

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Parasitologie

THEME

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

Devant le jury :

Président(e) : M. Mokhtar Rahmani M

Rapporteur : M. Becheur Mourad

Examineur : M. Laouadi Mourad

Co-rapporteur : M. Saidi Radhwane

Présenté par :

BAILICHE Khadidja

LAMECHE Lilia Yasmine

Soutenu publiquement le : juin 2018

Titre du mémoire : Contribution à l'étude de la prévalence de *Cryptosporidium spp* dans quelques élevages bovins de la région de Laghouat.

Résumé:

L'objectif du présent travail est la recherche des cryptosporidies en élevages bovins dans la région de Laghouat, ainsi que l'étude de la relation entre la prévalence de ce parasite avec certains facteurs, qui sont l'âge, le sexe, le type d'élevage, le déparasitage, la présence de diarrhée, et la race. Notre étude a été effectuée sur une période de 3 mois (Février, Mars et Avril 2018) sur 300 échantillons de matières fécales, prélevées à partir de 300 bovins. A cet effet, nous avons utilisé la technique de coloration de Ziehl – Neelsen modifiée. Cette dernière nous a permis la mise en évidence des cryptosporidies. La prévalence parasitaire a été de 43,5 %. L'analyse statistique de l'influence de certains facteurs de variation (sexe, âge, type d'élevage, présence de diarrhée et race) sur la prévalence de *Cryptosporidium spp* n'a révélé aucun effet significatif ($p > 0,05$) pour la race, le sexe, le type d'élevage et le déparasitage. Cependant, l'effet de l'âge a été très significatif ($p < 0,01$) et celui de la présence de diarrhée significatif ($p < 0,05$). Enfin, la prévalence parasitaire enregistrée doit être prise au sérieux pour éviter son effet préjudiciable sur la santé publique, la santé animale et sur les performances zootechniques des cheptels bovins.

Mots clés: Prévalence, *Cryptosporidium spp*, Bovin, Laghouat.

Dédicace

À Toute Ma Famille ...

À Tous Mes Amis...

Líliá♥

Dédicace

À Toute Ma Famille ...

*À la mémoire de mon oncle Rachid que
Dieu t'accepte dans son vaste paradis*

À Tous Mes Amis...

Khadija♥

REMERCIEMENTS

Louanges à Dieu Le Clément et Le Miséricordieux.

*À notre encadreur Monsieur **Becheur Mourad**
Qui nous a fait l'honneur d'encadrer ce travail,
Pour son aide précieuse et son soutien à chaque instant...*

*À notre Co-encadreur Monsieur **Saïdi Redhwane**
Qui a eu la gentillesse d'accepter de diriger cette étude
Pour son aide, son accueil et sa disponibilité...*

*Tous nos remerciements, et toute notre admiration pour nos
deux encadreur.*

*À Monsieur **Mokhtar-Rahmani Med** pour son aide en
traitement statistique, que Dieu vous bénisse.*

*Aux membres de jury qui ont bien accepté de présider et
d'examiner ce rapport Mr **Mokhtar Rahmani** et Mr **Laouadi
Mourad** : sincères remerciements.*

*À Madame la Directrice du laboratoire régional vétérinaire
de Laghouat **Dr Benchérif**
Merci de nous avoir accueillies au sein de votre famille
professionnelle.*

*A Monsieur **Brihoum** pour nous avoir fait bénéficier de sa
riche expérience en diagnostic parasitologique.*

*Au staff technique et administratif du **LRV** Laghouat.*

*On remercie aussi Mr **Benchettouh Ahmed** de nous avoir
aidées dans la conception de la carte de la région d'étude.*

*Notre gratitude s'adresse également à Monsieur **Guenou Riad**.*

*Au corps enseignant et administratif du département de
biologie de l'université Amar Thelidji -Laghouat.*

Table des matières

Résumé	
Dédicace-----	I
Remerciements-----	II
Table des matières-----	III
Liste des figures -----	IV
Liste des tableaux -----	V
Liste des abréviations-----	VI
Introduction -----	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Le parasite <i>Cryptosporidium spp</i> -----	03
1. Systématique et Taxonomie-----	03
2. Biologie du parasite-----	05
2.1 Cycle de développement du parasite-----	05
2.2 Morphologie des différents stades parasitaires-----	07
2.2.1 Les oocystes-----	07
2.2.2 Les sporozoïtes -----	09
2.2.3 Les trophozoïtes-----	10
2.2.4 Les mérontes et mérozoïtes de types I et II -----	10
2.2.5 Les macrogamontes -----	10
2.2.6 Les microgamontes-----	11
2.3 Résistance des oocystes de <i>Cryptosporidium spp</i> dans l'environnement-----	11
Chapitre II : LA CRYPTOSPORIDIOSE BOVINE -----	13
II.1Description-----	13

Table des matières

II.2 Espèces de <i>Cryptosporidium spp</i> présentes chez les bovins-----	13
II.3 Sources potentielles de contamination-----	15
II.4 Facteurs favorisants chez les bovins -----	18
II.5 Aspects cliniques-----	20
II.6 Diagnostic -----	22
II.7 Traitement-----	22
II.7.1 Essais thérapeutiques-----	23
II.8. Prophylaxie -----	24
II.8.1. Prophylaxie hygiénique -----	24
II.8.2 Prophylaxie médicale (la vaccination) -----	25

Partie pratique

III. matériel et méthodes-----	26
III.1. Objectifs de l'étude-----	26
III.2. Présentation générale de la région et des sites d'étude-----	26
III.3. Lieu et période d'étude-----	27
III.4. Matériel animal -----	27
III.5. Matériel de laboratoire-----	29
III.6. Méthodologie-----	29
III.6.1. Signalement des animaux-----	29
III.6.2. Echantillonnage et prélèvements-----	29
III.6.3. Analyse des matières fécales-----	30
A. Examen macroscopique des selles-----	30
B. Examen microscopique des selles -----	30
III.6.4. Calcul de la prévalence totale-----	31

Table des matières

IV. Traitement statistique des données-----	31
IV. Résultats-----	32
IV.1. <i>Cryptosporidium spp</i> observés chez les animaux étudiés-----	32
IV.2. Prévalence générale de <i>Cryptosporidium spp</i> -----	32
IV.3. Etude de l'influence de certains paramètres sur le taux d'infestation par <i>Cryptosporidium spp</i> -----	33
A. Influence de l'âge-----	33
B. Influence du sexe-----	33
C. Influence de la race-----	34
D. Influence du type d'élevage -----	34
E. Influence du déparasitage -----	34
F. Influence de la diarrhée-----	35
V. Discussion-----	36
Conclusion et perspectives-----	42
Références bibliographiques-----	43
Annexes-----	51

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
01	Cycle de développement de <i>Cryptosporidium spp</i>	06
02	Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de <i>C. parvum</i>	08
03	Images d'oocystes matures de <i>Cryptosporidium spp</i> en MET	09
04	Images de sporozoïtes de <i>Cryptosporidium spp</i> en MET	09
05	Images de trophozoïte de <i>Cryptosporidium spp</i> en MET	10
06	Image d'un macrogamonte de <i>Cryptosporidium spp</i> en MET	11
07	Image d'un microgamonte de <i>Cryptosporidium spp</i> en MET	11
08	Situation géographique de la région de Laghouat	26
09	Animaux objet de notre étude	29
10	Technique du prélèvement	30
11	Réalisation de la technique de Ziehl Nielsen modifiée	31
12	Oocystes de <i>Cryptosporidium spp</i> Observés sous microscope optique	32
13	La prévalence générale de la cryptosporidiose chez les bovins étudiés	32
14	Représentation graphique du taux de parasitisme chez les groupes d'âge	33
15	Représentation graphique du taux de parasitisme chez les deux sexes	33
16	Représentation graphique du taux de parasitisme selon la race	34
17	Représentation graphique du taux de parasitisme selon le type d'élevage	34
18	Représentation graphique du taux de parasitisme selon le déparasitage des animaux	35
19	Représentation graphique du taux de parasitisme selon la présence de diarrhée	35

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classification taxonomique de <i>Cryptosporidium spp</i>	03
02	Familles de sous-types de <i>C. parvum</i> et <i>C. hominis</i>	05
03	Caractéristiques des bovins utilisés dans l'étude	28
04	Comparaison de la prévalence de la cryptosporidiose chez les bovins dans plusieurs régions du monde	37

Liste des Abréviations

C °	Degré Celsius
DSA	Direction des Services Agricoles
G	Groupe
g	Gramme
He	Hôte examiné
Hp	Hôte parasitaire
j	jour
km	kilomètre
m	Mètre
M	Mois
MET	Microscope électronique à transmission
Mg	Milligramme
OPG	Œuf par gramme
P (%)	Prévalence exprimée par pourcentage
Spp	Species pluralis généralement
µm	Micromètre

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction

En Algérie, comme tous les pays du Maghreb, l'élevage bovin compte parmi les activités les plus anciennes ; il joue un rôle relativement important aussi bien dans l'économie agricole nationale que pour les éleveurs, offrant ainsi une réserve financière considérable.

Toutefois, cet élevage est sujet à des contraintes d'ordre nutritionnel, environnemental ou pathologique. Parmi les pathologies qui peuvent engendrer des mortalités et/ou des contre-performances zootechniques on peut citer les maladies parasitaires, parmi lesquelles la cryptosporidiose (zoonose).

La cryptosporidiose est une parasitose émergente opportuniste. Le plus souvent asymptomatique, elle peut parfois se manifester cliniquement par des troubles digestifs chez les sujets immunodéprimés en présence d'affections intercurrentes. L'agent causal est un protozoaire intracellulaire de la famille des coccidies appartenant au genre *Cryptosporidium* (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1990).

Plusieurs espèces ont pu être isolées d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme chez lequel l'intérêt porté à ce parasite est directement lié à la survenue d'épidémies dès les années 80. La cryptosporidiose a été décrite chez de nombreuses espèces animales, aussi bien domestiques que sauvages. Chez les ruminants, plus précisément l'espèce bovine, ce sont généralement les animaux les plus jeunes qui sont les plus réceptifs et les plus sensibles à l'infection alors que les animaux adultes infectés sont peu nombreux et asymptomatiques (Hermida *et al.*, 2005; Santín *et al.*, 2008 ; Fayer et Santín, 2009; Paraud *et al.*, 2010 ; Silverlås *et al.*, 2010).

A l'heure actuelle, la cryptosporidiose est l'une des premières causes d'entérite diarrhéique des veaux nouveau-nés (Silverlås *et al.*, 2010). Cette parasitose entraîne d'importantes pertes économiques chez les ruminants nouveau-nés de par la mortalité et la morbidité qu'elle entraîne (de Graaf *et al.*, 1999). La prévalence moyenne de cette infection varie largement selon les pays et les différentes espèces hôtes de ruminants.

A notre connaissance, il y a eu que deux études sur la cryptosporidiose chez les bovins au niveau de la région de Laghouat (Sahli et Bellakehal, 2016 ; Chikhaoui et Touhami, 2016).

Introduction

Aussi, la bibliographie nationale a été enrichie ces dernières années de quelques travaux de recherche sur la cryptosporidiose bovine, notamment dans quelques régions de l'est et du nord central (Akam *et al.*,2007 ; Khelef *et al.* ,2007 ; Ouchene *et al.*,2012).

De ce fait, la présente étude est une autre contribution pour mettre la lumière sur la prévalence de *Cryptosporidium spp* dans la région de Laghouat.

Ce mémoire se divise en trois parties:

La première partie concerne une recherche bibliographique : Généralités sur la cryptosporidiose et le *Cryptosporidium spp* chez les bovins.

Puis, dans la deuxième partie, nous présentons le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, ainsi que les résultats et discussion.

Enfin, nous terminerons par une conclusion générale qui permet de faire une synthèse des différents résultats préalablement décrits et les perspectives attendues en termes aussi bien de développement que de recherche.

Partie Bibliographique

Chapitre I

Chapitre I : Le parasite *Cryptosporidium spp*

1. Systématique et Taxonomie

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont des protozoaires qui appartiennent au phylum des Apicomplexa et à la classe des coccidies. Le phylum des Apicomplexa représente un groupe d'agents pathogènes de grande importance économique, vétérinaire et médicale comprenant entre autres ; *Toxoplasma gondii*, l'agent responsable de la toxoplasmose et *Plasmodium falciparum*, l'agent responsable du paludisme chez l'homme. Les membres de ce phylum partagent des caractéristiques communes. En effet, ils sont polarisés et possèdent un complexe d'organelles en position apicale contenant des protéines essentielles aux différentes étapes d'invasion et de développement au sein de la cellule hôte. Ces membres diffèrent cependant par leur spécificité d'hôte, leur tropisme pour les différents tissus parasités, et l'obligation pour certains, de se développer chez plus d'un hôte pour l'aboutissement du cycle de développement. La position systématique de *Cryptosporidium spp* au sein des protozoaires est décrite ci-dessous (Current et Garcia, 1991 ; Fayer dans Fayer et Xiao, 2007) (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Cryptosporidium spp*.

Classification	Caractéristiques biologiques
Empire : Eukaryota	- Cellules possédant un noyau avec une enveloppe nucléaire
Règne : Protozoa	- Eucaryote unicellulaire
Phylum : Apicomplexa	- Présence d'un complexe apical (rôle dans la pénétration du parasite au sein de la cellule hôte) chez les formes invasives
Classe : Coccidea	- Oocystes contenant des sporozoïtes infectieux résultant de la sporogonie
Sous-Classe : Coccidiasina	- Cycle biologique comprenant des stades de schizogonie, gamétogonie et sporogonie
Ordre : Eucoeliorida	- Etape de schizogonie, aussi appelée mérogonie, toujours présente,
Sous-Ordre : Eimeriorina	- Développement indépendant des micros et macrogamètes
Famille : Cryptosporidiidae	- Oocystes contenant 4 sporozoïtes nus (pas de sporocystes contrairement aux Eimeriidae) ; - Cycle biologique monoxène (un seul hôte) ; - Développement intracellulaire ; - Développement sous la bordure en brosse des cellules épithéliales colonisées.

(D'après Current et Garcia, 1991 ; Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).

Pour caractériser les espèces de *Cryptosporidium spp*, en plus des critères morphologiques et/ ou de spécificités d'hôte, il est nécessaire de prendre en considération l'importance des différences au niveau du site d'infection préférentiel, les critères biochimiques, les critères immunologiques et les critères génétiques (Xiao *et al.*, 2004). A ce jour, plus d'une vingtaine d'espèces au sein du genre *Cryptosporidium spp* sont décrites mais la taxonomie des espèces de ce genre est en perpétuel changement et reste sujette à discussion pour de nombreux chercheurs (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Slapeta, 2011 ; Chalmers et Katzer, 2013). Parmi celles-ci, certaines, telle que *Cryptosporidium parvum*, peuvent infecter une grande variété d'hôtes, alors que d'autres semblent spécifiques d'un seul hôte (*C. ryanae* retrouvé uniquement chez les bovins) .

Aujourd'hui pour valider et nommer une espèce appartenant au genre *Cryptosporidium*, il faut tenir compte de critères morphologiques, biologiques et génétiques (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Fayer, 2010) :

Critère morphologique : (taille, forme et structure des différents stades de développement). Ce critère est insuffisant pour différencier les espèces du genre *Cryptosporidium*. En effet, les oocystes des différentes espèces peuvent présenter des tailles similaires.

Critère biologique : (site de prédilection de l'infection, durée des périodes pré-patente et patente, hôtes infectés...). Concernant *Cryptosporidium spp*, il est difficile d'utiliser uniquement ce critère car il a été montré que des isolats provenant de différents animaux pouvaient parfois se transmettre d'une espèce hôte à l'autre.

Critère génétique : (différences dans la séquence nucléotidique de gènes bien connus (codant pour l'ARN ribosomal (18S), glycoprotéine de surface des sporozoïtes gp60, des protéines fonctionnelles..). Les outils de biologie moléculaire permettent d'accéder à des informations supplémentaires sur les différentes espèces de *Cryptosporidium spp*.

Le tableau présente la liste des espèces de *Cryptosporidium spp* considérées comme valides selon les trois critères évoqués ci-dessus (Chalmers et Katzer, 2013) (voir annexe 1).

L'utilisation d'outils de la biologie moléculaire a montré que des variations intra-espèces étaient observées en particulier pour les trois espèces *C. hominis*, *C. parvum* et *C. meleagridis* (Alves *et al.*, 2003 ; Xiao et Ryan, 2004 ; Chalmers *et al.*, 2005 ; Gatei *et al.*, 2007, Xiao *et al.*, 2007 ; Hijjawi *et al.*, 2010). Ces variations permettent de définir des sous-types au sein de ces espèces. Le sous-type est déterminé à partir de la séquence du gène codant pour une glycoprotéine de 60 kDa (gp60), nous verrons par la suite la nomenclature existant pour la

classification des sous-types (Xiao, 2010 ; voir III.2.2.2). Il existe 7 familles de sous-types pour *C. hominis* et 11 pour *C. parvum* (**Tableau 2**). Cette classification est importante pour comprendre l'épidémiologie de la cryptosporidiose, les particularités d'espèces et distinguer les sources de parasite notamment lors d'épidémies humaines, certains sous-types de *C. parvum* étant retrouvés à la fois chez l'homme et chez l'animal.

Tableau 2 : Familles de sous-types de *C. parvum* et *C. hominis*

Espèce (s)	Familles de sous-types
<i>C. parvum</i>	IIa, IIb, IIc, IId, IIe, IIf, IIg, IIh, IIf, IIk, III
<i>C. hominis</i>	Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig

(D'après Xiao, 2010).

2. Biologie du parasite

2.1 Cycle de développement du parasite

Toutes les espèces de *Cryptosporidium spp* 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 *Cryptosporidium* 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**.

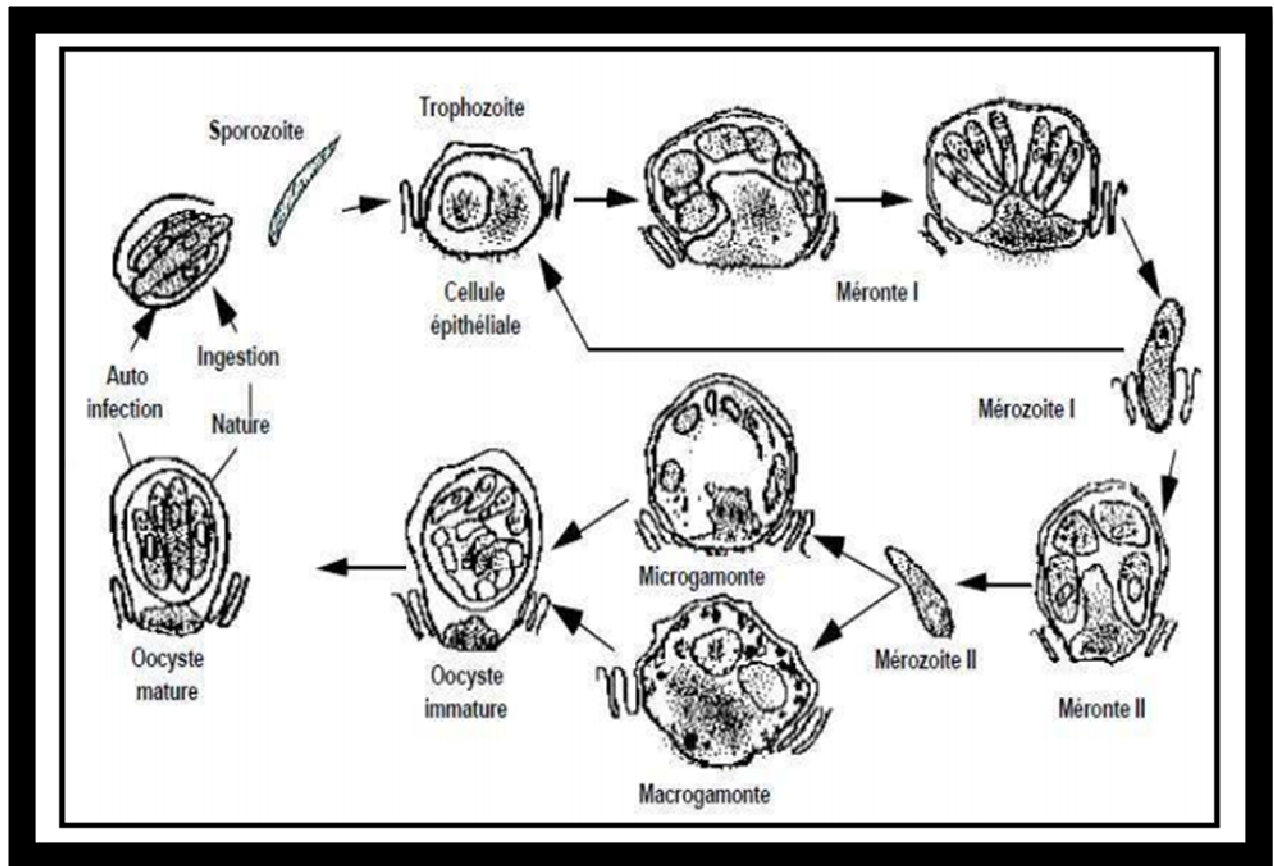


Figure 1 : Cycle de développement de *Cryptosporidium* spp. (D'après Fayer dans Fayer et Xiao, 2007)

Le cycle se déroule de la façon suivante : un hôte va ingérer des oocystes dans l'environnement (Figure 1). Une fois ingéré, cet oocyste va excyster sous l'action de la trypsine et des sels biliaires et ainsi libérer son contenu soit quatre sporozoïtes (éléments invasifs) (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 et Chalmers et Katzer, 2013).

Ces éléments invasifs sortent de l'oocyste en se déplaçant par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Ils pénètrent alors dans les cellules épithéliales intestinales et s'entourent d'une vacuole parasitophore, vacuole ayant pour origine la membrane plasmique des cellules épithéliales, pour devenir des trophozoïtes. Cette vacuole, en plus d'être un lieu d'échange entre le parasite et la cellule parasitée, permet la protection du parasite en empêchant la fusion avec les lysosomes. Le parasite se développe en position intracellulaire.

Le cycle de multiplication se poursuit par des phases de multiplication asexuée appelées mérogonie ou schizogonie. La forme trophozoïte du parasite évolue en une nouvelle forme : le méronte de type I, qui contient huit cellules filles appelées mérozoïtes de type I (formés par des divisions nucléaires successives). Ces mérozoïtes de type I, au nombre de 32, une fois

libérés, ont deux devenir possibles : soit ils participent à un phénomène de rétro-infection en reformant des mérontes de type I, soit ils vont lyser et envahir les cellules épithéliales voisines et former des mérontes de type II (à l'origine de 4 mérozoïtes de type II) (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Chalmers et Katzer, 2013).

Après deux cycles de multiplication asexuée, les mérozoïtes de type II se différencient soit en microgamontes mâles (36 heures post-infection) ou macrogamontes femelles (48 heures post-infection). On parle alors de gamétogonie, qui correspond à la phase sexuée du cycle. Les microgamontes deviennent plurinucléés (chaque noyau est incorporé dans un microgamète non flagellé). Les macrogamètes, eux, demeurent uninucléés en devenant des macrogamètes. La fécondation des macrogamètes femelles par les microgamètes mâles aboutit à la formation de zygotes (oocyste immature 2 N chromosomes) (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Chalmers et Katzer, 2013).

Une fois le zygote formé, une enveloppe kystique résistante (ou paroi) va se former autour de lui. Celui-ci va ensuite subir la sporulation (à l'intérieur de l'hôte à la différence des coccidies) qui donne, par méiose, 4 sporozoïtes (n chromosomes). Ainsi se forme l'oocyste sporulé de *Cryptosporidium*. Ces oocystes matures sont émis directement sporulés dans la lumière intestinale et sont donc directement infectants pour un hôte sensible. Deux types d'oocystes sont formés : ceux à paroi épaisse (80%) qui constituent la forme de résistance et de transmission, éliminés dans les selles de l'hôte et ceux à paroi fine (20%) qui participent au phénomène d'auto-infection (excystation in situ) chez le même hôte. Ces particularités (oocyste directement infectant, auto-infection par des oocystes à parois fine) ne sont pas partagées par les autres coccidies (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Chalmers et Katzer, 2013).

2.2 Morphologie des différents stades parasitaires

2.2.1 Les oocystes

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 2**) :

- 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).

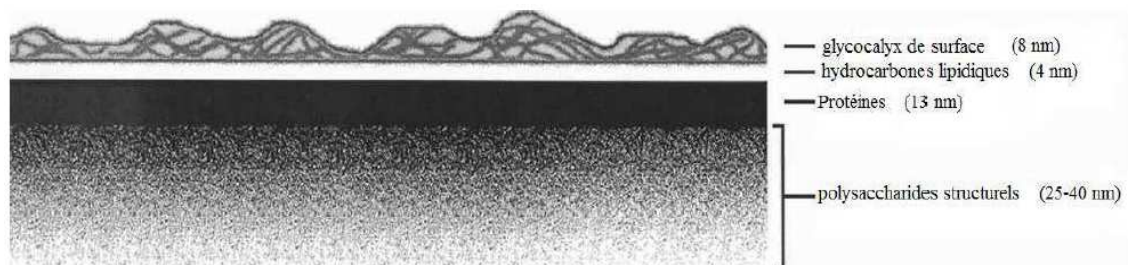


Figure 2 : Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de *C. parvum*
(Source : Jenkins *et al.*, 2010).

Ils ont une forme sphérique à ovoïde et contiennent chacun quatre sporozoïtes, nus (sans sporocyste), libres agencés autour d'un corps résiduel granuleux très réfringent mesurant un micron de diamètre. Le micropyle et les granules polaires présents chez les autres coccidies ne sont pas retrouvés au sein de l'oocyste de *Cryptosporidium spp* (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).

A l'un des pôles, une suture est visible sur la paroi (**figure 3**), cette suture permet aux sporozoïtes de sortir de l'oocyste au moment de l'excystation (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).

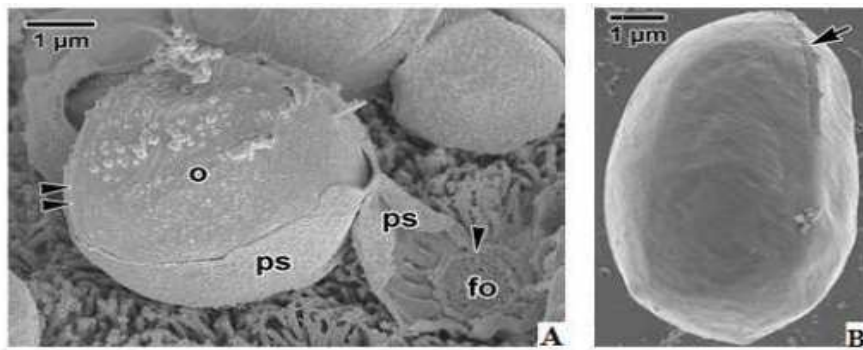


Figure 3 : Images d'oocystes matures de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova *et al.*, 2008).

A : Oocyste mature (o) partiellement enveloppé par une partie de la vacuole parasitophore (ps). Observation de l'organelle nourricière (fo). Les flèches à gauche indiquent la suture longitudinale.
B : Oocyste mature récolté dans les fèces. La flèche présente la suture longitudinale.

2.2.2 Les sporozoïtes (figure 4)

Les sporozoïtes sont les formes parasitaires invasives, libres et mobiles. Ils ont une forme de croissant, avec une partie postérieure arrondie, et renferment un noyau proéminent. Ces éléments invasifs possèdent en position apicale un complexe d'organelles contenant des protéines essentielles aux différentes étapes d'invasion et de développement à l'intérieur de la cellule hôte. Parmi ces organelles on retrouve : des rhoptries, des micronèmes, des granules denses, un noyau, des ribosomes et des microtubules. Les protéines des micronèmes interviennent lors de l'attachement du parasite à la surface de la cellule hôte. Les protéines des rhoptries ont plutôt un rôle lors de l'étape d'invasion du parasite.

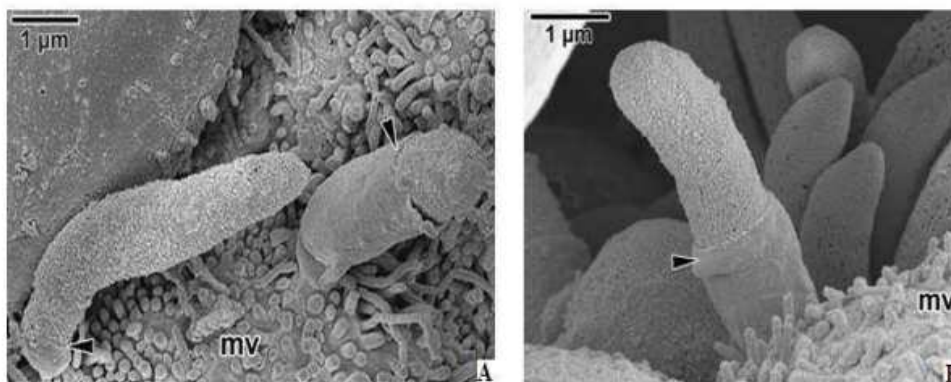


Figure 4: Images de sporozoïtes de *Cryptosporidium* spp en MET (Valigurova *et al.*, 2008).

A et B: Sporozoïtes fixés à la cellule hôte, entourés de microvillosités (mv). Les flèches indiquent le recouvrement des parasites par la membrane de la cellule hôte aboutissant à la formation de la vacuole parasitophore.

2.2.3 Les trophozoïtes

Les trophozoïtes sont caractérisés par la présence d'un noyau unique de grande taille. Le complexe apical observé chez les sporozoïtes n'est plus présent mais une organelle nourricière est bien développée à ce stade (**figure 5**).

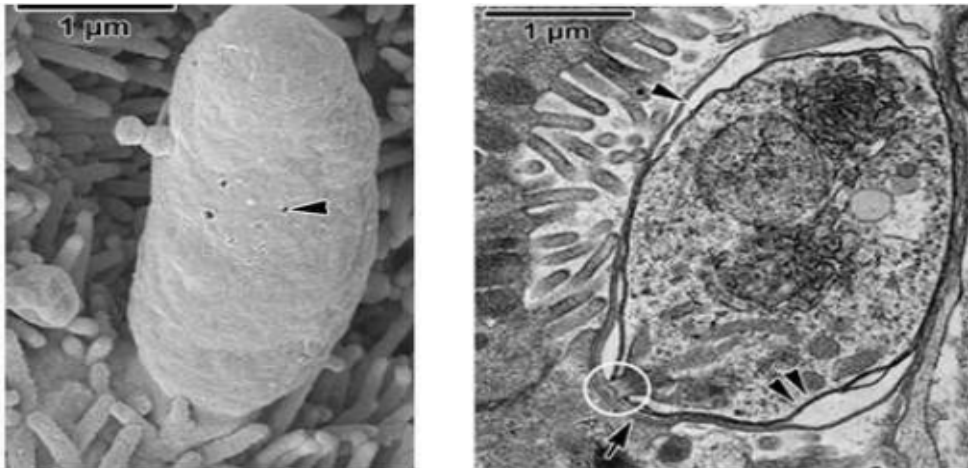


Figure 5 : Images de trophozoïte de *Cryptosporidium spp* en MET (D'après Valigurova *et al.*, 2008).

A: Trophozoïte en maturation complètement enveloppé par la vacuole parasitophore. La flèche désigne la présence de pores.
B: Trophozoïte en maturation. Les flèches désignent la vacuole parasitophore et la présence d'une organelle nourricière (en bas à gauche).

2.2.4 Les mérontes et mérozoïtes de types I et II

Les deux types de mérontes mesurent entre 4 et 5 μ de diamètre. Les mérontes de type I, issus de la première multiplication asexuée contiennent 6 à 8 mérozoïtes alors que les mérontes issus de la 2^e multiplication ne contiennent que 4 mérozoïtes. Les mérozoïtes de type I sont attachés à un corps résiduel par leur extrémité postérieure. Une fois matures, ils se séparent de ce corps résiduel puis la membrane cellulaire de l'hôte qui entourait le méronte va se lyser permettant ainsi aux mérozoïtes extracellulaires d'aller infecter d'autres cellules hôtes pour reproduire des mérontes de type I ou alors évoluer en mérontes de type II.

Les mérozoïtes ont la même morphologie que les sporozoïtes. Leurs extrémités antérieure et postérieure sont arrondies. Ils contiennent un noyau et de nombreux granules denses (Valigurova *et al.*, 2008).

2.2.5 Les macrogamontes

Les macrogamontes sont caractérisés par la présence de granules d'amylopectine qui les différencient des trophozoïtes. Ils ont une forme sphérique à ovoïde et une taille comprise entre 4 et 6 μ m (**figure 6**). Il présente une vacuole et un grand noyau en position centrale.

Un macrogamonte donne naissance à un seul macrogamète (Valigurova *et al.*, 2008).

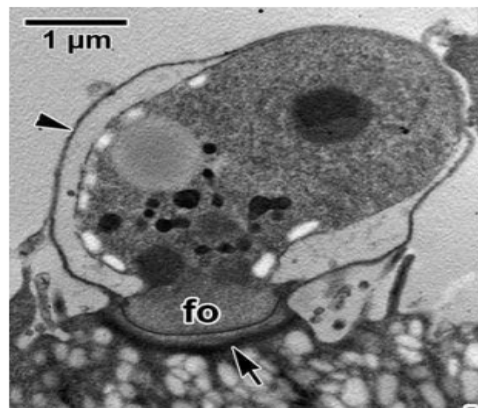


Figure 6: Image d'un macrogamonte de *Cryptosporidium spp* en MET (D'après Valigurova *et al.*, 2008).

2.2.6 Les microgamontes

Les microgamontes ressemblent aux mérontes mais contiennent de plus petits noyaux.

Ils sont rarement observés du fait de leur vie brève. Ce sont des divisions successives dans le Microgamontes qui sont à l'origine des microgamètes. Ils renferment 14 à 16 microgamètes aflagellés, ces microgamètes ont une forme allongée avec une extrémité antérieure aplatie.

Chaque microgamète se forme par une profusion nucléaire à la surface du gamonte (**figure 7**).

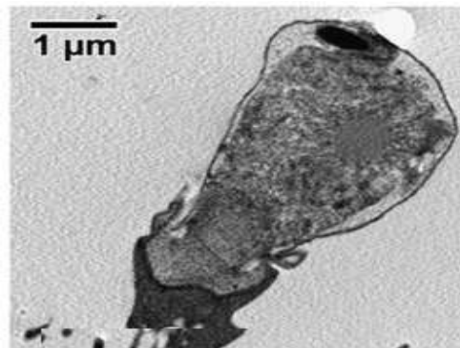


Figure 7: Image d'un microgamonte de *Cryptosporidium spp* en MET (D'après Valigurova *et al.*, 2008).

2.3 Résistance des oocystes de *Cryptosporidium spp* dans l'environnement

Les oocystes possèdent des propriétés biologiques leur conférant une grande résistance dans le milieu extérieur (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007). En effet, il a été montré qu'ils pouvaient survivre plus de 6 mois dans des conditions favorables d'humidité et de chaleur (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Chalmers et Giles, 2010). Des variations de température naturelles et de nombreux désinfectants classiques (crésyl, dérivés iodés, hypochlorite, dérivés de benzylkonium...) n'inhibent pas leur pouvoir infectant (Campbell *et al.*, 1982). Seuls

l'ammoniac à 5%, le formaldéhyde à 10% ainsi que les températures $< -20^{\circ}\text{C}$ et $> +60^{\circ}\text{C}$ peuvent les détruire (Chartier, 2002 ; Chalmers et Giles, 2010).

Il a été montré que les oocystes de *C. parvum* pouvaient rester viables et infectieux dans l'eau pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0 et 30°C (Robertson *et al.*, 1992 ; Fayer *et al.*, 1998 ; Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).

Des études ont montré que la terre et la végétation avaient un effet protecteur sur la viabilité des oocystes principalement en atténuant l'effet des agents physico-chimiques à travers l'enfouissement des oocystes dans le sol (Atwill *et al.*, 2002 ; Betancourt et Rose, 2005). Ceux-ci peuvent persister plus longtemps dans le sol que dans l'eau.

Enfin, il a été montré que les matières fécales « protégeaient » les oocystes de la dessiccation en augmentant l'imperméabilité de leur paroi, les rendant ainsi moins sensibles aux facteurs létaux de l'environnement (Robertson *et al.*, 1992 ; Chalmers et Giles, 2010).

II-LA CRYPTOSPORIDIOSE BOVINE

II.1 Description

La cryptosporidiose a été décrite chez de nombreuses espèces animales, aussi bien domestiques que sauvages. Chez les ruminants, ce sont généralement les animaux les plus jeunes qui sont les plus réceptifs et les plus sensibles à l'infection alors que les animaux adultes infectés sont peu nombreux et asymptomatiques (Muñoz *et al.*, 1996 ; Ramirez *et al.*, 2004 ; Castro Hermida *et al.*, 2005 ; Santín *et al.*, 2008 ; Fayer and Santín, 2009; Paraud *et al.*, 2010 ; Silverlås *et al.*, 2010).

A l'heure actuelle, la cryptosporidiose est l'une des premières causes d'entérite diarrhéique des veaux nouveau-nés (Silverlås *et al.*, 2010). Cette parasitose entraîne d'importantes pertes économiques chez les ruminants nouveau-nés de par la mortalité et la morbidité qu'elle entraîne (de Graaf *et al.*, 1999). La prévalence moyenne de cette infection varie largement selon les pays et les différentes espèces hôtes de ruminants.

II.2 Espèces de *Cryptosporidium spp* présentes chez les bovins

L'utilisation de la biologie moléculaire a permis l'étude plus fine des espèces du genre *Cryptosporidium* retrouvées chez les ruminants.

Il existe de nombreuses études concernant les espèces de *Cryptosporidium* retrouvées chez les bovins. Les espèces *Cryptosporidium (C) parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae*, *C. andersoni*, *C. hominis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. suis*, *C. scrofarum* (anciennement *C. piggenotype II*) ont été signalées chez cette espèce de ruminant (Bornay-Llinares *et al.*, 1999 ; Fayer *et al.*, 2001 ; Santín *et al.*, 2004 ; Smith *et al.*, 2005 ; Geurden *et al.*, 2006 ; Feng *et al.*, 2007 ; Langkjaer *et al.*, 2007).

Les quatre espèces majoritairement retrouvées chez les bovins sont : *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* et *C. andersoni* (Xiao *et al.*, 2004 ; Santín *et al.*, 2004, 2008 ; Fayer *et al.*, 2006 ; Geurden *et al.*, 2006 ; Santín et Trout dans Fayer et Xiao, 2007).

Les espèces *C. felis*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. suis likegenotype* et *C. scrofarum*, *C. ubiquitum* n'ont été que très rarement identifiées. En effet, *C. hominis* n'a été rapporté en Ecosse, Inde et Corée (Smith *et al.*, 2005 ; Park *et al.*, 2006 ; Feng *et al.*, 2007). L'espèce *C. suis*, elle, a été rapportée aux Etats-Unis et en Zambie (Fayer *et al.*, 2006 ; Geurden *et al.*, 2006). Les espèces et

génotypes *C. suis* et *C. scrofarumont* été retrouvées au Danemark (Langkjaer *et al.*, 2007). L'espèce *C. felis* a été signalée une fois chez une vache en Pologne (Bornay-Llinares *et al.*, 1999). L'espèce *C. ubiquitum* a été identifiée une fois en France (Follet *et al.*, 2011).

Chez les bovins laitiers, une succession chronologique d'espèces de la naissance jusqu'à l'âge adulte a été suggérée aux Etats-Unis (Santín *et al.*, 2004, 2008). Cette succession fait intervenir les quatre principales espèces retrouvées chez les bovins : *C. parvum* qui est majoritairement présent chez les jeunes veaux non sevrés, *C. ryanae* et *C. bovis* sont retrouvés chez les jeunes animaux sevrés et *C. andersoni* devient prépondérant chez les vaches adultes (Santín *et al.*, 2004, 2008).

La caractérisation moléculaire des oocystes excrétés par les ruminants permet également de définir le caractère potentiellement zoonotique de certains isolats appartenant aux sous-types IIA et IID de *C. parvum*. L'identification des différents sous-types se fait par la détermination de la séquence de la glycoprotéine de surface gp60. Il convient donc d'évaluer le potentiel de transmission de *C. parvum* de s les ruminants vers l'homme.

Chez les bovins, les sous-types appartenant à la famille II a sont les plus rapportés mais les sous-types sont variables d'une région à l'autre (Alves *et al.*, 2003 ; Trotz-Williams *et al.*, 2006 ; Feng *et al.*, 2007 ; Xiao, 2010). Le sous-type majoritairement décrit dans le monde chez les bovins est le sous-type IIAA15G2R1 (Chalmers *et al.*, 2005 ; Alves *et al.*, 2006 ; Feng *et al.*, 2007; Trotz-Williams *et al.*, 2006 ; Xiao *et al.*, 2007). Dans certains pays tel que le Portugal ce sous-type est responsable de plus de 75% des infections chez des jeunes veaux (Alves *et al.*, 2006). Bien que, le sous-type IIAA15G2R1 soit le plus répandu dans le monde d'autres peuvent être retrouvés. En effet, dans le nord de l'Irlande, le sous- type IIAA18G3R1 est responsable de l'infection de 55,6 % des jeunes veaux (Thompson *et al.*, 2007). Les sous-types IIAA18G2R1 et IIAA19G2R1 sont dominants en Floride alors que dans le sud de l'Ontario on retrouve majoritairement trois autres sous-types : IIAA16G1R1, IIAA16G2R1 et IIAA16G3R1 (Santín et Trout dans Fayer et Xiao, 2007). Ce dernier, IIAA16G3R1 est plus largement décrit que les autres, il a été trouvé récemment chez des veaux en Angleterre et aux Pays-Bas (Wielinga *et al.*, 2008 ; Xiao *et al.*, 2007 ; Brook *et al.*, 2009).

Il a été décrit, dans les zones où il existe une grande diversité de sous types de *C. parvum*, que

plusieurs sous-types peuvent circuler au sein des élevages et même au sein d'un même veau (Peng *et al.*, 2003 ; Trotz-Williams *et al.*, 2006 ; Xiao *et al.*, 2007). Les raisons pour lesquelles on observe une différence de sous-types selon les régions ou pays ne sont pas claires. Les pratiques d'élevages telles que les achats d'animaux pourraient être à l'origine de l'augmentation de la diversité des sous-types de *C. parvum* au sein du troupeau (Tanriverdi *et al.*, 2006).

La forte prévalence du sous type IIaA15G2R1 chez les bovins et la détection de ce sous-type chez l'homme dans différents pays tels que l'Australie, le Portugal, la Slovénie et les Pays-Bas suggèrent que celui-ci peut se répandre facilement au sein de la population bovine et peut être à l'origine d'infection chez l'homme (Strong *et al.*, 2000 ; Alves *et al.*, 2003, 2006 ; Peng *et al.*, 2003 ; Chalmers *et al.*, 2005 ; Wielinga *et al.*, 2008 ; Soba et Logar, 2008).

Le rôle potentiel de réservoir des bovins (pour les oocystes de *C. parvum*) est bien établi.

Celui des ovins et caprins a été récemment examiné par Robertson en 2009. Cet auteur a montré qu'en dépit des grandes variations de prévalence de l'infection par *Cryptosporidium spp.*, la transmission des oocystes de *C. parvum* des petits ruminants à l'homme était possible. En effet, au vu des différents sous-types de *C. parvum* retrouvés chez les ruminants dans le monde, une transmission du parasite des ruminants à l'homme est donc parfaitement envisageable et a déjà été identifiée par plusieurs auteurs (Smith *et al.*, 2010 ; Ng *et al.*, 2012 ; Cacció *et al.*, 2013).

II.3 Sources potentielles de contamination

La contamination chez les animaux se fait de la même façon que chez l'homme, par ingestion d'oocystes infectants présents dans l'environnement.

Chez les ruminants, les oocystes peuvent être ingérés lors de la consommation d'aliments ou d'eau souillés, par léchage du pelage ou de la litière, ou bien, lors de contact avec du matériel d'élevage contaminé. En effet, il a été montré qu'un petit nombre d'oocystes de *C. parvum* (<50) pouvait suffire à infecter un veau (Moore *et al.*, 2003 ; Zambriski *et al.*, 2013).

Les jeunes ruminants sont la principale source d'oocystes dans l'environnement.

De plus, les jeunes ruminants excrètent de grandes quantités d'oocystes (100 à 10^7 - 10^8 opg) (Fayer *et al.*, 1998 ; Trotz-Williams *et al.*, 2007 ; Geurden *et al.*, 2008 ; Paraud, 2009). Les jeunes individus, les plus sensibles et les plus excréteurs, contribuent donc à une contamination

massive du milieu et à une transmission rapide du parasite au sein de l'élevage.

Les ruminants adultes sont très rarement malades mais jouent cependant un rôle de réservoir du parasite en raison d'une excrétion résiduelle à faible niveau (entre 100 et 1000 opg) (Fayer *et al.*, 2006, 2007; Kváč *et al.*, 2006 ; Castro-Hermida *et al.*, 2007; Santín *et al.*, 2008).

Il a été montré, par certains auteurs, qu'au moment de la mise-bas, les adultes en gestation excrétaient des quantités d'oocystes plus importantes favorisant la contamination du milieu (Ralston *et al.*, 2003 ; Castro-Hermida *et al.* 2005 ; de Waele *et al.*, 2012).

Ce phénomène n'est pas observé dans tous les élevages (caprins, ovins et bovins) et dans la plupart des cas l'augmentation du niveau d'excrétion n'est pas si évidente (Atwill et Pereira, 2003). Les niveaux d'excrétions observés autour de la mise-bas restent cependant nettement inférieurs à ceux observés chez les jeunes ruminants.

Aussi, *Cryptosporidium spp* a été isolé chez une grande variété d'animaux sauvages (cervidés, rongeurs, insectivores et lagomorphes), qui pour certains, partagent leurs habitats avec des animaux de ferme, fournissant alors une source additionnelle d'oocystes pour la contamination de l'environnement et favorisant la contamination du bétail (Ramirez *et al.*, 2004).

Comme nous l'avons vu précédemment, certaines espèces de *Cryptosporidium*, en particulier *C. parvum*, peuvent être retrouvées chez toutes les espèces de ruminants. Au sein d'un troupeau, la transmission peut être très rapide dès lors qu'un animal est contaminé, car les animaux sont généralement regroupés dans un espace relativement restreint.

Les jeunes ruminants sont les plus sensibles et les plus excréteurs et l'origine de la contamination est souvent difficile à identifier. En effet, la cryptosporidiose clinique peut toucher gravement certains élevages alors que d'autres ne sont pas ou peu touchés (Chartier, 2002 ; Geurden *et al.*, 2008 ; Santín *et al.*, 2004). Les oocystes, très résistants dans le milieu extérieur peuvent survivre jusqu'à 6 mois dans l'eau, les litières ou le fumier dans des conditions de température modérée et ainsi être à l'origine de nouvelles infections.

Moore *et al.*,(2003) ont montré chez le veau que plus la dose infectante était élevée, plus la durée de l'excrétion et le nombre d'oocystes excrétés étaient importants. Il paraît donc important de minimiser l'infection chez les nouveau-nés pour limiter l'évolution de la contamination de l'environnement et ainsi la transmission du parasite. Il est d'ailleurs fortement conseillé de ne pas laisser les jeunes animaux malades en contact avec les nouveaux animaux naissants ni de laisser

des animaux d'âge différents dans un même parc (Delafosse *et al.*, 2006). Ce genre de pratique permettrait de minimiser l'infection des nouveau-nés. L'apparition de la cryptosporidiose passe en général par une phase «d'amplification du parasite» se produisant chez les jeunes et aboutissant à une contamination massive de l'environnement. Ce phénomène peut expliquer le fait que la cryptosporidiose soit plutôt une maladie de fin de saison de mise-bas (Causapé *et al.*, 2002; Delafosse *et al.*, 2006; Giadinis *et al.*, 2012).

Les adultes ruminants n'excrètent le parasite qu'à faible niveau (Fayer *et al.*, 2006, 2007 ; Castro-Hermida *et al.*, 2007 ; Santín *et al.*, 2008). Etant donné que peu d'études ont présenté les résultats de caractérisation moléculaire des espèces retrouvées chez les petits ruminants au moment de la mise-bas, on peut s'interroger sur la signification épidémiologique de cette augmentation et son rôle sur la transmission de l'infection aux nouveau-nés. Cette hypothèse est à vérifier car il a été montré, chez les bovins, que les espèces retrouvées chez le jeune et l'adulte étaient différentes (Ralston *et al.*, 2003 ; Santín *et al.*, 2004). Cette hypothèse pourrait donc être infirmée par la caractérisation moléculaire des isolats retrouvés chez les adultes, s'il s'avère que la distribution des espèces est différente entre les jeunes et les adultes.

Enfin, l'espèce *C. parvum* peut être retrouvée chez les ruminants et chez l'homme. Les animaux peuvent être à l'origine de la contamination des hommes (via l'eau, l'alimentation ou simple contact), mais ceux-ci, peuvent également être contaminés « par l'homme ». En effet, le personnel travaillant sur l'exploitation peut, en contact avec un animal infecté, véhiculer des oocystes dans l'environnement proche ou éloigné en allant par exemple d'un atelier bovin à un atelier caprin ou ovin.

La lutte contre la transmission du parasite est d'autant plus difficile que l'accumulation des oocystes dans l'environnement n'est pas maîtrisée au fil du temps. Il paraît donc important de respecter les règles d'hygiène aussi bien au sein des bâtiments d'élevage que pour le matériel utilisé au sein des différents ateliers.

II.4 Facteurs favorisant chez les bovins

Comme chez l'homme, la maladie s'observe essentiellement chez les jeunes (< 2 mois) (Causapé et al., 2002 ; Santín *et al.*, 2004 ; Fayer et al., 2006, 2007 ; Castro-Hermida et al., 2007 ; Santín et al., 2007 ; Geurden et al., 2008 ; Paraud et al., 2009). Il a été montré que les animaux s'infectent dès la naissance et que la prévalence d'excrétion est maximale chez les ruminants non sevrés. En effet, l'excrétion débute vers 4-5 jours d'âge, atteint son maximum entre 7 et 10 jours puis diminue à partir de 16-17 jours (Trotz-Williams *et al.*, 2007 ; Paraud et al., 2010).

Chez l'animal, la chute ou le manque de compétences immunitaires semblent être corrélées à une augmentation de la sensibilité et de la réceptivité aux cryptosporidies. Les jeunes ruminants sont plus fragiles car leur système immunitaire est encore immature. En cas de mauvais transfert d'immunité colostrale, il a été montré que la sensibilité aux pathogènes tels que *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus et *Cryptosporidium spp* est augmentée (Radostits et al., 2000 ; Duranti et al., 2009). Des infections mixtes (bactérie/virus et parasite) ont déjà été observées chez les jeunes ruminants, elles seraient plus fréquentes et plus graves que les mono-infections à *C. parvum* (Chartier, 2002, Radostits et al., 2000 ; Gulliksen et al., 2009 ; Silverlås et al., 2010). D'autres associations ont également été observées entre *C. parvum* et des bactéries pathogènes (Salmonella, Campylobacter, Clostridium..) mais leurs interactions n'ont pas été démontrées (Radostits et al., 2000 ; Barrington et al., 2002 ; Bartels et al., 2010 ; Sweeny et al., 2011). Il paraît donc probable qu'une primo-infection par un de ces agents pathogènes affaiblit l'animal qui répondrait alors moins efficacement face à une deuxième infection due à *Cryptosporidium spp*.

L'alimentation pourrait également influencer la sensibilité des ruminants à *Cryptosporidium spp*. En effet, un déficit énergétique (quantitatif ou qualitatif) affaiblissant les animaux augmenterait la sensibilité des animaux aux infections (Radostits et al., 2000 ; Trotz-Williams et al., 2007 et 2008).

Les facteurs de risques liés à l'apparition de la maladie au sein d'un troupeau dépendent majoritairement des méthodes d'élevage. Celles-ci diffèrent en fonction du caractère traditionnel

ou industriel de l'élevage, du mode d'élevage (box individuel ou non), du type de mise-bas (collective ou non), des facteurs hygiéniques (fréquence du nettoyage des bâtiments, ventilation, paillage), ainsi que de la promiscuité entre élevages bovins, caprins et ovins au sein d'une même exploitation (Sischo et al., 2000 ; Hoar et al., 2001).

Une densité animale trop élevée au sein d'une exploitation, la taille limitée des parcs et box ou un défaut dans la gestion des lots favorisent la contamination massive de l'environnement et ainsi la transmission du parasite (Causapé et al., 2002 ; Delafosse et al., 2006 ; Trotz-Williams et al., 2007, Duranti et al., 2009). En effet, une mise en lot par classe d'âge permet de limiter les contacts et la circulation du parasite entre les animaux d'âge différents (et donc de niveaux d'excrétion différents). Les nouveau-nés arrivent dans un parc propre et ne se contaminent pas avec les cryptosporidies excrétées par les animaux plus âgés.

Les risques de transmission sont augmentés lorsque les animaux malades ne sont pas isolés du reste du troupeau (Causapé et al., 2002 ; Delafosse et al., 2006 ; Trotz-Williams et al., 2007).

Enfin, les contacts éventuels des animaux de l'exploitation avec la faune sauvage (ruminants sauvages, carnivores, sangliers excréant *C. parvum*) ainsi que le devenir des lisiers, fumiers non compostés sont également des facteurs favorisant l'apparition de la maladie au sein de l'élevage (Trotz-Williams et al., 2007 ; Duranti et al., 2009).

Le bâtiment d'élevage joue un rôle essentiel dans la contamination des animaux. Un bâtiment avec une hygiène limitée (curage irrégulier, défaut de paillage, manque de désinfection) multiplier les risques de propagation de la cryptosporidiose du fait de la grande résistance des oocystes dans l'environnement associé aux forts niveaux d'excrétion des jeunes ruminants (Fayer et al., 1998 ; Geurden et al., 2008 ; Duranti et al., 2009; Silverlås et al., 2010). Il a été montré que le risque de cryptosporidiose était diminué lorsque les veaux sont élevés sur sol bétonné comparé à de la paille et de la terre battue (Castro-Hermida et al., 2002 ; Trotz-Williams et al., 2008). Cela est probablement à relier au nettoyage puisque le type de sol conditionne la méthode de nettoyage (nettoyage haute pression sur sol bétonné).

Une étude réalisée dans le département des Deux-Sèvres analysant les facteurs de risques en élevage caprin, a rapporté que les naissances en fin de période de mise-bas et l'absence de vide

sanitaire entre 2 bandes étaient des facteurs de risques concernant l'apparition de la cryptosporidiose du chevreau (Delafosse et al., 2006).

De plus, les périodes de vêlage, agnelage et épandage de fumier influencent la distribution saisonnière des oocystes et peuvent faciliter la transmission du pathogène. Ces périodes peuvent donc être considérées comme étant à risque pour l'apparition de la maladie (Hoar et al., 2001 ; Causapé et al., 2002 ; Ramirez et al., 2004 ; Delafosse et al., 2006 ; Keeley et al., 2008 ; Trotz - Williams et al., 2007).

Enfin, le matériel de l'exploitation (ustensiles pour alimentation, la distribution d'eau) peut être une source supplémentaire de propagation de la maladie car il peut véhiculer des oocystes infectieux d'un animal à un autre ou d'un atelier à un autre, tout comme le personnel travaillant dans l'exploitation.

Il existe le plus souvent un grand décalage entre les recommandations d'hygiène et de soins à apporter aux nouveau-nés et ce qui est appliqué réellement en élevage. Ce décalage est sans doute lié aux densités élevées d'animaux sur un temps très bref engendrant un pic de travail conduisant ainsi les exploitants à négliger certains aspects de l'élevage (en particulier pour les jeunes caprins). Cependant la maîtrise de l'hygiène générale dans l'élevage en conformité avec les recommandations existantes semble être une des voies majeures d'amélioration immédiate pour la maîtrise des infections néonatales.

II.5 Aspects cliniques

Chez les bovins, plusieurs espèces de *Cryptosporidium spp* sont signalées en fonction de l'âge des animaux. De nombreuses études ont démontré la forte prévalence de l'espèce zoonotique *C. parvum* chez les jeunes veaux non sevrés (Santín et al., 2004, 2008 ; Geurdenet et al., 2008).

Chez le veau, la période pré-patente de cette espèce varie entre 2 et 7 jours, avec la plupart des infections détectées à partir de 4-5 jours, et la période patente a une durée comprise entre 1 et 12 jours (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).

Les signes cliniques observés chez les ruminants varient d'une absence de signes cliniques à une diarrhée très sévère.

Chez les jeunes bovins, *C. parvum* est responsable de diarrhée aigüe aqueuse, blanche à jaunâtre. Celle-ci peut être plus ou moins mucoïde mais est rarement sanglante, elle s'accompagne généralement d'anorexie, fièvre, déshydratation, perte de poids conduisant à des forts retards de croissance (Tziporiet *al.*, 1983 ; de Graaf et al., 1999 ; Chartier, 2002 ; Fayer, 2004 ; Santín et Trout dans Fayer et Xiao, 2007).

Cette diarrhée dure habituellement de quelques jours à deux semaines, parfois plus, en raison des possibles ré-infections. Elle peut également se maintenir sur toute la période de la maladie ou être intermittente. L'évolution de la maladie est variable, allant de la guérison à la mortalité par déshydratation sans passage à la chronicité (de Graaf *et al.*, 1999).

Pour ce qui est de l'espèce *C. bovis*, les données diffèrent selon les auteurs. Certains auteurs rapportent que *C. bovis* est retrouvé chez les veaux en post-sevrage et ne serait pas à l'origine de diarrhée (Santín et al., 2004 ; Fayer et al., 2006 ; Geurden et al., 2006). A l'inverse pour Silverlås et al. (2010 , 2013), *C. bovis* serait retrouvé chez des jeunes veaux (2-3 semaines) et serait à l'origine de diarrhée. Récemment, chez les caprins, une autre espèce que *C. parvum*, très proche génétiquement de *C. bovis*, *C. xiaoi*, a également été retrouvée chez des chevreaux diarrhéiques (Díaz et al., 2010).

La cryptosporidiose entraîne donc d'importantes pertes économiques chez les ruminants nouveau-nés de par la mortalité et la morbidité (retard de croissance) qu'elle engendre (de Graaf et al., 1999 a). Certaines espèces retrouvées chez les bovins (*C. ryanae* et *C. andersoni*), les ovins et les caprins (*C. ubiquitum*) n'ont cependant jamais été retrouvées chez des animaux malades. Ces données présentent ainsi les différences phénotypiques existantes entre les espèces de *Cryptosporidium spp* et réaffirment l'intérêt des outils moléculaires qui permettent l'identification de celles-ci pour approfondir les connaissances sur la cryptosporidiose des ruminants.

II.6 Diagnostic

Le diagnostic de la cryptosporidiose repose sur la mise en évidence de la forme de résistance, l'oocyste (Geurdenet *al.*, 2006 ; Brook et al., 2007). La mise en évidence des oocystes peut se faire de façon directe, à l'aide de techniques de coloration appliquées à des échantillons coproscopiques (par exemple, coloration de Heine, ou celle de Ziehl-Nielsen modifiée) ou bien par marquage, avec des anticorps monoclonaux fluorescents (immunofluorescence : IF). Des tests ELISA, ciblant les antigènes de *Cryptosporidium*spp, sont également disponibles et peuvent être utilisés lors de la recherche du parasite (Smith dans Fayer et Xiao, 2007). D'autre part, la mise en évidence du parasite peut se faire de façon directe à l'aide de la biologie moléculaire et notamment par Polymerase Chain Reaction (PCR) ciblant un gène propre au genre *Cryptosporidium*.

Les méthodes de coloration, bien que moins coûteuses et plus rapides, sont moins sensibles que certaines autres techniques d'identification du parasite et ne présentent pas une spécificité de 100 %. Elles restent tout de même des méthodes de choix lors du diagnostic de cryptosporidiose car l'excrétion est toujours très forte, lors de maladie, et donc largement au dessus du seuil de détection permis par ces méthodes.

Les techniques de biologie moléculaire présentent quant à elle un intérêt supplémentaire : elles permettent d'identifier spécifiquement l'espèce de *Cryptosporidium*spp présente dans un échantillon.

II.7 Traitement

L'éradication du parasite dans l'organisme mais également dans l'environnement pose un important problème tant en santé humaine que vétérinaire. En effet, *Cryptosporidium* détient une position unique dans la cellule hôte puisque le parasite est intracellulaire mais extra-cytoplasmique (Manent-Manent, 2014). Cette place le protège de l'action de très nombreuses molécules et explique en partie la résistance de celui-ci aux traitements disponibles sur le marché. De plus, la maîtrise de la contamination de l'environnement est difficile en raison de la très grande résistance des oocystes en milieu naturel mais également en présence de désinfectants usuels (Manent-Manent, 2014).

Il apparait ainsi que la lutte contre la cryptosporidiose doit se concentrer sur plusieurs fronts (Manent-Manent, 2014) :

- La mise en place d'un traitement symptomatique et adjuvant permettant de limiter les signes cliniques chez les malades ;
- Intensifier les recherches pour trouver un traitement étiologique qui permettrait d'éradiquer le parasite de manière efficace ;
- séparer le veau de sa mère
- Des mesures préventives concernant tant l'hygiène des individus et des locaux que le traitement de l'eau et des aliments (Shahiduzzaman et Dauschies, 2012).

II.7.1 Essais thérapeutiques

Deux molécules ont fait l'objet de la majorité des essais chez les ruminants : le lactate d'halofuginone (quinazolinone) et le sulfate de paromomycine (antibiotique aminoside). Les travaux disponibles dans la littérature ont été réalisés dans des contextes variables (infection naturelle ou expérimentale) avec des protocoles différents (administration préventive ou curative de ces substances). Les critères d'efficacité évalués sont également différents d'une étude à l'autre : mortalité, score de diarrhée, pourcentage ou intensité d'excrétion (Fayer et Ellis 1993 ; Naciri et al., 1993 ; Chartier et al., 1996, 1999 ; Viu et al., 2000 ; Lefay et al., 2001 ; Giadinis et al., 2007, 2008 ; Paraud et Chartier, 2012).

En France, le lactate d'halofuginone est le seul médicament autorisé. L'administration de celui-ci se fait de façon orale. Il a une action cryptosporidiostatique (les parasites ne sont pas éliminés mais leur développement est retardé) et n'agit que sur les stades asexués (soit pendant les deux premiers jours du cycle) (Villacorta et al., 1991).

Il est commercialisé sous le nom d'Halocur[®], avec, comme indication, la prévention de la cryptosporidiose du veau. Ce médicament, destiné aux veaux, présente d'autres contraintes, en effet, l'administration quotidienne est individuelle et doit se faire après la tétée ou la buvée.

Chez les veaux, il a été rapporté que l'administration préventive d'une dose journalière

supérieure à 0.06 mg/kg pendant 7 jours (0.1 mg/kg/j étant la dose de l'AMM) permettait une réduction de l'excrétion en oocystes et de la diarrhée, sans effet sur le gain moyen quotidien (GMQ) (Villacorta et al., 1991 ; Lefay et al., 2001). Quand l'administration est curative (animaux en diarrhée), sur 7 jours, une faible réduction du niveau d'excrétion est observée mais l'effet sur la diarrhée est très limité (Naciri et al., 1999). Cette substance s'est avérée partiellement efficace dans la prévention de la cryptosporidiose du veau. Pour être efficace, le traitement doit commencer au cours des 48 premières heures de vie. Il permet alors une réduction significative du nombre d'oocystes excrétés et de la diarrhée.

II.8. Prophylaxie

II.8.1. Prophylaxie hygiénique

La prévention médicamenteuse est coûteuse et contraignante en élevage. Chez les ruminants, le contrôle de la cryptosporidiose est essentiellement prophylactique, avant que les animaux ne soient cliniquement atteints.

Dans le but de lutter contre la cryptosporidiose en élevage et plus précisément contre la transmission du parasite, une prophylaxie hygiénique doit tout d'abord être mise en place. En effet, la transmission se faisant par l'ingestion d'oocystes, il paraît important de réduire l'importance du parasite présent dans l'environnement pour minimiser les possibilités de contact des animaux avec celui-ci.

Les règles d'hygiène au sein des bâtiments d'élevage sont primordiales pour éviter la maladie chez les jeunes animaux. En effet, le premier point à respecter, dans le but de préserver un environnement le moins contaminé possible, est le nettoyage des locaux (curage de litières) suivi d'un vide sanitaire entre chaque bande d'animaux (Delafosse et al., 2006). Les désinfectants de choix sont l'ammoniac (entre 5 et 10%) et le formol (10%). Le respect de ces règles peut réduire de façon importante l'incidence d'un épisode de cryptosporidiose (Chartier, 2002).

Le second point important est de retarder le plus possible l'exposition des animaux aux oocystes de *Cryptosporidium spp.* En effet, les trois premières semaines de vie sont celles où les

animaux sont les plus sensibles et réceptifs à la maladie (Muñoz et al., 1996 ; Ramirez et al., 2004 ; Paraud et al., 2010 ; Castro Hermida et al., 2007 ; Santín et al., 2008 ; Fayer et Santín, 2009; Silverlås et al., 2010 a). Les infections survenant après un mois sont généralement moins graves cliniquement que celles ayañt lieu avañt (Harp et al., 1990 ; Muñoz et al., 1996 ; Trotz-Williams et al., 2007; Santín et al., 2008 ; Paraud et al., 2009). Il est donc important d'isoler les jeunes animaux malades du reste des animaux (Causapé et al., 2002 ; Delafosse et al., 2006 ; Trotz-Williams et al., 2007).

Cependant, la maîtrise hygiénique n'étant pas simple à adopter en raison de la grande résistance des oocystes dans l'environnement et des forts niveaux d'excrétion des jeunes, le recours à l'emploi de médicaments coûteux est souvent nécessaire pour limiter les pertes par mortalité ou par retard de croissance.

II.8.2 Prophylaxie médicale (la vaccination)

Actuellement, il n'existe aucun vaccin disponible contre la cryptosporidiose clinique mais des études ont montré des résultats encourageants lors de la vaccination des mères et de distribution du colostrum hyper-immun aux nouveau-nés (Fayer et al., 1989 ; Shahiduzzaman et Dauschies, 2012).

Partie Pratique

III. *Matériel et Méthode*

III. matériel et méthodes

III.1. Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la prévalence de *Cryptosporidium spp* ainsi que le rôle de certains facteurs liés à l'animal et/ou à son environnement sur l'infection cryptosporidienne chez les bovins dans la wilaya de Laghouat.

III.2. Présentation générale de la région et des sites d'étude

La wilaya de Laghouat regroupe actuellement 10 daïras et 24 communes. Sa superficie est de 27561,6 km². Elle est limitée au nord par la wilaya de Tiaret, à l'est par la wilaya de Djelfa, au sud par la wilaya de Ghardaïa et à l'ouest par la wilaya d'El Bayadh. Elle est située au centre du pays à 400 km au sud de la capitale Alger. Celle-ci est essentiellement à caractère agropastorale. Son climat saharien est aride avec des moyennes de 8°C en hiver et de 27°C en été (Salemkouretal., 2013).

Elle est traversée au sud par la chaîne de l'Atlas Saharien avec des sommets qui dépassent les 1200 m. Située à plus de 750 mètres d'altitude sur les hauts plateaux, entre 33° de latitude Nord et 62° de longitude Est (DSA , 2014).

La présente étude a été réalisée au niveau de trois sites appartenant à la région de Laghouat : Laghouat-ville, Assafia et Bennaceur Benchohra (Figure 8).

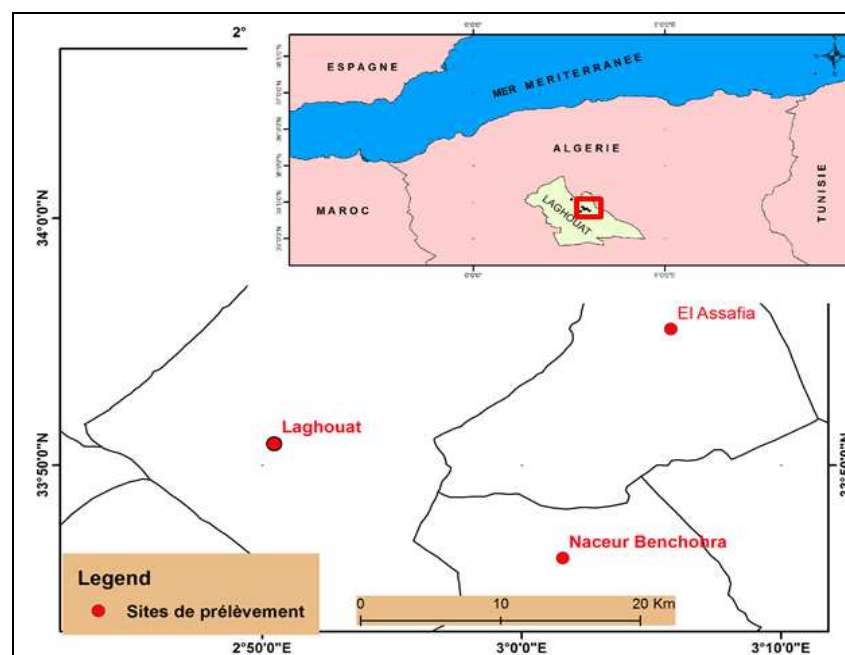


Figure 8: Carte de localisation des sites de prélèvement (logiciel ARCGIS V10.2)

III.3. Lieu et période d'étude

L'étude a été conduite sur une période de 3 mois allant de février au mois d'avril 2018. L'étude a eu lieu dans 3 communes appartenant administrativement à la wilaya de Laghouat. Ces communes sont les suivantes : La commune de Laghouat, La commune de Bennaceur-benchohra, Commune de El-Assafia.

Les analyses coprologiques ont eu lieu dans deux laboratoires à savoir :

- Laboratoire de parasitologie du département de Biologie de l'Université Amar Telidji de LAGHOUAT.
- Laboratoire régional vétérinaire de LAGHOUAT.

III.4. Matériel animal (figure 9)

L'étude a été réalisée dans 13 fermes dont 4 grands élevages et 9 petites fermes de vaches laitières. Au total, 300 bovins ont été utilisés dans cette étude. Les caractéristiques des animaux étudiés sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques des bovins étudiés.

Caractéristiques		Nombre d'animaux par site d'étude			Total
		Commune de Laghouat	Commune de Bennaceur benchohra	Commune El-Assafia	
Sexe	Femelle	141	35	20	196
	Male	76	13	15	104
Race	Prim'Holstein	160	26	19	205
	Montbéliarde	57	22	16	95
Age	De 14j à 30j	14	0	6	20
	De 1M à 3M	53	17	7	77
	De 4M à 12M	43	1	1	45
	De 1an à 2ans	43	7	12	62
	Plus de 2ans	64	23	9	96
Type d'élevage	Intensif	127	31	0	158
	Semi-intensif	90	17	35	142
Déparasitage	Animaux déparasités	105	31	15	151
	Animaux non déparasités	112	17	20	149



Figure 9 : Animaux objet de notre étude (photos personnelles, 2018).

III.5. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé dans la présente étude est présenté en **annexe 3**.

III.6. Méthodologie

III.6.1. 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 (annexe 4).
- La race.

- Type d'élevage.
- Présence de diarrhée.

Une fiche de renseignement a été remplie à la visite de chaque ferme contenant quelques informations relatives aux élevages visités et aux animaux prélevés (voir annexe N°2).

III.6.2. Echantillonnage et prélèvements

L'échantillonnage a été effectué de façon aléatoire, selon la disponibilité et la coopération des éleveurs sollicités. Les prélèvements étaient à base de matières fécales animales, prélevées directement à partir du rectum (Figure10). Après la récupération des fèces, celles-ci ont été placées dans des boîtes de prélèvement stériles, étiquetées (la date du prélèvement, l'âge, le

sexe et éventuellement la race de l'animal sont mentionnés) puis transportés dans une glacière au laboratoire. Les échantillons qui ne sont pas analysés le jour même sont conservés sous froid à 4°C. Au total 300 échantillons de fèces ont été collectés.



Figure10: technique de prélèvement des matières fécales (photos personnelles, 2018)

III.6.3. 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, présence du sang, du pus ou de glaire ;
- L'observation des différentes formes de parasites (œufs, larves, vers...etc.).

B. Examen microscopique des selles (figure 11)

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), selon les étapes suivantes :

- Etaler le plus finement possible une goutte de fèces sur une lame.
- Fixer à l'éthanol à 95% pendant 5 minutes.
- Flamber la lame au bec bunsen.

- Recouvrir la lame encore chaude à la fuchsine de Ziehl et laisser agir pendant 5 min.
- Rincer à l'eau du robinet jusqu'à élimination de la fuchsine 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 de malachite à 0,25% ou de bleu de méthylène pendant 30 secondes.
- Sécher.
- Observer au microscope optique (objectif $\times 100$), sans recouvrir d'une lamelle (en utilisant l'huile à immersion).

Lorsque c'est positif, les oocystes sont colorés en rouge ou en rose sur un fond vert ou bleu.

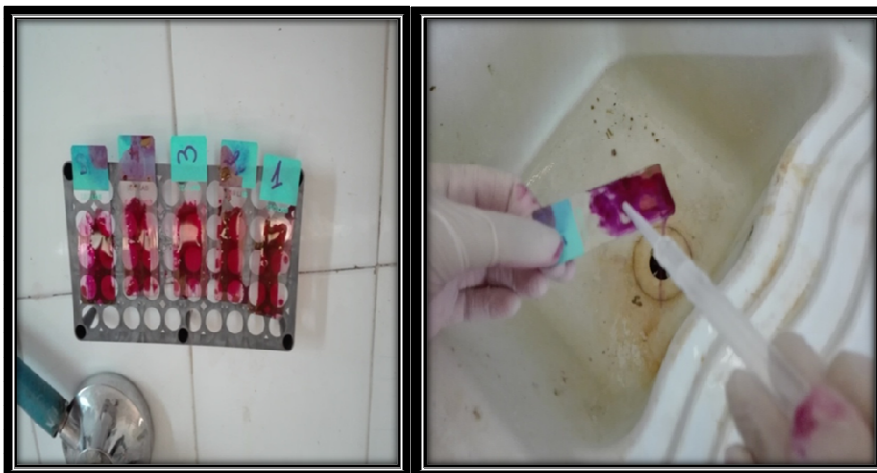


Figure 11: Réalisation de la technique de Ziehl-Nielsen modifiée (photos personnelles, 2018).

III.6.4. Calcul de la prévalence totale

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

$$P (\%) = \frac{HP}{HE} \times 100$$

IV. Traitement statistique des données

Les résultats enregistrés ont été regroupés dans un fichier Excel 2007 pour la réalisation des graphes et le calcul des prévalences.

L'effet des facteurs de variation a été analysé à l'aide de logiciel SPSS (version 20) en utilisant le test Khi-deux. La différence est considérée significative à un seuil de $p < 0,05$.

IV. Résultats

VI.1. *Cryptosporidium* spp observés chez les animaux étudiés

Les oocystes colorés en rouge vif ou rose sur un fond vert. Certains peuvent apparaître sous forme de disques vides alors que d'autres peuvent contenir des éléments en croissant qui sont caractéristiques des sporozoïtes (figure 12).

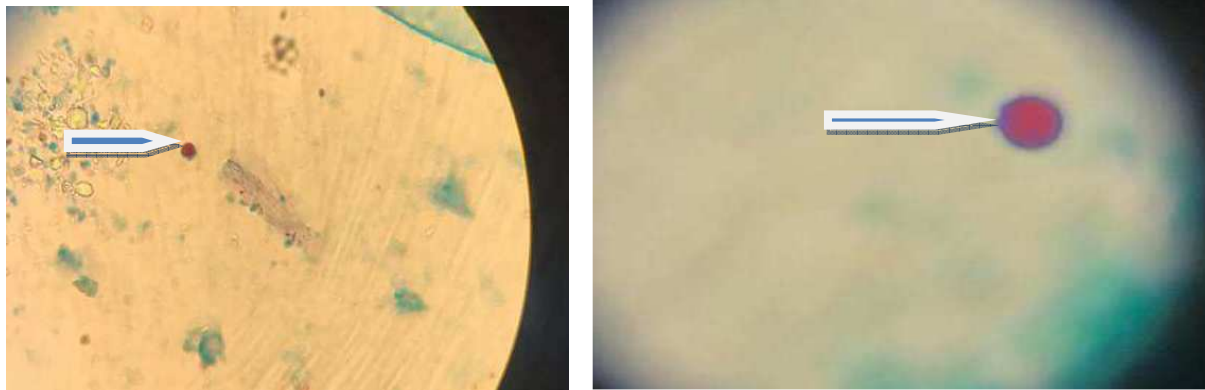


Figure12: Oocystes de *Cryptosporidium* spp. Observés sous microscope optique : G x 1000, huile à immersion (Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée) (photos personnelles, 2018).

IV.2. Prévalence générale de *Cryptosporidium* spp

Sur les 300 bovins prélevés, 164 étaient infestés par le *Cryptosporidium*, soit un taux de prévalence globale de 54.7 % (Figure13).

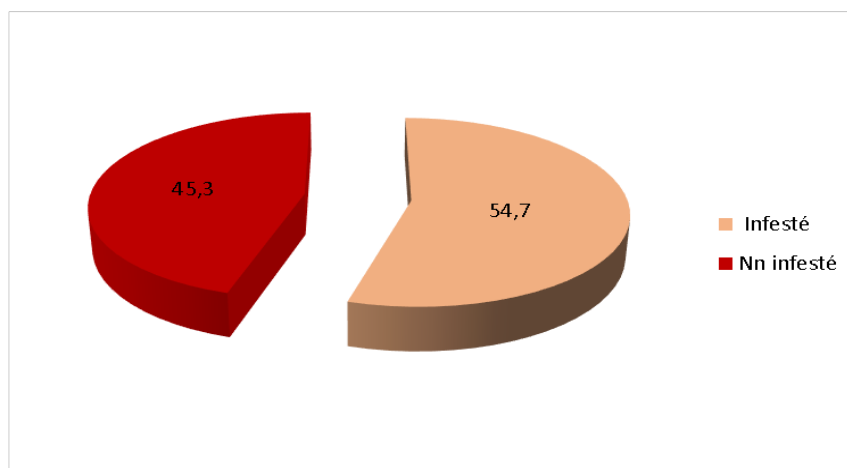
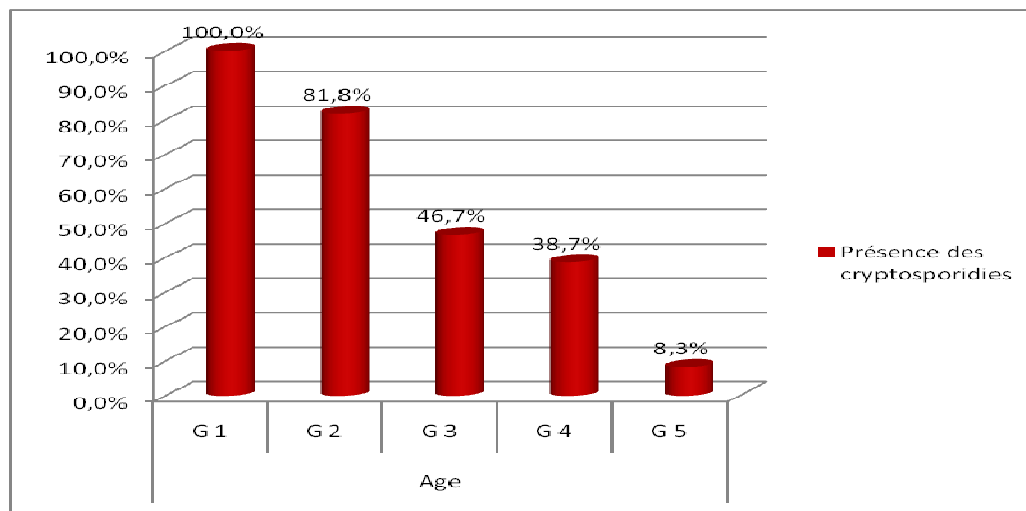


Figure13 : La prévalence générale de *Cryptosporidium* spp chez les bovins étudiés.

IV.3. 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 14, montre que le taux d'infestation des animaux de 14 jours à 30 jours (100%) était supérieur à celui des autres groupes. L'analyse statistique a révélé que l'écart est très significatif ($p < 0,001$).



G1 : de 14j à 30j ; G2 : de 1M à 3M ; G3 : de 4M à 12M ; G4 : de 1 an à 2ans ; G5 : plus de 2ans.

Figure 14 : Représentation graphique du taux de parasitisme chez les groupes d'âge.

B. Influence du sexe

De façon générale, le taux de parasitisme chez les femelles (47.4%) était supérieur à celui des mâles (41.3%) (Figure 15). Cependant, l'analyse statistique a révélé que l'écart n'était pas significatif ($p > 0,05$).

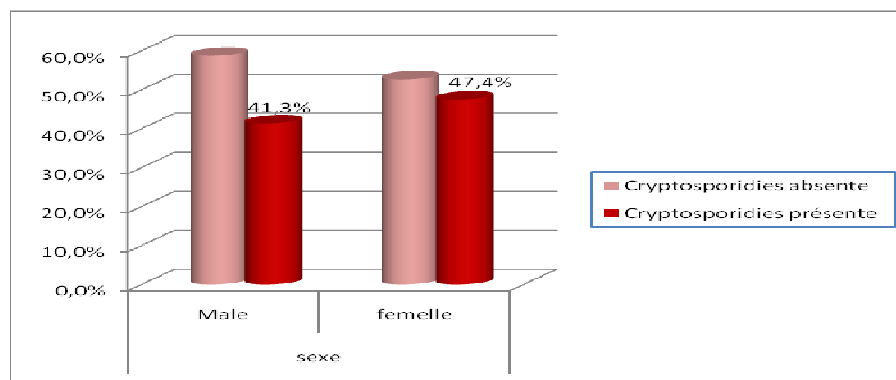


Figure 15 : Représentation graphique du taux de parasitisme chez les deux sexes.

C. Influence de la race

Le taux du parasitisme en fonction de la race, illustrée sur la figure 16, montre que le taux d'infestation chez les bovins de la race Prim'Holstein (49.8%) était supérieur à celui de la race montbéliarde (35.8%). Cependant, l'analyse statistique n'a pas révélé une différence significative sur le plan statistique ($p>0,05$).

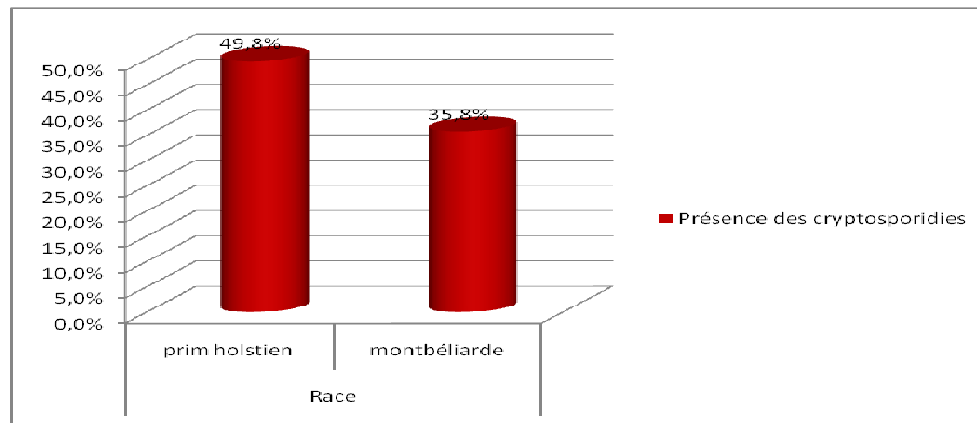


Figure 16 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon la race.

D. Influence du type d'élevage

Le taux du parasitisme en fonction de type d'élevage, illustrée sur la figure 17, montre que le taux d'infestation dans les élevages intensifs (46.8%) était supérieur à celui des élevages semi-intensifs (43.7%). Cependant, l'analyse statistique a révélé que la différence n'était pas significative ($p>0,05$).

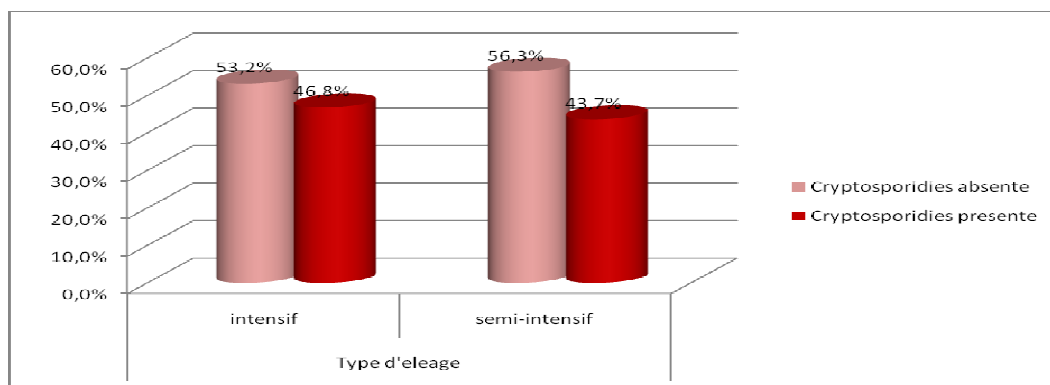


Figure 17 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon le type d'élevage.

E. Influence du déparasitage

Le taux du parasitisme en fonction de déparasitage, illustrée sur la figure 18, montre qu'il n'y a pas de grande différence entre le taux d'infestation chez les bovins déparasités (45.7%) et

les bovins non déparasités (45.0%). Dans ce sens, l'analyse statistique a révélé que l'écart n'était pas significatif ($p > 0,05$).

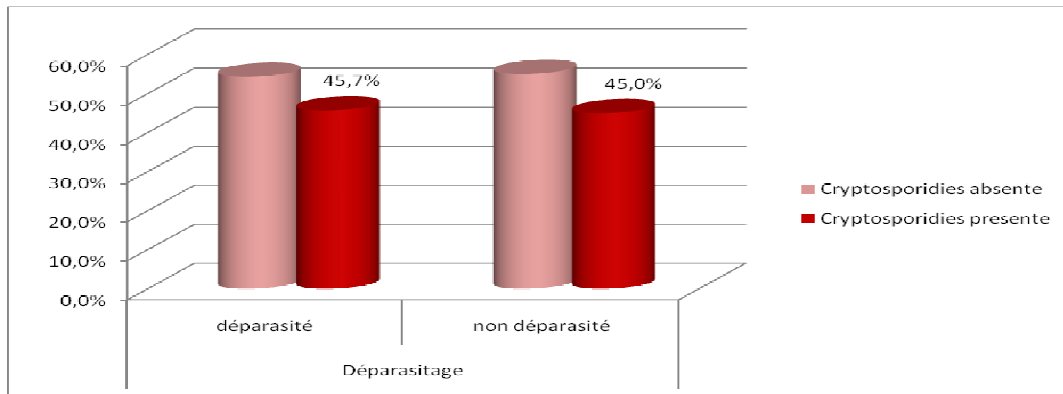


Figure 18 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon le déparasitage des animaux.

F. Influence de la diarrhée

Le taux du parasitisme en fonction de la présence de diarrhée ou non, illustrée sur la figure 19, montre que le taux d'infestation des animaux diarrhéiques (64.4%) était supérieur à celui des animaux non diarrhéiques (35.2%). De plus, l'analyse statistique a révélé que l'écart est très significatif ($p < 0,001$).

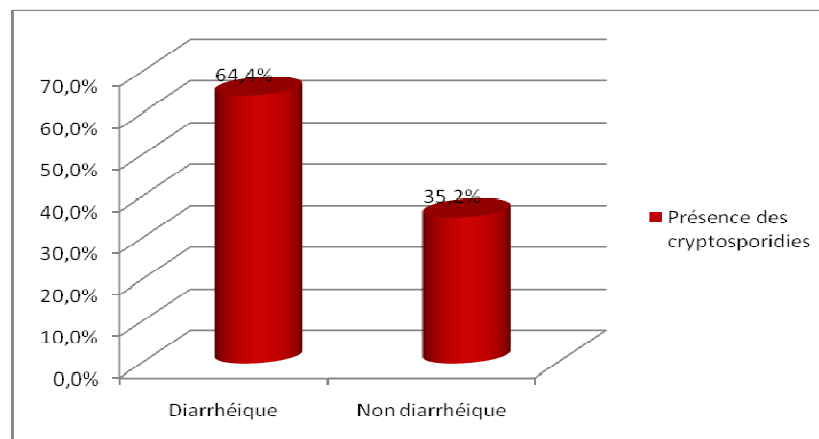


Figure 19 : Représentation graphique du taux de parasitisme selon la présence de diarrhée.

V-Discussion

Discussion

Noter étude a été réalisée pour évaluer la prévalence de *Cryptosporidium spp* sur des élevages bovins dans la région de Laghouat. Les facteurs de risques associés à la présence de ce parasite chez cette espèce animale ont été également étudiés.

Nous avons utilisé la coloration de Ziehl Neelsen pour la recherche de *Cryptosporidium spp*. Nos résultats ont révélé une présence élevée de *Cryptosporidium spp* chez les bovins de la région d'étude. En effet, la présence du parasite est relevée dans tous les sites étudiés mais à des proportions variables.

Sur les 300 bovins étudiés, 164 étaient infestés par *Cryptosporidium spp*, soit un taux de prévalence générale de 54.7 %. Ce taux relativement élevé serait lié à la forte résistance des oocystes de ce parasite dans le milieu extérieur (résistants à la majorité des désinfectants, aux variations de températures...) (Fayer *et al.*, 1998 b ; Atwill *et al.*, 2002 ; Betancourt et Rose, 2005 ; Fayer dans Fayer et Xiao, 2007). Aussi, ils sont directement infectants (**Philippin, 2010**). Il faut citer également qu'un animal infesté peut excréter jusqu'à 10^9 oocystes par jour alors que seulement 10 oocystes peuvent contaminer un autre sujet sain (**Beth Wells *et al.*, 2014**).

D'autres recherches sur la prévalence de *Cryptosporidium spp* chez les bovins, ont été effectuées en Algérie et à travers le monde. Les résultats d'une partie de ces études sont résumés dans (le tableau 4).

Discussion

Tableau 4: Comparaison de la prévalence de *Cryptosporidium spp* chez les bovins dans plusieurs régions du monde

Auteur	Région et période d'étude	Echantillon (n)	Prévalence Générale de <i>Cryptosporidium spp</i> %
Présent travail, 2018	Laghouat (février, mars et avril 2018).	300	54.7%
(Sahli et Bellakehal, 2016)	Laghouat (de juin 2015 à mai 2016).	102	2,94%
(Chikhaoui et Touhami, 2015)	Laghouat (février, mars et avril 2015)	100	45%
(Akam <i>et al.</i> , 2007)	Mitidja	5619	36,67%
(Ouchane <i>et al.</i> , 2012)	Sétif	634	69,2%
(Khelaf <i>et al.</i> , 2007)	Est et Centre d'Algérie	3452	17%
(Khelaf <i>et al.</i> , 2001)	Mitidja	2613	54%
(Aknikeotu <i>et al.</i> , 2014)	Nigeria	200	37,5%
(Darabus <i>et al.</i> , 2001)	Roumanie	2715	45,6%
(Proença, 2012)	Portugal	848	35%
(Kajohn <i>et al.</i> , 2008)	Thaïlande	200	28%
(Ray, 2006)	Inde	940	18%
(Quilez , 1996)	Espagne	554	19%
(Huang <i>et al.</i> , 2014)	Nord-ouest Chine	1366	1,61%

Discussion

L'examen coprologique a révélé un taux de 45,3% pour *Cryptosporidium spp.* Cette valeur se rapproche de celle enregistrée par **Chikhaoui et Touhami (2015)** (45%) dans la même région, donc dans les mêmes conditions climatiques. Par contre, elle est supérieure à celle trouvée par **Sahli et bellakehal (2016)** (2,94%) qui ont aussi travaillé à Laghouat. Ce dernier résultat est expliqué par ses auteurs par le fait que la population animale étudiée était essentiellement composée d'adultes, sachant que l'excrétion chez les jeunes animaux est nettement plus élevée que chez les adultes (**Khelef et al, 2007**).

Une prévalence quasi-similaire (45,6%) a été obtenue en Roumanie dans une étude menée en 2001 sur une population de 2715 bovins (**Darabus , 2001**).

Notre résultat est légèrement supérieur par rapport à celui enregistré par **Akam et al. (2007)** à Mitidja (36,67%) et par **Aknikeotu et al., (2014)** au Nigeria (37,5%) et supérieur à celui trouvé par **Khelef et al., (2007)** à l'Est et centre d'Algérie (17%). Il est cependant inférieur à celui enregistré par **Ouchane et al. (2012)** à Sétif (69,2%) et par **Khelef et al., (2001)** à Mitidja (54%).

La différence dans la prévalence de *Cryptosporidium spp* enregistrée 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, 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 (Février-mars-Avril). Ceci pourrait être lié moins au facteur saison, mais à la plus grande concentration des vèlages dans le temps qui serait responsable d'une contamination massive des veaux via les oocystes préexistant dans les boxes (ou les locaux) et ceux nouvellement libérés par les jeunes et/ou les adultes, ceci serait également lié à la grande promiscuité qui en résulte. Des observations similaires sont rapportées par **Sanford et Josephson (1982)**, **Henriksen et Krogh. (1985)**, **Ongerth et Stibb (1989)** et **Dârâbuş et al., (2007)**. En effet, selon ces auteurs, la forte incidence enregistrée en hiver 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.

Discussion

L'ensemble de nos résultats suggère une présence de réceptivité particulière du veau nouveau-né (de 14 à 30 jours) à *Cryptosporidium spp* les premières semaines d'âge (100%), avec un écart hautement significatif ($p < 0,001$). Ces résultats sont proches de ceux obtenus en Roumanie par **(Darabus et al., 2001)** (74,5% chez les veaux de 8 à 14 jrs). Ceci rejoint les observations de nombreux auteurs **(Stein, 1982 ; Sobeih et al., 1987 ; Ongerth, 1989)** qui signalent la grande réceptivité des veaux appartenant à cette tranche d'âge aux cryptosporidies, avec toutefois, une incidence maximale dans le courant de la deuxième semaine après la naissance. Certains auteurs rapportent cette réceptivité des jeunes à leur état immunitaire déficient les premiers jours. La prise de colostrum à ce niveau jouant un rôle important **(Navin et Juranek, 1984)**, ne serait ce que dans l'expression clinique de la diarrhée **(Tizpori et al., 1980)**. À l'issue de la première semaine, et tout au long de la deuxième et de la troisième, se situe la période d'excrétion maximale. Ce qui explique la forte positivité à cette période, ceci rejoint plusieurs travaux de la littérature **(Anderson, 1982 ; Atwill et al., 1998 et Naciri et al., 2000)**. Si, au cours de cette même période les animaux paraissent plus réceptifs, il n'en demeure pas moins que c'est à ce moment qu'ils développent leur immunité ce qui explique à la fois leur très forte excrétion pendant cette période et sa diminution à partir d'un mois d'âge, ce qui rejoint les données de la littérature **(Cluskey et al., 1995 ; Olson et al., 1997 ; Quilez et al., 1996)**.

Cependant, 32/300 cas d'infestation sont relevés chez les adultes. Cette sensibilité des adultes semble être liée, au stress du *peri-partum* (gestation, lactation et tarissement) et du vêlage qui affecte certaines vaches ; des conditions d'hygiène défectueuses en seraient aussi responsables **(Henriksen et al., 1985 ; Villacorta, 1991)**.

La faible excrétion du parasite dans le temps par les adultes est également rapportée dans les travaux de **Henriksen et Krogh (1985)** et ceux de **Krogh et Dărăbuș (2001)**.

La relation entre le sexe des bovins étudiés avec le taux de parasitisme, montre que l'infestation des femelles en général était non significativement plus élevée (47,4%) par rapport aux mâles (41,3%). L'absence de l'effet sexe dans la présente étude converge avec les résultats de **Darabus et al., (2001)**, **Akam et al., (2007)**, **Sylvia et al., (2013)**, **Chikhaoui et Touhami (2015)**, **Sahli et Bellakehal (2016)**. On n'a pas trouvé d'explication à ce constat dans la littérature qui était à notre portée.

Discussion

La répartition des résultats selon le statut clinique (présence ou pas de diarrhée) des bovins concorde avec ce qui est rapporté par d'autres chercheurs: les cryptosporidies sont plus isolées chez les sujets diarrhéiques (64,4%) par rapport à ceux n'ayant pas développé de diarrhée (35,2%). En effet, chez les premiers, selon les études, le taux de positivité varie de 10 à 76% (**Heine et Boch, 1981 ; Pearson et Logan, 1983 ; Ongerth et Stibbs, 1989**) tandis que chez les seconds, la fréquence de portage varie de 4% à 37% (**Nagy et Lakner, 1980 ; Pivont et al., 1981 ; Heine et Boch, 1981 ; Siebert et Gründer, 1994**).

Certains auteurs ont montré une corrélation significative entre la présence de diarrhée et l'excrétion de *Cryptosporidium* (**Naciri et al., 1999 ; Wade et al., 2000 ; Castro-Hermida et al., 2002 ; Castro-Hermida et al., 2002**) alors que d'autres n'arrivaient pas aux mêmes conclusions (**Ruest et al., 1998 ; Huetink et al., 2001**). Selon une étude de Wade, Mohammed et Schaaf réalisée en 2000, un animal diarrhéique a 36,5 fois plus de chance d'être excréteur de *C. parvum* qu'un animal en santé (**Wade et al., 2000**).

En revanche, selon l'étude de l'équipe d'Atwill datant de 1999, il y a une faible corrélation entre la présence de fèces liquides et l'excrétion du protozoaire (**Atwill et al., 1999**). En général, la présence de sang et les fèces liquides sont plutôt associées à une coexistence entre *Cryptosporidium parvum* et d'autres agents entéropathogènes (infection mixte avec rotavirus, coronavirus, *Salmonella*, ou autres) (**Naciri et al., 1999 ; De la Fuente et al., 1998**).

Concernant l'influence de la race sur la prévalence cryptosporidienne, 49,8% des bovins de race Prim'Holstein (pie noire) étaient infestés par *Cryptosporidium spp* contre 35,8% chez la race Montbéliarde (pie rouge). Cependant, l'écart n'a pas été significatif. En effet, la race pie noire est beaucoup plus laitière que viandeuse ; par contre, la pie rouge est mixte à tendance viandeuse. L'absence de l'effet de ce facteur serait expliquée par le fait que les races étudiées soient toutes les deux améliorées.

D'autres auteurs ont aussi étudié l'effet de race (**Chikhaoui et Touhami, 2015**) en comparant la réceptivité à *Cryptosporidium spp* entre des bovins de race locale avec ceux de race croisée. L'analyse statistique a révélé que l'écart n'était pas significatif ($p > 0,05$).

La présente étude n'a révélé aucun effet du mode d'élevage sur le taux d'infestation en *Cryptosporidium spp*. En effet, les bovins élevés en mode intensif étaient infestés de façon quasi-similaire avec ceux élevés en mode semi-intensif. Ce résultat diverge avec celui enregistré par **Sahli et Bellakehal (2016)** qui ont constaté que les bovins élevés en mode

Discussion

intensif étaient très significativement plus infestés que ceux élevés en élevage extensif. Il diverge aussi avec les résultats de **Ghesquier *et al.*, (2003)** et de **Marechal (2004)** qui confirment que la forte concentration du bétail dans les locaux d'élevage constitue une cause favorisante de la propagation interindividuelle de ce parasite l'absence de l'effet mode d'élevage dans le présent travail serait lie au fait que les 2 modes l'intensif et le semi-intensif se rapprochent sur le plan zootechnique.

L'administration d'un traitement antiparasitaire à titre préventif n'a pas eu d'effet significatif sur la prévalence cryptosporidienne entre les animaux traités et non traités. Ceci confirme les données de la littérature qui relèvent l'inefficacité de diverses molécules testées pour lutter contre ce parasite. En effet, *Cryptosporidium* détient une position unique dans la cellule hôte puisque le parasite est intracellulaire mais extra-cytoplasmique (**Manent-Manent, 2014**). Il échappe ainsi à l'action intracellulaire des antiparasitaires. De plus, la maîtrise de la contamination de l'environnement est difficile en raison de la très grande résistance des oocystes en milieu naturel mais également en présence de désinfectants usuels (**Manent-Manent, 2014**).

Conclusion

Et

Perspectives

Le parasite du genre *Cryptosporidium* est à l'origine d'un syndrome gastro-entérique chez les animaux. Sa capacité à infecter les jeunes animaux en a fait un agent pathogène majeur dans les élevages bovins, en raison de la mortalité qui peut accompagner la maladie et des frais vétérinaires engagés.

Ce travail avait pour but d'étudier la prévalence de *Cryptosporidium spp* sur des cheptels bovins de la région de Laghouat. A cet effet, nous avons analysé plus de trois cent bovins provenant de trois sites de la région d'étude. Cet échantillonnage a été réalisé durant une période de trois mois allant du mois de février jusqu'au mois d'avril 2018.

Nos résultats montrent que parmi les 300 sujets examinés, répartis sur trois sites (Communes de Laghouat, de Bennaceur Benchohra et d'El-Assafia) 164 étaient infestés par *Cryptosporidium spp.*, soit une prévalence de 45,3%.

Ce parasite était significativement plus souvent excrété par les bovins diarrhéiques (64,4%) que non diarrhéiques (35,2%). La prévalence de *Cryptosporidium spp* était significativement plus élevée chez les veaux de 14 à 30 jours (100%) que chez ceux d'autres tranches d'âge.

Le sexe, la race, le type d'élevage et le déparasitage n'avaient aucune influence significative sur les prévalences cryptosporidiennes enregistrées.

On recommande aux éleveurs de maintenir une faible densité en bétail dans les étables et de ne pas mélanger les animaux de différentes classes d'âge. Pour les bâtiments d'élevage, préférer les sols et murs en béton que ceux en terre ou en sable pour une meilleure efficacité de la désinfection.

Enfin, nous proposons pour les études à venir d'approfondir les connaissances sur la prévalence de *Cryptosporidium spp* en élargissant l'enquête dans le temps et dans l'espace, pour toucher d'autres régions et sites de Laghouat. Il serait aussi souhaitable d'utiliser des méthodes diagnostiques de la biologie moléculaire pour une caractérisation de l'espèce cryptosporidienne qui circule dans les élevages bovins de la wilaya.

*Références
bibliographiques*

A :

Ainturier D. et Bezille P., 1981, Etiologie et prophylaxie des entérites du veau nouveau-né, *rev. Méd. Vét.*

Alves, M., Xiao, L., Sulaiman, I., Lal, A.A., Matos, O., Antunes, F., 2003. Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal. *J. clin. Microbiol.* 41, 2744-2777.

Atwill, E.R., Hou, L., Karle, B.M., Harter, T., Tate, K.W., Dahlgren, R.A., 2002. Transport of *Cryptosporidium parvum* oocysts through vegetated buffer strips and estimated filtration efficiency. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5517-5527.

B:

Bartels, C.J., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W.A., Lam, T.J., 2010. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev.Vet.Med.* 93, 162-169.

Barrington, G.M., Gay, J.M., Evermann, J.F., 2002. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 18, 7-34.

Betancourt, W.Q., Rose, J.B., 2005. Microbiological assessment of ambient waters and proposed water sources for restoration of a Florida wetland. *J. Water. Health.* 3, 89-100.

Beth Willis, 2014. **Cryptosporidiosis in Cattle** ,The Moredun Foundation News Sheet Vol 6, No.1 February 2014.

Bornay-Llinares, F.J., da Silva, A.J., Moura, I.N., Myjak, P., Pietkiewicz, H., Kruminis-Lozowska, W., Graczyk, T.K., Pieniazek, N.J., 1999. Identification of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1455-1458.

C:

Campbell, I., Tzipori, S., Hutchinson G., Angus, K.W., 1982. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. *Vet. Rec.* 111, 414-415.

Castro-Hermida JA, Yolanda A, González-Losada YA, Mercedes M-M, Ares-Mazàs e. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Vet Parasitol.* 2002;106:11-7.

Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Ares-Mazàs E. Prevalence of and risk

factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N.W.spain). *Vet Parasitol.* 2002; 106:1-10.

Chalmers, R.M., Ferguson, C., Cacciò, S., Gasser, R.B., Abs El-Osta, Y.G., Heijnen, L., xiao, L., Elwin, K., Hadfield, S., Sinclair, M., Stevens, M., 2005. Direct comparison of selected methods for genetic categorisation of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* species. *Int. J. Parasitol.* 35, 397-410.

Chalmers, R.M., Giles, M., 2010. Zoonotic cryptosporidiosis in the UK-challenge for control. *J. Appl. Microbiol.* 109, 1487-1497.

Chalmers, R.M., Katzer, F., 2013. Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends. Parasitol.* 29, 237-251.

Chartier, C., 2002. La cryptosporidiose des petits ruminants. *Le point vétérinaire, n° spécial, pathologie ovine et caprine*, 118-122.

Causapé, A.C., Quílez, J., Sanchez-Acedo, C., del Cacho, E., Lopez-Bernard, F., 2002. Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (Northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* 104, 287-298.

Chermette R. et Boufassa-Ouzrout S., 1990. Cryptosporidiosis -A Cosmopolitan Disease in animals and Man. *Vet. Parasitology*, 35 : 179-182.

Current, W.L., Garcia, L.S., 1991 b. Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 3, 325-358.

D :

Dărăbuș Gh., Cosoroaba I., Oprescu I. et Morariu S., 2001, Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie. *Rev. Méd. Vét.*, 152, 5, 399-404.

de Graaf D.C., 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.

De la Fuente R, García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzón M, Cid D, García S, Orden dW, Delmas RE, George HA, Forero LC, Philips RL, Barry SJ, McDougald nK, Gildersleeve RR, Frost WE Age, geographic and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds. *Am J Vet Res.* 1999; 60(4):420-5.

Références bibliographiques

Delafosse, A., Castro-Hermida, J.A., Baudry, C., Ares-Mazás, E., Chartier, C., 2006. Herd-level risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy-goat kids in western France. *Prev. Vet. Med.* 77, 109-121

Duranti, A., Cacciò, S.M., Pozio, E., Di Egidio, A., De Curtis, M., Battisti, A., Scaramozzino, P., 2009. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in cattle. *Zoonoses. Public. Health.* 56, 176- 182.

D.s.a. 2014. Bulletins zoosanitaires.

F:

Fayer, R., 2004. *Cryptosporidium*, a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.* 126, 37-56.

Fayer, R., 2010. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.* 124, 90-97.

Fayer, R., Graczyk, T.K., Lewis, E.J., Trout, J.M., Farley, C.A., 1998 a. Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1070-1074.

Fayer, R., Xiao, L., 2007c. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. second ed. CRC Press, boca Raton.

Fayer, R., Santin, M., 2009. *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*) *Vet. Parasitol.* 164, 192-200.

G:

Gatei, W., Das, P., Dutta, P., Sen, A., Cama, V., Lal, A.A., Xiao, L., 2007. Multilocus sequence typing and genetic structure of *Cryptosporidium hominis* from children in Kolkata, india. *Infect. Genet. Evol.* 7, 197-205.

Ghesquier , C., Serieys M., Wauthier, A., 2003.Ealuation de risqué parasitaire dans l'eau destinée à la consommation-Région Champagne-Ardenne .France :DRASS de Champagne.

Günther H., 1983, KryptosporidienbeimkalbBedeutung, Nachweis, Bekämpfung (cryptosporidia in calf importance, detection, control). *Mh. Vet. Med.*, 28, 653-655.

Geurden, T., Claerebout, E., Vercruyssen, J., Berkvens, D., 2008 . A Bayesian evaluation of four immunological assays for the diagnosis of clinical cryptosporidiosis in calves. *Vet. J.* 176, 400-402.

H:

Hoar, B.R., Atwill, E.R., Elmi, C., Farver, T.B., 2001. An examination of risk factors associated with beef cattle shedding pathogens of potential zoonotic concern. *Epidemiol. Infect.* 127, 147-155.

Heine J., Boch J., 1981, Kryptosporidien Infektionen beim Kalb, Nachweis, vorkommen und experimentelle Übertragung. *Berl. Munch. Tierärztl. Wsch.*, 94, 289.

Henriksen 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.

Hijjawi, N., Ng, J., Yang, R., Atoum, M.F., Ryan, U., 2010. Identification of rare and novel cryptosporidium GP60 subtypes in human isolates from Jordan. *Exp. Parasitol.* 125, 161-164.

Huetink REC, van der Giessen JWB, Noordhuizen JPTM, Ploeger HW. Epidemiology & Infection, 2000; 125:145-52.
ja, Gómez-Bautista M. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med.* 1998; 36(2):145-52.

J:

Jenkins MB, Eeglesham 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.

Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., Chermette, R., 2000. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Vet. Parasitol.* 89, 1-9.

M:

Manent-Manent Marion , 2014 . Moyens de lutte thérapeutique contre la cryptosporidiose:

Actualité et perspectives. Thèse ENV d'Alfort.

Marechal ,J.C 2004. Etude bibliographique du *Cryptosporidium* dans les eaux souterraines et proposition d'une méthodologie d'évacuation du risque ,Ministère de la santé.

Références bibliographiques

Margolis 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).j.parasitol.68,131-133p.

Meisel, J .L.,Perera, D.R., Meligro, C., Rubin, C.E., 1976. overwhelming watery diarrhea associated with a cryptosporidium in an immunosuppressed patient. Gastroenterology. 70, 1156-1160.

Moore, D.A., Atwill, E.R., Kirk, J.H., Brahmabhatt, D., Alonso, L.H., Hou, L., Singer, M.D., Miller, T.D., 2003. Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. J of the Am. Vet. Med. Ass. 223, 839-845.

Muñoz, M., Álvarez, M., Lanza, I., Cármenes, P., 1996. Role of enteric pathogens in the aetiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain. Epidemiol. Infect. 117, 203-211.

N:

N , salemkour., k, benchouk., d, nouasria., s, kherif nacereddine., m, belhamra. (2013). effets de la mise en repos sur les caractéristiques floristiques et pastorale des parcours steppiques de la région de laghouat (algérie). Journal algérien des régions arides.p 1-12.

Naciri M, Lefay M-P, Mancassola R, Poirier P, Chermette R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. vet Parasitol. 1999; 85:245-57.

Naciri M, Lefay M-P, Mancassola R, Poirier P, Chermette R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. vet Parasitol. 1999; 85:245-57.

Nagy B., Antal A. et Lakner J., 1980, Significance of intestinal cryptosporidiosis in calf diarrhoea. In Proc. 2nd Inter. Symp. Word Assoc. Vet. Lab. Diagnost. (Lucerne. Switzerland), 111, 431.

Nichols, R.A., Moore, J.E., Smith, H.V., 2006. A rapid method for extracting oocyst DNA from *Cryptosporidium*-positive human faeces for outbreak investigations. J. Microbiol. 65, 512-524.

Références bibliographiques

Nime, F.A., Burek, J.D., Page, D.L., Holsher, M.A., Yardley, J.H., 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 70, 592-598.

Nolan M.J., Jex A.R., Haydon S.R., Stevens M.A., Gasser R.B., 2010. Molecular detection of *Cryptosporidium cuniculus* in rabbits in Australia. *Infect. Genet. Evol.*, 10 : 1179-1187.

O:

O'Donoghue PJ (1995). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. *Int. J. Parasitol.*, 25, 139-195.

of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Vet Parasitol*. 2001;

Ongerth J.E. et Stibbs H.H., 1989, Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairy calves in western Washington. *Am. J. Vet. Res.*, 50, 7, 1069-1070.

parvum and *Cryptosporidium muris* in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Vet Parasitol*. 2000; 93:1-11.

P:

Paraud, C., Guyot, K., Chartier, C., 2009. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* sp. infection in calves, lambs and goat kids reared in a same farm in France. III International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference, 11-15 October 2009, Orvieto, Italy.

Peng, M.M., Wilson, M.L., Holland, R.E., Meshnick, S.R., Lal, A.A., Xiao, L., 2003. Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in cattle in Michigan: implications for understanding the transmission dynamics. *Parasitol. Res.* 90, 175-180.

Pivont P., Antoine H., Gregoire R. et Bughin J., 1981, Cryptosporidies chez un nouveau-né. *Ann. Méd. Vét.*

Pozio, E., Morales, M.A., 2005. The impact of HIV-protease inhibitors on opportunistic parasites. *Trends. Parasitol.* 21, 58-63.

R :

Radostis, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff, K., 2000. Cryptosporidiosis, *Veterinary medicine* 9th ed. 1310- 1313.

Ramirez, N.E., Ward, L.A., Sreevatsan, S., 2004. A review of the biology and

epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes. Infect.* 6, 773-785.

Robertson, L.J., Campbell, A.T., Smith, H.V., 1992. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3494-3500.

Robinson G., Chalmers R.M., 2009. The European Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), a source of zoonotic cryptosporidiosis. *Zoonoses Public Health*, 57 : 7-8.

S:

Sischo, W.M., Atwill, E.R., Lanyon, L.E., George, J., 2000. Cryptosporidia on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. *Prev. Vet. Med.* 43, 253-267.

Slapeta, J., 2011. Naming of *Cryptosporidium pestis* is in accordance with the ICZN Code and the name is available for this taxon previously recognized as *C. parvum* 'bovine genotype'. *Vet. Parasitol.* 177, 1-5.

Soba, B., Petrovec, M., Mioc, V., Logar, J., 2006. Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from humans in Slovenia. *Clin. Microbiol. Infect.* 12, 918-921.

Sobeih M., Tacal J.V., Wilcke B.W., Lawrence W. et El-Ahra A., 1987, Investigation of cryptosporidial infection in calves in San Bernardino county, California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987, 191, (7), 816-818.

Squire, S. A., J. BEYUO, H. AMAFU-DEY, 2013. Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in cattle from Southern Ghana. *Vet. arhiv* 83, 497-507.

Stein, 1982. Verlauf der Kryptosporidieninfektion des Kalbes in Inzuchtbetriebs sowie Möglichkeiten der Desinfektion (Course of cryptosporidial infection in calves on cattlebreeding farms and possibilities of disinfection). Inaug. Diss. Munch.

Strong, W.B., Gut, J., Nelson, R.G., 2000. Cloning and sequence analysis of a highly polymorphic *Cryptosporidium parvum* gene encoding a 60-kilodalton glycoprotein and characterization of its 15- and 45-kilodalton zoite surface antigen products. *Infect. Immun.* 68, 4117-4134.

T:

Trotz-Williams, L.A., Wayne Martin, S., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V., Peregrine, A.S., 2007. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 82, 12-28.

Tzipori, S., Widmer, G., 2008. A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. Trends parasitol. 24,184-189.

Valigurova, A., Jirku, M., Koudela, B., Gelnar, M., Modry, D., Slapeta, J., 2008. cryptosporidia : epicellular parasites embraced by the host cell membrane. Int. J. Parasitol. 38, 913-922.

Viu, M., Quílez, J., Sánchez-Acedo, C., del Cacho, E., López-Bernad, F., 2000. Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycin on natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs. Vet. Parasitol. 90, 163-170.

W:

Wade SE, Mohammed HO, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. Vet Parasitol. 1999; 83:1-13.

Wielinga, P.R., de Vries, A., van der Goot, T.H., Mank, T., Mars, M.H., Kortbeek, L.M., van der Giessen, J.W., 2008. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in human and cattle in the Netherlands. Int. J. parasitol. 38, 809-817.

Villacorta, I., Peeters, J.E., Vanopdenbosch, E., Ares-Mazas, E., Theys, H., 1991. Efficacy of halofuginone lactate against *C. parvum* in calves, Antimicrobs. Agents. Chemother. 35, 283-287.

X:

Xiao, L., 2010. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. Exp. Parasitol .124, 80-89.

Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S J., 2004. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin. Microbiol. Rev. 17, 72-97.

Xiao, L., Ryan, U. M., 2004. Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology. Curr. Opin. Infect. Dis. 17, 483-490.

Xiao, L., Zhou, L., Santín, M., Yang, W., and Fayer, R., 2007. Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. Parasitol. Res.100, 701-706.

Z:

Zambriski, J.A., Nydam, D.V., Wilcox, Z.J., Bowman, D.D., Mohammed, H.O., Liotta, J.L., 2013. *Cryptosporidium parvum*: Determination of ID50 and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. Vet. Parasitol. <http://dx.doi.org/10.1016/J.vet.par.2013.04.022>.

Annexes

Annexe N°01

Liste des 26 espèces de *Cryptosporidium spp* considérées comme valides avec leurs critères biologiques (d'après Chalmers et Katzer, 2013).

Espèce	Hôtes principaux	Présence chez l'homme	Site(s) de prédilection de l'infection	Associé à des signes cliniques chez les hôtes principaux	Taille des oocystes (µm)	Référence
<i>C. muris</i>	Souris	Oui (rarement)	Estomac	oui	8.4x6.2	Tyzzler (1907)
<i>C. parvum</i>	Souris, ruminants, domestiques, homme	oui	Intestin grêle	oui	4.9x4.4	Tyzzler (1912)
<i>C. meleagridis</i>	Dindon, homme	oui	Intestin	oui	5.2x4.6	Slavin (1955)
<i>C. wrairi</i>	Cochon d'Inde	Non rapporté	Intestin grêle	Non rapporté	5.4x4.6	Vetterling et al., (1971)
<i>C. felis</i>	Chat	oui	Intestin grêle	Oui	4.6x4.0	Iseki (1979)
<i>C. serpentis</i>	Serpent	Non rapporté	Estomac	Oui	6.2x5.3	Levine (1980)
<i>C. baileyi</i>	Poulet	Non rapporté	Trachée, bourse de Fabricius, cloaque	Oui (plutôt respiratoire)	6.2x4.6	Current et al., (1986)
<i>C. varanii</i>	Reptiles	Non rapporté	Estomac	Oui (plutôt perte de poids)	4.8x5.1	Pavlásek et al., (1995)
<i>C. molnari</i>	Poisson	Non rapporté	Estomac	Oui	4.7x4.5	Pellitero et Bobadilla (2002)
<i>C. galli</i>	Poulet	Non rapporté	Proventricule	Oui	8.3x6.3	Ryan <i>et al.</i> , (2003)

<i>C. andersoni</i>	Bovin	Oui (rarement)	Caillette	Non	7.4x5.5	Lindsay et al., (2000)
<i>C. canis</i>	Chien	Oui	Intestin grêle	Oui	5.0x4.7	Fayer et al., (2001)
<i>C. hominis</i>	Homme	Oui	Intestin	Oui	4.9x5.2	Ryan et al., (2002)
<i>C. suis</i>	Cochon	Oui(rarement)	Intestin	Non	4.6x4.2	Ryan et al., (2004)
<i>C. scophthalmi</i>	Poisson	Non rapporté	Intestin Estomac	Oui	4.4x3.9	Pellitero et al., (2004)
<i>C. bovis</i>	Bovin	Oui (2 cas)	Intestin	Non	4.9x4.6	Fayer et al., (2005)
<i>C. fayeri</i>	Kangourou	Oui (rarement)	-	Non	4.9x4.3	Ryan et al., (2008)
<i>C. fragile</i>	Crapaud	Non rapporté	Estomac	Non rapporté	6.2x5.5	Jirku et al., (2008)
<i>C. ryanae</i>	Bovin	Non rapporté	Intestin	Non	3.7x3.1	Fayer et al., (2008)
<i>C. macropodum</i>	kangourou	Non rapporté	-	Non rapporté	5.4x4.9	Power et Ryan (2008)
<i>C. xiaoi</i>	Mouton, chèvre	Non rapporté	Intestin	Oui	3.9x3.4	Fayer et Santín(2009)
<i>C. ubiquitousum</i>	Mouton, chèvre	Oui	Intestin	Non	5.0x4.6	Fayer et al., (2010)
<i>C. cuniculus</i>	Lapin, Homme	Oui	Intestin	Non	5.9x5.3	Robinson et al., (2010)
<i>C. tyzzeri</i>	Souris	Oui (rarement)	Intestin	Non	4.6x4.2	Ren et al., (2012)
<i>C. viatorum</i>	Homme	Oui	Intestin	Oui	5.3x4.7	Elwin et al., (2012 a)
<i>C. scrofarum</i>	Porc	Oui	Intestin	Non	5.2x4.8	

Annexe N° 2

Fiche de renseignement (Exemple)

La ferme	Date du Prélèvement	N° de l'animal	Sexe	Race	Age	Présence de diarrhée	Déparasitage/ Molécule utilisée
Ferme A La région : Bordj Senouci Type d'élevage : Intensif	Le 28 février 2018	1	femelle	Prim'Holstein	3 Mois	+	Elevage déparasité (Albendazole par voie orale/Ivermectine en SC).
		2	femelle	Prim'Holstein	2 ans	+	
		3	femelle	Prim'Holstein	3 ans	-	
		4	male	Prim'Holstein	1 Mois	+	
		5	femelle	Montbéliarde	2 ans	-	

Annexe N°3 Matériel de terrain et de laboratoire.

Matériel de terrain

- Tenue spéciale pour le terrain (combinaison).
- Botte.
- Glacière.
- Cartable spécial pour le port de stylos, marqueur indélébile, fiches de renseignements et autres.
- Masques.
- Gants.
- Pots stériles.
- Etiquettes.

Matériel de laboratoire






- Microscope optique.
- Appareil photos numérique.
- Gants et masques.
- Lames.
- Pipettes pasteurs.
- Bec bunsen.

Les réactifs utilisés dans les tests de coprologie

- Eau.
- Fuchsine de Ziehl.
- Ethanol à 95%
- HCL 3%
- Vert de malachite 5%.
- Huile à immersion.

Annexe N°04 :
Détermination de l'âge des bovins.

Schéma 1 : guide pratique pour déterminer l'âge des bovins par l'examen de la dentition

	De la naissance jusqu'à l'âge d'un mois :	2 incisives temporaires ou plus sont présentes. À l'intérieur du premier mois, la série complète d'incisives temporaires (8 au total) apparaît.
	2 ans :	pour les bovins de plus d'un an, la paire centrale d'incisives temporaires est remplacée par des incisives permanentes. À l'âge de 2 ans, les 2 incisives permanentes centrales sont entièrement développées.
	2 ans ½ :	les premières dents permanentes intermédiaires, une de chaque côté des incisives ont percé la gencive. Normalement, ces dernières sont entièrement développées à l'âge de 3 ans.
	3 ans ½ :	les secondes dents permanentes intermédiaires ont percé la gencive. Entre 3 ans ½ et 4 ans, elles peuvent avoir atteint le même niveau que les premières intermédiaires. Elles commencent à s'user à l'âge de 4 ans.
	4 ans ½ :	les incisives de coin sont remplacées. À l'âge de 5 ans, l'animal a normalement toutes ses incisives permanentes et celles de coin sont entièrement développées.

Annexe N°05 :

Conditions d'élevage de deux quelques fermes visitées (photos personnelles, 2018).



