



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida



Université Saad
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Prévalence de la Cryptosporidiose chez les caprins dans la
région de ksar el boukhari**

Présenté par

- **khelili mourad**

- **mazouz fadhila amina**

Devant le jury :

| | | | |
|-----------------------|--------------|-------|------------|
| Président(e) : | Dahmani A | M.A.A | ISV Blida |
| Examineur : | Dahmani H | M.A.A | ISV Blida |
| Promoteur : | Bennadji M.A | M.A.A | UNIV Médéa |

Année : Juin 2018

Remerciement

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous
Ceux qui m'ont aidé à la réalisation de ce manuscrit.

En premier lieu ; j'exprime particulièrement ma reconnaissance à mon :

Promoteur de thèse monsieur **BENNADJI M.A**, M A A à l'université de Médéa pour avoir assuré mon encadrement ainsi que pour son aide précieuse, pour ses conseils, ses orientations et ses qualités humaines. Ainsi pour sa disponibilité et sa patience avec nous.

Le président et l'examineur Docteur **DAHMANI ALLI** et DOCTEUR **DAHMANI HICHAM** M A A à l'université de Blida pour ses compétences, ses qualité scientifiques et humaines, son dynamisme, ses idées et conseils précieux.

Les éleveurs qui m'ont bien accueillie au niveau de leurs exploitations.

Enfin, mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

Me voilà donc au terme de cette thèse qui représente un chapitre important de ma vie, avec ses hauts et ses bas, ses rires et ses larmes, ses souffrances et ses satisfactions, ses rencontres et ses départs. J'ai la chance d'avoir été Accompagnée à chaque étape de ce périple et d'avoir avancé avec les personnes que j'aime. Je dédie cette thèse à Mes très chers PARENTS qui tiennent une place immense dans mon cœur.

PAPA MAMAN ; vous resterez la plus importante école de ma vie, je ne cesse d'apprendre tous les jours avec vous. Vous avez toujours été là pour moi, et à aucun moment vous n'avez cessé de me couvrir d'amour et d'encouragements dans les différentes étapes de ma vie. Pour votre patience dans les moments difficiles et votre amour constant.

Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferais toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir.
Je souhaite également dédier ce travail à :

Mes frères et leurs femmes et ses enfants
Mes sœurs et leurs maris et ses enfants

Mes amis et mes collègues

Tous les étudiants de la promotion 2018

Toute personne ayant participé de loin ou de près pour la réalisation de ce travail

Evidemment à mon binôme « KHELIL MOURAD »

Comme toute production scientifique exécuté » pour la gloire ». Ce modeste travail a été réalisé grâce à la volonté du **BON DIEU**.

MAZOUZ FADHILA AMINA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.

Mes frères

Tous les membres de ma grande famille

Mes amis et mes collègues

Tous les étudiants de la promotion 2018

Toute personne ayant participé de loin ou de près pour la réalisation de ce travail

Evidemment à mon binôme "MAZOUZ FADHILA"

KHELILI MOURAD

Résumé

La cryptosporidiose est une maladie commune qui affecte fréquemment les jeunes ruminants, elle est causée par un parasite nommé *Cryptosporidium sp.* Lequel occasionne une diarrhée liquide et profuse. La morbidité et la mortalité sont élevées. Les conditions d'apparition de la maladie sont mal connues. L'objectif de la présente étude est la recherche de *Cryptosporidium sp* dans des prélèvements de matières fécales recueillis à partir de petits ruminants et particulièrement l'espèce caprine, tout âge confondu avec la technique Ritchie pour l'enrichissement suivie de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée. L'étude a porté sur 49 échantillons de matières fécales provenant des 3 élevages de la région de Ksar el Boukhari. Les échantillons proviennent de caprins de tout âge. Le critère de consistance des matières fécales n'a pas été pris en considération (diarrhéique ou non). L'analyse coprologique a montré que sur les 49 prélèvements analysés 25 échantillons se sont révélés positifs soit 51%. Les résultats ont montré également que les sujets les plus vulnérables à l'infection sont les sujets très jeunes surtout ceux âgés de moins d'une semaine et que les femelles sont plus touchées que les mâles avec 39% et 12% respectivement. Le taux de prévalence enregistré; même sur un petit échantillon ; révèle que cette maladie, souvent mal diagnostiquée, est très répandue et des études sur des échantillons plus importants doivent être entreprises.

Mots clés: Cryptosporidiose, Caprins, Chevreau, Prévalence, Ksar el Boukhari.

ملخص

الكريبتوسبورديوز هو مرض شائع يصيب المجترات بشكل متكرر ؛ وينجم عن طفيلي يدعى كريبتوسبورديوم الذي يسبب إفراز وإسهال. سائل يتسبب في وفيات كثيرة. شروط حدوث المرض غير مفهومة بشكل جيد

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن كريبتوسبورديوم في عينات البراز التي تم جمعها من الحيوانات المجترة الصغيرة وخاصة أنواع الماعز ، في مختلف الاعمار مع تقنية ريتشي لإثراء التخصيب تليها زيهل- نيلسن معدلة.

شملت الدراسة 49 عينة برازية من 3 مزارع في منطقة قصر البخاري. تأتي العينات من الماعز من جميع الأعمار. لم يتم أخذ معيار فضلات البراز بعين الاعتبار (الإسهال أو عدمه) أظهر التحليل البراز أنه من بين 49 عينة تم تحليلها ، كانت 25 عينة إيجابية ، أ 51%. كما أظهرت النتائج أن الأشخاص الأكثر عرضة للإصابة هم الصغار ، خاصة أولئك الذين تقل أعمارهم عن أسبوع ، وأن الإناث أكثر تأثراً من الذكور بنسبة 39% و 12% على التوالي.

معدل الانتشار المسجل؛ حتى على عينة صغيرة تكشف أن هذا المرض، في كثير من الأحيان تشخيصه خطأ، و هو واسع الانتشار ويجب إجراء دراسات على عينات أكبر.

الكلمات المفتاحية: الكريبتوسبورديوز ، الماعز ، الماعز ، الانتشار، قصر البخاري

Abstract

Cryptosporidiosis a common disease that frequently affects young ruminants, it is caused by a parasite named *Cryptosporidium Sp* .which causes a liquid and profuse diarrhea, morbidity and mortality are high. The conditions of occurrence of the disease are poorly understood.

The objective of this study is to search for *Cryptosporidium Sp* in faecal samples collected from small ruminants and particularly in goats ,any age confused with the Ritchie technique for enrichment followed by Ziehl-Neelsen modified. The study included 49 faecal samples from goats of all ages .the criterion of consistency of feces was not taken into consideration (diarrhea or not) The coprological analysis showed that of the 49 samples analyzed, 25 samples were positive, ie 51%. The results also showed that the subjects most vulnerable to infection are the very young, especially those less than a week old , and that females are more affected than males with 39% and 12% respectively .The prevalence rate recorded even on a small sample ,reveals this disease, often misdiagnosed, is widespread and studies on larger samples need to be undertaken .

Key words : Cryptosporidiosis, Goats, Goat, Prevalence, Ksar el Boukhari

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENT

DEDICACES.

RESUME.

LISTE DES TABLEAUX.

LISTE DES FIGURES.

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE I : L'ETUDE GENERALE SUR LA CRYPTOSPORIDIOSE..... | 2 |
| I.1. Définition..... | 2 |
| I.2. Historique..... | 2 |
| I.3. Taxonomie | 3 |
| I.4. Biologie | 5 |
| I.4.1. Morphologie..... | 5 |
| I.4.2. Cycle de développement..... | 6 |
| I.4-2.1. La phase interne | 7 |
| I.4.2.2. La phase externe..... | 8 |
| I.4.3. La localisation du parasite..... | 8 |
| I.5. particularité du cycle | 9 |
| I.5.Résistance du parasite dans le milieu extérieur..... | 9 |
| CHAPITRE II : TABLEAU CLINIQUE ET LESIONNEL DE PARASITE..... | 10 |
| II.1. Epidémiologie..... | 10 |
| II.1.1. Epidémiologie descriptive..... | 10 |
| II.1.1.2. Répartition géographique..... | 10 |
| II.1.1.3. La prévalence de la cryptosporidiose..... | 10 |
| II.1.1.4. Espèces cibles..... | 10 |
| II.1.2. Epidémiologie analytique..... | 12 |
| II.1.2.1. Source des parasites..... | 12 |
| II.1.2.2. mode des contaminations..... | 12 |
| II.1.2.3. Dose infectant..... | 12 |

| | |
|--|-----------|
| II.1.2.4. Facteurs favorisant de contamination..... | 13 |
| II.1.2.5. Spécificité de l'hôte..... | 13 |
| CHAPITRE III : LA CRYPTOSPORIDIOSE MALADIE..... | 15 |
| III.1. Symptômes..... | 15 |
| III.2. Les lésions..... | 15 |
| III.3. Diagnostique..... | 16 |
| III.3.1. Diagnostique cliniques..... | 17 |
| III.3.2. Diagnostique laboratoire | 16 |
| III.3.2.1. Les techniques d'étalant sur la lame et coloration..... | 16 |
| III 3.2.1.1. Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée | 17 |
| III.3.2.1.2. Méthode de Heine..... | 17 |
| III.3.2.1.3. Coloration au Giemsa..... | 17 |
| III.3.2.1.4. Colorations au bleu de méthylène fuschine basique | 18 |
| III.3.2.2. Technique de concentration | 18 |
| III.3.3. Diagnostic épidémiologique | 18 |
| III.3.4. Diagnostic différentiel | 19 |
| III.4. Traitement et prévention | 20 |
| III.4.1. Traitement symptomatique | 20 |
| III.4.1.1. Réhydratation | 20 |
| III.4.1.2. Le régime alimentaire | 20 |
| III.4.1.3. L'apport vitaminique | 21 |
| III.4.1.4. Prévenir les surinfections | 21 |
| III.4.2. Contrôle hygiénique | 21 |
| III.4.3. Moyen de lutte | 22 |
| CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALES | 23 |
| IV.1. Objectif..... | 23 |
| IV.2. Matériels et méthodes..... | 23 |
| IV.2.1. Matériel biologique..... | 23 |
| IV.2.2. Matériel de laboratoire..... | 23 |
| IV.2.2.1. Réactifs..... | 24 |
| IV.3. méthodes..... | 24 |
| IV.3.1. Echantillonnage..... | 24 |

| | |
|--|----|
| IV.4. Technique de laboratoire..... | 26 |
| IV.4.1. Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley..... | 26 |
| IV.4.1.1. Mode opératoire..... | 26 |
| IV.4.1.2. Lecture..... | 29 |
| IV.4.2. Technique de Zielhl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz..... | 29 |
| IV.4.2.1. Confection d'un frottis fécal | 29 |
| IV.4.2.2. Fixation, coloration du frottis | 30 |
| IV.4.2.3. Lecture | 31 |
| IV.5. Résultats et discussions..... | 32 |
| IV.5.1. Prévalence de la cryptosporidiose..... | 32 |
| IV.5.2. Répartition des résultats en fonction de l'âge | 34 |
| IV.5.3. Répartition des résultats en fonction du sexe..... | 36 |
| IV.6. Discussion générale | 37 |
| IV.7. CONCLUSION | 39 |
| IV.8. RECOMMANDATIONS..... | 40 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 41 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Taxonomie de <i>Cryptosporidium sp</i> (18)..... | 4 |
| Tableau 2 : Espèces du genre <i>Cryptosporidium sp</i> considérées comme valides (19)..... | 5 |
| Tableau 3 : Les espèces de <i>Cryptosporidium</i> et leurs hôtes principaux (23)..... | 11 |
| Tableau 4 : Résultat globale de la recherche de <i>Cryptosporidium sp</i> | 32 |
| Tableau 5 : Distribution des résultats en fonction des localités..... | 33 |
| Tableau 6 : Prévalence de Cryptosporidiose selon l'âge..... | 34 |
| Tableau 7 : Prévalence de Cryptosporidiose en fonction des tranches d'âge..... | 35 |
| Tableau 8 : Répartition des résultats en fonction du sexe..... | 36 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Photographie au microscope électronique montrant plusieurs stades de <i>Cryptosporidium</i> dans l'épithélium intestinal d'un mouton (cour 4 ^{ème} année)..... | 6 |
| Figure 2 : Cycle biologique de <i>Cryptosporidium sp</i> | 8 |
| Figure 3 : Cellules intestinales infestées par de <i>Cryptosporidium parvum</i> en Microscopie à balayage (cliché, m. Naciri, INRA tours)..... | 9 |
| Figure 4 (Photo originales): Oocystes de <i>Cryptosporidium sp</i> .colorés par la technique De Ziehl-Neelsen modifiée par henriksen et pohlenz (Grx100). | 17 |
| Figure 5 : Méthodes de prélèvements des matières fécales..... | 25 |
| Figure 6 : Identification des prélèvements..... | 25 |
| Figure 7 : Pesée 5g de matières fécales..... | 27 |
| Figure 8 : Homogénéisation dans un tube conique..... | 27 |
| Figure 9 : Ajoute d'un volume d'éther | 28 |
| Figure 10 : Centrifugation des tubes | 28 |
| Figure11 : Lames préparées selon la technique de Ritchie..... | 29 |
| Figure 12 : Fixations et coloration d'un frottis..... | 30 |
| Figure 13 : Prévalences du résultat global de la <i>Cryptosporidium sp</i> | 32 |
| Figure 14 : Prévalences en fonction des localités..... | 33 |
| Figure15 : prélèvements positifs et négatifs en fonction des tranches d'âge | 35 |
| Figure16 : Prévalence des résultats en fonction du sexe..... | 36 |

INTRODUCTION

La Cryptosporidiose est une parasitose du jeune animal causée par un protozoaire du genre *Cryptosporidium* sp [Longtemps considéré comme un parasite opportuniste, il est aujourd'hui reconnu comme un pathogène primaire par son épidémiologie complexe, sa grande résistance dans le milieu extérieur et les difficultés de traitement ou de prévention en l'absence de molécules véritablement efficaces et autorisées chez les caprins rendent cette infection difficile à gérer]. Les données sont généralement étayées chez les bovins mais rares ou absentes chez les caprins alors que cette pathologie revêt une gravité particulière chez le chevreau. Lors d'épisodes cliniques, la morbidité peut atteindre 100% d'un lot et la mortalité 60%, l'excrétion atteint plusieurs millions d'oocystes par gramme de fèces.

Chez la chèvre adulte, la prévalence d'infection et le niveau d'excrétion sont faibles, mais une augmentation d'excrétion est constatée autour de la mise bas. La mère, et surtout l'environnement contaminé (grand nombre d'oocystes émis et grande résistance dans le milieu extérieur), sont supposés être à l'origine de la contamination des jeunes.

L'importance de la Cryptosporidiose n'est pas moindre en matière de santé publique. C'est une zoonose qui affecte particulièrement et gravement les personnes immunodéprimées.

Devant cet état de fait, il nous a paru important de mener une étude visant à estimer la prévalence de la *Cryptosporidiose* chez les caprins d'une semaine d'âge à six ans, et corréler la présence de ce parasite à la diarrhée.

CHAPITRE I

L'ETUDE GENERALE SUR LA CRYPTOSPORIDIOSE

I.1. Définition:

Protozoaires parasites du tube digestif, les espèces du genre *Cryptosporidium* se rencontrent chez une très large gamme de Vertébrés : Mammifères, Oiseaux, Reptiles et Poissons.

(1). L'infection cryptosporidienne plus fréquemment chez les nouveau-nés des ruminants des trois semaines de la vie au même temps décrit chez individus de tout âge. (1)

C'est une zoonose responsable d'importantes pertes économiques chez les animaux de la rente (Bovin, Ovin, Caprin, Equin et Camelin) avec une morbidité élevées. (2)

I.2. Historique:

Le genre *Cryptosporidium Sp* est décrit pour la première fois en :
1907 par Tyzzer qui observe ce protozoaire parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*). (3)

1910, Tyzzer décrivit aussi des stades sexués et asexués chez le parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'une organelle spécialisée, il détailla alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre de sporozoaires apparenté aux coccidies : *Cryptosporidium*. Tyzzer proposa la création d'un nouveau genre nommé *Cryptosporidium* afin de classer *C. muris*. (4)

1912, il décrit, toujours chez la souris, l'espèce *C. parvum*. (5)

1925, Triffitt MJ décrit *C. crotalichez* le serpent à sonnette (*Crotalus confluens*). (6)

1955, Slavin D décrit *C. meleagridis* chez le dindon (*Meleagris gallopavo*). Pour la première fois, l'association entre le parasite et des manifestations clinique est établie. (7)

1961 à 1986, dix-neuf autres espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites chez des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères. (8)

Les premiers cas humains ont été rapportés en 1976, un cas chez une personne immunocompétente et un cas chez un patient immunodéprimé (9,10). Ce n'est qu'après 1981, avec l'explosion du SIDA, que *Cryptosporidium* fut reconnu comme agent responsable de diarrhées chez l'homme. (11)

En 1980, Bird et Smith ont étudié sept cas de cryptosporidiose, dont six concernaient des patients immunodéprimés, et ont conclu que ((quand les systèmes immunitaire fonctionnent correctement et qu'il n'y a aucun autre désordre gastro-intestinal, *Cryptosporidium* ne semble pas être un problème, et à ce titre, ce parasite peut être considéré comme parasite pathogène opportuniste)). (12). Mais en 2008, il a été montré que cette affirmation n'était que partiellement vraie; bien que les individus immunologiquement compromis deviennent chroniquement - et souvent fatalement - malades, des individus immunologiquement compétents peuvent aussi développer fréquemment une gastroentérite aiguë à cause du parasite. (13)

La majorité des épidémies de cryptosporidiose recensées ont une origine hydrique. De nombreuses épidémies ont été rapportées entre 1984 et 1999, principalement en Amérique du Nord, au Royaume-Uni et au Japon. (14). La plus grave étant celle déclarée en 1993 à Milwaukee (Etats-Unis d'Amérique). Elle aurait touché plus de 400 000 personnes ayant bu de l'eau du robinet contaminée. (15)

En 2011, pour les agneaux les premiers travaux sur la cryptosporidiose en Algérie se font par Dr Hicham Dahmani et al, dans la région de Ksar el Boukhari.

Depuis l'émergence de *Cryptosporidium* lié à la pandémie de sida, suite à l'épidémie de Milwaukee, et sous la forte impulsion des industries de l'eau, les études se multiplient afin de mieux comprendre la biologie du parasite, de développer des méthodes de détection, de définir une stratégie de prévention, et de mettre au point un traitement efficace. (16)

I.3. Taxonomie:

La taxonomie doit être basée sur des critères classiques morphologiques et biologiques et des critères plus récents moléculaires et génétiques. Dans un souci de santé publique, il faudra aussi déterminer pour chaque espèce et chaque sous-espèce quelles sont celles qui sont transmissibles à l'homme et celles qui sont pathogènes pour l'homme.

Il faudra réussir à combiner des résultats venant de trois sources de données différentes de système classique :

1. description morphologique et mesure des oocystes vivants.

2. description du cycle de développement, des stages endogènes données sur les études de transmission.....

3. séquençage de certains loci et comparaison entre les différentes souches.

La taxonomie des protozoaires en général est délicate car elle repose sur des critères parfois subjectif : quand il n'y a pas de différences morphologique visibles, ce sont les différences de distribution géographique. De spécificité d'hôte ou de comportement entre les parasites qui servent à définir ce qu'est une espèce. (17)

I.3.1. Position taxonomique :

Tableau 1 : Taxonomie de *Cryptosporidium sp.* (18)

| Classification | Nom | Caractéristique |
|----------------|-------------------|---|
| Règne | Protiste | -Eucaryote unicellulaire |
| Phylum | Apicomplexa | -présence d'un complexe apicale (intervenant dans la pénétration du parasite). -parasite intracellulaire obligatoire |
| Classe | Sporozoa | -Multiplication asexuée et reproduction sexuée -Formation des oocystes |
| sous-classe | Coccidiasina | -Cycle de développement comprenant Des stades de la schizogonie, gamatogonie -Gamonte de petite taille. |
| Ordre | Eucoccidiorida | Mérogonie toujours présente |
| Sous-ordre | Eimeriorina | -Développement indépendants du micro et macro gamètes -Zygotes non mobile |
| Famille | Cryptosporidiidae | -Quatre sporozoites nus (sans sporocystes contrairement aux autres eimeriidae) dans chaque oocyste. -stade endogène de développement comportant un organelle de d'attachement. -Cycle homoxène (contrairement au sarcocystidae qui nécessite un hôte intermédiaire. |

Depuis, une vingtaine d'espèces ont été découvertes mais certaines, incomplètement décrites, ne sont pas considérées comme valides aujourd'hui. La taxonomie du genre n'est toujours ni complètement établie ni acceptée par l'ensemble des chercheurs.

Plusieurs fois, au cours du siècle, une nouvelle espèce a été décrite mais finalement se révélait appartenir au genre *Sarcocystes* ou à une espèce déjà établie de *cryptosporidium*. (19)

C'est ainsi que l'on a découvert *C.ubiquitum* ou *C.muris* qui, en fait, se sont révélées être identiques à *C.parvum*.

Tableau 2 : Espèces du genre *Cryptosporidium sp* considérées comme valides (19)

| Espèce | Hôte | Taille oocyste (micromètres) |
|--------------------|---|------------------------------|
| <i>C.Muris</i> | Souris, Bétail | 8,48x6, 3 |
| <i>C.Parvum</i> | Souris, Bétail, Homme... | 5,0x4, 5 |
| <i>C.ubiquitum</i> | Ruminants comme les Ovins et caprins, carnivore, Rongeurs, primates | Non identifiée |

I.4. Biologie :

I.4.1. Morphologie:

Le parasite a une forme sphérique à elliptique et sa taille varie de 2 à 6 micromètre de diamètre ce qui est relativement petit par rapport aux autres coccidies. Il occupe une position dans la cellule épithéliale très particulière, en zone apicale, jamais en profondeur.

Les stades du cycle (voir figure 1) intracellulaire apparaissent en coupe histologique sous forme de petit corps basophiles donnant à la bordure en brosse un aspect granuleux.

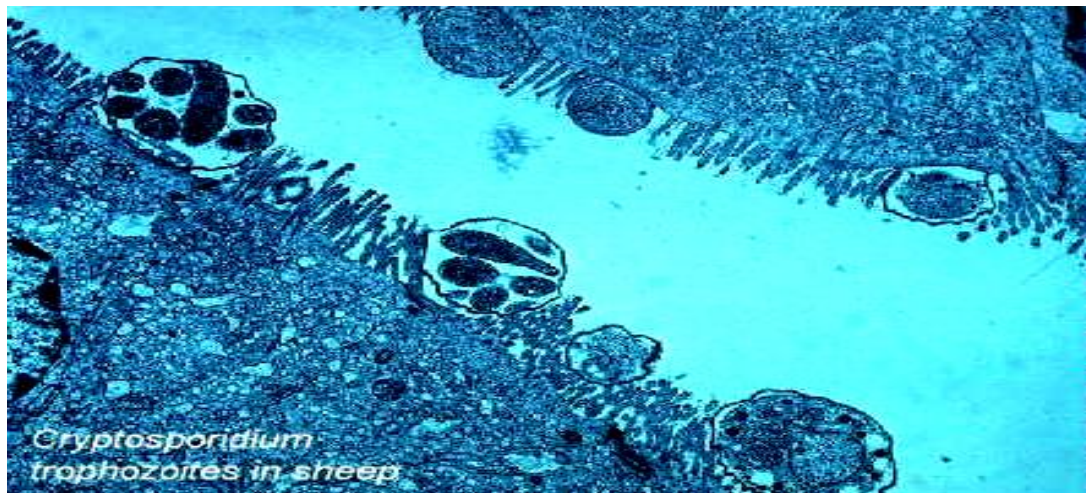


Figure1 : Photographie au microscope électronique montrant plusieurs stades de *Cryptosporidium* dans l'épithélium intestinal d'un mouton (cour 4^{ème} année)

I.4.2. Cycle de développement:

C'est un parasite monoxène qui peut effectuer son cycle évolutif en trois ou quatre jours. (20)

Toutes les espèces de *cryptosporidium* sont des parasites intracellulaires obligatoires. (21)

La forme de résistance et de dissémination est l'oocyste, excrété avec les fèces des sujets infectés. Pour que le cycle parasitaire soit initié, l'hôte doit ingérer des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes à partir des aliments ou l'eau contaminée.

Ce cycle peut être divisé en deux phases principales:

- une phase interne, chez l'ôte, comprenant une mérogonie ou schizogonie (multiplication asexuée), une gamogonie (production sexuée) et une sporogonie (sporulation). (22)

- une phase externe, représentée par la survie des oocystes excrétés dans le milieu extérieur. (22)

I.4.2.1. La phase interne :

Après l'ingestion, l'oocyste se excyste sous l'action de la trypsine et des sels biliaires, libérant 4 sporozoïtes mobiles qui parasitent les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal.

-Mérogonie(multiplication asexuée ou shizogonie):

Les sporozoites s'attachent à la cellule épithéliale de l'hôte par son pôle antérieur et se transforment en trophozoites en s'enfermant dans une vacuole parasitophore intracellulaire mais extra-cytoplasmique. Le trophozoite donne naissance à un mérozoite de type I contenant huit cellules filles ou mérozoites de type I pouvant infecter les cellules voisines. À ce stade, les mérozoites de type I peuvent initier soit une mérogonie de type II donnant naissance à un mérozoite de type II ne contenant que 4 mérozoites de type II, ou bien à nouveau une mérogonie de type I : rétro-infection.

-Gamogonie(reproduction sexuée) :

Les mérozoites de type II pénètrent dans les cellules intestinales et sont à l'origine des formes de la reproduction sexuée. (5). Ils se différencient soit en microgamontes (gamontes mâles), soit en macrogamontes (gamontes femelles). Les macrogamontes demeurent uni-nucléés en devenant des macrogamètes qui resteront dans sa vacuole parasitophore. Le microgamonte produit 12 à 16 microgamètes non flagellés (24,3). À la maturité, les microgamètes sont libérés dans la lumière intestinale et peuvent pénétrer un macrogamète afin de féconder et de former le zygote.

-Sporogone:

Le zygote qui se retrouve dans la lumière intestinale contient 4 sporozoites nus. (25). Il s'entoure d'une coque résistante qui représente la future paroi de l'oocyste, dont la particularité est la sporulation endogène. Suivant l'épaisseur de la paroi, deux types d'oocyste sont distingués : les oocystes à paroi fine qui sont auto-infectants tandis que les oocystes à paroi épaisse sont excrétés dans les fèces. Ces derniers sont donc directement infectants. (22). Ces particularités expliqueraient le maintien de l'infection chez les sujets immunodéprimés.

I.4.2.2. La phase externe:

Elle est représentée par la libération des oocystes infestant directement dans le milieu extérieur avec les matières fécales. Ils peuvent survivre plusieurs mois dans la litière, les murs et le matériel d'élevage. (26;27)

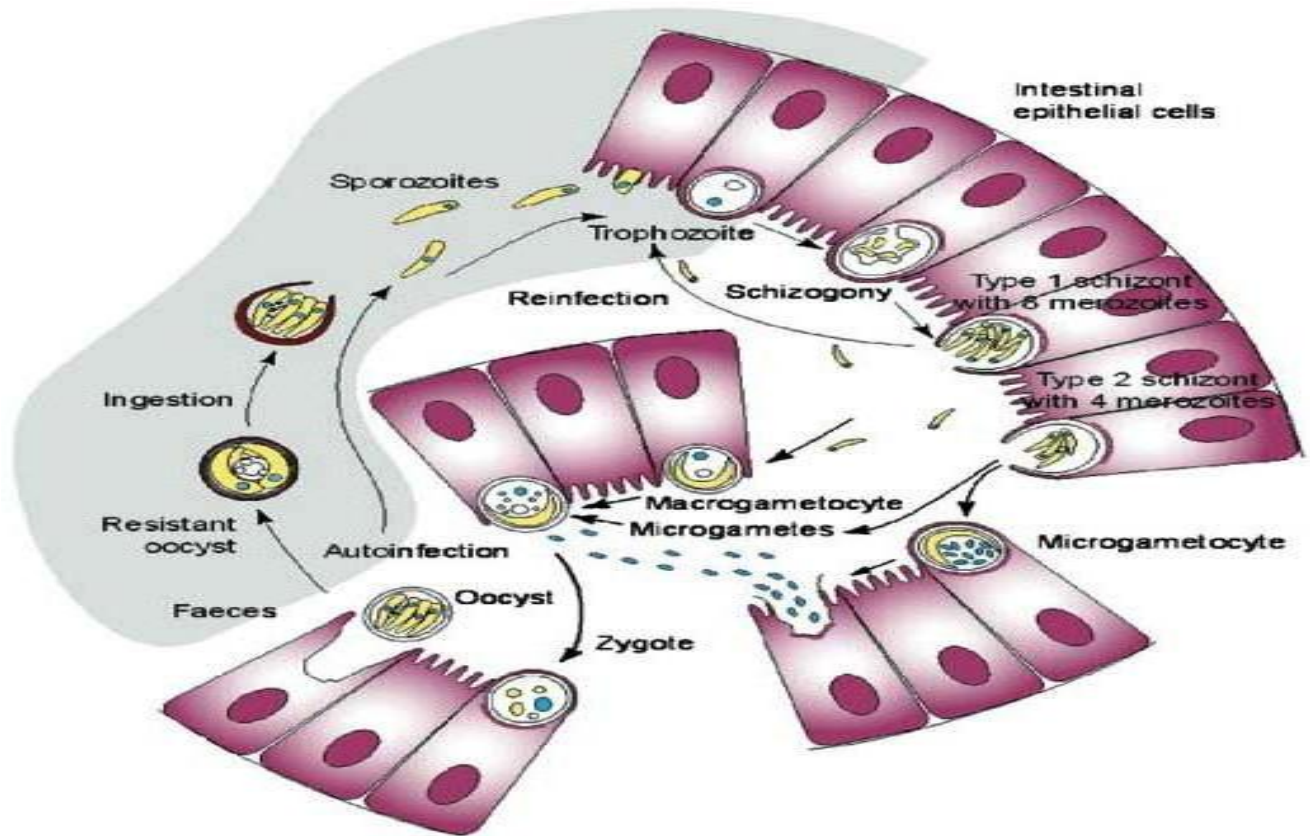


Figure 2: Cycle biologique de *Cryptosporidium* sp.

I.4.3. Localisation du parasite:

Ce cycle a lieu dans la partie apicale (exposée à la lumière de l'organe) des cellules épithéliales. Le plus souvent il s'agit de cellules épithéliales du tubes digestif, mais il peut semblerait qu'il puisse aussi s'agir des cellules épithéliales autres, comme par exemple de cellules de l'arbre respiratoire (28). Voire d'autres épithéliums : vésicule biliaire, canaux pancréatiques.

(2)

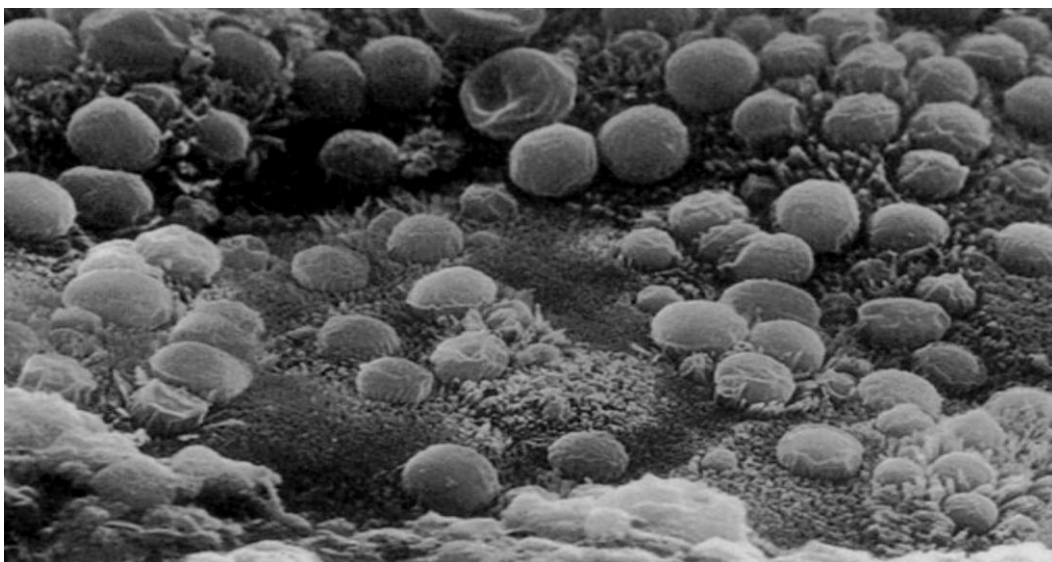


Figure 3 : Cellules intestinales infestées par de *Cryptosporidium parvum* en Microscopie à balayage (cliché, m. Naciri, INRA tours)

I.5. Particularité du cycle :

L'existence d'une auto-infestation à partir du recyclage des mérontes de type I et des oocystes à paroi fine serait à l'origine du caractère chronique de la maladie chez certains individus sans que ceux-ci ne soient en contact avec des oocystes d'origine exogène. (24,31)

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

I.6. Résistance du parasite dans le milieu extérieur :

Les oocystes qui sont la forme de résistance et de dissémination de *cryptosporidium* sont très résistants dans l'environnement:

- Ils peuvent rester viable et infectieux dans l'eau et dans les fèces animales pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0° et 30°C et jusqu'à un an dans l'eau de mer. (52)
- Ils survivent plusieurs semaines à la congélation, et plusieurs jours à PH acide (exemple: jus de pomme incriminé dans diverses études PH=3,8/4).
- Ils sont résistants aux désinfectants tels l'eau de javel, et l'antiseptique usuel, et aux concentrations de chlore utilisées dans le traitement des eaux potables
- Ils sont inactivés par l'ozone et les systèmes de filtration par le sable. (29, 52,30)

CHAPITRE II

LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES PETITS RUMINANTS

II.1. Epidémiologie:

II.1.1. Epidémiologie descriptive:

II.1.1.1. Répartition géographique:

La Cryptosporidiose des ruminants est présente dans le monde entier (2), elle est cosmopolite et les travaux de littérature montrent son existence sur les six continents, tant en zones urbaines qu'en zones rurales.

II.1.1.2. La prévalence de la Cryptosporidiose :

La prévalence représente le pourcentage d'animaux infectés par *Cryptosporidium sp* dans une population donnée à un instant donné. (19)

Cette estimation peut varier en fonction de la population de départ, de son âge, de ses conditions de vie, des techniques de détection des individus atteints ou bien encore du lieu de l'étude. Il est donc difficile de donner un chiffre brut pour évaluer la prévalence de la maladie chez les ruminants. Plutôt que de la prévalence de la maladie, il vaut mieux parler de prévalence d'excrétion car la plupart des études se basent sur la mesure du nombre d'animaux excréteurs indépendamment de leur statut clinique et non pas sur le nombre d'animaux malades. (19)

II.1.1.3. Espèces cible:

C. parvum a été identifiée majoritairement chez les ruminants la souris, les chevaux, les humains et de nombreux autres mammifères. (2)

Les humains sont essentiellement infectés par *C.hominis* et *C.parvum*. L'agent de la cryptosporidiose du chevreau est donc zoonotique.(23)

Actuellement, 14 espèces de cryptosporidium sont répertoriées .elles figurent, ainsi que leurs Hôtes principaux, dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 3: Les espèces de cryptosporidium leurs hôtes principaux. (23)

| Espèces | Hôte principale |
|------------------------|----------------------------------|
| <i>C. andersoni</i> | Bétail et camélidés |
| <i>C. baileyi</i> | Oiseaux |
| <i>C. canis</i> | Chiens |
| <i>C. felis</i> | Chats |
| <i>C. hominis</i> | Humains et singe |
| <i>C. meleagridis</i> | Oiseaux et humains |
| <i>C. muris</i> | Rongeurs et camélidés |
| <i>C. nasorum</i> | Poissons |
| <i>C. parvum</i> | Humains et les autres mammifères |
| <i>C. saurophilium</i> | Reptiles |
| <i>C. serpentis</i> | Serpents |
| <i>C. wrairi</i> | Cobayes |
| <i>C. galli</i> | Oiseaux |
| <i>C. suis</i> | Porcs |

II.1.2.Epidémiologie analytique:

II.1.2.1.Sources de parasite :

La principale source est bien sur représentée par les fèces des autres animaux de l'élevage: en premier lieu, les nouveau-nés. Que ce soit chevreaux ou agneaux, l'excrétion d'oocystes dans les premières semaines de vie est considérable et le milieu est très vite fortement contaminé. (32)

Les mères représentent donc une source insidieuse de contamination. (32)

Les animaux sauvages peuvent être considérés comme des sources de parasite. (33)

II.1.2.2. Modes de contamination :

La voie d'infection la plus commune est un contact étroit avec les fèces diarrhéiques des ovines et caprines malades. La transmission entre les animaux peut se faire directement c'est-à-dire d'animal à animal.

Ou indirectement via l'eau utilisée pour la désinfection, le personnel qui s'occupe des animaux, les locaux ou le matériel utilisé Les oocystes étant très résistants, tout ce qui n'est pas drastiquement désinfecté peut véhiculer des oocystes. (19)

Les oocystes sont très souvent retrouvé dans l'eau des surfaces :

- Consommation d'eau souillée.
- Bains en eau contaminé.
- Dépôt de fumier sur les prairies.
- Contacte directe entre les agneaux et les surfaces aquatiques.
- Transmission alimentaire. (7)

II.1.2.3. Doses infectantes :

L'influence de la dose infectante sur l'apparition de la maladie a été étudiée par plusieurs auteurs il n'y a pas une différence entre l'infection naturelle ou expérimental concernant les signes cliniques ou l'excrétion des oocystes et la réponse immunitaire. (34)

Néanmoins, la période pré patente est de quelques jours plus long dans les infections expérimentales avec une faible dose infectante. (35)

II.1.2.4. Facteurs favorisant de la contamination:

- Chez l'oocyste :

- la taille réduite des oocystes.
- leur résistance au chlore.
- leur caractère sporulé.
- leur résistance dans l'environnement.
- le réservoir de parasites, et l'excrétion massive des oocystes par les individus infectés qui assurent la contamination des ressources hydriques. (7)

- Chez l'hôte :

- Mauvaise conduite d'élevage chez les petits ruminants.
- La saison qui conduit à l'élevage intensif.
- L'âge des animaux surtout les jeunes qui sont plus sensibles comme les chevreaux.
- L'état de santé des animaux (excrétion des oocystes plus importante en cas de diarrhée). (7)

II.1.2.5. Spécificité de l'hôte:

La spécificité de ce parasite est résumée dans tableau 3 .

- Espèce :

La Cryptosporidiose se rencontre chez de nombreux animaux domestiques et sauvages (rongeurs, cervidés....). Tous les ruminants peuvent héberger et excréter des oocystes. Parmi les

ruminants qui représentent le plus grand groupe d'espèces concernées par la cryptosporidiose, le chevreau est plus sensible à l'infection par *Cryptosporidium sp.*

- Race :

La race ne semble pas être un facteur de prédisposition à l'infection. En revanche, le mode de stabulation, de maternité ou la densité de l'élevage qui varie en fonction des races sont des facteurs de risque.

- Age :

La Cryptosporidiose est essentiellement une maladie du nouveau-né. La plupart des cas cliniques se produisent entre l'âge de 4 et 15 jours chez les chevreaux. Chez les adultes, la maladie est généralement asymptomatique.

- Etat immunitaire :

Le parasite s'installe plus facilement chez l'animal sur un terrain immunodéprimé. Il est clair que la cryptosporidiose affecte les individus très jeunes, dont le système immunitaire est encore immature. (36)

CHAPITRE III LA CRYPTOSPORIDIOSE MALADIE

Tableau clinique et lésionnel du Parasite

III.1. Symptômes :

La maladie s'exprime cliniquement essentiellement chez les animaux nouveau-nés. Les chevreaux peuvent être contaminés juste après la naissance. S'ils demeurent artificiellement en dehors de tout contact avec le parasite (37), ils seront, avec l'âge, toujours sensibles à l'infection mais les signes cliniques seront moins sévères. Chez l'adulte, le développement du parasite ne s'accompagne généralement pas de symptômes.

Les principales symptômes sont une diarrhée aqueuse profuse, de couleur jaune pâle et ayant une odeur désagréable.(24)

Elle est précédée d'une phase d'abattement et d'anorexie. Cette diarrhée s'accompagne de l'excrétion d'oocystes. Elle débute 3 à 5 jours après l'infection. (37)

III.2. Les Lésions:

Les lésions macroscopiques sont peu spécifiques : le contenu de l'intestin est liquide, parfois des signes d'entérite (parfois qualifiée de catarrhale), de distension gazeuse ou de congestion de la muqueuse sont présents. La lumière intestinale est envahie par une grande quantité de liquide (blanc, jaunâtre à brunâtre) et colon est incapable de réabsorber tout ce liquide. La destruction des microvillosités entraîne une réduction de la surface intestinale et donc une malabsorption et l'altération des enzymes de l'épithélium intestinal entraîne une mal-digestion. (38)

Macroscopiquement, une légère atrophie des villosités une hyperplasie des cryptes et des points de nécrose de la muqueuse intestinale. Une augmentation significative, lors de la première infection, du nombre de lymphocytes T CD4+ est CD8+ dans la population lymphocytaire intra-épithéliale, dans la lamina propria et dans les plaques de Peyer de l'iléon. Aussi; possible

congestion du dernier tiers de l'iléon et hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques, une cachexie ou une amyotrophie plus ou moins prononcées sont en relation avec la durée et la sévérité de la maladie avant l'autopsie. (38)

III3. Diagnostic :

III3.1. Diagnostic clinique:

Le diagnostic clinique se base sur les symptômes et paramètres cliniques suivants :

- Touche les chevreaux âgés de 4 à 20 jours.
- Aspect très contagieux (souvent plus de 30 % des jeunes).
- Diarrhées de couleur claire et consistance mayonnaise, d'abord liquide puis mucoïde, d'odeur nauséabonde au bout de 1 à 2 jours.
- Signes de douleur abdominale, souvent ptose et épreintes, abattement et anorexie apparaissant 12 à 48 heures avant la diarrhée. (24)
- Perte de poids et déshydratation modérée.
- Persistance des symptômes pendant une semaine environ. (39)
- L'évolution se fait sur une dizaine de jours avec amaigrissement et relativement peu de mortalité s'il n'y a pas de complication infectieuse. Cette complication étant relativement fréquente et souvent accompagnée de mortalité.

III3.2. Diagnostic laboratoire :

Le recours aux techniques de laboratoire est le seul moyen de démontrer de façon certaine l'implication de *Cryptosporidium sp.* Ces techniques reposent sur la mise en évidence du protozoaire et peuvent être réalisés à partir d'un animal mort ou vivant, par prélèvement fécal. (40)

III3.2.1. Les techniques d'étalement sur la lame et coloration :

De nombreuses techniques sont utilisables pour colorer spécifiquement les oocystes de *Cryptosporidium sp.* Ces colorations réalisées sur des frottis de matière fécale, mais elles

peuvent également se faire suite à une concentration préalable des oocystes. (24). Les principales techniques utilisées sont les suivantes :

III3.2.1.1.Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée:

La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée permet de visualiser les oocystes colorés par la fuchsine. Ils apparaissent rouges sur un fond bleu. C'est la méthode de référence. (21) (41) (43)

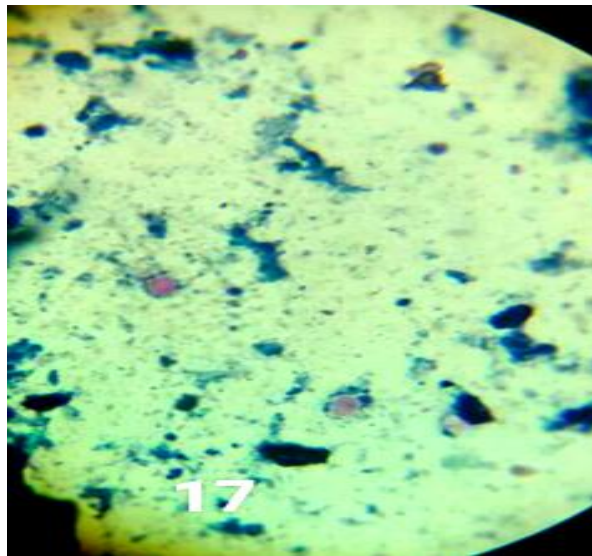


Figure 4 originales : Oocystes de *Cryptosporidium sp.* Colorés par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Grx100).

III3.2.1.2.Méthode de Heine :

Cette méthode est facile à réaliser, peu coûteuse et rapide, nécessite un microscope à contraste de phase. La lecture doit être faite dans les 15 minutes qui suivent la préparation. Les oocystes apparaissent incolores réfringent sur un fond plus sombre coloré en rouge. (40)

III3.2.1.3. Coloration au Giemsa:

C'est une technique facile, rapide et peu coûteuse, à tendance d'être abandonnée en raison des difficultés rencontrées lors de lecture. Les oocystes peuvent être confondus avec les levures dont la taille est très voisine et qui se colorent aussi en bleu. (32)

III3.2.1.4. Colorations au bleu de méthylène Fuschine basique:

Les frottis fixés à l'éthanol sont recouverts d'une solution de bleu de méthylène à 0.5%, chauffés pendant 3 minutes de coloration et puis rinçage. Les oocystes apparaissent colorés en bleu sur un fond rose. Cette technique à l'avantage d'être rapide et spécifique. (44)

III3.2.2. Techniques de concentration:

Elles sont plus sensibles que les précédentes.

Parmi ces techniques, la flottation en solution de saccharose saturée est la plus utilisée une quantification est possible par comptage des oocystes en cellule de thoma. (45)

La lecture doit se faire immédiatement après la préparation de la lame et suppose un œil averti. (9)

Ces trois méthodes sont les plus classiquement utilisées. Elles ne sont pas lourdes à mettre en œuvre et leur niveau de sensibilité est suffisant sur des animaux diarrhéiques.

III3.3. Diagnostic épidémiologique:

Tous les ruminants sont susceptibles d'héberger et donc d'excréter des cryptosporidies. Les différentes enquêtes en caprin ont montré que les animaux adultes excrétaient à base bruit sans aucun signe clinique des oocystes de *Cryptosporidium sp.*

- Résistants dans le milieu extérieur et peuvent persister dans les locaux ou sur le matériel d'une année à l'autre en l'absence de nettoyage et de désinfection.
- La source de parasites pour les chevreaux nouveau-nés peut être à la fois les adultes et l'environnement.
- Les jeunes se contaminent probablement durant les premières heures ou jours de leur vie.
- Les signes cliniques apparaissent 3 à 6 jours plus tard sur un nombre important d'animaux : faiblesse, diarrhée jaunâtre et éventuellement mortalité.
- Les animaux ne sont plus réceptifs au-delà de la 3eme semaine. (46)

Lorsque la maladie est déclarée, il y a 100% de morbidité (tous les animaux de la classe d'âge 2 semaines étant atteints) et 80 % de mortalité.

Parmi tous les ruminants, le chevreau est indiscutablement l'animal le plus sensible. Les conditions de l'apparition de la cryptosporidiose ne sont pas très claires. (46)

En effet, le parasite est probablement présent dans l'ensemble des exploitations caprines et pourtant les épisodes de cryptosporidiose aiguë ne touchent que certains troupeaux certaines années.

Tous les facteurs relatifs à l'hygiène générale ont probablement une importance dans l'apparition de la maladie: densité animale, paillage, propreté et qualité de l'alimentation et de l'abreuvement, qualité du colostrum. (46)

La pathologie associée joue probablement un rôle majeur dans l'apparition de la maladie en affaiblissant les animaux en favorisant la contamination puis la multiplication du parasite chez les animaux qui alors excrètent des millions d'oocystes dans leurs matières fécales. On constate souvent un épisode pathologique initial (diarrhée colibacillaire à 24-48 heures) qui se complique par la suite par une cryptosporidiose à la seconde semaine. Une fois cette cryptosporidiose (initialisée) sur quelques animaux, la contamination environnementale est telle que tous les animaux entrant dans ces locaux sont infectés puis malades. De même, le passage veaux à agneaux et chevreaux ou l'inverse par l'intermédiaire de bottes ou de matériel souillés a déjà été constaté. (46)

III.4 Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel chez l'animal est rendu difficile par les symptômes peu spécifiques et par la présence simultanée dans les classes d'âge concernées d'autres agents comme les virus : rota virus, coronavirus, ou les autres agents : *Clostridium perfringens* type B, *Escherichia coli*, entérotoxigènes ou *Salmonella sp* et *Giardia duodenales*. (47)

C'est une étape difficile mais indispensable à la mise en place de tout traitement. (47)

III 4.Traitement et prévention :

III 4.1. Traitements symptomatiques :

Le traitement de la cryptosporidiose est pratiquement impossible car aucune molécule n'a aujourd'hui une efficacité suffisante pour enrayer de manière significative l'évolution de la maladie. La seule alternative sur les animaux malades est d'appliquer un traitement symptomatique visant à limiter les conséquences de la diarrhée (anti-diarrhéiques, réhydratants). (46)

III 4.1.1 .Réhydratation:

Il est important de veiller à la bonne hydratation de chevreau. Dans certains cas, une réhydratation à la sonde sera nécessaire et dans les cas les plus graves, le vétérinaire devra réhydrater par voie intraveineuse. (48)

III 4.1.2. Le régime alimentaire :

- Chez le chevreau :

Le chevreau est monogastrique exclusif jusqu'à 2-3 semaines de vie. Le lactose est le seul sucre qu'il peut digérer. Les protéines végétales et l'amidon ne seront digérés qu'à partir de 3 semaines.

- Chez la mère:

La production d'AGNE (acides gras non-estérifiés) issus de la dégradation des graisses lors d'amaigrissement semble par contre avoir un effet négatif sur la synthèse des anticorps par les lymphocytes B. Il est donc Fortement déconseillé de faire maigrir des chèvres en état ! La complémentation en oligo-éléments joue un rôle majeur dans la qualité du colostrum, en particulier l'iode, le sélénium et le zinc. Une supplémentation en sélénium permet d'accroître la teneur en anticorps du colostrum et d'assurer un meilleur transfert immunitaire.

La chèvre doit donc produire un colostrum de qualité et en quantité suffisante afin que le chevreau soit correctement immunisé et puisse ainsi se défendre des différents virus, bactéries, parasite,.....

Ceci est dépendant de différents facteurs intervenant dans 3 semaines avant la mise bas. (49)

III 4.1.3.l'apport vitaminique:

Les vitamines jouent un rôle important sur le métabolisme, la reproduction et l'immunité. Il est important de faire des cures en vitamines AD3E avant la mise-bas. Les vitamines B, elles sont synthétisées par le métabolisme, les carences sont liées à un problème ruminal. (49)

III.4.1.4 .prévenir les surinfections:

Certains auteurs préconisent de recourir aux antibiotiques qu'en cas des confections avérées par des Bactéries. Les antibiotiques agissent en effet sur la flore intestinale normale ce qui peut réduire la résistance aux cryptosporidies. (50) Revoir le management en fin de gestation, il faut donner aux chèvres les apports en zinc, iode sélénium et vitamines A et E pour transférer l'immunité aux agneaux par le colostrum. (49)

III.4.2.Contrôles hygiéniques:

En l'absence de molécule totalement efficace, les mesures d'hygiène sont essentielles pour minimiser le risque d'apparition de la cryptosporidiose en élevage.

Il s'agit de réduire le nombre d'oocystes présents dans l'environnement des chevreaux dès les premières naissances et de maintenir cette contamination à son plus faible niveau:

Entre chaque bande, il est recommandé de retirer la litière, de curer les locaux d'assurer ensuite un nettoyage à chaud, à haute pression puis de réaliser un vide sanitaire.

Le nettoyage et la désinfection quotidienne du matériel à l'aide de produits actifs contre les oocystes (ammoniaque entre 5 et 50%, formol 10%) permettent de réduire la contamination de l'environnement et l'incidence de la maladie.

Pour une bande de chevreaux, le parc doit être maintenu très propre et sec, au moins pendant les deux à trois premières semaines de vie : cette précaution retarde l'exposition des animaux aux oocystes. Passé cet âge, cette bande devient moins sensible.

Les chevreaux doivent être séparés en lots en fonction de leur âge afin d'éviter de mélanger les plus jeunes avec des autres plus âgés, excréteurs mais moins sensibles.

Les malades doivent impérativement être séparés des animaux sains, le matériel utilisé à leur contact doit être nettoyé et désinfecté systématiquement.

La population de mouches doit être maîtrisée. (41)

III.4.3.Moyens de lutte :

La prophylaxie fait appel à 2 types de molécules dont l'obtention est sous la responsabilité du vétérinaire : l'utilisation de lactate d'halofuginone (Halocur) et le sulfate de paromomycine (Gabbrovet) est similaire : administration quotidienne ou biquotidienne de l'âge de 3 à 12 jours par voie orale en individuel ou dans le lait à la dose de 100 µg/kg/j (Halocur) ou 100 mg/kg/j (Gabbrovet). (46)

- Le Lasalocide:

Actuellement, le lasalocide est utilisé par certains praticiens pour traiter la cryptosporidiose chez les chevreaux. La dose recommandée est 3.75 mg/kg/j pendant 3 jours. Lorsqu'un chevreau est confirmé infecté par *C parvum*, tous les chevreaux du même lot doivent être traités. Il est inutile de traiter préventivement tous les futurs jeunes à naître des lots suivants. (Poncelet 2003)(93.94.95).

- Le Décoquinate:

Son utilisation est essentiellement préconisée à titre préventif à la dose de 2.5 à 5 mg/kg/j par voie orale pendant 20 à 30 jours. (51). Son activité thérapeutique est très peu documentée.

CHAPITRE IV

PARTIE EXPERIMENTALE

IV.1. Objectif:

L'objectif de la présente étude est la recherche de *Cryptosporidium sp* dans des prélèvements de matières fécales recueillis à partir de petits ruminants et particulièrement l'espèce caprine sans prendre en considération le sexe ni l'âge de l'animal afin de déterminer la prévalence de cette maladie dans la région de KSAR EL BOUKHARI, lieu de notre étude.

IV.2. Matériels et méthodes:

Le matériel et les méthodes adoptées pour la recherche de *Cryptosporidium sp* dans les matières fécales sont choisis parmi les méthodes de références.

IV.2.1. Matériel biologique:

Notre étude a porté sur la recherche des *Cryptosporidium sp* sur 49 prélèvements de matières fécale quelque soit l'âge du sujet et la consistance des prélèvements.

IV.2.2. Matériel de laboratoire:

Le matériel de laboratoire, colorants et réactifs utilisés dans la présente étude sont les suivants :

- Bacs à coloration.
- Pinces.
- Centrifugeuse
- Minuterie
- Micropipettes jetables.

- Lames.
- Microscope optique.
- Glacière pour l'acheminement des prélèvements vers le laboratoire.
- Pots en plastique stériles pour les prélèvements des matières fécales.
- Etiquettes autocollantes pour reporter les renseignements de l'échantillon.
- Gants.

IV.2.2.1. Réactifs:

Les réactifs utilisés pour la coloration de Ziehl-Neelson modifiée par Henriksen et Pohlenz :

- Méthanol
- Solution fuchsine phéniquée: solution A =10ML , solution B=90ML

-Solution A :

Fuschine basique 15g
Ethanol a 95% = 100ML

-Solution B :

phénol 5g
Eau distillé 100ML

- Acide sulfurique à 2.5%, préparé au laboratoire :
- Composition : 156 ml d'eau distillée.
4 ml d'acide sulfurique concentré.

IV.3. méthodes:

IV.3.1. Echantillonnage:

Les prélèvements de matières fécales ont été collectés dès leur émission spontanément ou après excitation de l'orifice anal dans des récipients stériles, ou encore par la fixation sur l'animal d'un matériel approprié (sachets en plastique) pour éviter le contact des matières fécales émises avec le sol. Après avoir recueillis les matières fécales les récipients ont été hermétiquement fermés et étiquetés. Tous les caprins dont l'âge varie d'une semaine à six ans diarrhéiques ou non ont fait l'objet d'un prélèvement.



5 a. Collecte de matières fécales diarrhéique



5 b Collecte de matières fécales en utilisant des sachets en Plastique

Figure 5 : Méthodes de prélèvements des matières fécales.

Les prélèvements ont été acheminés vers laboratoire de l'université de Blida à 4C° jusqu'à leur analyse parasitologique.

Chaque prélèvement a été identifié par une étiquette et une fiche de renseignements qui renseigne sur :

- Nom du propriétaire.
- Age de caprins.
- Consistance de la matière fécale diarrhéique ou non.
- Lieu de prélèvements

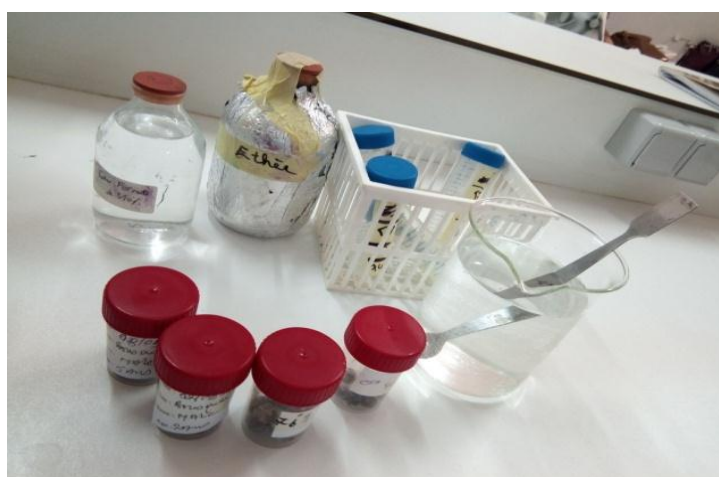


Figure 6 : Identification des prélèvements

IV.4. Technique de laboratoire:

Deux techniques ont été utilisées, il s'agit de la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (Achir, 2004), et la technique de coloration de (Zielhl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz, 1981). Ces deux techniques étant connues pour leur spécificité et leur sensibilité.

La recherche des *Cryptosporidium sp* dans les matières fécales dépend de la consistance du prélèvement ; Si le prélèvement est diarrhéique la recherche peut être réduite limitée à une seule technique qui est celle de la coloration de (Zielhl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz). Par contre si le prélèvement est solide il devient impératif que les deux techniques de recherche sus cités se succèdent à savoir la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley et la technique de coloration de Zielhl-Neelsen modifiée.

Les deux méthodes de recherche sont citées de façon explicite dans le paragraphe suivant :

IV.4.1. Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley:

Afin de rechercher des cryptosporidies conformément à la méthode de Ritchie on doit suivre les étapes suivantes :

IV.4.1.1. Mode opératoire:

1. Déposer quelques grammes des selles dans un verre à pied conique à l'aide d'un agitateur en verre.

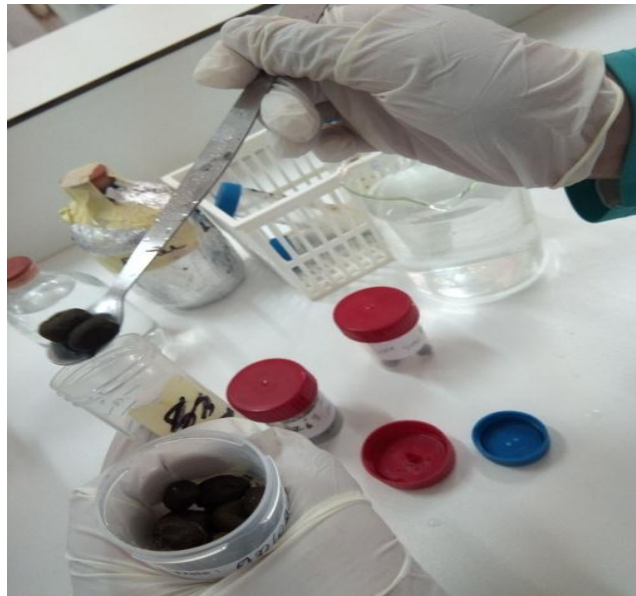


Figure 7 : Pesée 5g de matières fécales

2. Verser dans le verre à pied un volume d'eau formolée à 10%, 2 à 3 fois supérieur à celui des selles.

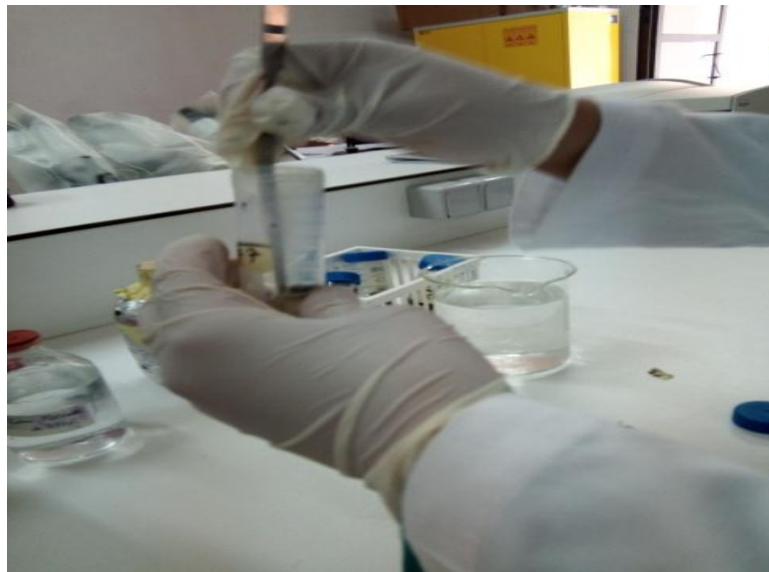


Figure 8 : Homogénéisations dans un tube conique

3. Agiter à l'aide d'un agitateur en verre jusqu'à l'obtention d'une dilution homogène.
4. Laisser décanter quelque minute (1 à 2 minutes), pour éliminer les gros débris fécaux.
5. A l'aide d'une pipette pasteur aspirer une partie du surnageant et verser dans un tube conique en verre équivalent aux $\frac{2}{3}$ du volume total à émulsionner.
6. Ajouter un volume d'éther correspondant au $\frac{1}{3}$ du volume total à émulsionner.

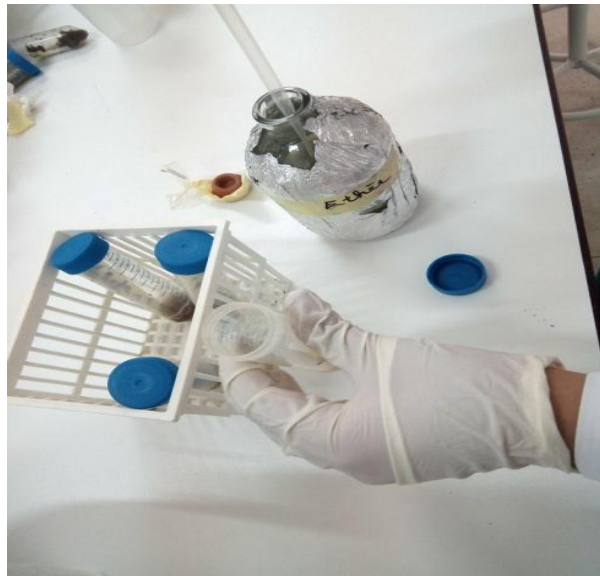


Figure 9 : Ajoute d'un volume d'éther

7. Boucher le tube avec un bouchon en caoutchouc, tout en prenant soin de laisser un espace vide pour le liquide d'environ 1 cm, pour permettre l'émulsion.

8. Agité le tube vigoureusement pendant une minute.

9. Peser les tubes pour équilibre avant la centrifugation.

10. Centrifuger à 2500 tour / minutes pendant 5 minutes, après centrifugation, le contenu du tube se répartit en 4 couches qui sont de haut en bas :

Une couche étherée chargée en graisses, une couche épaisse sous forme d'anneau constituée de gros débris, une couche aqueuse et un culot dans lequel se sont concentrés les éléments parasitaire.



Figure 10 : Centrifugation des tubes

11. Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.

IV.4.1.2. Lecture:

Afin d'observer des cryptosporidies sur lame, une goutte de culot préalablement homogénéisée et prélevée à l'aide d'une pipette pasteur et déposée sur une lame ; est mélangée avec une goutte de lugol. La lame est couverte d'une lamelle et examinée à l'objectif x10 puis à l'objectif x40 pour la recherche, de *Cryptosporidium sp* et ou éventuellement de kystes de protozoaires.

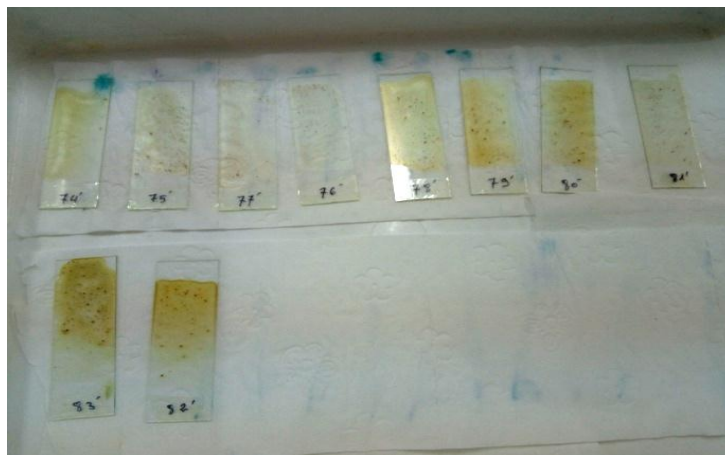


Figure11_: lames préparées selon la technique de Ritchie

IV.4.2. Technique de Zielhl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz:

Dans le cas où le prélèvement est solide de consistance, la recherche des cryptosporidies est poursuivie par la méthode de Zielhl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. Pour la recherche avec cette méthode on doit procéder comme suit :

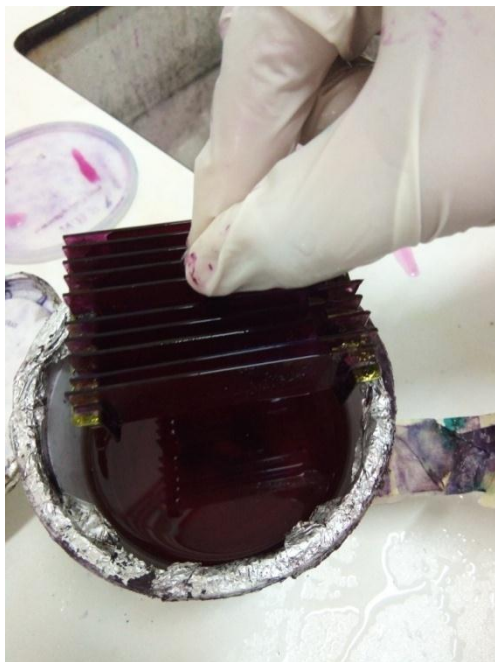
IV.4.2.1. Confection d'un frottis fécal :

Le frottis fécal doit être mince et adhérent à la lame, ce frottis est réalisé à partir du culot de centrifugation de la méthode de Ritchie simplifiée déjà décrite.

A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève 1 à 2 gouttes de culot de centrifugation après une légère homogénéisation. Sur deux lames bien dégraissées et numérotées, pour une bonne reconnaissance ultérieure, déposer la goutte à l'une des extrémités de la lame et la mettre en contact avec le bord d'une autre lame. La goutte diffuse sur le bord de la lame par capillarité, ensuite l'étaler sur toute la surface de la lame et d'une manière continue en zigzag sans revenir au point de départ. On obtient alors un frottis mince avec plusieurs épaisseurs. La lame est laissée sécher à l'air libre jusqu'à une nuit.

IV.4.2.2. Fixation, coloration du frottis :

Le frottis est fixé au méthanol pendant 5 minutes. La lame est laissée sécher à l'air ou par agitation. Par la suite le frottis est coloré dans une solution de fuchsine phéniquée pendant 60 minutes. Rincer à l'eau du robinet et contre colorer avec une solution de vert malachite à 5% pendant 5 minute (tout va être coloré en vert sauf les cryptosporidies qui gardent la coloration rouge), la lame est rincée à l'eau du robinet et séchée à l'air ou par agitation. La lecture se fait au microscope à l'objectifx40 et x100(à l'immersion).



12a : Coloration a la Fuschine



12b : Rinçage



12c : Coloration au vert de malachite

Figure 12 : Fixations et coloration d'un frottis.

IV.4.2.3. Lecture :

Cette technique permet de visualiser nettement les oocystes de cryptosporidium qui sont colorés en rouge vif, parfois en rose sur un fond vert. Ce sont des éléments ronds à ovoïdes de 4-6 µm de diamètre en moyenne, les parois est épaisse, dans le cytoplasme il y a une zone centrale ou latérale plus claire, non colorés qui correspond au corps résiduel (reliquat oocytal), et en périphérie ou au centre des granulations noirâtres au nombre de quatre ou plus, qui correspondent aux sporozoïtes.

IV.5. RESULTATS ET DISCUSSIONS:

IV.5.1. Prévalence de la cryptosporidiose:

La recherche de *Cryptosporidium sp* dans les prélèvements étudiés sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 4: Résultat global de la recherche de *Cryptosporidium sp*

| prélèvements | Résultat positif | Résultat négatif |
|--------------|------------------|------------------|
| 49 | 25 (51.03%) | 24 (48.97%) |

Les résultats ci-dessus montrent que la recherche du parasite dans les matières fécales des caprins a révélée que 25 prélèvement sur un total de 49 soit (51.03%) étaient infestés par le parasite. Les lames dans lesquelles on n'a pas observé le parasite ont représenté 48.97% des prélèvements étudiés soit 24 de 49prélèvements. Ces résultats sont représentés par la figure suivante :

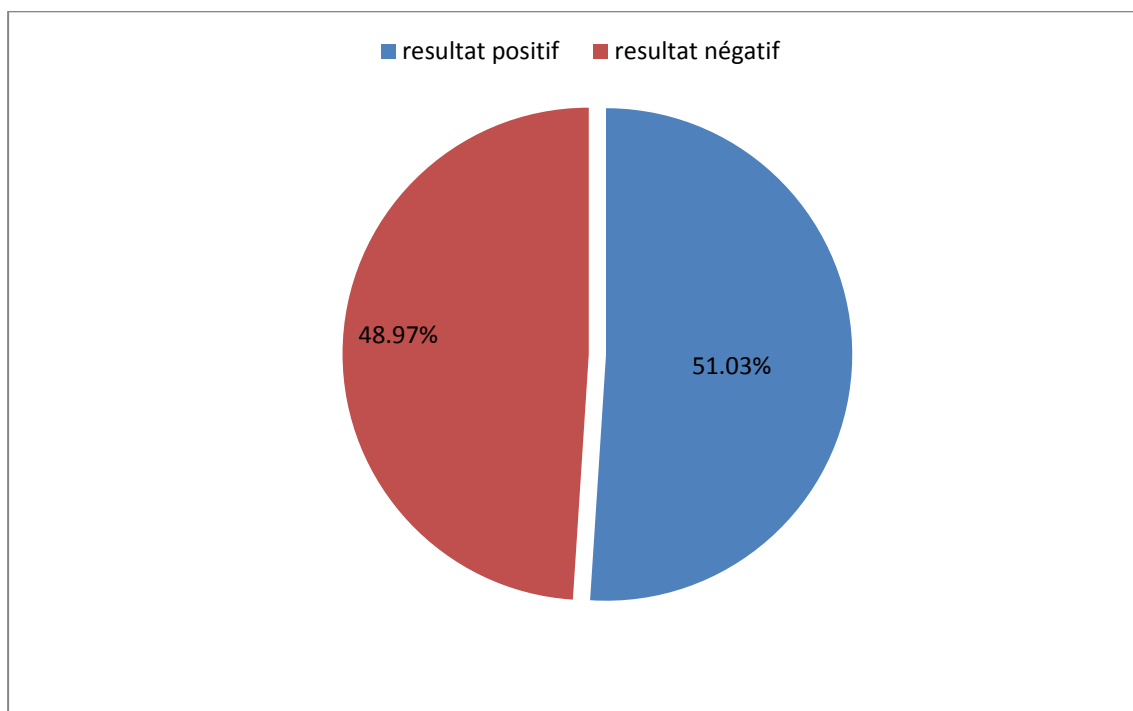


Figure 13_: Prévalences du résultat global de la *Cryptosporidium sp*.

La distribution des résultats en fonction des localités de la région lieu des prélèvements (Tableau 5) montrent que la localité de Sebtaziz est celle dont les caprins sont les plus infestés par le parasite avec un taux de (48%) suivie de la localité de M'fatha avec (36%) et en dernier lieu la localité de Zobra avec (16%). Le tableau suivant rapporte ces résultats :

Tableau 5: Distribution des résultats en fonction des localités.

| Localités dans La région d'étude | M'fatha | Sebtaziz | Zobra | Total |
|----------------------------------|---------|----------|---------|-------|
| Résultat positif | 9 (36%) | 12 (48%) | 4 (16%) | 25 |

Les résultats par localité sont représentés par la figure qui suit :

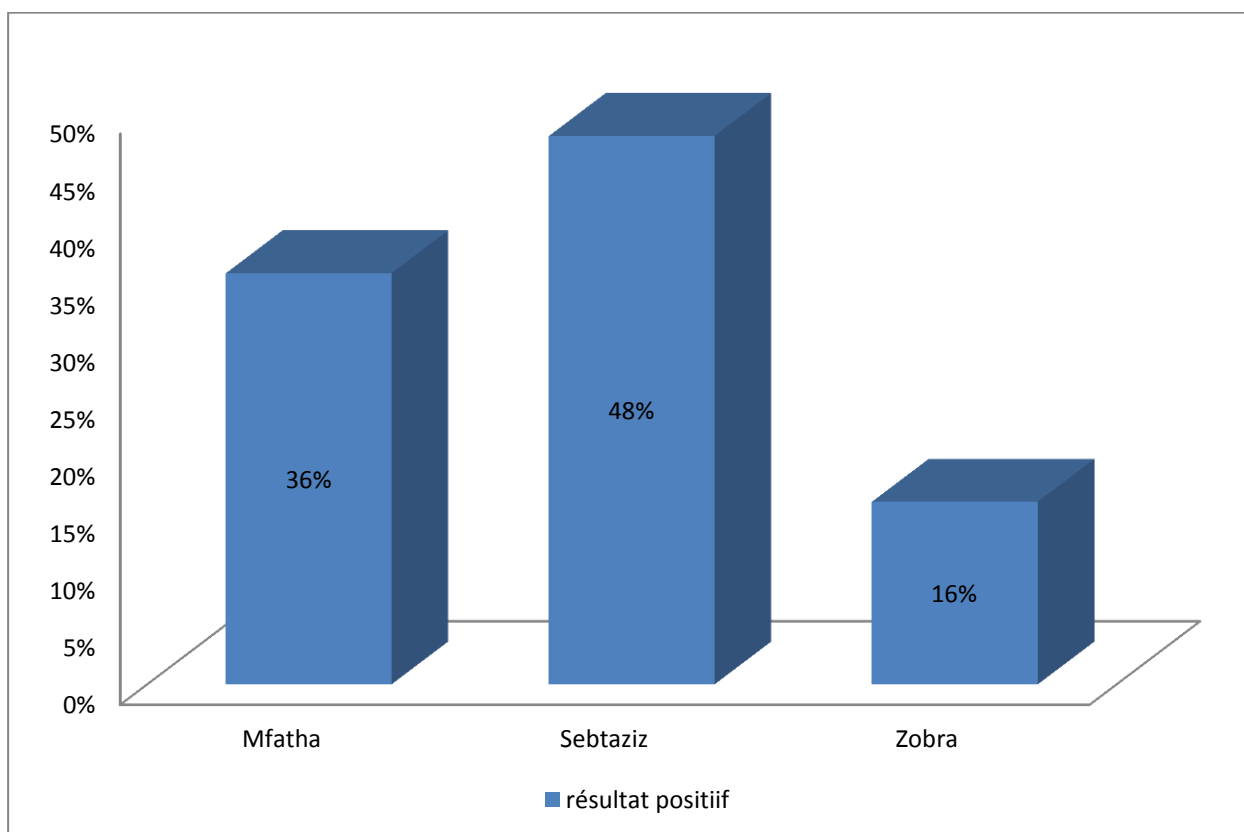


Figure 14 : Prévalences par localités.

IV.5.2. Répartition des résultats en fonction de l'âge:

Nous avons recueillis 49 prélèvements provenant des trois localités de la région de ksar el boukhari dont le but de rechercher l'oocyste de *Cryptosporidium sp.* Dans la matière fécale des caprins diarrhéiques et non diarrhéiques âgés d'une semaine à six ans. La détection des cryptosporidies dans les prélèvements par rapport à l'âge sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau6: Prévalence de la cryptosporidiose selon l'âge

| L'âge | Nombre des prélèvements | Nombre des prélèvements(+) | % de prélèvement(+) |
|--------------|-------------------------|----------------------------|---------------------|
| Une semaine | 1 | 1 | 100 |
| 15 jours | 3 | 0 | 0 |
| 1 mois | 3 | 2 | 66.66 |
| 6 mois | 3 | 1 | 33.33 |
| 8mois | 3 | 1 | 33.33 |
| 1 ans | 9 | 4 | 44.44 |
| 2 ans | 9 | 6 | 66.66 |
| 3 ans | 5 | 2 | 40 |
| 4 ans | 6 | 3 | 50 |
| 5 ans | 2 | 1 | 50 |
| 6 ans | 5 | 4 | 80 |
| Total | 49 | 25 | 51.02 |

Ces résultats montrent que les caprins sont infestés par *Cryptosporidium sp* à tout moment de leur vie et le parasite est présent à des taux très importants, cependant le taux le plus fort est enregistré dans la première semaine de vie.

La distribution des résultats en fonction des tranches d'âge est présentée dans le tableau 6

Tableau7: Prévalence de la cryptosporidiose en fonction des tranches l'âge

| Tranche d'âge | Nombre | pourcentage |
|----------------------|--------|-------------|
| [une semaine-1 mois] | 3 | 42.85% |
| [1 mois- 1 an] | 6 | 40% |
| [1 an- 6 ans] | 16 | 59.25% |

L'analyse des résultats ci-dessus montre que l'oocyste existe chez tous les caprins indépendamment de l'âge. Les animaux âgés de moins d'un mois représentent 42.85% des résultats. Ceux âgés de plus d'un mois jusqu'à une année représentent 40%, et ceux âgés d'une année et plus représentent 59.25%.

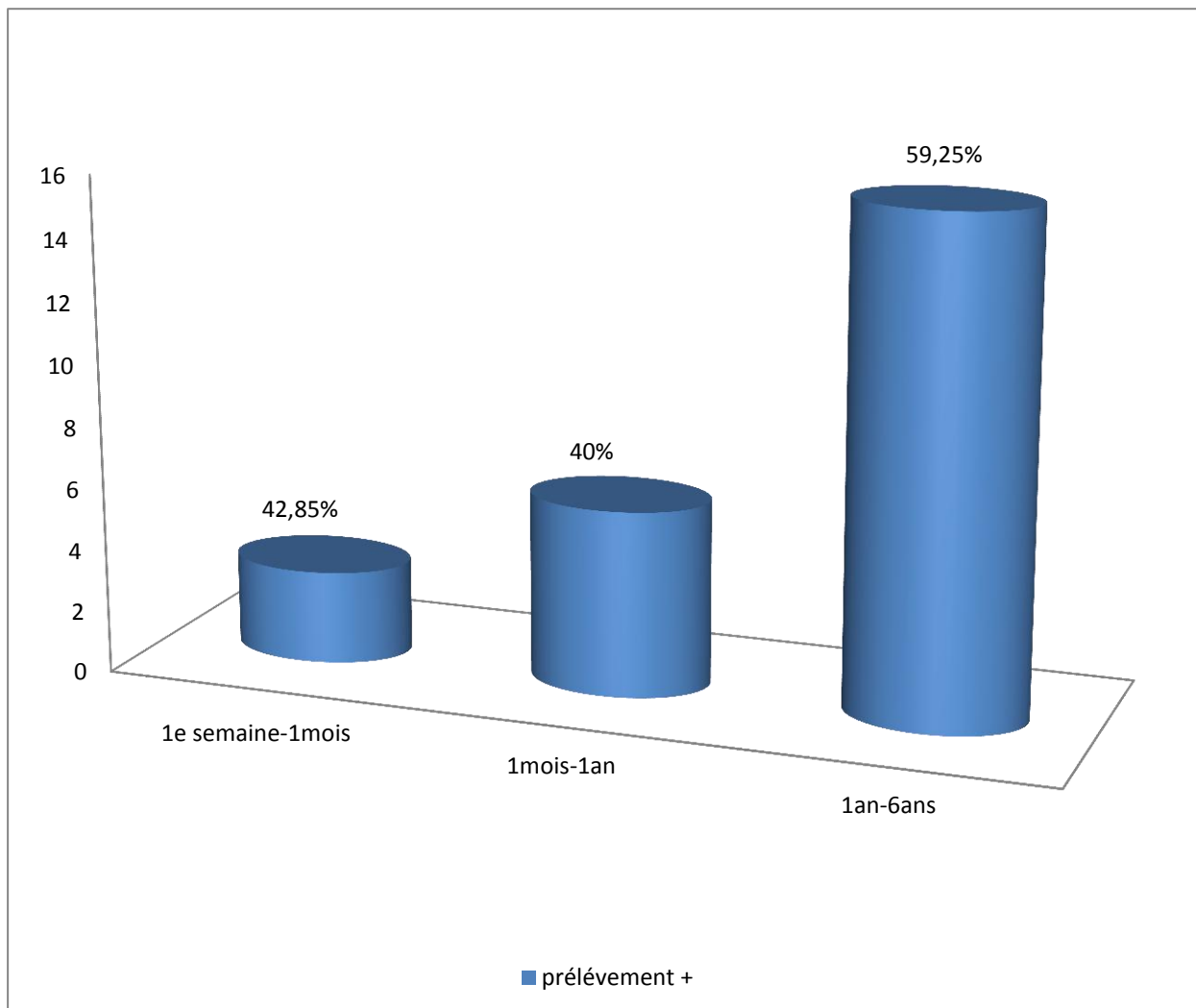


Figure15 : Prélèvements positifs en fonction des tranches d'âge.

IV.5.3. Répartition des résultats en fonction du sexe:

Le traitement des résultats en fonction du sexe de l'animal a révélé ce qui suit :

Tableau 8: Répartition des résultats en fonction du sexe.

| Prélèvements | Résultats positifs | |
|--------------|--------------------|-------------|
| | Male | Femelle |
| Sexe | | |
| 25 | 6 (12.24%) | 19 (38.77%) |

On observe du tableau ci-dessus que les femelles sont plus exposées que les males avec 38.77% contre 12.24% chez les males. La représentation graphique rapportant ces résultats est la suivante :

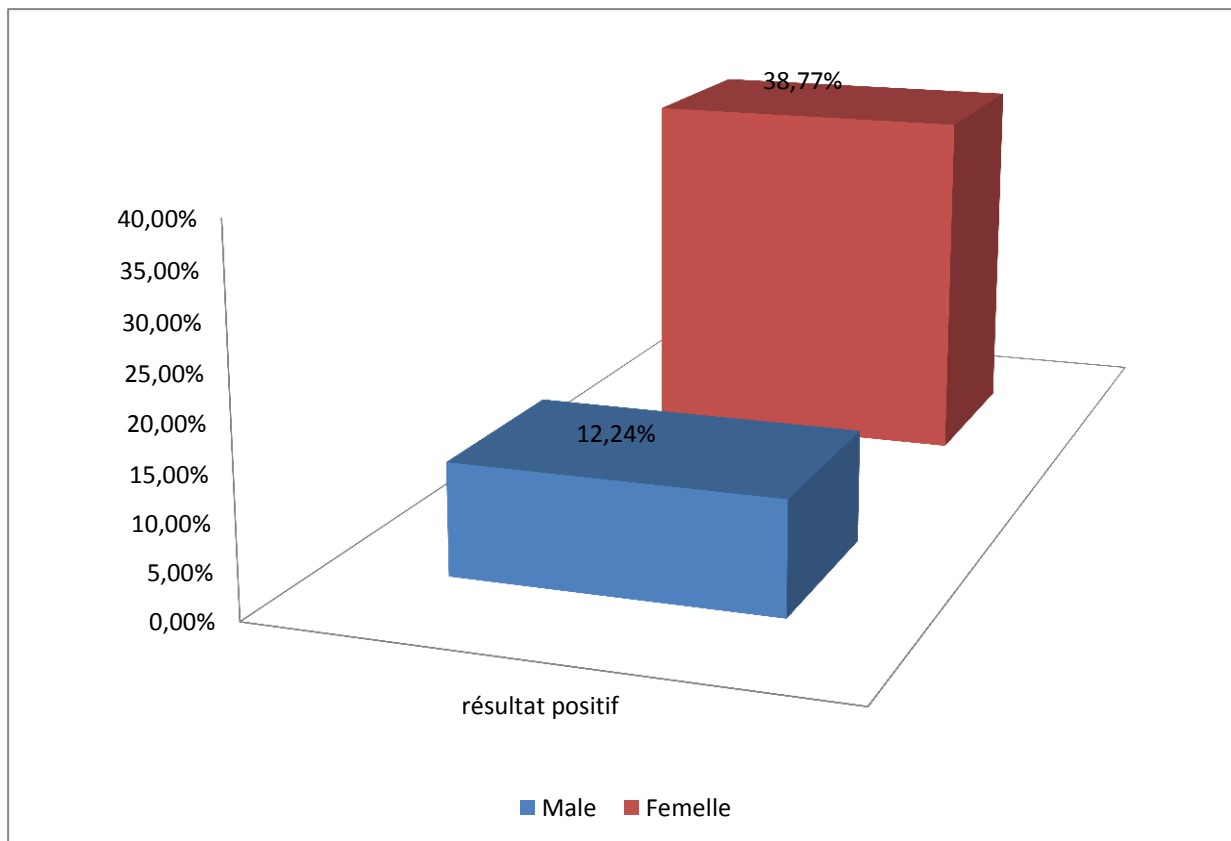


Figure16 : Prévalence des résultats en fonction du sexe.

IV.6. Discussion générale :

Sur les 49 prélèvements analysés, 25 se sont révélés positifs à *Cryptosporidium sp* soit (51.03%), Notre résultat concorde avec la prévalence de la cryptosporidiose au niveau mondial qui est situé entre 5% et 77%. Cet intervalle de prévalence a été rapporté spécialement chez les petits ruminants par Bomfim, TC et al, Ryan, U.M., et al et Santin M et al. (57; 58; 59).

Nos résultats sont proches de ceux observés en Espagne par Causapé et al (61) qui était de (59%).Cependant, ils ne rejoignent pas dans l'ensemble et sont relativement supérieurs à ceux enregistrés dans d'autres pays. Dans une étude d'Alonso-Fresan et al au Mexique les cryptosporidies ont été observé dans 33% des prélèvements(60), En Turquie Bullent U, Huseyin Va avancer un taux de (46%) (62) et (45%) des prélèvements se sont révélés positifs au Etats unis (54).

La concordance de nos résultats avec ceux rapportés en Espagne peut être expliquée par l'appartenance à la même région géographique, c'est-à-dire le bassin méditerranéen, et que l'infestation parasitaire est favorisée par les mêmes facteurs ; d'abord par rapport aux conditions climatiques influençant les deux pays ainsi que le système et les pratiques d'élevages.

Les écarts entre les résultats peut être expliqué par les variations climatiques et au mode d'élevage pratiqué. Le choix de la population d'étude et la taille de l'échantillon représente aussi un facteur non négligeable car le Matos-Fernandez et al (63) a analysé 367prélèvements alors que la totalité de nos prélèvements était nettement inférieure ce qui a pu influencer nos résultats.

La différence dans les taux enregistrée peut être aussi due à la méthode de diagnostic. Bien que la méthode de Ziehl-Neelson modifiée par Enriksson et Polenz représente une grande sensibilité et est spécifique pour la recherche de cryptosporidies, les méthodes moléculaires restent de loin les méthodes de choix et leur sensibilité et spécificité sont meilleures et permettent de détecter des traces du génome de *Cryptosporidium sp* dans des échantillons qui se sont révélés négatifs avec la méthode de Ziehl-Neelson modifiée par Enriksson et Polenz.

En ce concerne la prévalence troupeau, nous avons enregistré l'atteinte de la totalité des troupeaux prélevés soit 100%. Ce résultat est plus important que celui avancé par Causapé

et al soit (84%) (61) et (73%) en Espagne (56). D'autres études menées dans le même pays dans des élevages aléatoirement choisis ont signalé une prévalence individuelle allant de (14.7% à 24%) et une prévalence cheptel qui s'étend entre (46.7% et 100%) Matos-Fernandez et al (198). Cependant notre résultat est nettement inférieur à celui enregistré en Iran et en Italie et qui ont été 3% et 8% respectivement (64) (65). Deux autres études menées également en Espagne ont trouvées (47% et 65%) respectivement (54). Ces résultats démontrent que *Cryptosporidium Sp* est largement répandu dans les troupeaux caprins dans la région d'étude.

L'âge

L'âge des animaux infectés par *Cryptosporidium sp* varie d'une semaine à six ans avec un maximum à l'âge d'une semaine (100%). Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Panousis et al (66) qui ont trouvé la maladie chez les agneaux âgés de 1 à 90 jours,

Nos résultats montrent que la cryptosporidiose est trouvée chez les caprins à tout âge. Naciri et al (53) ont montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les groupes d'âge infectés par *Cryptosporidium sp*. (55). Cependant les nôtres montrent que c'est surtout les jeunes qui sont infectés, ceci rejoint les observations de Ramirez et al (67), qui ont conclu que les animaux jeunes sont plus sensibles à l'infection et plus susceptibles de développer la maladie.

IV.7. Conclusion :

L'épidémiologie de la cryptosporidiose des caprins n'est pas encore élucidée vu le manque d'études chez cette espèce en Algérie.

À l'issue du présent travail, la prévalence de *Cryptosporidium sp* est estimée à 51.02% touchant surtout les animaux très jeunes avec une prédominance chez les femelles. Les pertes économiques qui s'en suivent sont le retard de croissance, et les couts liés aux réhydratations et aux traitements. La maladie s'exprime par une diarrhée non caractéristique, mais il existe aussi une forme asymptomatique de portage (source de contamination). Ces caprins jouent un rôle important dans la contamination environnementale (sols, litières, murs, matériels d'élevages). En conséquence ces animaux peuvent être un réservoir potentiel des infections humaines suite à une contamination de l'eau et du sol.

De nombreux éléments restent encore à découvrir dans cette pathologie, chez les caprins particulièrement : les facteurs de risque, l'association avec d'autres entéropathogènes, et le statut de l'espèce zoonotique (*C. parvum*), d'origine caprine. Des études moléculaires pourraient être d'un grand secours.

IV.8. Recommandations:

Les facteurs prédisposant à l'apparition de la cryptosporidiose sont nombreux, mais la qualité de l'alimentation des caprins aux alentours de l'agnelage et le défaut d'hygiène restent les facteurs les plus incriminés. Afin de réduire le risque d'apparition de la cryptosporidiose et d'améliorer le bien-être et la résistance des animaux les recommandations suivantes s'avèrent utiles :

- S'assurer que les chevreaux reçoivent un colostrum de qualité et en quantité suffisante après la naissance, l'apport colostrale doit être suivie d'une alimentation de qualité.
- Equilibrer l'alimentation des chevreaux.
- Les chèvres gestantes doivent recevoir une alimentation équilibrée, notamment en fin de gestation et pendant la période d'allaitement.
- Maintenir les chèvres ainsi que leur petit en excellent état de santé par la conformité aux directives du vétérinaire faisant le suivi sanitaire du cheptel.
- porter une attention à l'hygiène générale du troupeau, à l'hygiène du matériel d'élevage et du personnel d'élevage.
- Prêter attention à l'origine et à la qualité de l'eau d'abreuvement.
- Assigner de nouvelles pratiques d'élevages basées sur l'éviction du mélange ou la proximité d'espèces de ruminants, des carnivores domestiques et des rongeurs.
- Enfin, des études futures doivent être menées sur un échantillon plus important et représentatif des caprins élevés dans la région.

References:

- (1).Appelbee A.J., Thompson R.C.A., Olson M.E., (2005): Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife-current status & future needs, trends in Parasit, 21 (8), 370-376.
- (2).Fayer R. (2004). Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. Veterinary Parasitology, 126, 37-56.
- (3).Tyzzer, E.E., (1907). A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse .Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 5:P.12-13.
- (4).Tyzzer, E.E., (1910). An extra cellulaire coccidium, cryptosporidium muris (gen.et sp.nov),of the gastric gland of the common mouse. J. Med. Res. Vol.23, P.487-509.
- (5).Tyzzer E.E., (1912). Cryptosporidium parvum (sp.nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse .Arch. Protistenkd. Vol. 26, P. 394-412.
- (6).Triffitt, M.J., (1925). Observation on two species of coccidian parasites in snakes Protozool. Vol.1, P. 19-26.
- (7).Salvin,D., (1955).cryptosporidium meleagridis (sp.nov.). J Comp Pathol 65,262-266.
- (8).Mourin M.et al., (1978).Neonatal colfdiarrhea: pathology and microbiology of spontaneous cases in dairy herds and incidence of the enteropathogens implicated as ethiological agents. porc .Second intern. Symposium on neonatal diarrhes, university of Saskatchewan, Canada, P, 347-370.
- (9) Nime, F.A., Buerk, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A., Yardley, J.H.,(1976). Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium. Gastroenterology 70, 592-598.
- (10).Dubey J, P., Speer C.A., Fayer R., (1990), Cryptosporidiosis of man and animals, Boston: Raton ET Arbor, 199p.
- (11) Ortega. Mora, L.M, Wright SE.(1994) <<Agerelated resistance in ovine cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response >>. Infect Immun, 62:5003.9.
- (12) Bird, R.G., Smith, M. D., (1980). Cryptosporidiosis in man: parasite life cycle and fine structural pathology. J Pathol 132, 217-233.
- (13).Tzipori, S, Widmer. G, (2008). A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. Trends parasitol 24, 184-189.

- (14) Fayer, R., Morgan, U., Upton, S.J., (2000). << Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification>>. *Int J Parasitol* 30, 1305-1322.
- (15). Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S. Blair, K. A., Peterson, D.E., Kasmierczak, J.J., Adiss, D. G., Fox, K. R., Rose, J.B., Davis, J.P., (1994). << A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. The new England>> *journal of medicine* 331, P. 161-167.
- (16). Guyot, K., Ngouanesavanh, T., Dei-Cas, E., (2005). <<Strategies for detecting pathogenic protists in water: the point on *Cryptosporidium*>>. *European Journal of water quality* 36, 51-70.
- (17). XIAO, L., MORGAN, U.M., FAYER, R., THOMPSON, R. C., LAL, A.A. (2000), <<Cryptosporidium systematic and Implications for public health>>. *Parasitology Today*, 16, 7, 287-292.
- (18). Barta, J.R., Thompson, R.C., (2006), {what is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends Parasitol*, 22, 463, 468.
- (19). Andro-786.pdf
- (20). Matthews J., (1991), *Diseases of the goat*, Oxford: Butterworth-Heinemann. 310 p.
- (21). Chambon F., <<La cryptosporidiose du cheveau enquête et essai thérapeutique >>, Thés. Méd. Vét.,
- (22). Naciri M., (1992). La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. *INRA prod. Anim.* Vol.5, N°5, p:319-327.
- (23). Sonia Lacroix-Lamande., 2001. Rôle de l'interféron gamma dans la réponse immunitaire mucoale à l'infection par *Cryptosporidium Parvum* chez la souris.
- (24). O'Donogue P.J. (1995) .*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *International journal for parasitology.* Vol N° 2. p, 139-195.
- (25). Euzéby j. (1984). *Les parasites humains d'origine animale: caractère épidémiologique* (324 p). Flammarion Médecine Science.
- (26). Naciri M., Lacroix S., Laurent F., (2000). *Cryptosporidiose des ruminants. 1 ère partie.* *L'action vétérinaire*, n°1536.p, 17-23.
- (27). Mosele D., (1998). *Les Cryptosporidioses Aviaires; Synthèse bibliographique.* Thèse de doctorat vétérinaire. ENV –Alfort, p.1-89.
- (28). PETRY F, JAKOBY V, TESSEMA TS (2010). Host immune response to *Cryptosporidium parvum* infection. *Exp. Parasitol.*, 126, 304-309.
- (29) BONNIN A, CAMERLYNCK P (1989). *Cryptosporidiose humaine. Aspects épidémiologiques et cliniques.* *Méd. Maladies Infect.*, 19, 35-41.

- (30) Millemanny., Adjou K., Maillard r., Polack b., Chartier c., (2003): Les diarrhées néonatales des agneaux et des chevreaux, Le point vétérinaire nAa233,22-29.
- (31).CHARTIER C, PARAUD C(2010). La cryptosporidiose des ruminants. Bull. GTV, 52, 83, -92.
- (32).Charmette et Boufassa, (1988):-Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite. Deuxième édition. Pages127.
- (33).Klesuis P.H., Haynes T.B. & Malo L.K., (1986): Infectivity of *Cryptosporidium* sp .Isolated from wild mice for calves and mice .J. Am. Vet. Assoc. 189 (2): 192-193.
- (34).Ortega.Mora LM, Troncoso JM, Rojo. Vazquez FA, Gomez. Bautista M.,(1993), <<serum antibody reponse in lambs naturally and experimenrally infected with *Cryptosporidium*>>. Vet Parasitol, 50: 45-54.
- (35).Blewett DA, Wright SE, Casemore DP, Booth NZ, Jones CE.(1993), <<Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs>>. Wat Sci Tech, 27:61.4.
- (36) NaciriM; LZd y M.P Mancassola R., Poirier P., Chermette R (1999):<< role of cryptosporidium parvuminneonatale diarrhea complex in suckling and dairy calves in France>>. Veterinary Parasitology, 85. P. 245-247.
- (37).De GRAAF, D.C., VANOPDENBOSCH, E., ORTEGA-MORA, L.M., ABBASSI, H., PEETERS, J .E.-A <<review of the importance of cryptosporidiosis infarm animals>>. International Journal for Parasitology, (1999), 29, 1269-87.
- (38).Abrahamsen M.S.<<Bovine T cellresponses to *Cryptosporidium parvum* infection.- International Journal for Parasitology>>. (1998). 28, 1082-8.
- (39).Ortega –Mora L.M., Requejo-Fernandez J.A., Pilar-Izaquierdo M., Pereira-Bueno J, (1971), <<Role of adult sheep in transmission of infection by *cryptosporidium parvum* to lambs: conformation of peripartupient rise>>.International journal for parasitologie, 8.479-484.
- (40).Morin Raphael, (2002). <<Lutte contre l’infection à *cryptosporidium parvum* : application à la cryptosporidiose bovine>>.
- (41).Chrtier, C., (2002a), << La cryptosporidiose des petits ruminants, Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine>>, 118 .12
- (42).Chambon F.,(1990), <<La cryptosporidiose du chevreau enquête et essai thérapeutique >>, Thés. Méd. Vét., Nantes, 145 p.
- (43).Casemore D.P, (1991), <<Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis>>, Journal of clinical pathology, .44.445.451.

- (44)**.Eddaikra .N Benseddik .N.Bouiba .N. Belmadani.S, Harrat .Z ;Bachir.F. Belkaid.M. <<Epidemiologie des parasitose intestinales chez l'enfant dans l'Algérie place de la cryptosporidiose>>. VII émie journée nationale de parasitologie, Alger le (21 mai 2003).
- (45)**.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.
- (46)**.Angus KM. *Cryptosporidiosis in ruminants*. Inc (1990), :<< *Cryptosporidiosis of man and animals*>>. Byeby JP, Speer,R,Fayer R Eds. CRC Press, Boac Raton,83-103.
- (47)**.Naciri M.(1994). <<Cryptosporidiose des ruminants et santé publique.- Le point Vétérinaire, numéro spécil<<Ruminants et santé publique >>. 26, 49-55.
- (48)**.Principales maladies néonatales des agneaux ; Filière Ovine et Caprines n° 19, (janvier 2007).
- (49)**.Emilie LAFFONT (GDS46.), Yannick BARASCUD., Matthieu CARRON, Jean Jacques EVARD., Elodie GALAN Sources: 5MVet – Idèle – Reconquete ovine.
- (50)**.DUBEY J.P., SPEED C.A., FAYER R., (1990), *Cryptosporidiosis of man and animals*, Boston: Raton ET Arbor, 199p.
- (51)**.MOORE D.A., ATWILL E.R., KIRK J.H., BRAHMBHATT D., ALONSO L.H., HOUL, SINGER M.D., MILLER T.D., (2003),<<Prophylactic use of de coquinat for infection with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves>>, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223, 839-845.
- (52)**RIPERT 2003.
- (53)**.Naciri M, Mancassola R, Reperant J.M, Canivez O, Quinque B, Yvore P. (1994), <<Treatment Of Experimental Ovine Cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrums>>. *Veterinary Parasitology*, 53, 173, 190.
- (54)**.Munoz-Fernandez M, Alvarez M, Lanza I, Carmenes P. (1996);<<Role of enteric pathogens in the aethiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain>>. *Epidemiol Infect*, 117;203.11.
- (55)**.Alaa-Eddine Gatti., <<la cryptosporidiose : diagnostic parasitologique, infection naturelles chez onze espèces animal et chez l'homme et étude des effets de l'immunodéficience et de l'immun stimulation expérimentales chez le lapereau>>, Thèse pour l'obtention du Doctorat de troisième cycle, option parasitologie, (19 juin 1992).
- (56)**.Izquierdo, M., Gonz'alez, J., Roa, I., Gonz'alez, A., Hern'andez, F.I., Garc'ia, S., (2003) <<An'alisis de los componentes grasos y proteicosdelaleche de ovejamerina en condicion

essemi extensivas: resulta dos preliminares. >> In: Actas de las XXVIII Jornadas Cient' ificas de la Sociedad Espanola de Ovino tecnia y Caprino tecnia, Badajoz, pp., ,102-105.

(57).Bomfim, T.C., Huber, F., Gomes, R.S., Alves, L.L.,(2005), <<Natural infection by *Giardia sp.* And *Cryptosporidium sp.* In dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties>>. Vet. Parasitol., 134,9-13.

(58).Ryan, U.M., Bath, C., Robertson, I., Read, C., Elliot, A., McInnes, L., Traub, R., Besier, B., (2005), <<Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites>>. Appl. Environ. Microbiol. 71,4997-4997.

(59).Santin, M., Trout, J.M., Fayer, R., (2007). <<Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland>>. Vet. Parasitol. 146, 17-24.195.

(60).Alonso. Frés' an, M.U.,Garc' ia. ' Alvarez, A., Salazar.Garc' ia, F., V'azquez. Chagoy' an, J.C., Pescador. Salas, N., Saltijeral. Oaxaca, J., (2005), <<Prevalence of *Cryptosporidium sp.* In asymptomatic sheep in family flocks from Mexico State>>. J.Vet. Med. Ser. B 52, 482-483.

(61).A.C. Causapé, J. Qu'ilez, C. Sánchez-Acedo, E. del Cacho, F. Lopez-Bernad., (2002), <<Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain)>>VeterinaryParasitology104, 287-298.

(62).Bullent U, Huseyin V, (2004) <<cryptosporidiosis in diarrhoeic lambs on a sheep farm>>, Turkyie parazitolojidergisi28, 1; 15-17.

(63).Matos-Fernandez MJ, Pereira-Bueno J, Ortega-Mora LM, Pilar-Izquierdo M, Ferre I, Rojo-Vazquez FA. (1993), <<prevalencia de la infeccion pour *Cryptosporidium parvum* en corderos, cabritos y temeros en la provincia de leo>> An. Acta Paras Port, 1:211.

(64).Nouri M, Ahdfavi S. (1993) <<Effect of nomada shepherds and their sheep on the incidence of cryptosporidiosis in anadjaent town>>.J Infect, 26:105-6

[65].Rossanigo EG, Gialletti L, Grelloni V, (1987), <<floroniA Rivero VB. Diagnosidi criptosporidiosis in alcunialle. Vamentidell Italia Centrale, Riv Zoot Vet, 15:9-15.

(66).Panousis N,Diakou,A. Giadins N.Papadoupoulos E,Karatiaz. H.haralampidis S., (2008), <<Prevalence of cryptosporidium infection in sheep flocks with a history of lambs' diarrhoea>>Revue Med Vet, 159, 10, 528-531.

(67).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.