suivantes:

Quelle est la prévalence des *Cryptosporidium* dans la région de Laghouat ?

Est-ce que les différents facteurs comme, la race, l'âge, le type d'élevage, Mode d'allaitement hygiène ...etc. ont une influence sur *Cryptosporidium* ?

Quelles sont les recommandations que nous pouvons donner afin de contrôler et prévenir les *Cryptosporidium* ?

Objectifs

L'objectif de notre étude est de connaître la prévalence des *Cryptosporidium* dans la région de Laghouat, et l'influence des différents paramètres (âge, race, type d'élevage, mode d'allaitement ...etc.) sur la prévalence de ce parasite.

Pour cela, nous avons effectué une collecte de prélèvement des matières fécales. Après, on a commencé par la recherche des oocystes de cryptosporidum et par la suite une analyse statistique.

III.1. Période l'étude

La partie expérimentale de cette étude a été réalisée durant la période s'étalant du mois de Avril 2021 au mois de juin 2021.

III.2 Climat de la région d'étude

Découlant du relief, le climat est de type continental au Nord-Ouest avec une pluviométrie variant de 300 à 400 mm, des chutes de neige et des gelées blanches.

Dans la région des Hauts Plateaux, le climat est de type saharien et aride. La pluviométrie varie entre 150 mm au Centre et 50 mm au Sud. Les hivers sont caractérisés par des gelées blanches et les étés par une forte chaleur accompagnée de vents de sable.

III.3 Population d'étude

Notre population d'étude est faite sur le bovin laitier moderne dans la région de laghouat , le nombre total de bovin de vaches améliorées est de 2000 vaches dans la wilayas (source DSA 2021).

Notre étude a été effectuée sur 4 élevages sur un total de 431 bovins. Le détail de la population d'étude de chaque région se trouve dans le (Tableau n°1).

Tableau n° 1 : Représentation des différentes exploitations.

Caractéristiques		Exploitation A	Exploitation B	Exploitation C	Exploitation D	Total
Sexe	Femelle	131	80	92	72	375
	Male	14	15	15	12	56
Race	Montbéliard	00	95	107	84	286
	Holstein	145	00	00	00	145

Age	Inf a 2 mois	12	09	11	18	50
	2mois-4mois	10	22	13	07	52
	5mois-1an	11	06	09	00	26
	Adulte	112	58	74	59	303

III.4 Échantillonnage

a. La taille de l'échantillon

Notre étude a été portée sur 04 différentes exploitations comprenant des tranches d'âge allant de deux jours à 2 ans appartenant à des éleveurs privés n'ayant pas fait l'objet d'une étude antérieure c'est-à-dire les animaux appartenant à ces élevages n'ont pas été prélevés pour analyse parasitaire. Les fermes sont situées dans les wilayas de Laghouat.

b. Signalement des animaux

Après contention de l'animal, nous avons effectué un examen général afin de déterminer :

- Le sexe ;
- L'âge à partir de l'examen de la dentition ;
- La race.

Une fiche de renseignement a été remplie à la visite de chaque ferme contenant quelques informations relatives aux élevages visités et aux animaux prélevés (annexe 1).

C. Prélèvement

Les prélèvements des matières fécales sont récupérés par stimulation de l'orifice anal de chaque animal (main munie de gants en latex). En effet, environ 5 g de matières fécales sont placés dans des flacons propres bien fermés. Les flacons ont été étiquetés avec un numéro d'identification et accompagnés d'un formulaire indiquant la date de prélèvement, la ferme d'origine, le sexe, l'âge et la race de l'animal (voir annexe n°1). Les informations concernant le logement des animaux, la gestion et le type d'alimentation ont également été recueillies et soigneusement notées. Les échantillons ont été expédiés au laboratoire de parasitologie de l'université de Laghouat, dans une glacière et traités dans les 12 heures suivant le prélèvement par une analyse coproscopique (Figure 11 et 12).



Figure 11 : Prélèvement des matières fécale.



Figure 12 : Mettre les matières fécales dans des récipients.

Analyse des matières fécales

Au laboratoire les étapes suivantes ont été réalisées :

A. Examen macroscopique des selles

Une observation à l'œil nu de fèces a été faite en notant notamment :

- La couleur ;
- L'aspect des selles ;
- L'observation des différentes formes de parasites (œuf, larves, vers....ect).

B. Examen microscopique des selles

Pour rechercher les oocystes de *Cryptosporidium spp*, un frottis a été préparé pour chaque prélèvement. Ensuite, le frottis a été coloré par la technique de **coloration de Ziehl-Neelsen** modifiée par Henriksen et Pohlenz(1981). Cette technique d'identification des cryptosporidies a été proposée et utilisée par plusieurs auteurs (Baillargeon, 2004 , Allalou & Yacoub,2015).

Cette technique a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Etaler le plus finement possible une goutte de fèces sur une lame. (Figure 13).
- Fixer à l'éthanol à 95% pendant 5 minutes. (Figure 14).
- Flamber la lame.

Materiel et Méthodes

- Recouvrir la lame encore chaude à la fuchsine de Ziehl et laisser agir 5 minutes (Figure 15).
- Rincer à l'eau du robinet jusqu'à élimination de la fuschine excédentaire.
- Asperger avec une ou deux giclées d'HCl 3% dans de l'éthanol à 95% en rinçant à chaque fois à l'eau.
- Rincer à l'eau.
- Tremper dans du Vert Malachite à 0,25% ou du Bleu de Méthylène pendant 30 secondes (Figure 16).
- Sécher.
- Observer au microscope à immersion (objectif x40 ou x100), sans recouvrir d'une lamelle (Figure 17).

Les ookystes sont colorés en rouge ou en rose sur fond vert ou bleu.

La technique de Ziehl-neelsen modifié a été utilisé pour la recherche des oocystes le diagnostic est dit positif (+) quand un des oocyste ainsi que ses constituants internes sont visualisés (corps résiduel, 4 sporozoites de 5,2 μ m de longueur en moyenne sur 4,6 μ m de largeur en moyenne). Il est dit négatif quand aucun oocyste n'est visualisé après observation microscopique devant l'absence de méthode d'estimation quantitative de la présence de cryptosporidies notre resultat est purement qualitatif (+ou -) (négligence de la intesnsité de l'infection).

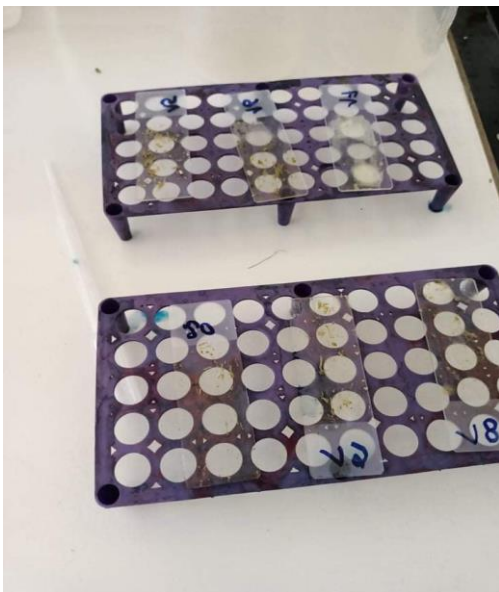


Figure 13 : Etalement de la goutte sur la lame.



Figure 14: Fixation a l'éthanol.



Figure 15 : Recouvrement par la fuschine.

Figure 16 : Coloration avec le vert de malachite.



Figure 17 : Observation au microscope

III.5 Calcul de la prévalence totale

C'est le rapport en pourcentage **P(%)** du nombre d'hotes infestés par une espèce donnée de parasite **HP** sur le nombre total d'hotes examinés **HE** (Margolis et al.,1982).

$$P(\%)=HP/HE \times 100.$$

III.6 Traitement statistique des données

Les résultats enregistrés ont été regroupés dans un fichier excel pour la réalisation des graphes et le calcul des prévalences.

L'effet des facteurs de variation a été analysé a l'aide du logiciel SPSS en utilisant le test Khi-deux .



Résultat

Résultat

IV. *Cryptosporidium spp* observé chez les animaux étudiés

Les oocystes colorés en rouge vif ou rose sur un fond vert ou bleu . Ils apparaissent en forme circulaire (Figure 18).

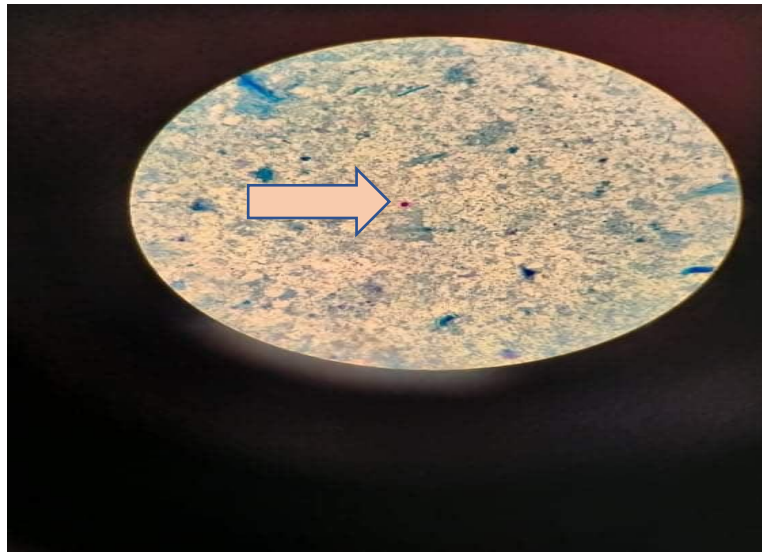


Figure 18 : Oocystes de *Cryptosporidium spp*. Observés sous microscope optique : Gx1000, huile a immersion (Coloration de Ziehl-Neelsen modifié) (Photo personnelle 2021).

V.1 Prévalence générale de *Cryptosporidium spp*

Sur les 431 bovins prélevés, 245 cas positifs et 186 négatifs, soit un taux de prévalence globale de cryptosporidium de 56,80 % (figure 19).

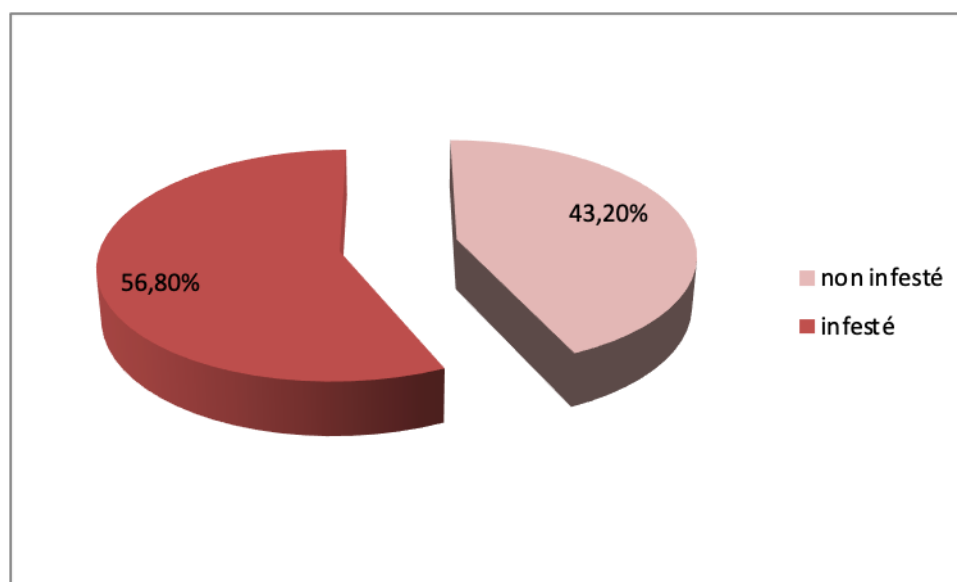


Figure 19 : La prévalence générale de *Cryptosporidium spp* chez les bovins étudiés.

Résultat

V.2 Etude de l'influence de certains paramètres sur le taux d'infestation par *Cryptosporidium spp*

A. Influence de l'âge

Le taux du parasitisme en fonction de l'âge, illustré sur la figure 20, montre que le taux d'infestation des animaux est inversement proportionnel avec l'âge : les animaux dont l'âge est inférieur à 02 mois sont les plus infectés, leur prévalence est estimée à 74% alors que ceux de 2mois a 4mois elle est de 65% , ceux de 5mois à 1 an ont un taux de prévalence de 58% et finalement les adultes ont un taux de 53% . Sur le plan statistique, l'écart est significatif ($P=0,019$) ($p<0,05$).

Tableau n°2 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon l'âge.

Nombre / Age	Inf a 2 mois	2mois-4mois	5 mois- 1 an	Adulte
Nombre prélevé	50	52	26	303
Nombre positif	37	34	15	159
Prévalence des cryptosporidium	74%	65%	58%	53%

Résultat

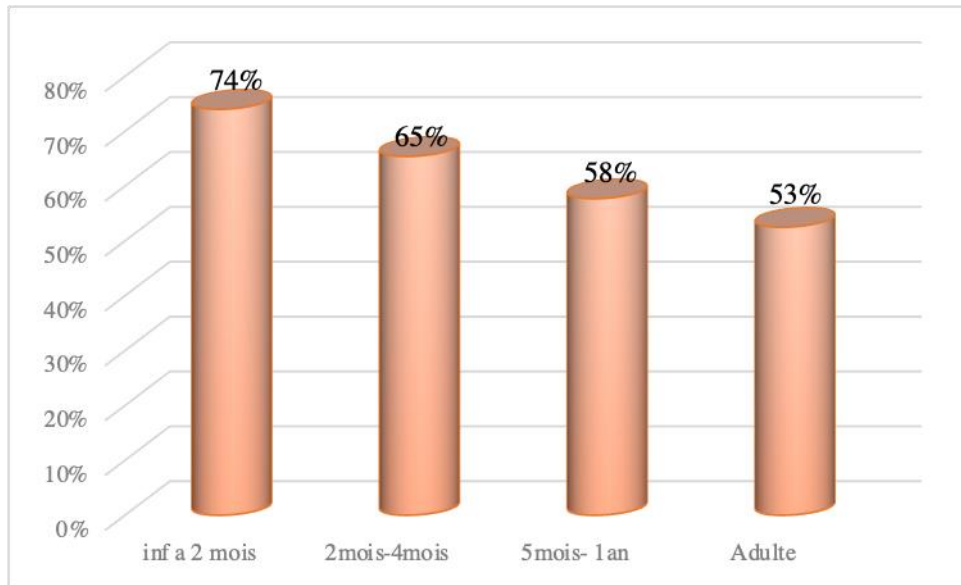


Figure 20 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon l'âge.

B. Influence du sexe

Le taux de parasitisme chez les femelles est de 56% alors que chez les males est de 62,5% (Figure 21). Cependant, l'analyse statistique a révélé que l'écart n'était pas significatif ($P=0,360$) ($P>0,05$).

Tableau n°3 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon le sexe.

Effectif / Sexe	Femelle	Male
Nombre négatif	165	21
Nombre positif	210	35
Prévalence des cryptosporidium	56%	62,5%

Résultat

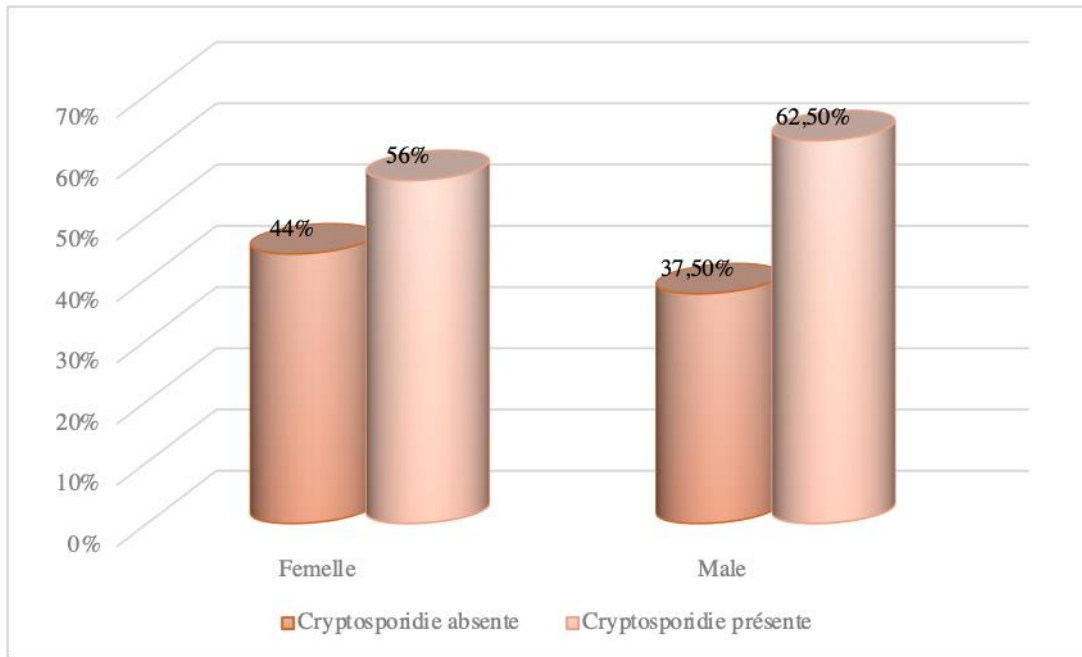


Figure 21 : Représentation graphique du taux de parasitisme chez les deux sexes.

C. Influence de la race

Le taux du parasitisme en fonction de la race illustré dans la figure 22, montre que le taux d'infestation chez les bovins de la race montbéliarde est de 62,9%. Ce taux est supérieur à celui de la race Holstein (37,1%). Cependant, l'analyse statistique n'a pas révélé une différence significative sur le plan statistique ($P=0,78$) ($p>0,05$).

Tableau n°4 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon la race.

Effectif / Race	Mont belliarde	Holstein	Totale
Nombre d'échantillons négatifs	132	54	186
Nombre d'échantillons positifs	154	91	245
Prévalence des cryptosporidium	62,8%	37,1%	100%

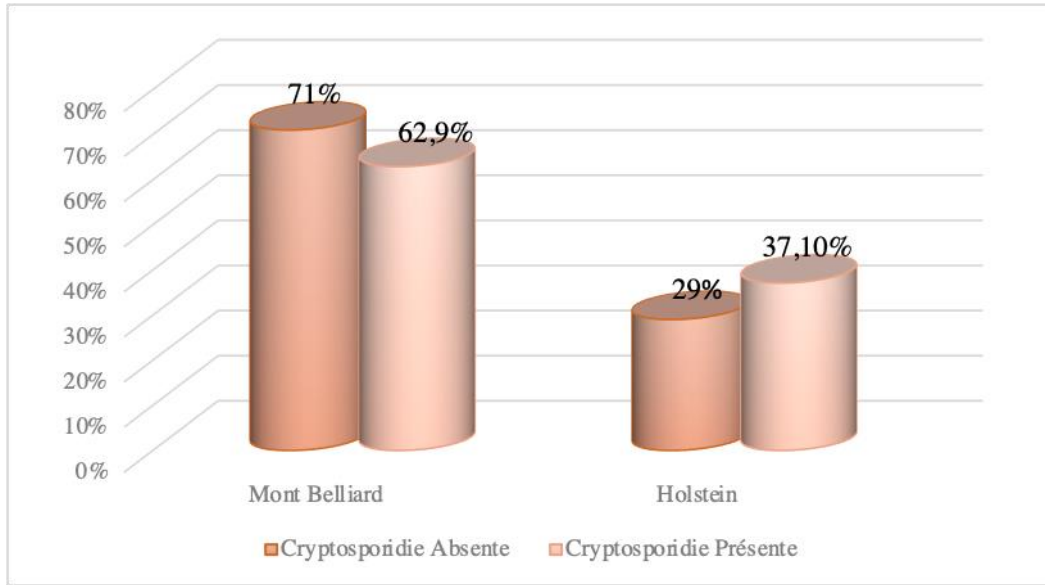


Figure 22 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon la race.

D. Influence du mode de stabulation

Le taux du parasitisme en fonction du mode de stabulation, illustré sur la figure 23, montre que le taux d'infestation chez les animaux élevés en box est de (65,6%) et quand les animaux sont tous ensemble ce taux s'élève à (68,7%). Cependant, l'analyse statistique a révélé un écart non significatif ($P=0,137$) ($P<0,05$).

Tableau n°5 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon le mode de stabulation.

Effectif / Mode de stabulation	Par box inf a 2 mois	Assemble tout les ages
Nombre d'échantillons négatifs	21	21
Nombre d'échantillons positifs	40	46
Prévalence des cryptosporidium	65,6%	68,7%

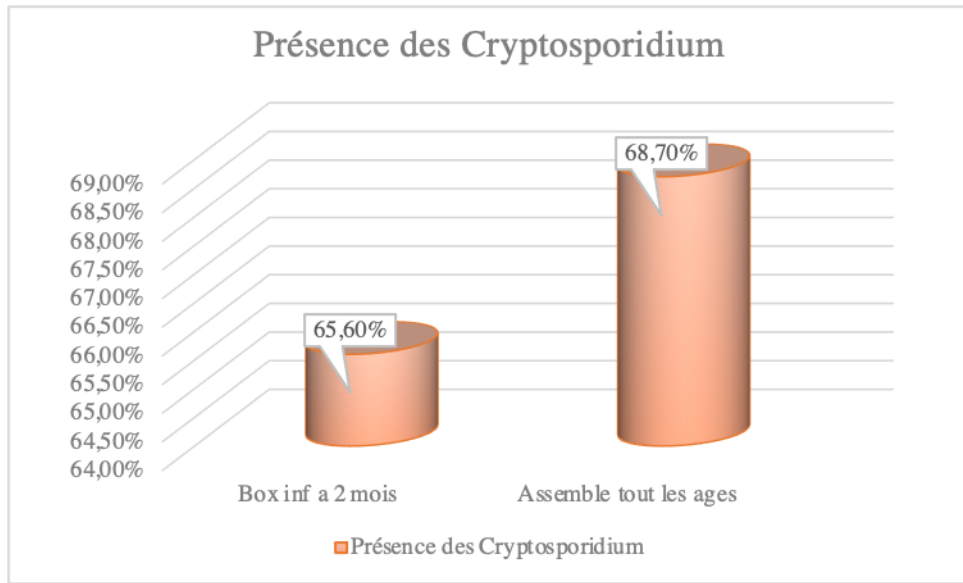


Figure 23:représentation graphique du taux de parasitisme selon le mode de stabulation

E. Influence du mode d'allaitement

Le taux du parasitisme en fonction du mode d'allaitement, illustré sur la figure 24 montre que le taux d'infestation chez les veaux allaités directement par une vache allaitante est de (64,5%) et par Bibron est de (76,2%). Cependant, chez les animaux sevrés, ce taux est de (52,9%). Dans ce sens, l'analyse a révélé que l'écart n'était pas significatif d'une valeur ($P=0,062$) ($p>0,05$).

Tableau n°6 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon le mode d'allaitement.

Effectif / Mode	Une vache allaitante	Par bibron	Sevrer
Nombre d'échantillons négatifs	11	15	16
Nombre d'échantillons positifs	20	48	18

Résultat

Prévalence des cryptosporidium	64,5%	76,2%	52,9%
--------------------------------	-------	-------	-------

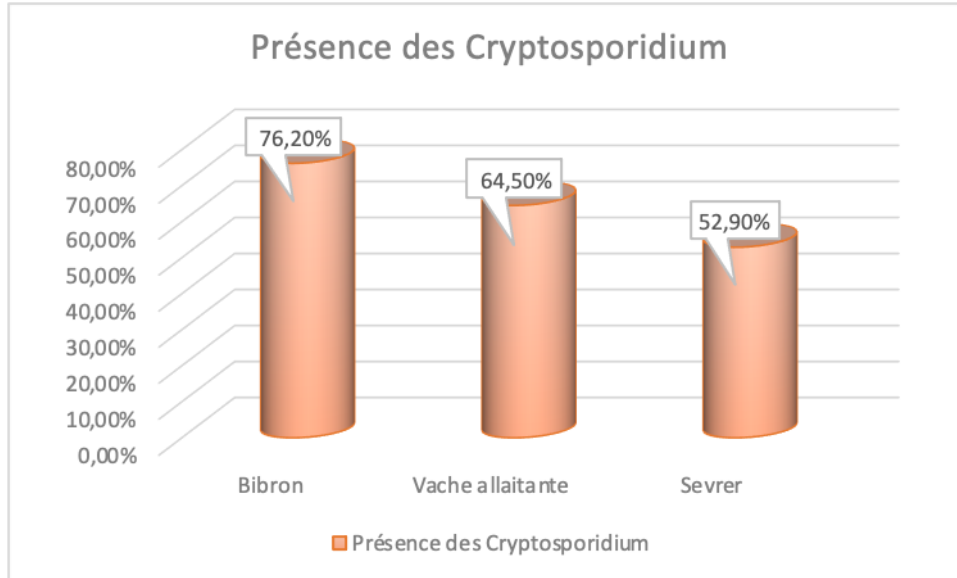


Figure 24 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon le mode d'allaitement.

F. Influence sur Etat sanitaire de l'animal

Le taux du parasitisme en fonction de la présence de diarrhée ou non, illustré dans la figure 25 montre que le taux d'infestation des animaux diarrhéiques est de (96,4%) en comparaison des animaux non diarrhéiques (43,10%). Cependant, l'analyse statistique a révélé que l'écart est significatif ($P=0,00$) ($P<0,001$).

Tableau n°7 : Prévalence des *Cryptosporidium Spp* selon l'état sanitaire.

Effectif / Etat	Diarrhée	RAS
Nombre d'échantillons négatifs	04	182
Nombre d'échantillons positifs	107	138
Prévalence des cryptosporidium	96,40%	43,10%

Résultat

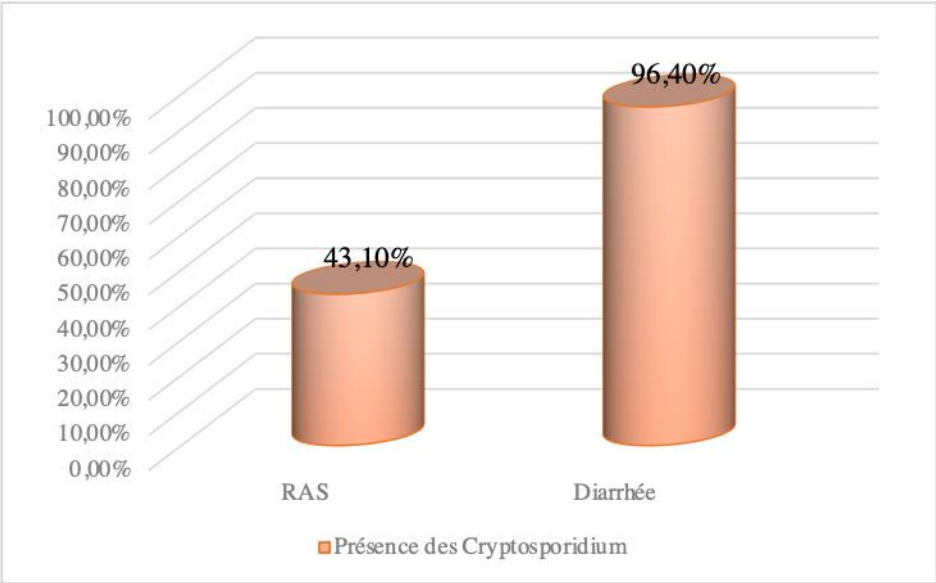


Figure 25 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon l'état sanitaire de l'animal



Discussion



Discussion

Notre étude a été effectuée pour évaluer la prévalence des *Cryptosporidium spp* sur les élevages bovins modernes dans la région de Laghouat et étudier l'influence des différents facteurs (âge, sexe, race, mode de stabulation, ... ect) sur la prévalence des *Cryptosporidium spp* pour cette espèce animale.

La méthode utilisée est la technique de Ziehl Nielsen modifiée. Les résultats obtenus ont montré une présence élevée des oocystes des *Cryptosporidium spp* dans les matières fécales analysées.

Sur **431** bovins étudiés, **245** étaient infestés par les *Cryptosporidium spp*, ce qui représente un taux de prévalence générale de (56,80 %). Ce taux semble élevé en le comparant à ceux des autres travaux en Algérie ou ailleurs (tableau 08). Ce fort taux serait lié à la résistance des oocystes de ce parasite dans les milieux extérieurs (Fayer et al., 1998 b ; Atwill et al., 2002 ; Betancourt et Rose,2005 ; Fayer dans Fayer et Xiao 2007) .

Tableau n°8 : Comparaison de la prévalence de *Cryptosporidium spp* chez les bovins dans plusieurs régions.

Auteur	Région et période d'étude	Echantillon (n)	Prévalence générale de <i>Cryptosporidium spp</i>
Présent travail 2021	Laghouat (Mars , avril et mai)	431	56,80%
(Laméche et Bailiche) 2018	Laghouat (février , mars et avril)	300	45,3%
(Ouchene et al.,2012)	Sétif	634	69,2%
(Khelaf et al.,2001)	Métidja	2613	54%
(Darabus et al.,2001	Roumanie	2715	45,6%

D'après le tableau 08 et nos résultats, nous constatons que le taux enregistré dans notre étude (56,80 %) se rapproche de celui enregistré par Khelaf et al. (2001) dans la région de Métidja mais sur un échantillon de 2613. Cependant, notre résultat est supérieur à celui observé par Laméche et Bailiche, (2018) à Laghouat qui est de (45,3%) mais sur un échantillon de 300 bovins. Le présent résultat est au contraire inférieure à celui rapporté par Ouchene et al.,

Discussion

(2012) (69,2%). De plus, les résultats observés par Darabus et al., (2001) estimés à (45,6%) sont relativement inférieure à nos résultats.

Le portage asymptomatique des sujets sains occupe aussi une place importante dans l'épidémiologie de la cryptosporidiose. L'infection asymptomatique de ces derniers est non négligeable. Ces sujets jouent un rôle important dans la contamination environnementale (sols, litières, murs, matériels d'élevages).

La résistance des oocystes dans le milieu extérieur (sporulation in situ) et leur caractère auto-infectieux, en plus de l'absence d'un traitement totalement efficace, rend difficile une lutte contre cette maladie.

La différence dans la prévalence des *Cryptosporidium spp* enregistré durant notre enquête par rapport aux résultats des autres études, doit être mise en relation avec la conduite d'élevage pratiquée, le choix de la population étudiée, et les facteurs climatiques qui conditionnent l'épidémiologie du parasite tels que la température, l'humidité et l'oxygénation. L'évolution de l'incidence de la cryptosporidiose dans le temps a montré que les infestations parasitaires étaient plus élevées au printemps et en hiver et ce, durant notre période d'étude.

Des observations similaires sont rapportées par Sanford et Josephson (1982), Henriksen et Krogh(1985), Ongerth et Stibb (1989) et Darabus et al.,(2007). En effet, selon ces auteurs, la forte incidence enregistrée est attribuée principalement au mode d'élevage des animaux, période pendant laquelle les animaux sont regroupés dans les étables, ce qui augmente la propagation du parasite entre les congénères. D'ailleurs, notre enquête a montré que la prévalence des *Cryptosporidium spp* s'estime à (68,7%) quand tous les animaux de différents âges sont regroupés alors (65,6%) trouvé chez animaux qui sont séparé par des box. Concernant l'influence de la race sur la prévalence des *Cryptosporidium spp* sa valeur était de (62,8%) chez la race mont belliarde et de (37,1%) chez la race Holstein toute fois l'écart n'était pas significatif, l'absence de l'effet de ce facteur serait lié du fait que ces races sont toutes des races améliorées.

A propos de la prévalence des *Cryptosporidium spp* selon l'âge, on a constaté que les plus touchés sont ceux inférieurs à 2 mois avec un taux de (74%). Ce présent résultat est presque similaire de celui de Darabus et al., (2001).

Discussion

Dans ce sens, des auteurs rapportent cette réceptivité des jeunes à leur état immunitaire déficient les premiers jours. La prise du colostrum à ce niveau joue un rôle important (Navin et Juranek, 1984). Alors, on déduit que les cryptosporidies affectent essentiellement les moins de 02 mois (74%) et ceux entre 02 mois à 04 mois (65%) et les plus âgés (58%) et en dernier lieu les adultes (53%). La faible excrétion du parasite dans le temps par les adultes est également rapportée dans les travaux de Darabus (2001).

La liaison entre le sexe et l'infestation par les cryptosporidies se manifeste par le fait que les femelles le taux d'infestation s'élève à (56%) alors que chez les males il est de (62,5%). Cette différence peut être attribuée au nombre de femelles élevées présentes dans les fermes pour leurs valeur économique et pro génitrice.

A propos de la prévalence des cryptosporidies selon le mode d'allaitement, nous avons vu que les animaux qui tètent directement leurs mères sont moins exposés à la l'infestation ; leur taux de prévalence s'estime à (64,5%) ; alors que les animaux où leur mode d'allaitement se fait par biberon leur taux de prévalence est plus élevé (76,2%). Cette élévation sera due à l'hygiène des étables et des biberons qui ne sont pas stérilisés convenablement. D'autre part, chez les animaux sevrés leur prévalence est de (52,9%) ; donc ce taux est relativement faible et ceci, pourrait être du au fait qu'ils ont acquis une certaine immunité.

Concernant l'influence de l'état clinique (présence ou pas de diarrhée) dans notre étude les résultats montrent que le taux d'infestation des animaux diarrhéiques (96,40%) était largement supérieur à celui des animaux non diarrhéiques (43,10%). En plus, l'analyse statistique a révélé que l'écart est très significatif ($p < 0,001$). Selon les études , le taux de positivité varie entre 10 à 76% chez mes animaux diarrhéiques (Henri et Boch , 1981) ; Pearson et log on , 1983 ; Orgerth et Stibbs ,1981) tandis que chez les animaux non diarrhéiques le pourcentage varie de 4 à 37% (Nagy et Lakrer,1980 ; Pivont et al .,1981 ;Heine et Boch , 1981 ; Sie bert et Gunder ,1994).

Selon une étude de (Wade ;Mohammed et sheaf, 2000), un animal diarrhéique a 36,5 fois plus de chance d'être excréteur de *C.parvum* qu'un animal en bonne santé (Wade et al.,2000). D'autres auteurs n'ont pas arrivé pas au même conclusion (Ruest et al., 1998 ,Huetink et al, 2001).



Conclusion, recommandations et perspectives



Conclusion, recommandations et perspectives

Conclusion, recommandations et perspectives

La cryptosporidiose est à l'origine d'une pathologie gastro-intestinale chez les jeunes bovins entraînant une grande morbidité et mortalité.

Notre étude avait pour objectif d'étudier la prévalence de *Cryptosporidium spp* sur l'élevage bovin dans la région de Laghouat. Pour cela, nous avons examiné plus de 400 bovins, de différentes tranches d'âges en analysant leurs matières fécales. Cet échantillonnage a été réalisé durant une période de 03 mois (Mars-Avril-Mai) 2021.

Nos résultats montrent que parmi 431 sujets examinés, 245 étaient positifs soit un taux de prévalence de 56,80 %.

La prévalence de *Cryptosporidium spp* était significatif plus élevée chez les bovins diarrhéiques (96,4%) que les bovins non diarrhéiques et chez les veaux les plus jeunes.

Le sexe, la race et le mode de stabulation n'avaient aucune influence significative sur la prévalence de *Cryptosporidium spp*.

Les recommandations qu'il faut respecter par les éleveurs des bovins sont les suivantes:

- éviter les fortes densités des bovins dans la même étable,
- séparer les animaux en fonction de leurs âges,
- séparation des veaux nouveaux nés dès la naissance dans des box individuel.
- administration du colostrum de bonne qualité dans les premières heures chez les veaux nouveaux nés et pendant au minimum 03jours,
- respecter les règles d'hygiène des étables (par exemple par des désinfections périodiques),
- vaccination des vaches tarées contre les agents viraux et bactériens provoquant les diarrhées néonatales,
- désinfection du matériel utilisé dans l'élevage bovin, surtout les biberons et les sauts utilisés dans l'allaitement des veaux nouveaux nés.
- contrôle stricte de l'hygiène et de qualité du lait.

Enfin, nous proposons pour les études à venir de :

Conclusion, recommandations et perspectives

- s'approfondir les connaissances sur la prévalence des *Cryptosporidium* spp,
- utilisé des techniques biologiques modernes pour identifier les espèces de cryptosporidies qui circulent dans nos élevages, et technique qui ont une tendance quantitative et qualitative,
- élargir l'étude dans le temps et l'espace,
- chercher les moyens les plus efficaces pour lutter contre cette maladie parasitaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abubakar I, Aliyu SH, Arumugam C, Usman NK, Hunter PR (2007). Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 63 (4), 387–393.
2. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2002). Rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp », -185p.
3. Appelbee AJ, Thompson RC, Olson ME (2005). *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitol.*, 21 (8), 370-376.
4. Bonnin A, Camerlynck P (1989). Cryptosporidiose humaine - Aspects épidémiologiques et cliniques. *Méd. Maladies Infect.*, 19, 35-41.
5. Chalmers RM, Davies AP (2010). Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Exp. Parasitol.*, 124, 138-146.
6. Chalmers RM, Elwin K, Hadfield SJ, Robinson G (2011). Sporadic Human Cryptosporidiosis Caused by *Cryptosporidium cuniculus*, United Kingdom, 2007–2008. *Emerg. Infect. Dis.*, 17(3), 536-538.
7. Chartier C, Paraud C (2010). La cryptosporidiose des ruminants. *Bull. GTV*, 52, 83-92.
8. Congrès du Bœuf (2009). Karine Sonzogni-Desautels, DMV,M.Sc. Etudiante au Ph.D. à l'université McGill, Université de Montréal Faculté de médecine vétérinaire Saint-Hyacinth.
9. Constable PD (2009). Treatment of Calf Diarrhea : Antimicrobial and Ancillary Treatments. *Vet. Clin. Food Anim.*, 25, 101-120.
10. Darabus Gh., Cosoroaba I., Oprescu I. et Morariu S., (2001), Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux de l'Ouest de la Roumanie. *Rev. Med. Vet.*, 152,5,399-404.
11. DE Graaf DC, Spano F, Petry F, Sagodira S, Bonnin A (1999). Speculation on whether a vaccine against cryptosporidiosis is a reality or fantasy. *Int. J. Parasitol.*, 29, 1289-1306.
12. Elwin K, Hadfield SJ, Robinson G, Crouch ND, Chalmers RM (2012). *Cryptosporidium viatorum* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) among travelers

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- returning to Great Britain from Indian subcontinent, 2007-2011. *Int. J. Parasitol.*, 42 (7), 675-682.
13. Fayer R . , Ungar B.l.p (1986) « cryptosporidium spp and cryptosporidiosis ».
 14. Fayer R (2004). *Cryptosporidium* : a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.*, 126, 37-56.
 15. Fayer R (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.*, 124, 90-97.
 16. Fayer R, Morgan U, Upton SJ (2000). Epidemiology of *Cryptosporidium* : transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, 30, 1305-1322.
 17. Fayer R, Santin M, Macarasin D (2010). *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Vet. Parasitol.*, 172, 23-32.
 18. Fayer R, Ungar BL (1986). *Cryptosporidium* spp and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.*, 50 (4), 458-483.
 19. Fayer R, Ungar BL (1986). *Cryptosporidium* spp and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.*, 50 (4), 458-483.
 20. Griffiths JK (1998). Human Cryptosporidiosis: Epidemiology, Transmission, Clinical Disease, Treatment, and Diagnosis. *Adv. Parasit.*, 40, 37-49.
 21. Guyot K, Sarfati C, Derouin F (2012). Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. *Feuillets Biol.*, 304, 21-29.
 22. HeineJ.,BochJ.,(1981)kryptosporidieninfektionenbeimkalb,Nachweis,vorkomenundexperimentelle bertragung. *Berl.Munch.Tierazatl.wsch.*,94,289.
 23. Henrisken S.A et Krogh H.V., (1985), Bovine cryptosporidiosis in Denmark :I.Prevalence, age of distribution and seasonal variation. *Nord Vet.Med.*,37,1,34-41.
 24. Jenkins MB, Eaglesham BS, Anthony LC, Kachlany SC, Bowman DD, Ghiorse WC (2010). Significance of Wall Structure, Macromolecular Composition, and Surface Polymers to the Survival and Transport of *Cryptosporidium parvum* Oocysts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 1926-1934.
 25. Jex AR, Smith HV, Monis PT, Campbell BE, Gasser RB (2008). *Cryptosporidium*-Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotech. Adv.*, 26, 304-317.
 26. Laameche et Baaliche Contribution a l'étude de la prévalence de *Cryptosporidium spp* sur des élevages bovins de la région de Laghouat (2018).
 27. Laurent F ., Lamande S ., Barrier M ., Mancassola R ., Naciri M . I (2005). « les

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- zoonoses, la cryptosporidiose ».UR 86. Bioagresseurs ,sante , environnement , tous équipe Contrôle et immunologie des maladies a protozoaires . INRA mensuel N° 123. Dossier juin.
28. Leconte M (2013). Le point sur la cryptosporidiose des Ruminants et les risques zoonotiques. Thèse Méd. Vét., Alfort.
29. Morgolis I., esch g. W ., holmes j.c., kuris a.m., shad g.a (1982). The use of ecological terms in parasitology (report of an ad-hoc committee of the American society of parasitologists).
30. Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R (1999). Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.*, 85, 245–257.
31. Nagy B., Antal A. et Lakner J., (1980), Signification of intestinal cryptosporidiosis in calf diarrhoea. In *Porc. 2nd Inter. Symp. Word Assoc. Vet. Lab. Diagnost. (Lucerne. Switzerld)*, 111, 431.
32. O'donoghue PJ (1995). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. *Int. J. Parasitol.*, 25, 139-195.
33. O'donoghue, P. (1995). « *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal for Parasitology*, 25 (2). 139-195..
34. OIE « Cryptosporidiose » chapitre 2.10.9 Manuel terrestre de l'OIE. (2005).
35. Ongerth J.E. et Stibbs H.H.,(1989), Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairycalves in western Washington. *AM.J.Vet.Res.*, 50, 7, 1069-1070.
36. Paoletti A (2002). Données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à l'Homme. Thèse Méd. Vét., Toulouse.
37. Paraud C, CHARTIER C (2012). Cryptosporidiosis in small ruminants. *Small Ruminant Res.*, 103, 93-97.
38. Pivont P., Antoine H., Gregoire R. et Bughin J.,(1981), Cryptosporidies chez un nouveau-né. *Ann.Med.Vet*
39. Ramirez, N.E., Ward, L.A., Sreevatsan , S., (2004). A review of the biologie and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes*. 6, 773-785.
40. Sansogni –Desaulets k. (2009). « l'importance de la cryptosporidiose chez le veau » Etudiante au ph. D a l'Université de Montréal. Faculté de médecine vétérinaire. Saint-Hyacinthe. *Congresdubœuf*.
41. Santin M, Trout JM, Fayer R (2008). A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet. Parasitol.*, 155, 15-23.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

42. Santin M., Trout J.M. (2008). « cryptosporidium and cryptosporidiosis » . Livestock. In: Fayer, R., Xiao, L. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp.451-483.
43. Slapeta J (2012). Letter: The name *Cryptosporidium tyzzeri* Ren, Zhao, Zhang, Ning, Jian, Wang, Lv, Wang, Arrowood and Xiao, 2012 is permanently invalid. *Exp. Parasitol.*, In press.
44. Smith hv, Nichols RA (2010). *Cryptosporidium*: Detection in water and food. *Exp. Parasitol.*, 124, 61-79.
45. Thompson RC, Palmer CS, O'handley R (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet. J.*, 177, 18-25.
46. Trotz-williams LA, Martin SW, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, 82, 12-28.
47. Trotz-williams la, Martin SW, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS (2008). Association between management practices and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. *Prev. Vet. Med.*, 83, 11-23.
48. Tzipori S, Widmer G (2008). A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. *Trends Parasitol.*, 24(4), 184-189.
49. Wade SE, Mohammed HO, Schaaf S. (1999). Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol*;83:1-13.
50. Wyatt CR, Riggs MW, Fayer R (2010). Cryptosporidiosis in neonatal calves. *Vet. Clin. Food Anim.*, 26, 89-103.
51. Xiao L (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. *Exp. Parasitol.*, 124, 80- 89.
52. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin. Microbiol. Rev.*, 17, 72-97.
53. Xiao L, Morgan UM, Fayer R, Thompson RC, Lal aa (2000). *Cryptosporidium* systematic and implication for public health. *Parasitol. Today*, 16 (7), 287-292.
54. Zardi EM, Picardi A, Afeltra A (2005). Treatment of Cryptosporidiosis in Immunocompromised Hosts. *Chemotherapy*, 51, 193–196.

LES ANNEXES

○ Matériel

- lames neuves
- coton
- pince en métal
- porte lames
- masque et lunette

○ Réactif et colorants

- Alcool 95°
- Acide sulfurique dilué au ¼ avec de l'eau
- Fuschine phéniqué de ziehl
- Bleu de méthylène



Figure 26 : Matériel pour la coloration de ziehl neelsen