



777THV-1

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA
Faculté des sciences Agronomiques, Biologiques et Vétérinaires
Département des Sciences Vétérinaires



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

**Identification de *Cryptosporidium* spp. chez l'espèce
Oryctolagus cuniculus domesticus
- Étude préliminaire -**

Présenté par

Razali Hadjer & Merah Sarah

Devant le Jury :

Président : Dr Ouakli Nadia (MAB- USDB)

Promoteur : Dr Mezali Lynda (MAA-USDB)

Co-promoteur : Dr Mebkhout Faiza (Médecin vétérinaire principal-Itelv, Baba Ali)

Examineur : Dr Djerbouh Amel (MAA-USDB)

Année universitaire : 2012-2013

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA
Faculté des sciences Agronomiques, Biologiques et Vétérinaires
Département des Sciences Vétérinaires



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

**Identification de *Cryptosporidium* spp. chez l'espèce
Oryctolagus cuniculus domesticus
- Étude préliminaire -**

Présenté par

Razali Hadjer & Merah Sarah

Devant le Jury :

Président : Dr Ouakli Nadia (MAB- USDB)

Promoteur : Dr Mezali Lynda (MAA-USDB)

Co-promoteur : Dr Mebkhout Faiza (Médecin vétérinaire principal-Itelv, Baba Ali)

Examineur : Dr Djerbouh Amel (MAA-USDB)

Année universitaire : 2012-2013

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier :

Dr Ouakli N. et Dr Djerbouh A., maîtres assistants au département des sciences vétérinaires de l'USDB, d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.

Profond respect

Notre promotrice Dr Mezali. L, de nous avoir confié cette étude, et pour son aide précieuse tout au long de la réalisation de ce travail.

Hommage respectueux

Notre Co-promotrice Dr Mebkhout. F, de nous avoir assisté durant l'expérimentation, et pour ses généreux et précieux conseils.

Sincère reconnaissance

L'Institut Technique des Élevages (Itelv) de Baba Ali pour l'accueil chaleureux et la contribution à l'élaboration de ce travail ; particulièrement, Dr Boudjnah H., Directeur général, Dr Abdessalem L. et Dr Larbi B., Mr Dis S. et Mr Benmiloud A.

Sincères remerciements

Mme Boukenaoui N., maître de conférences à l'USDB, ainsi que toute l'équipe chargée de la physiologie animale au département des sciences vétérinaires.

Dr Ouakli N., maître assistante à l'USDB, pour sa gentillesse et sa disponibilité et ... de nous avoir *initié* à l'observation des fameux « oocystes » !

Mille mercis

Toutes les personnes de l'ENSV qui ont contribué à la concrétisation de ce travail; Nous tenons particulièrement à remercier :

Pour l'accès et les facilitations administratives, Pr. Hamdi Pacha Y., Directeur de l'ENSV, Pr Aissi M., responsable du laboratoire de parasitologie-mycologie et Dr. Hamdi T.M., responsable du laboratoire d'HIDAOA.

Pour leurs expériences qu'ils ont modestement voulu partagé avec nous et leurs connaissances qu'ils ont patiemment mis à notre disposition : Dr. Goucem R., Dr. Guechtouli S., Dr. Khouni F. et Mr Saadi A.

Vives Remerciements



»»»-~10»»^»»» ~»»»01~»»»»
* * **DEDICACES** * *
0*»»~0*»»~ X00»»~»»00X ~»»*0. ~»»*0

A mes parents

Pour avoir toujours cru en moi et m'avoir permis d'arriver jusqu'ici
J'espère que vous êtes fière de moi

A mes grands-parents

Merci pour toute l'affection que vous me portez

A ma chère sœur Hadjar,

pour tout ce que l'on partage et pour leur positive attitude sans faille

A mes chères frères M^{ed} Amine, Zakaria et le petit Oussama

pour leur soutien et leur confiance

A toute ma famille « maternelle et paternelle »

A ma binôme « Hadjar » qui je l'aime beaucoup

A toute la promotion vétérinaire 2013

A mon petit chat bichbich

MERAH SARAH



DEDICACES

A ma chère mère,

Pour avoir toujours cru en moi et m'avoir permis d'arriver jusqu'ici
Pour m'avoir soutenue et supportée pendant les moments difficiles

A mon père,

Pour son soutien durant toutes ces années d'étude et son aide de tous
les jours. Je sais qu'il est toujours là si j'en ai besoin.

Je ne vous remercierai jamais assez.

A mon frère, mes sœurs et ma grande mère
je n'ai jamais manqué d'encouragements.

A toute ma famille

A mes amis :Ikram,Sarah,Ahlem,Yasmine,Fatiha
J'espère qu'on restera complices pendant encore de longues années...

Razali Hadjer

Liste des abréviations

ADN: Acide DésoxyriboNucléique.

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay.

IgA: Immunoglobulines A.

IgG : Immunoglobulines G.

IgM : Immunoglobulines M.

opg : oocystes par gramme de matières fécales.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

RT-PCR : Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction.

Liste des tableaux

Tableau I : Classification taxonomique de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	4
Tableau II : Répartition de l'effectif à prélever.....	18
Tableau III : Prévalence globale de la cryptosporidiose.....	27
Tableau IV : Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins.....	27
Tableau V : degré d'infestation par <i>Cryptosporidium</i> selon l'âge des lapins.....	28
Tableau VI : Mesures des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> et espèces correspondantes suspectées chez le lapin.....	30

Liste des figures

Figure 01: Cycle évolutif de <i>Cryptosporidium</i> spp. dans l'intestin grêle, montrant les étapes intracellulaires et extracellulaires.....	7
Figure 02 : Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin.....	10
Figure 03 : Cryptosporidiose intestinale à <i>Cryptosporidium parvum</i> faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes.....	11
Figure 04 : Cryptosporidies après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée...	13
Figure 05 : Cages préparées hébergeant les lapereaux à prélever.....	19
Figure 06 : Collecte des matières fécales de groupe.....	19
Figure 07 : Diagramme du protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes de <i>Cryptosporidium</i>	20
Figure 08 : Mode opératoire de la concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley.....	22
Figure 09 : Mode opératoire de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.....	24
Figure 10 : Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> en microscopie optique.....	25
Figure 11 : Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> observé sous microscope optique doté d'un micromètre oculaire.....	26
Figure 12 : évolution de l'infestation par <i>Cryptosporidium</i> en fonction de l'âge des lapins.....	29

Résumé

Une enquête préliminaire est initiée à la ferme expérimentale de l'Institut Technique des Élevages de Baba Ali afin de fournir les premières données sur l'infection cryptosporidienne dans l'espèce cunicole en Algérie.

Au total, 102 échantillons de matières fécales (60 à partir de sujets vivants et 42 frottis de côlon) ont été prélevés sur 42 lapins sevrés destinés à l'engraissement, de race synthétique appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus*.

La recherche des oocystes de *Cryptosporidium* a été réalisée selon la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) après concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (31). Les espèces de *Cryptosporidium* sont suggérées sur la base de l'appréciation des caractères morphométriques. La lecture est faite au microscope optique muni d'un micromètre oculaire, au Gx40 puis au Gx100, à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Les résultats obtenus indiquent une prévalence très élevée aussi bien dans les frottis fécaux de prélèvements de groupe (100%) que dans les frottis de côlon (83.33%). Le facteur sexe semble n'avoir aucun rôle dans l'apparition de l'infection. Par contre, le degré d'infestation varie inversement avec l'âge des lapereaux sevrés ; l'infestation étant massive à la 5^{ème} et à la 6^{ème} semaine d'âge. L'examen de 30 lames révèle des dimensions oocystales qui se situent dans la fourchette des données de référence OIE (2005) avec 3.8–6.0×3.0–5.3 correspondant respectivement aux mensurations de *C. parvum* espèces connue pour leur caractère zoonotique.

Cette étude montre la fréquence de la cryptosporidiose dans l'espèce cunicole, ce qui prône le dépistage systématique du parasite lors d'examens de contrôle de routine.

Mots clés : *Cryptosporidium*, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, prévalence, degré d'infestation, dimensions oocystales.

Abstract

A preliminary investigation have been taken at the experimental farm of l'Institut Technique des Élevages of Baba Ali – Algiers, in order to present the first data about rabbit cryptosporidiosis in Algeria.

On the whole, 102 feces samples (60 starting from alive subjects and 42 scattng direct of colon) were taken on 42 separated rabbits intended for the fattening, of synthetic race belonging to the species *Oryctolagus cuniculus domesticus*.

The research of the oocysts of *Cryptosporidium* was carried out according to the technique of coloring of Ziehl-Neelsen modified by Henriksen and Pohlenz (1981) after concentration of Ritchie simplified by Allen and Ridley (31). The species of *Cryptosporidium* are suggested on the basis of appreciation of the characters morphometric. The reading is made under the optical microscope provided with an ocular micrometer, in Gx40 then in Gx100, the 3Ecole Nationale Sup3erieure Veterinary surgeon d' Alger.

The results obtained indicate a prevalence very high as well in the fecal smears of taking away of group (100%) as in the smears of colon (83.33%). The factor sex seems not to have any role in the appearance of the infection. On the other hand, the degree of infestation varies conversely with the age of the separated young rabbits; the infestation being massive at 5th and the 6th week of age. The examination of 30 blades reveals dimensions oocystales which are in the fork of the bench-mark data GOOSE (2005) with 3.8-6.0×3.0-5.3 corresponding respectively to measurements of *C. parvum* specie known for their zoonotic character.

This study shows the frequency of the cryptosporidiose in the cunicole species, which preaches the systematic tracking of the parasite during follow-up examinations of routine.

Key words: *Cryptosporidium*, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, prevalence, degree of infestation, dimensions oocystales.

ملخص

قمنا ببحث اولي في المزرعة التجريبية للمعهد التقني لتربية الحيوانات ببابا علي وذلك للتزود بالمعلومات
الاولية حول عدوى الكريبتوسبورديوزية عند صنف الارانب في الجزائر

اجمعا 102 عينة للفضلات (60 مأخوذة من ارانب حية و 42 من فضلات القولون) هذه العينات اخذت من
ارانب مفطومة موجهة للتسمين من سلالة هجينة تعود الى الصنف اوريكتولاغوس كونيكوليس
دوميستوكس

البحث عن بيوض الكريبتوسبورديوم اعتمد علي تقنية التلوين لزيل-نيلسن محسنة من طرف هنركسن
بولن (1981) بعدما ركزناها بطريقة ريتشي المبسطة من طرف ريديلي و الن (31)

اصناف الكريبتوسبورديوم المقترحة وفق المواصفات الضاهرية و القياسية

القراءة تمت بواسطة المجهر الضوئي بالإضافة الي عدسة مرقمة بتكبي $G \times 40$ ثم $G \times 100$
في المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

النتائج المتحصل عليها بينت ان نسبة الاصابة تكون عالية جدا في الفضلات الجماعية بنسبة 100% لذلك
في فضلات القولون بنسبة 83.33%

كما تثبت ان عامل الجنس ليس له أي دور في حدوث الاصابة لكن درجة الغزو تتغير انعكاسيا مع
اختلاف عمر الخرائق المفطومة الغزو كان مرتفع في الاسبوع 5 و 6 من عمرها.

فحص 30 صفيحة زجاجية اعطى ابعاد قياسية للبيوض التي وجدت بالعودة الى مراجع OIE 2007

3.8-6.0×3.0-5.3 هـ هذه الابعاد تلائم قياسات الكريبتوسبورديوم بارفوم

هـ هذه الدراسة بينت تردد الكريبتوسبورديوز عند صنف الارانب الذي اخذ من نتائج التقصي المبرمجة
للطفيل كلما اجرينا الفحص المعتاد.

الكلمات المفتاحية : الكريبتوسبورديوم , اوريكتولاغوس كونيكوليس دوميستوكس , الانتشار , درجة
الاصابة, ابعاد الكريبتوسبورديوم اوسيستالي.

Sommaire

Introduction.....	1
<i>Partie bibliographique</i>	
Chapitre I : Généralités sur <i>Cryptosporidium</i>	
I- Historique.....	3
II-Taxonomie.....	4
III- Cycle biologique.....	4
III-1- La phase interne.....	5
III-1-1- Excystation.....	5
III-1-2- Mérogonie.....	5
III-1-3- Gamogonie.....	5
III-1-4- Sporogonie.....	6
III-2- La phase externe.....	6
IV- Résistance du parasite dans le milieu extérieur.....	7
Chapitre II : La cryptosporidiose chez le lapin	
I- Epidémiologie.....	8
I-1- Epidémiologie descriptive.....	8
I-2- Epidémiologie analytique.....	8
I-2-1- Source d'infection.....	8
I-2-2- Modes de contamination.....	8
A. Contamination directe.....	8
B. Contamination indirecte.....	8
I-2-3 - Voie de contamination.....	8
I-2-4- Réceptivité et sensibilité.....	9
II- Etude Clinique.....	9
II-1- Particularité physiologique du tube digestif du lapin.....	9
II-2- Symptômes et lésions.....	10
II-3- Pouvoir pathogène et immunogène.....	11
II-4- Méthodes de diagnostic.....	12
II-4-1- Détection du parasite sur animal vivant.....	12
A. Les techniques de concentration.....	12
B. Les techniques de coloration.....	13
C. Les techniques de marquage immunologique.....	14
D. Les techniques de marquages moléculaires.....	14

II-4-2- La détection <i>post mortem</i> du parasite.....	14
A. Coloration pour la microscopie optique.....	15
B. Coloration pour la microscopie électronique.....	15
III- Traitement et prophylaxie.....	15
III-1- Traitement.....	15
III-2- Prophylaxie.....	16

Partie expérimentale

I- Problématique et objectifs.....	17
II- Matériel et méthodes.....	17
II-1- Lieu et période d'expérimentation.....	17
II-2- Matériel.....	18
II-2-1- Échantillonnage.....	18
II-2-2- Protocole de prélèvement.....	19
II-2-3- Matériel de laboratoire.....	20
II-3- Méthodes.....	21
II-3-1- Techniques utilisées pour la mise en évidence des cryptosporidies.....	21
II-3-1-1- À partir des matières fécales.....	21
II-3-1-2- À partir de raclages de côlon.....	21
II-3-2- Principe et mode opératoire des techniques.....	22
II-3-2-1- Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley.....	22
II-3-2-2- Technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz..	23
II-3-3- Examen microscopique et interprétation.....	24
II-3-4- Mesure de l'oocyste et proposition d'espèces.....	25
III- Résultats.....	27
III-1- Prévalence globale de <i>Cryptosporidium</i>	27
III-2- Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du sexe.....	27
III-3- Degré d'infestation en fonction de l'âge.....	27
III-4- Dimensions des oocystes et espèces suspectées.....	29
IV- Discussion.....	31
Conclusion et recommandations.....	34
Références bibliographiques	

Introduction

➤ Introduction

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire opportuniste, le plus souvent, asymptomatique mais qui peut se manifester cliniquement par des troubles digestifs, généralement de la diarrhée ; il s'agit d'une parasitose émergente avec un impact considérable sur les animaux immunodéprimés en présence d'affections intercurrentes (3).

L'agent causal, le genre *Cryptosporidium*, est un protozoaire intracellulaire de la famille des coccidies (3). Les oocystes, hébergeant les sporozoïtes infectants, éliminés avec les selles des hôtes infectés, contaminent l'environnement. Étant immédiatement infectieux après leur excrétion et résistants aux désinfectants usuels, ils sont fréquemment véhiculés par les eaux où ils gardent leur pouvoir infectieux pendant longtemps (73 ,30)

Grâce à de nombreuses recherches en santé animale et humaine, plusieurs espèces ont pu être isolées d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme (3), chez lequel, l'intérêt marqué pour ce parasite est directement en relation avec la survenue d'épidémies à partir des années 80 ; nous citons celles de Milwaukee (USA, 1993), de Sète (France, 1998) et de Dracy-le-Fort (France, 2001) (20).

Chez le lapin, l'espèce mise en cause est principalement *Cryptosporidium parvum*(3), qui représente la menace zoonotique la plus dangereuse (23). En juillet 2008 au Royaume Uni, le génotype du lapin, a été identifié comme l'agent étiologique d'une épidémie de cryptosporidiose humaine. L'enquête menée a révélé qu'un lapin de garenne s'était introduit dans un réservoir d'eau potable qu'il avait contaminé. Cet épisode souligne que le lapin de garenne peut être porteur du parasite, et que le risque de zoonose, notamment liée à l'eau, ne doit pas être écarté et négligé (62).

En Algérie, la majorité des études menées sur la cryptosporidiose concerne essentiellement les espèces bovine (1,2,56) et aviaire (4,34,36) ; et plus récemment, l'espèce équine (38). Aucune étude n'a été, à notre connaissance, réalisée chez les lagomorphes ; c'est pour cette raison que nous avons entrepris cette enquête préliminaire.

Elle a pour objet la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* dans des échantillons de matières fécales de lapins domestiques sevrés de race synthétique appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus*, et ce, en utilisant la technique de coloration de Ziehl-Neelsen

modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) après concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (31).

Les objectifs de notre étude sont :

- La détermination de la prévalence de la cryptosporidiose chez le lapin synthétique domestique à partir de prélèvements de groupe et de frottis de côlon.
- L'évaluation du rôle des facteurs sexe et âge sur la présence des cryptosporidies.
- La mesure des dimensions des oocystes afin de proposer éventuellement l'espèce (ou les espèces) incriminée(s).

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur *Cryptosporidium*

I- Historique

La première information sur la présence de petites spores sur l'épithélium gastrique des souris a été rapportée par Clarke en 1895 (49).

Une douzaine d'année plus tard, en 1907, Ernest Edward Tyzzer mis en évidence ce protozoaire à partir des glandes gastriques de l'intestin grêle de la souris domestique (*Mus musculus*) (73).

En 1910, Tyzzer proposa la création d'un nouveau genre nommé *Cryptosporidium* afin de classer *C. muris* (74).

En 1912, Tyzzer fit la découverte d'une autre espèce distincte de *C. muris*, appartenant elle aussi au genre *Cryptosporidium* et vivant au niveau de la bordure en brosse de l'intestin grêle de la souris domestique. Il nomma cette nouvelle espèce *C. parvum* (75).

En 1925, Triffitt MJ décrit *C. crotali* chez le serpent à sonnette (*Crotalus confluentis*) (71).

En 1955, Slavin D décrit *C. meleagridis* chez le dindon (*Meleagris gallopavo*) ; le parasite est associé à une maladie diarrhéique aigue, ce qui apporte la première supposition du rôle pathogène des cryptosporidies (67).

De 1961 à 1986, dix-neuf autres espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites chez des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères (44).

En 2003, il ya eu une redescription d'une espèce chez les oiseaux, nommée *C. galli* (60).

Chez l'homme, 2 cas de diarrhée ont été signalés en 1976, l'un décrit par Meisel et collaborateurs, chez un patient adulte immunodéprimé de 39 ans, et l'autre par Nime et collaborateurs, chez un enfant immunocompétent atteint d'une entérocolite aigue, âgé de trois ans et vivant en zone rurale (51). Ce n'est qu'après 1981, avec l'explosion du SIDA, que *Cryptosporidium* fût reconnu comme agent responsable de diarrhées chez l'homme (49).

Plusieurs épidémies ont été signalées depuis ; la plus sévère 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 (41). La source de contamination de l'eau potable aurait été l'eau de ruissellement ayant transportée des oocystes de *Cryptosporidium* excrétés par le bétail passant près des rivières du bassin versant du lac Michigan.

Actuellement, le genre *Cryptosporidium* est bien connu par les scientifiques mais la spéciation des cryptosporidies au sein de ce genre soulève de nombreuses controverses.

II-Taxonomie

Tableau I : Classification taxonomique de *Cryptosporidium* spp. (53)

Classification	Nom	Caractéristiques biologiques
Règne	Protistes	Eucaryote unicellulaire
Phylum	<i>Apicomplexa</i>	Présence d'un complexe apical (intervenant dans la pénétration du parasite)
Classe	<i>Sporozoasida</i>	Multiplication asexuée et reproduction sexuée avec production d'oocystes
Sous-classe	<i>Coccidiasina</i>	Cycle biologique comprenant mérogonie , gamogonie et sporogonie
Ordre	<i>Eucoccidiorida</i>	Mérogonie toujours présente
Sous-ordre	<i>Emeriorina</i>	Développement indépendant des micro et macrogamètes
Famille	<i>Cryptosporidiidae</i>	Cycle monoxène Quatre sporozoïtes (pas de sporocystes)

III- Cycle biologique

Il est important, pour bien comprendre le cycle biologique, de connaître les définitions des stades suivants du parasite :

- Mérozoïte : cellule fille du schizonte.
- Sporozoïte : unité parasitaire infectante contenue dans l'oocyste
- Schizonte : stade de multiplication asexuée. Un schizonte mature contient des mérozoïtes.
- Trophozoïte : stade de développement hors reproduction du protozoaire.

Cryptosporidium a un cycle de développement complexe (**Figure 1**), comprenant les étapes de reproduction sexuée et asexuée (68 ; 70) débutant par l'ingestion de sa forme de résistance, l'oocyste sporulé. L'hôte se contamine par voie oro-fécale : eau ou aliment

contaminés, léchage de zones souillées contenant des oocystes (76).

Ce cycle peut être divisé en deux phases principales :

- Une phase interne, chez l'hôte, comprenant une mérogonie ou schizogonie (multiplication asexuée), une gamogonie (production sexuée) et une sporogonie (sporulation) (49).
- Une phase externe, représentée par la survie des oocystes excrétés dans le milieu extérieur (49).

III-1- La phase interne

III-1-1- Excystation : les oocystes ingérés suite à une contamination excystent au sein du tractus digestif ; 4 sporozoïtes se libèrent sous l'action des facteurs réducteurs, du dioxyde de carbone, des enzymes pancréatiques, des sels biliaires, une température de 37°C et un pH entre 6.8 et 7.4, *in vitro*.

III-1-2- Mérogonie (multiplication asexuée ou schizogonie) : les 4 sporozoïtes sortent activement de l'oocystes et se déplacent dans la lumière intestinale grâce à des mouvements de glissement par contraction de leur système microtubulaire (59). Les sporozoïtes s'attachent à la cellule épithéliale de l'hôte par son pôle antérieur et se transforment en trophozoïtes en s'enfermant dans une vacuole parasitophore intracellulaire mais extra-cytoplasmique. La zone d'attache spécifique au *Cryptosporidium*, qui faciliterait les échanges entre le parasite et la cellule, se forme à l'interface du cytoplasme de la cellule hôte et de la vacuole parasitophore, le sporozoïte se différencie en un trophozoïte après trois divisions nucléaires, et donne naissance à un méronite de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I qui sont des formes libres du parasite et pouvant infecter les cellules voisines. A ce stade, les mérozoïtes de type I peuvent initier soit une mérogonie de type II donnant naissance à un méronite de type II ne contenant que 4 mérozoïtes de type II, ou bien à nouveau une mérogonie de type I : rétro-infection (42 ; 69).

III-1-3- Gamogonie (reproduction sexuée) : Les mérozoïtes de type II pénètrent dans les cellules intestinales et sont à l'origine des formes de la reproduction sexuée (69). Les mérozoïtes de type II se différencient soit en microgamontes (gamontes males), soit en macrogamontes (gamontes femelles). Le macrogamonte ne subit pas de divisions nucléaires mais semble plutôt accumuler les réserves (24). Il se transforme ensuite en macrogamète qui restera

dans sa vacuole parasitophore. Le microgamonte produit 12 à 16 microgamètes non flagellés (53 ; 24). A la maturité, les microgamètes sont libérés dans la lumière intestinales et peuvent pénétrer un macrogamète afin de féconder et de former le zygote.

III-1-4- Sporogonie : le zygote qui se retrouve dans la lumière intestinale contient 4 sporozoïtes nus (24) ; 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'oocystes sont distingués : les oocystes à paroi fine qui sont auto-infestants tandis que les oocystes à paroi épaisse sont excrétés dans les fécès. Ces derniers sont donc directement infestants (49).

Période pré-patente : c'est la période entre la contamination et l'excrétion des formes infectantes, c'est-à-dire des oocystes ; elle dure entre 2 et 14 jours.

Période patente : correspondant à la durée de l'excrétion des oocystes (37).

III-2- La phase externe

Elle est représentée par la libération des oocystes infestants directement dans le milieu extérieur avec les matières fécales. Ils peuvent survivre plusieurs mois dans la litière, les murs et le matériel d'élevage (50 ; 43).

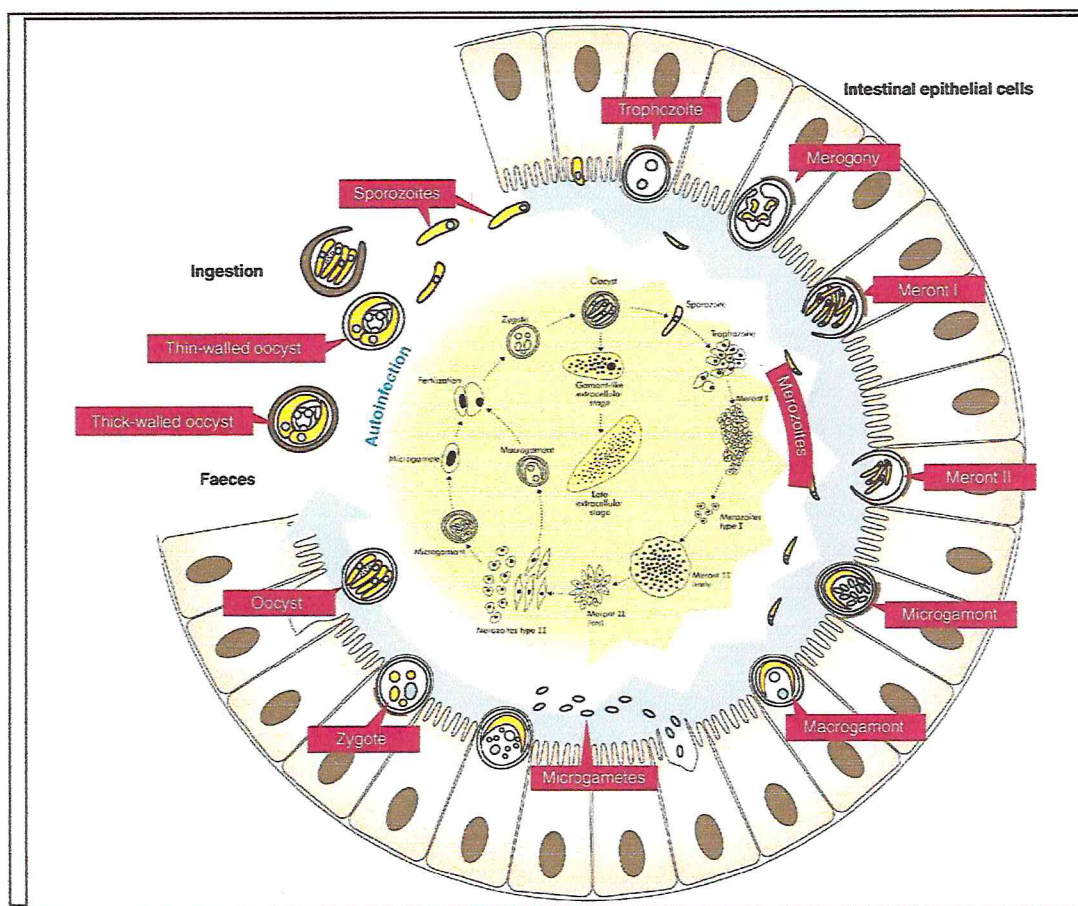


Figure 01: Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. dans l'intestin grêle, montrant les étapes intracellulaires et extracellulaires.

(D'après Hijjawi et *al.*, 2004 ; Barta et Thompson, 2006)

IV- Résistance du parasite dans le milieu extérieur

Les oocystes sont remarquablement résistants dans le milieu extérieur. Ils restent viables à 4°C pendant plus d'un an (47 ;48 ;45 ;46) et leur pouvoir infectant n'est perdu qu'après 30 minutes à 65°C (11;53) l'eau bouillante sous pression est efficace (61). La dessiccation à température ambiante demande 4 heures pour tuer les oocystes et les rayons ultra-violet de 15 000 mW/s inactivent ceux contenus dans l'eau en 150 minutes. Le traitement des eaux de boisson, tel qu'il se fait actuellement, est donc inadéquat. Cependant, en France, le taux d'ozone autorisé (0,4 mg/l pendant 6 minutes) serait suffisant pour assainir une eau contaminée contenant 104 oocystes par litre (28) .

La grande résistance de la forme de dispersion du parasite et l'absence de spécificité d'hôte de celui-ci permettent de multiples supports de contamination (28).

Chapitre II

La cryptosporidiose chez le lapin

I- Epidémiologie

I-1- Epidémiologie descriptive

Cryptosporidium spp. est un protozoaire parasite du tube digestif de nombreux vertébrés y compris l'homme. La maladie qui résulte de l'infection appelée cryptosporidiose s'exprime par une atteinte digestive aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Cette maladie est ubiquitaire et revêt une importance en santé publique et animale ; ces deux aspects étant liés par l'existence d'espèces zoonotiques (3).

I-2- Epidémiologie analytique

I-2-1- Source d'infection

La forme infestante naturelle de *Cryptosporidium* est l'oocyste rejeté à l'extérieur de l'organisme infesté, principalement par les fientes (27). Ces oocystes sont en effet directement contaminants et permettent de reproduire la maladie chez les animaux exposés (20).

I-2-2- Modes de contamination

- A. **Contamination directe** : elle est réalisée à partir des congénères d'une même espèce, malades ou porteurs sains ou par des individus d'espèces déferentes en raison de l'absence de spécificité étroite des cryptosporidies. Le rôle de porteur sain est très important étant donné le nombre considérable d'infections subcliniques rapportées. De plus, les animaux âgés, qui ne déclarent que rarement la maladie sous une forme clinique, représentent une source de contamination pour les jeunes individus. Cependant, le risque de mélange d'âges est beaucoup plus rare dans l'élevage cunicole (43).
- B. **Contamination indirecte** : elle est rendue possible par la grande résistance des oocystes cryptosporidiens dans le milieu extérieur. Ce mode de contamination utilise des supports variés : litière, locaux et matériels d'élevage, alimentation et eau de boisson, personnel (53).

I-2-3 - Voie de contamination

La voie principale de contamination est la voie oro-fécale (7).

I-2-4- Réceptivité et sensibilité

Les facteurs favorisant la réceptivité ou la sensibilité aux cryptosporidies sont liés à l'hôte, au parasite et aux agents extérieurs ; ils englobent l'espèce, l'âge et l'état immunitaire des lapins, le climat, les conditions et le mode d'élevage, l'hygiène, l'alimentation, les affections intercurrentes, les thérapeutiques utilisées, ainsi que l'espèce de cryptosporidie en cause, son pouvoir infectant et la dose ingérée (34).

L'âge : classiquement, on décrit la cryptosporidiose comme une maladie du jeune animal ; cependant, la maladie a été décrite chez des animaux âgés, dont les examens paracliniques permettaient de conclure à une immunodépression (79).

L'état immunitaire : les animaux immunodéprimés et atteints d'une affection intercurrente (campylobactériose, salmonellose, giardiose), présentent des symptômes exacerbés. Le statut immunitaire non mature des jeunes semble entrer en ligne de compte. Les animaux ayant reçu du colostrum seraient atteints moins sévèrement que les autres (29 ; 72 ; 78).

Les conditions d'élevage : les conditions d'élevage des animaux influent sur la circulation des cryptosporidies au sein de l'exploitation et favorisent donc la contamination. En effet, l'insuffisance voire l'absence de désinfection des locaux et du vide sanitaire entre les lots successifs, sont à l'origine du maintien du parasite dans le troupeau (36).

II- Etude Clinique

II-1- Particularité physiologique du tube digestif du lapin

Le comportement de cæcotrophie est lié à la production de deux types de fécès. Contrairement aux crottes dures qui sont rejetées dans la litière, les crottes molles ou cæcotrophes sont récupérées par le lapin dès leur émission. Pour ce faire, il se retourne et les aspire lorsqu'ils sortent de l'anus. Il les avale ensuite sans les mâcher.

Les lapins peuvent donc pratiquer la cæcotrophie même s'ils sont élevés sur grillage ; l'observation de cæcotrophes sous les cages des lapins correspond à une perturbation physiologique.

En situation normale, en fin de matinée, on retrouve les cæcotrophes en grand nombre dans l'estomac où ils peuvent représenter 70 % du contenu en matière sèche. Leur séjour dans l'estomac semble plus prolongé que celui de l'aliment puisque l'on peut les retrouver intacts 4 à

6 h après leur ingestion. A partir de ce moment, le contenu des cæcotrophes subit une digestion identique à celle des autres aliments ingérés (**Figure 02**).

Compte tenu des fractions éventuellement recyclées de 1 à 4 fois, le transit digestif du lapin dure de 15 à 30 h (3).

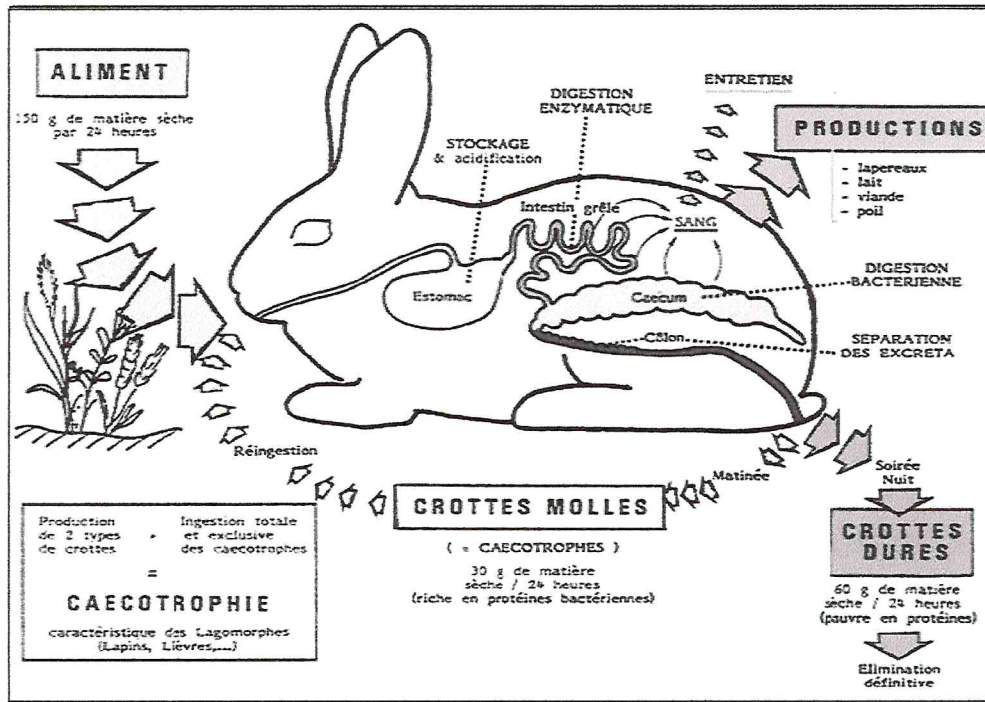


Figure 02 : Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin
(D'après Lebas, 2009)

II-2- Symptômes et lésions

Expérimentalement, le lapereau est très sensible après la naissance et peut mourir en présentant une diarrhée liquide.

La cryptosporidiose étant le plus souvent asymptomatique, est sous-estimée ; mais lorsqu'elle est exprimée cliniquement par l'animal, les symptômes sont frustrés.

Dans les conditions naturelles, les symptômes sont parfois masqués par ceux d'une autre maladie. Les cryptosporidies se développent en effet, souvent conjointement à d'autres germes pathogènes, bactériens ou viraux, capables de créer des diarrhées très liquides, caractérisées par une fréquence normale des défécations mais dont le volume est augmenté, chroniques ou intermittentes, accompagnées d'un amaigrissement et d'un retard de croissance, surtout chez les lapereaux en élevage (39 ; 19 ; 35 ; 66). Après le sevrage, sont plutôt observés, des troubles diarrhéiques subcliniques (16).

L'examen histo-pathologique révèle une réduction de la croissance et une atrophie des villosités intestinales. L'intestin est abîmé sous l'action des cryptosporidies, lesquelles, à l'inverse des coccidies, se développent à l'extérieur des cellules épithéliales, entraînant de ce fait leur desquamation et une atrophie des villosités (64) (Figure 03).

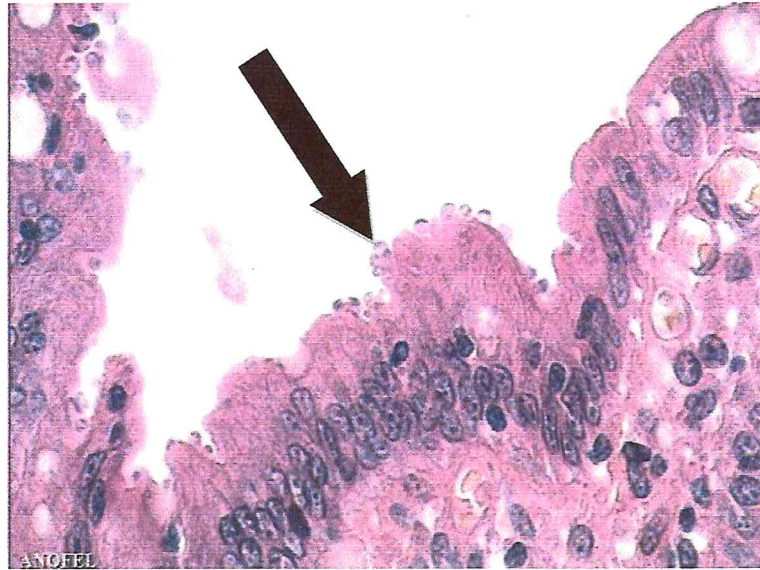


Figure 03 : Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes (D'après Deouin et *al.*, 2002)

II-3- Pouvoir pathogène et immunogène

Tzipori et Ward ont décrit le pouvoir pathogène de *C. parvum*. Les cryptosporidies colonisent la bordure en brosse de l'intestin grêle, provoquant une diminution de la surface de l'épithélium, à l'origine d'un raccourcissement et de la fusion des villosités. Ce qui entraîne une baisse de l'absorption des fluides, des électrolytes et des nutriments. Néanmoins, les mécanismes précis par lesquels *Cryptosporidium* provoque une malabsorption, une diarrhée et un amaigrissement ne sont pas encore parfaitement élucidés (77).

La dose infectante chez le lapin est inconnue. Chez l'homme, des infestations expérimentales ont montré qu'entre 1 et 10 oocystes de *C. parvum* peuvent engendrer une cryptosporidiose (54).

Des infections expérimentales avec *C. parvum* chez des singes, des agneaux nouveau-nés et des souris nus ont conduit à la même dose infectante (8).

II-4- Méthodes de diagnostic

De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour mettre en évidence les cryptosporidies. Nous nous limiterons à celles couramment pratiquées.

II-4-1- Détection du parasite sur animal vivant (coproscopie)

A. Les techniques de concentration : la concentration des oocystes peut être réalisée par flottation, par sédimentation ou par l'utilisation alternée de ces deux méthodes. En général, une dilution, une filtration et une centrifugation améliorent ces techniques (53) ; elles sont habituellement utilisées sur des échantillons pauvres en parasites (36).

A.1. Concentration par flottation : différentes solutions sont utilisées pour la flottation.

❖ Des solutions sucrées (telles que la solution de Sheater) avec lesquelles Naciri (1994) a développé une technique rapide de flottation sur lame : une goutte de fécès est mélangée à une goutte de solution de Sheater ; l'observation est directement réalisée, entre lame et lamelle, sous le microscope.

- ❖ Solution saturée de NaCl (53).
- ❖ Solution de bicarbonate de potassium (15).
- ❖ Solution de sulfate de zinc (53).
- ❖ Solution d'iodo-mercurate de potassium (15).

La flottation au sucre est la technique de référence. Elle présente une meilleure sensibilité (4 000 opg) la comparant aux techniques de coloration et offre la possibilité de quantifier les oocystes. Cependant, sa lecture est plus difficile et les oocystes sont rapidement déformés dans le milieu hypertonique (53).

A.2. Concentration par sédimentation : cette méthode utilise des mélanges de liquides

- ❖ Formol-éther (15).
- ❖ Formol-acétate d'éthyle (53).
- ❖ Eau-éther (15).

La sédimentation permet d'obtenir des oocystes très purifiés et son seuil de détection est de 10 000 à 50 000 opg (43).

B. Les techniques de coloration : de nombreuses techniques sont utilisables pour colorer spécifiquement les oocystes de *Cryptosporidium*. Ces colorations sont généralement réalisées sur des frottis de matières fécales, mais elles peuvent également se faire suite à une concentration préalable des oocytes (42). Les principales techniques utilisées sont les suivantes :

B.1. La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée : elle est considérée comme la méthode de référence ; il existe plusieurs variantes (21). L'ayant choisi pour réaliser notre étude, les différentes étapes seront développées dans la partie expérimentale (**Figure 04**).

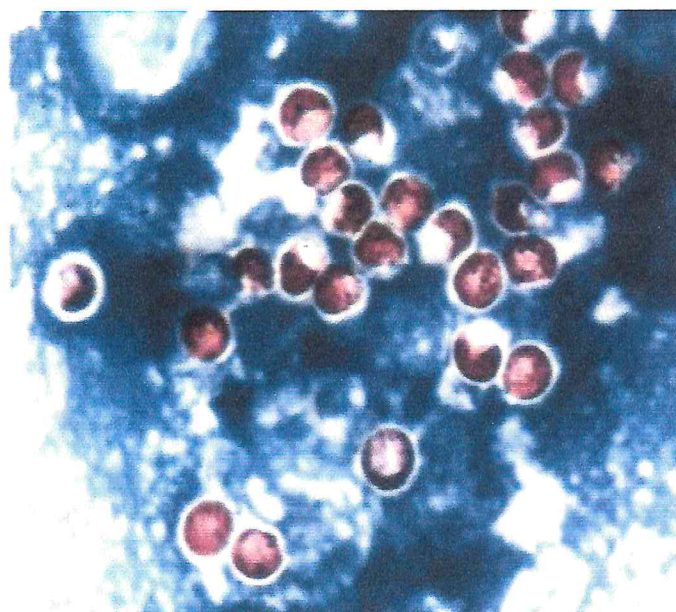


Figure 04 : Cryptosporidies après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée
(Unité de Parasitologie, ENV Alfort, France)

B.2. La coloration négative de Heine : cette méthode est très fiable et très rapide à mettre en œuvre ; néanmoins, elle présente un inconvénient majeur : sa lecture est très limitée dans le temps (46).

B.3. La coloration de Kinyoun à froid, modifiée : cette méthode est rapide, sensible et très spécifique mais le temps de décoloration s'avère en être le point délicat qu'il est important de maîtriser (10).

B.4. La coloration aux fluorochromes (notamment, à l'auramine O) : permet une lecture facile, mais elle est plus coûteuse (53).

B.5. La coloration au bleu de méthylène /éosine (53).

B.6. La coloration de giemsa : elle ne constitue pas une bonne méthode pour les frottis de selles en raison du risque de confusion avec les levures (31).

C. Les techniques de marquage immunologique : la plupart du temps, les animaux atteints de cryptosporidiose excrètent suffisamment d'oocystes dans leurs fécès pour que les techniques de concentration et de coloration précédemment décrites soient utilisables. Cependant, des techniques plus sensibles peuvent être nécessaires pour détecter des oocystes dans des prélèvements en contenant peu. Des anticorps polyclonaux ou monoclonaux spécifiques (à *Cryptosporidium parvum*, en général) peuvent être utilisés dans des tests d'immunofluorescence directe ou indirecte. Les méthodes enzymatiques semblent plus sensibles, plus spécifiques et surtout plus simples d'utilisation avec des kits commerciaux prêts à l'emploi (17).

C.1. Technique ELISA : avec cette technique immuno-enzymatique, les anticorps anti-cryptosporidiens IgG, IgM, IgA sont détectés, ainsi que leurs taux selon le stade d'infestation (58).

C.2. Technique d'hémagglutination passive : cette technique a été développée avec le même anticorps monoclonal que celui utilisé dans le test ELISA. Un double traitement préalable de l'échantillon par la chaleur et par filtration limiterait le risque de réactions faussement positives. Cette technique non commercialisée, est rapide (40 minutes) et peu onéreuse (25).

D. Les techniques de marquages moléculaires : ce sont des méthodes basées sur l'utilisation de sondes à ADN ou sur l'amplification d'une séquence spécifique d'ADN (PCR) voire d'ADN (RT-PCR). Elles possèdent une bonne sensibilité mais sont très techniques et trop onéreuses pour être utilisées en vue d'un diagnostic ou d'enquêtes de prévalence (65).

Pour les enquêtes épidémiologiques, leur intérêt réside essentiellement dans la mise en évidence des pollutions environnementales dans les études moléculaires pour l'identification des différents isolats de *Cryptosporidium parvum* (57).

II-4-2- La détection *post mortem* du parasite (examen histologique)

La mise en évidence des différents stades des cryptosporidies dans des coupes de tissus prélevés pendant l'autopsie, a longtemps représenté le seul moyen de diagnostic de la

cryptosporidiose. Ces prélèvements doivent être réalisés dans un délai de 6 heures après la mort, l'autolyse gênant ensuite considérablement la lecture des préparations (36).

Une biopsie peut être également opérée en vue d'une étude histologique.

Par ailleurs, les méthodes histologiques, longues et coûteuses, ne sont guère utilisées en diagnostic, et appartiennent désormais au domaine de la recherche (53).

A. Coloration pour la microscopie optique : toutes les colorations classiques sont utilisables (Giemsa, acide périodique de Schiff, ...etc) même si la plupart des auteurs semblent préférer la coloration à l'hématoxyline-éosine (11). Les cryptosporidies apparaissent comme de petites particules basophiles ovoïdes ou sphériques, de 3 à 5 μm de diamètre, en surface des cellules épithéliales ou elles semblent attachées à la bordure en brosse (53).

B. Coloration pour la microscopie électronique : l'examen en microscopie électronique permet la différenciation des stades et l'étude de leur ultrastructure. De plus, il est souvent utile pour différencier *Cryptosporidium baileyi* de *Cryptosporidium meleagridis* sur la base des différences morphométriques existant entre les deux espèces (53).

III- Traitement et prophylaxie

III-1- Traitement

Aucune molécule n'a pour le moment été testée pour le lapin. La sulfaquinoxaline est efficace chez la souris et peut être employée. De même que la spiramycine et l'érythromycine qui ont été testées chez l'Homme (9).

Par ailleurs, plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante (6). La paromomycine (165mg/kg PO BID 5j) (5) et le nitazoxanide (25mg/kg PO BID 28j) (32) ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la cryptosporidiose chez des chats, faisant disparaître l'excrétion d'oocystes et la diarrhée associée. Ces traitements ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires et peuvent être à l'origine d'insuffisance rénale aiguë si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcères par exemple (33).

Le lactate d'halofuginone (Halocur®) est utilisé uniquement chez les bovins. Actif sur les formes libres de *C. parvum*, il est administré dans les 24 à 48 heures suivant la naissance du veau et dans les 24 heures suivant l'apparition de la diarrhée (49).

III-2- Prophylaxie

Aucune mesure préventive n'est recommandée de manière spécifique. Sachant que la cryptosporidiose pouvant évoluer avec des infections intercurrentes, il reste cependant à appliquer des mesures de précaution, inhérentes à de bonnes pratiques d'élevages pour éviter le développement d'autres agents pathogènes.

Une attention particulière doit être portée à l'alimentation et à l'hygiène dans les nids (destruction des fonds de cage...), avec :

- ✓ Retrait immédiat des déjections.
- ✓ Isolement des animaux malades.
- ✓ Traitement des animaux malades présentant un syndrome diarrhéique.
- ✓ Nettoyage et désinfection à l'Oo-cide® des équipements et les locaux contaminés.
- ✓ Élimination correcte des cadavres des animaux (9).

Partie expérimentale

Matériel & Méthodes

I. Problématique et objectifs

Décrits en 1907, *Cryptosporidium* spp. étaient considérés comme des commensaux jusqu'à ce que leur association avec la diarrhée chez de jeunes dindes (*C. meleagridis*) dans les années 1950, et avec de grands foyers de diarrhée chez les bovins (*C. parvum*) dans les années 1970, soit reconnue (OIE, 2005).

Par ailleurs, l'évolution des techniques d'identification et l'acquisition de meilleures connaissances biologiques et épidémiologiques sur le parasite, ont permis d'établir l'existence d'une transmission interspécies, mais aussi d'une contamination d'homme à homme et d'une contamination par l'eau. Cette dernière voie de transmission, suspectée en 1985 et qui pose un grave problème pour la santé, n'est aujourd'hui plus équivoque (49) ; l'épisode épidémique de juillet 2008 au Royaume Uni incriminant le lapin (cf. introduction), espèce mammifère objet de notre travail, l'illustre parfaitement.

En l'absence de données sur la cryptosporidiose chez les lagomorphes en Algérie et compte tenu des espèces de *Cryptosporidium* à caractère zoonotique qu'hébergeraient ces animaux, nous avons entrepris cette étude dans laquelle nous rechercherons les oocystes de ce parasite dans des échantillons de matières fécales de lapins de race synthétique appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus*, et ce, en utilisant une méthode conventionnelle de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) après concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (31). Il en découlera, l'estimation de la prévalence de l'infection cryptosporidienne dans l'élevage cunicole, objet de notre expérimentation, et du rôle des facteurs sexe et âge sur l'apparition et l'évolution de la maladie. Après mise en évidence du parasite, nous utiliserons la méthode de référence basée sur la morphométrie des oocystes afin de proposer l'espèce (ou les espèces) parasitaire(s) mise(s) en cause.

II- Matériel et méthodes

II-1- Lieu et période d'expérimentation

Notre étude a été réalisée, durant l'été 2012(Aout-Septembre), à l'Institut Technique des Élevages (Itelv) de Baba Ali situé dans la wilaya d'Alger. Il s'agit d'un établissement à caractère administratif dépendant du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

À vocation à la fois technique et scientifique, il a pour mission :

- ✓ La mise en œuvre des programmes nationaux d'appui au développement agricole et à la profession.
- ✓ La production d'un matériel biologique animal et végétal performant.

- ✓ L'identification, l'élaboration et la proposition de programmes techniques d'appui au développement.
- ✓ La valorisation des produits de l'élevage.
- ✓ La mise en place des schémas de sélection et de croisement pour l'amélioration génétique des espèces animales existante en Algérie.
- ✓ La mise en place d'un modèle de contrôle des performances zootechniques.
- ✓ Le développement des systèmes alimentaires et fourragers (source : Itelv).

II-2- Matériel

II-2-1- Échantillonnage (Tableau II)

Notre étude a concerné un nombre total de quarante-deux (42) sujets sevrés destinés à l'engraissement, issus de dix (10) lapines reproductrices de race synthétique appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus*. Cet élevage, logé dans un bâtiment conventionnel, se situe dans la ferme expérimentale de l'Itelv.

Les lapines ont mis bas la dernière semaine du mois - Juin 2012. Après sevrage, et pour chaque portée, entre 3 et 5 lapereaux pris aléatoirement, sans distinction de sexe, ont été placés dans 10 cages différentes préalablement préparées.

La préparation de ces cages (**Figure 05**) consistait à :

- ✓ Les identifier en leur attribuant chacune un numéro, de 1 à 10 correspondant au nombre de portées, et en insérant une fiche de suivi sur lesquelles seront mentionnés, notamment, l'origine et le sexe de chaque lapereau ainsi que les dates de prélèvements.
- ✓ Placer une moustiquaire au dessous de chaque cage pour faciliter la collecte des matières fécales.

Tableau II : Répartition de l'effectif à prélever

N° de cage (portée)	Effectif de la portée au sevrage	Effectif prélevé	M*	F*
01	9	4	1	3
02	5	4	3	1
03	9	3	2	1
04	4	4	3	1
05	10	5	5	0
06	10	5	1	4
07	8	4	1	3
08	3	3	1	2
09	6	5	3	2
10	9	5	4	1
Total	73	42	24	18

* M : mâle ; F : femelle.



Figure 05 : Cages préparées hébergeant les lapereaux à prélever (photos personnelles)

II-2-2- Protocole de prélèvement

Au total, 102 échantillons de fécès ont fait l'objet de la recherche des oocystes de *Cryptosporidium*. Les prélèvements ont été effectués selon le protocole suivant (**Figure 07**):

- Sur des sujets vivants : de la 1^{ère} semaine après le sevrage, correspondant à 5 semaines d'âge, jusqu'à 10 semaines d'âge, à raison d'un prélèvement de groupe par semaine. Soixante (60) prélèvements de matières fécales de groupe ont été ainsi collectés directement des moustiquaires placées sous chacune des 10 cages (**Figure 06**).



Figure 06 : Collecte des matières fécales de groupe (photo personnelle)

- Sur les 42 lapins (24 mâles et 18 femelles) sacrifiés à la 11^{ème} semaine d'âge (J₇₇) : les matières fécales ont été individuellement récupérées en ouvrant puis en raclant le côlon après sa dissociation du reste de l'appareil digestif (Pour des raisons techniques, les frottis, notamment, de l'intestin grêle et du cæcum n'ont pu être pratiqués).

Les échantillons, diarrhéiques et non diarrhéiques, collectés dans des pots en plastique étiquetés et contenant du bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$), sont immédiatement acheminés au laboratoire de parasitologie de l'Itelv et conservés à +4°C jusqu'à leur analyse.

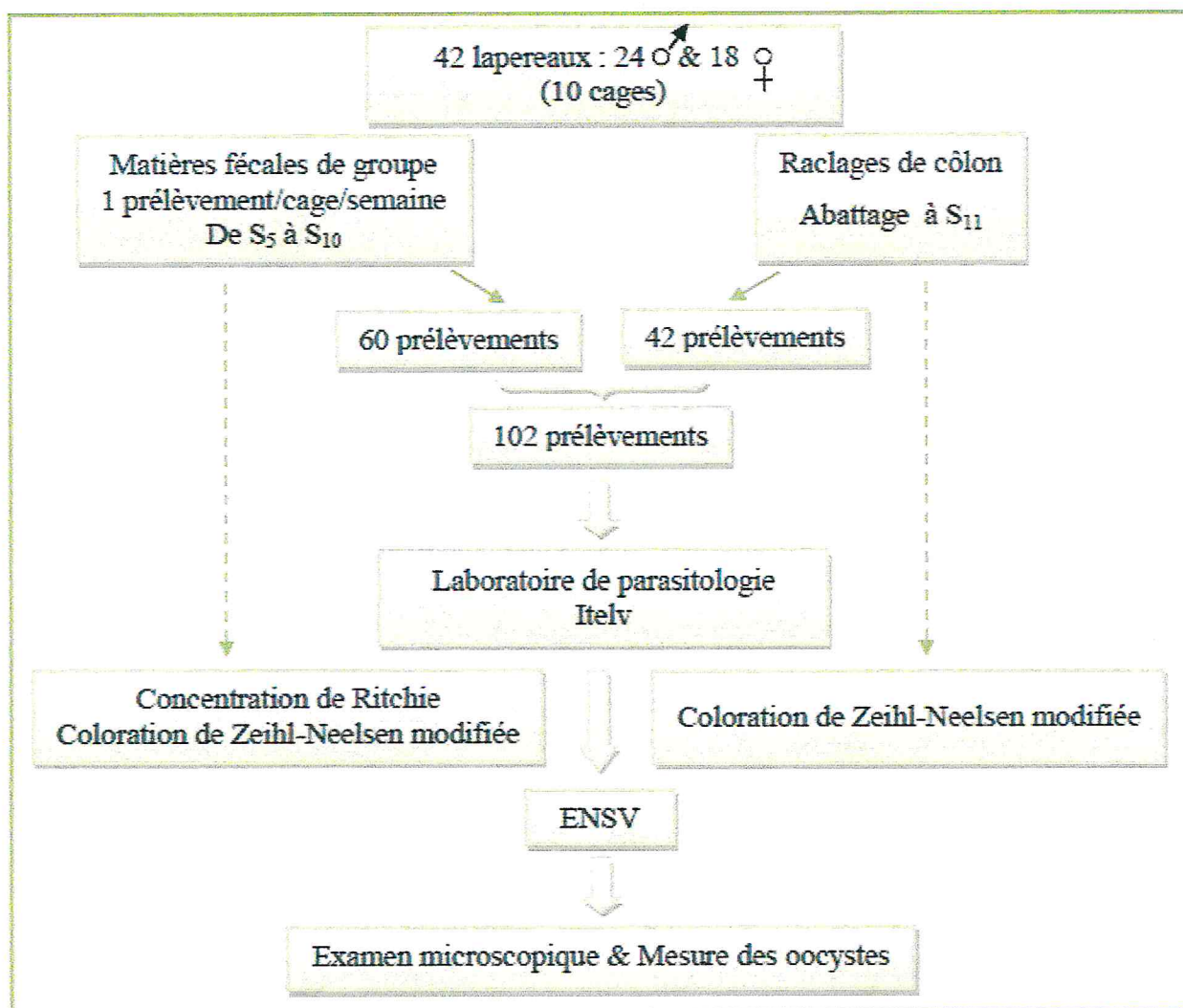


Figure 07 : Diagramme du protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes de *Cryptosporidium*

II-2-3- Matériel de laboratoire

Pour la collecte des prélèvements :

- ✓ Moustiquaires.
- ✓ Pots en plastique.
- ✓ Étiquettes pour l'identification.
- ✓ Ciseaux.
- ✓ Gants.

La technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (31) a nécessité :

- ✓ Balance électrique.
- ✓ Verres à pied conique.
- ✓ Agitateur en verre.

- ✓ Pipettes Pasteur.
- ✓ Tubes conique en verre avec bouchon.
- ✓ Centrifugeuse.
- ✓ 02 Réactifs : l'eau formolée à 10% et l'éther diéthylique.

Pour la confection et la fixation des frottis fécaux, le matériel suivant est utilisé :

- ✓ Pipettes Pasteur
- ✓ Lames bien dégraissées.
- ✓ Lamelles.
- ✓ 01 réactif : le méthanol.

Le matériel utilisé pour la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981), est le suivant :

- ✓ Bacs à coloration.
- ✓ Pincés.
- ✓ Minuterie.
- ✓ 02 colorants préparés au laboratoire : la fuchsine phéniquée de Ziehl et le vert malachite à 5%.
- ✓ 01 réactif : l'acide sulfurique à 2%.

La lecture des lames nécessite un microscope optique muni d'un micromètre oculaire.

II-3- Méthodes

II-3-1- Techniques utilisées pour la mise en évidence des cryptosporidies

II-3-1-1- À partir des matières fécales

Nous n'avons pas distingué entre les matières fécales diarrhéiques et non diarrhéiques. La technique de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) que nous avons utilisés pour la coloration des oocystes de *Cryptosporidium*, est précédée par la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (31).

II-3-1-2- À partir de raclages de côlon

Pour la recherche des oocystes dans les frottis réalisés à partir de raclages de côlon, nous avons utilisé la même technique de coloration citée précédemment. L'étalement de matières fécales est direct ne nécessitant pas une concentration préalable.

II-3-2- Principe et mode opératoire des techniques

II-3-2-1- Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley : qu'il s'agisse d'un prélèvement diarrhéique ou pas, cette technique polyvalente est réalisée systématiquement afin de concentrer un maximum d'éléments parasitaires et de résidus dans un petit volume de matières fécales (MF).

C'est une méthode diphasique (physico-chimique) qui met en jeu la balance hydrophile-lipophile du parasite. Elle dérive de celle décrite par Telemann (1908) qui diluait les selles dans un mélange égal d'éther et d'acide chlorhydrique (43).

Les étapes à suivre sont représentées par le diagramme ci-après (**Figure 08**) :

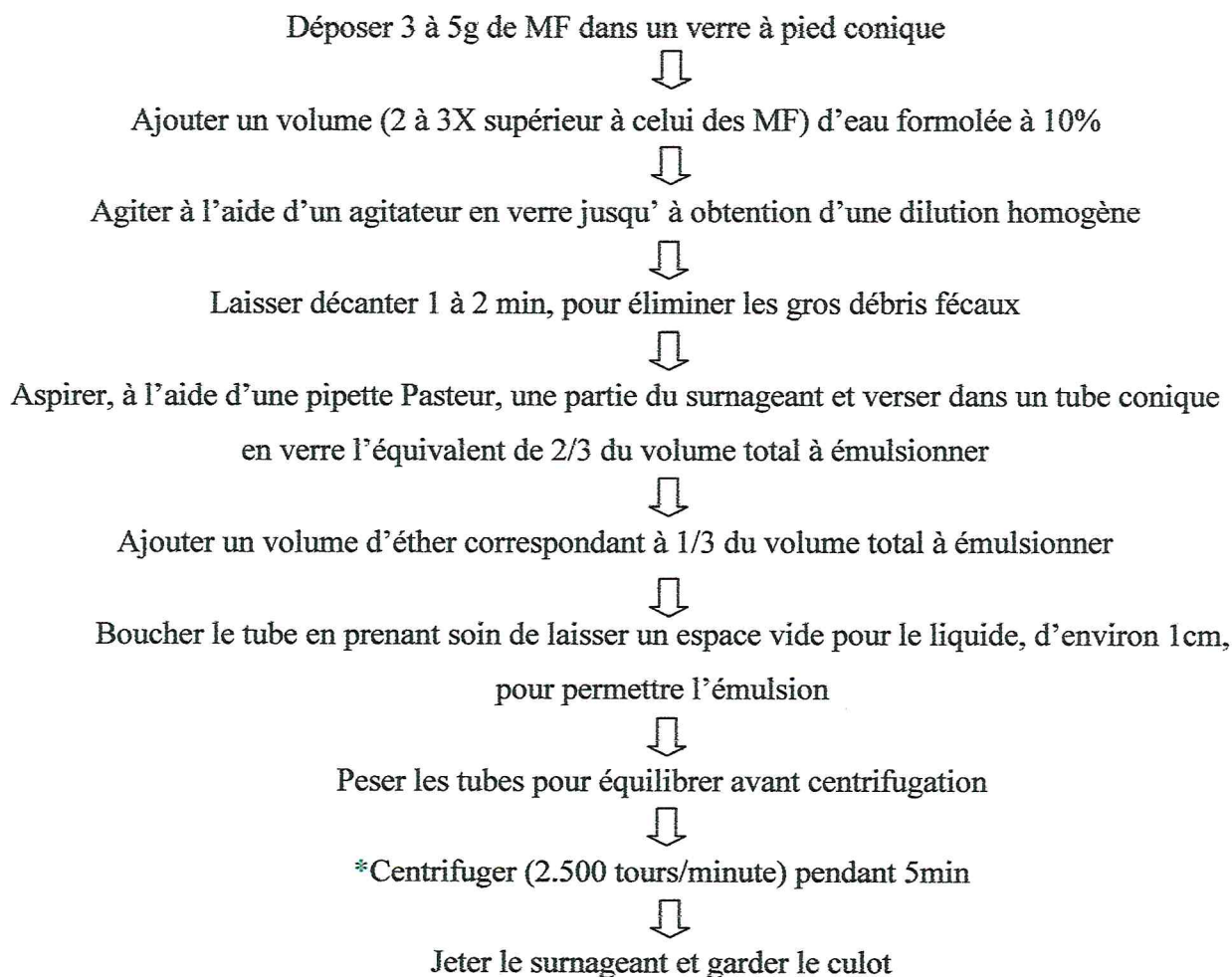


Figure 08 : Mode opératoire de la concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley

*Après centrifugation, 4 couches distinctes se forment ; elles 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.
- Un culot dans lequel sont concentrés les éléments parasitaires.

II-3-2-2- Technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz : il s'agit d'une technique de référence, simple, rapide, peu onéreuse connue pour sa sensibilité et sa spécificité ; de plus, les lames peuvent être conservées.

Elle permet de caractériser l'acido-alcool-résistance des germes ayant la capacité à retenir la fuchsine après traitement par un alcool ou un acide. Les parasites apparaissent en rouge malgré l'utilisation du bleu de méthylène (24). Ces propriétés de coloration sont expliquées par la structure de la paroi cellulaire, notamment par sa richesse en acides mycoliques qui retiennent la fuchsine ; la paroi forme une véritable enveloppe cireuse protectrice de part son abondance en acides gras et en lipides, ce qui rend difficile la pénétration des agents colorants et décolorants (68).

Avant toute coloration, la préparation d'un frottis est nécessaire.

Pour les prélèvements de matières fécales de groupe, le frottis est réalisé à partir du culot de centrifugation issu de la concentration. Après une légère homogénéisation, 1 à 2 gouttes de ce culot sont prélevées avec une pipette Pasteur. La goutte est déposée à l'une des extrémités d'une lame bien dégraissée et numérotée puis étalée en utilisant une lamelle de manière à obtenir un frottis mince.

Les raclages de côlon ne sont pas concentrés ; ils sont directement étalés sur lame.

Quelque soit l'origine du prélèvement, le frottis fécal confectionné est laissé sécher à l'air durant une nuit avant de le fixer au méthanol pendant 5 minutes et de le remettre enfin à sécher à l'air. La lame est ainsi prête pour la coloration.

Les différentes étapes de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) sont résumées dans la **figure 09**.

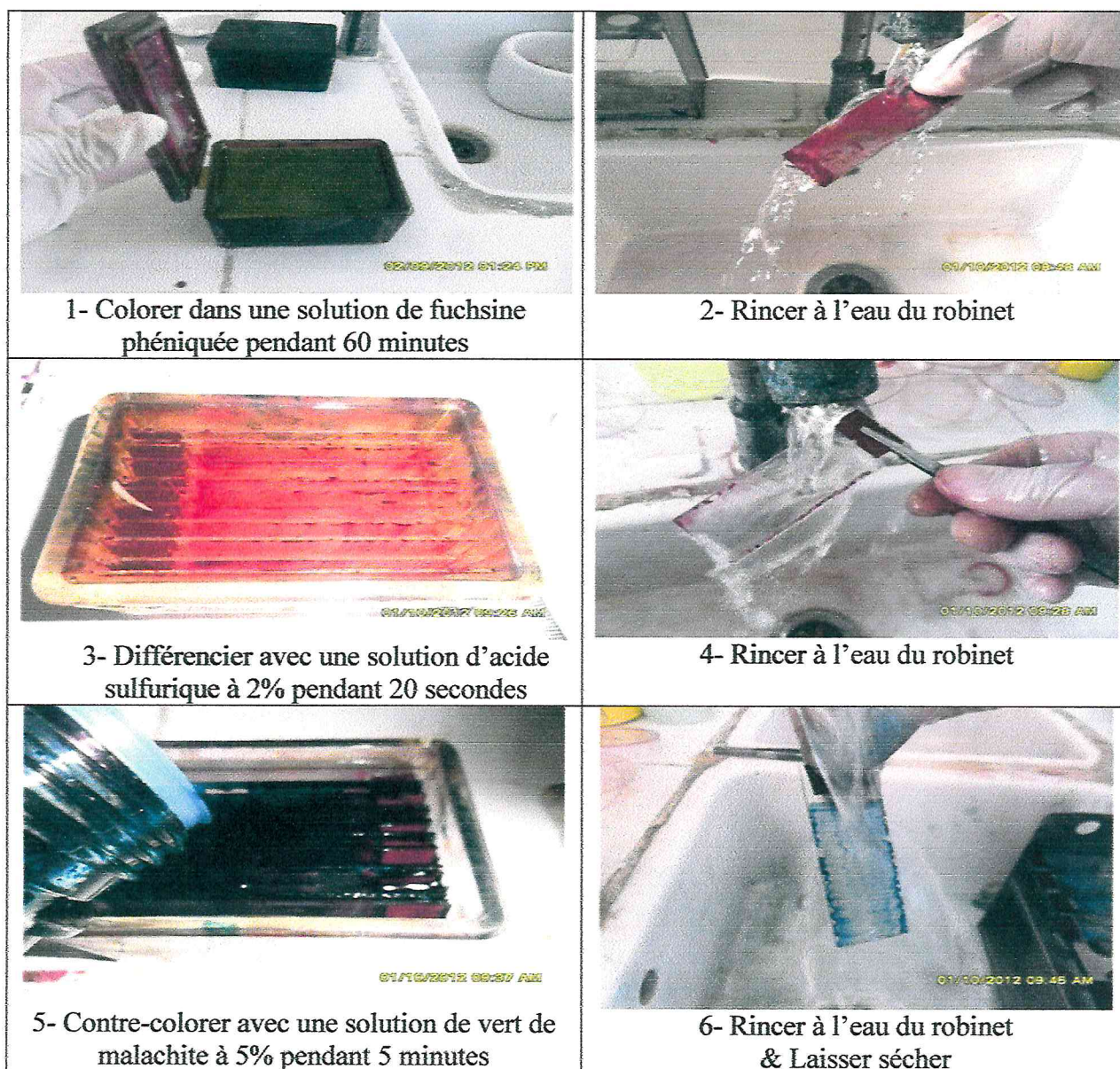


Figure 09 : Mode opératoire de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Photos personnelles)

II-3-3- Examen microscopique et interprétation

La recherche du parasite se fait au microscope photonique à l'objectif x40 puis x100. Toute la surface de la lame est balayée en zigzagant progressivement, de gauche à droite et de haut en bas.

Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent ronds à ovoïdes de 4-6 μm de diamètre, colorés en rouge vif, parfois en rose, sur fond vert ; le corps résiduel apparaît plus foncé (**Figure 10**).



Figure 10 : Oocyste de *Cryptosporidium* en microscopie optique Gx100 (photo personnelle)

La lame est considérée positive lorsqu'elle contient au moins un oocyste. Quant au calcul du degré d'infestation, il a été effectué selon la méthode semi-quantitative d'Henriksen et Krogh (1985) modifiée (55) :

- Infestation faible (+1) : 1 à 4 oocystes par champ d'observation au Gx40.
- Infestation moyenne (+2) : 5 à 10 oocystes par champ d'observation au Gx40.
- Infestation massive (+3) : plus de 10 oocystes par champ d'observation au Gx40.

II-3-4- Mesure de l'oocyste et proposition d'espèce

Nous n'avons soumis, pour la mesure des oocystes, que (30) lames de frottis fécaux de groupe qui sont caractérisées par un degré d'infestation massive ou moyenne.

Les dimensions oocystales (longueur x largeur) sont mesurées grâce à un micromètre fixé sur l'oculaire du microscope, à l'objectif x40 puis x100 (**Figure 11**).

Pour chaque objectif, la valeur au micromètre est déterminée comme suit :

- x divisions de l'oculaire = y μm au niveau du micromètre.
- 1 division oculaire = y/x μm .
- Le chiffre obtenu est arrondi à la classe supérieure ou inférieure.

En se référant au manuel de l'OIE (2005), les mesures obtenues permettront de définir l'échelle ou la fourchette de dimensions dans laquelle sont incluses ces mesures et de proposer l'espèce de *Cryptosporidium* correspondante.

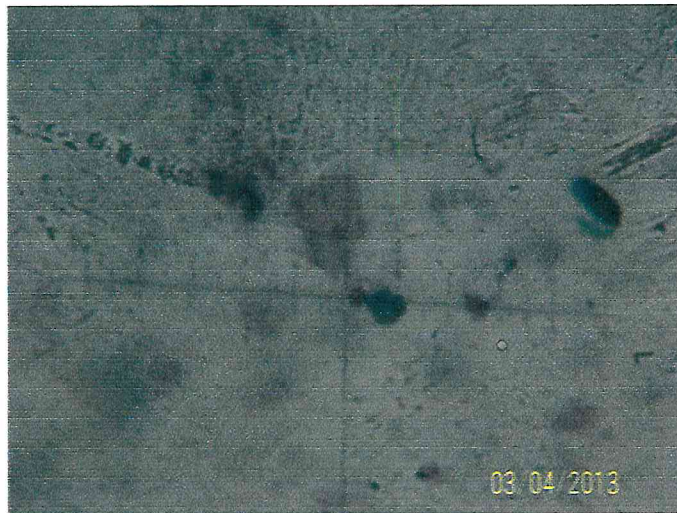


Figure 11 : Oocyste de *Cryptosporidium* observé sous microscope optique doté d'un micromètre oculaire (photo personnelle)

- ❖ La préparation des lames pour la mise en évidence des cryptosporidies (concentration et coloration) a été réalisée au laboratoire de parasitologie de l'Itelv. Leur interprétation (lecture des lames, calcul et mesure des oocystes) a été effectuée à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (ENSV).

Résultats

III- Résultats

III-1- Prévalence globale de *Cryptosporidium*

Au total, sur les 102 prélèvements examinés, l'ensemble des 60 échantillons de matières fécales de groupe prélevés chaque semaine, à partir de sujets vivants sont positifs aux cryptosporidies, représentant ainsi une prévalence de 100%. Sur les 42 prélèvements individuels de contenus de côlon, 35 sont positifs, soit une prévalence de 83.33% (**Tableau III**).

Tableau III : Prévalence globale de la cryptosporidiose

Type de prélèvement	n	n positifs	Prévalence (%)
MF de groupe	60	60	100
Contenus de côlon	42	35	83.33

M.F : matières fécales ; n : nombre de prélèvements.

III-2- Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du sexe

Sur les 24 sujets mâles prélevés, 21 sont positifs aux cryptosporidies, soit une prévalence de 87.50%. De même sur les 18 sujets femelles examinées, 14 sont positifs, représentant une prévalence de 77.78% (**Tableau IV**).

Tableau IV : Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins

Sexe	n	n positifs	Prévalence (%)
Mâle	24	21	87.50
Femelle	18	14	77.78

n : nombre de sujets = nombre de prélèvements après abattage.

III-3- Degré d'infestation en fonction de l'âge

À l'examen parasitologique des prélèvements hebdomadaires de matières fécales de groupe, le degré d'infestation cryptosporidienne a été déterminé pour chacune des 10 portées et reporté dans le **tableau V**.

Tableau V : Degré d'infestation par *Cryptosporidium* selon l'âge des lapins

N° de cage	Age (semaines) / N° du prélèvement					
	5 / 1 ^{er}	6 / 2 ^{ème}	7 / 3 ^{ème}	8 / 4 ^{ème}	9 / 5 ^{ème}	10 / 6 ^{ème}
1	+3	+3	+1	+1	+1	+1
2	+3	+3	+2	+2	+1	+1
3	+3	+3	+3	+2	+1	+1
4	+3	+3	+2	+2	+1	+1
5	+3	+3	+2	+2	+1	+1
6	+3	+3	+3	+1	+1	+1
7	+3	+3	+2	+1	+1	+1
8	+3	+3	+2	+1	+1	+1
9	+3	+3	+1	+1	+1	+1
10	+3	+3	+2	+1	+2	+1

+3 : Infestation massive ; +2 : Infestation moyenne ; +1 : Infestation faible.

La **figure 13** permet de suivre avec précision l'évolution de l'infestation du 1^{er} prélèvement effectué à la 5^{ème} semaine d'âge au 6^{ème} et dernier prélèvement réalisé à la 10^{ème} semaine d'âge. Globalement, et pour l'ensemble des portées, l'infestation est massive entre la 5^{ème} et la 6^{ème} semaine d'âge, elle commence à décroître à partir de la 7^{ème} semaine d'âge pour s'atténuer et devenir faible entre la 9^{ème} et la 10^{ème} semaine d'âge.

Tableau VI : Mesures des oocystes de *Cryptosporidium* et espèces correspondantes suspectées chez le lapin

Nombre de lames		Mesures de l'oocyste (μm)	Longueur / Largeur	Fourchette correspondante OIE (μm)	Espèce suspectée
30	17	4,0 x 3,0	1,33	3,8x6,0 - 3,0x5,3	<i>C. parvum</i>
		5,0 x 3,6	1,39		
	13	3,2 x 4,0	1,37	3,2x5,1 - 3,0x4,0	<i>C.felis</i>

Discussion

IV- Discussion

La présente étude fournit les premières données sur l'infestation cryptosporidienne dans l'espèce cunicole en Algérie. Même à travers le monde, le nombre d'investigations dans ce domaine est limité à l'Europe, à l'Amérique du nord et à l'Australie (52) ; par conséquent, les informations demeurent parcellaires.

La bibliographie nationale s'est enrichie ces dernières années de quelques travaux de recherche sur la cryptosporidiose bovine (56; 1, 2 ; 55 ; 4), aviaire (34, 36) et plus récemment équine (38). Sur la base des résultats obtenus, tous les auteurs s'accordent à dire que la maladie, très fréquente dans les élevages étudiés, occasionne des pertes économiques considérables et constitue une menace zoonotique réelle.

Nous avons pu mettre en évidence des cryptosporidies dans l'ensemble (60/60) des échantillons de matières fécales de groupe prélevés hebdomadairement à partir des 10 portées, après sevrage. Bien que d'autres organes (IG et cæcum) n'aient pu être explorés au profit de cette recherche, 83.33% (35/42) des prélèvements individuels de frottis du côlon étaient positifs à *Cryptosporidium* (Tableau III). À l'instar des espèces bovine, aviaire et équine étudiées chez nous, et dans lesquelles les prévalences variaient respectivement, de 22.08% à 47.80%, de 41.1% à 52.5% et de 2.9%, la prévalence élevée que nous avons relevée démontre la fréquence de la maladie dans l'espèce cunicole aussi. Elle serait la conséquence des mauvaises conditions d'élevage et de la défaillance des protocoles de désinfection, en addition au climat algérois chaud et relativement humide en été, favorable à la survie des oocystes, lesquels sont connus pour leur très grande résistance dans l'environnement. Le parasitisme serait maintenu par la présence de sujets adultes infectés, porteurs asymptomatiques (représentés dans notre étude, essentiellement par les lapines mères qui ont été analysées positives pour des raisons de discussion uniquement), constituant un véritable réservoir du fait de l'excrétion cyclique qui s'accentuerait, tout comme dans l'espèce bovine (56, 18), autour des mises bas. De même, nous pensons que la particularité de la physiologie digestive des lagomorphes (cæcotrophie) serait un facteur déterminant à explorer et à considérer lors d'éventuelles études ultérieures.

En Europe, les prévalences enregistrées chez le lapin, qu'il soit domestique ou sauvage, sont moins importantes en raison probablement de la différence de climat et du respect des normes d'élevage ; D'après Epe et al (2004), aucun des 232 prélèvements réalisés en Allemagne n'étaient positifs alors que 0.9% des 109 prélèvements examinés au Royaume Uni étaient positifs aux cryptosporidies (13; 14). En Roumanie, un résultat négatif est obtenu suite aux analyses coprologiques effectuées sur 33 lapins bien que des enquêtes antérieures ont révélé des

prévalences allant de 16 à 50% **(18)**. En Australie, *Cryptosporidium* a été détecté dans 12 (6.8%) sur 176 prélèvements individuels de matières fécales **(52)**. Ces grandes fluctuations dans les données chiffrées de prévalences dépendraient particulièrement de la région et de l'espèce ciblées, de la taille et du mode d'échantillonnage, des méthodes utilisées pour la recherche du parasite et des facteurs de risque pris en considération (cités préalablement dans le chapitre II, p9).

Concernant la fréquence d'isolement de *Cryptosporidium* chez les mâles et les femelles, les résultats obtenus, 87.50% et 77.78% respectivement **(Tableau IV)**, sont similaires. De même, les prévalences enregistrées à l'échelle nationale, sont également comparables pour les deux sexes dans l'espèce bovine **(1 ; 2)** et équine **(38)** ; elles sont expliquées par le parage collectif et dense des animaux permettant la contamination massive et continue de l'espace environnant. Malgré que le rôle du facteur sexe n'apparaît pas non plus dans les études étrangères **(15 ; 31 ; 1 ; 2)** suggère de vérifier tout de même l'influence de ce facteur sur l'infestation chez des effectifs plus grands.

Au cours du présent travail, l'excrétion du parasite ne s'est pas interrompue durant toute la durée de vie *post* sevrage des lapins **(Tableau V & Figure 11)** ; en effet, *Cryptosporidium* a été isolé dans toutes les portées, à partir du 1^{er} prélèvement effectué à la 5^{ème} semaine d'âge jusqu'au 6^{ème} et dernier prélèvement réalisé à 10 semaines d'âge. Nous constatons, néanmoins, une diminution progressive de l'intensité de l'infestation au fil du temps : étant massive durant les deux premières semaines *post* sevrage, elle décline à partir de la 7^{ème} semaine d'âge pour la majorité des portées (excepté pour les portées 3 et 6) puis devient faible à compter de 9 semaines d'âge. Nos résultats confirment que la cryptosporidiose est une maladie du jeune animal **(23 ; 49 ; 42)** et consolident les constatations des chercheurs, cités précédemment, qui les expliquent d'une part, par la grande sensibilité des jeunes animaux à l'infection cryptosporidienne en présence d'un système immunitaire encore immature **(42)**, et d'autre part, par la résistance d'âge et par l'immunité acquise à la suite du contact permanent et renouvelé avec le parasite **(18)**. Nous signalons, par contre, que l'unique étude qui a révélé un résultat inverse est celle réalisée par Laatamna et al. (2013) chez l'espèce équine ; alors que 5.5% des sujets adultes sont analysés positifs, aucun jeune animal ne l'est.

Conclusion & Recommendations

Conclusion

Notre enquête a permis d'identifier la cryptosporidiose chez des lapins sevrés appartenant à l'espèce d'élevage élevés dans la ferme expérimentale de Baba Ali - Alger. En utilisant uniquement la méthode de diagnostic par coloration, *Cryptosporidium* spp. est très fréquemment rencontré avec une prévalence importante qui dépasse 80%.

Le facteur sexe n'a pas, dans la présente étude, un rôle dans l'infestation; néanmoins, la recherche des oocystes a été - à des degrés d'infestation différents - positive pendant toute la durée de vie économique des lapins prélevés à partir de la 1^{ère} semaine *post* sevrage correspondant à 5 semaines d'âge. D'autres travaux complémentaires devraient être entrepris pour connaître la situation de la maladie chez des sujets non sevrés.

Par ailleurs, les mensurations de ces oocystes montrent des valeurs comprises dans la fourchette des données de référence OIE pour l'espèce suspectée: *C. parvum*, bien qu'isolées de matières fécales de groupe, donc sans considération de l'organe pour cette étude d'initiation à la recherche de la cryptosporidiose chez les lagomorphes.

En dépit de l'espèce animale ciblée, nos résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs, en ce qui concerne la prévalence, le rôle des facteurs sexe et âge dans la dissémination de cette parasitose et le diagnostic de suspicion établi pour l'espèce de *Cryptosporidium parvum* responsable de zoonose.

Recommandations

En complément à l'étude que nous venons de conduire, plusieurs aspects peuvent être envisagés et développés ; brièvement, nous préconisons des études prospectives où d'autres techniques seraient utilisées (histopathologie pour le diagnostic rapide et biologie moléculaire pour déterminer les différentes espèces mises en cause) et dans lesquelles seront pris en compte d'autres facteurs, tels que la race, la période néonatale *ante* sevrage et l'âge adulte (inclure les reproducteurs), le gain de poids, les mortalités suite à des diarrhées, les cas pathologiques avec diarrhées, la saison, le climat (si la zone d'études est étendue à plusieurs régions du pays), la conduite d'élevage (type de bâtiments, alimentation, les traitements antiparasitaires et les processus de désinfection adopté, hygiène du personnel.).

Sachant qu'il n'existe aucun traitement spécifique contre la cryptosporidiose, et compte tenu de la grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur, nos recommandations, afin de réduire la propagation de cette maladie dans les élevages cunicoles et minimiser les pertes économiques qui en résultent, consistent à appliquer les mesures prophylactiques suivantes :

- ✓ Instaurer un dépistage systématique de *Cryptosporidium* aussi bien dans les cas pathologiques que lors d'examens de routine.
- ✓ Respecter les règles d'hygiène élémentaires en élevage :
 - Retrait quotidien des matières fécales.
 - Nettoyages et désinfections quotidiens en utilisant des procédés efficaces (chaleur).
 - Isoler les sujets malades et éliminer les cadavres.
- ✓ Établir de bonnes conditions d'élevage en matière de suivi et d'alimentation.
- ✓ Inculquer les règles strictes d'hygiène au personnel en contact avec les élevages.

Références bibliographiques

- (1) Akam A., Khelef D., Kaidi R., Abdhussain M. S., Suteu E. et Cozma V., 2002. Epidémiologie de la Cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie. *Scientia Parasitologica*, 2 : 22-27.
- (2) Akam A., Lafri M., Khelef D., Kaidi R., Bouchène Z., Cozma V. et Suteu E., 2007. Cryptosporidiose bovine dans la région de la Mitidja (Algérie). *Bulletin USAMV-CN*, 64 : 344-350.
- (3) Anouk Burgaud., 2010. PATHOLOGIE DIGESTIVE DU LAPIN EN ELEVAGE RATIONNEL. These de doctorat veterinaire. ENV-Alfort, p.30-31
- (4) Baoudi D., Khelef D., Belmadani S., Azeroual S., Xiao L. et Bachi F., 2010. Prévalence de trois protozoaires pathogènes chez le veau et impact sur l'état de santé. *Revue Pratique Vétérinaire*, N° Avril 2010 : 17-23.
- (5) BARR S.C., GUILFORD W.G., JAMROSZ G.F. *Et Al.*, 1994 Paromomycin for the treatment of *Cryptosporidium* in dogs and cats. *J.Vet.Int.Med.*, 8 :P. 177.
- (6) BLAGBURN B.L. Et SOAVE R., 1997. Prophylaxis and chemotherapy : human and animal. *In : Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*, 1st Ed. CRC press, 111-128
- (7) Blagburn B.L., Lindsay D.S., Giambone J.J., Sudermann C.A., Hoerr F.J., 1987. *Experimental Cryptosporidiosis in broiler chickens*. *Poul. Sci.* Vol. 66, p. 442-449 .
- (8) Blewett D.A., Wright S.E., Casemore D.P., Booth .E., Jone C.E., 1993. Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs. *Water science and technology*, 27.P.61-64.
- (9) Boucher S, Nouaille L., 2002 *Maladies des lapins*. 2ème ed. Paris : Editions France Agricole.P. 272 .
- (10) Brayan J ; Latimer K.S ., 2007 . *An overview of cryptosporidiosis* . Class of 2007 (Brayan) and département of pathology (Latimer), College of veterinary Medicine, the University of Georgia Athens, GA 30602-7388.
- (11) Bussieras J et Charmitte R 1991., *Parasitologie vétérinaire, Parasitologie generale* Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, service de Parasitologie .P.75.
- (12) Carey C.M., Lee H. et Trevors J.T., 2004. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research* 38: 818-862.
- (13) Chalmers R.M., 1996. The distribution of *Cryptosporidium* in livestock and wild animal populations on a warwickshire farm. Coventry University, Coventry.
- (14) Chalmers R.M., Sturdee A.P., Bull S.A. et Miller A., 1995. Rodent reservoirs of *Cryptosporidium*. *In: Betts, W.B., Casemore, D., Fricker, C., Smith, H., Watkins, J. (Eds.), Protozoan Parasites and Water*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 63-66.

(15)Chermette R., Boufassa Ouzrout S., 1988. Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite. Serie tech n°5. 2^{eme} edition. Ed.Off. Int. Epizoo. Paris, P.127

(16)Cordier Muriel, Catherine., 2010. Les maladies transmissibles du lapin de Garenne (*Oryctolagus cuniculus*) en LIBERTE. P.70.

(17)Current W.L .,1990. *Technique and laboratory maintenance of Cryptosporidium*. In *Cryptosporidiosis of man and animals*. (Ed. Dubey J.P., Speer C.A., Fayer R.). CRC. Press. Boston.P..31-50.

(18)Darabus GH., Cosoroaba I., Oprescu I. et Morariu S., 2001. Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 152 (5) : 399-404.

(19)Denholm Km, Haitjema H, Gwynne Bj, Morgan Um Et Irwin Pj.,2001.Concurrent *Cryptosporidium* and parvovirus in a puppy. *Aust. Vet. J.* , n°79.p. 98-101.

(20)Derouin F., Eliaszewicz M., Pouillot R ., Roze S (2002). Raoprt sur les « Infections à protozoaires liées aox aliments et à eau » : « Evaluation scientifique des risques associées à *Cryptosporidium sp* ». EFSSA.

(21)Duhamel C., Barbier D., Morel C., Georges P., 1995. *Parasitologie des selles. Etude de quelques opportunistes. Aspects pratiques, pieges à eviter. Feuilletts de biologie*. Vol. 36,n°204,p.31-36.

(22)Epe C., Coati N. et Schnieder T., 2004. Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 111 : 243–247.

✧ (23)Euzéby J., 1984. Les parasites humains d'origine animale : caractère épidémiologique (324p). Flammarion Medecine Science.

(24)Euzeby J., 1987. Caractere generaux des apicomplexa. *Protozool.Med.comp.* Vol.2. Fondation Marcel Merieux.Lyon. P.84-100

(25)Farrington M., Lloyd S., Winters S., Smith J., Rubenstein D.,(1995) : patterns of *cryptosporidium* antigen and oocyst excretion in calves studied by reverse passive haemagglutination and light microscopy. *Veterinary Parasitology*,60.P.7-16.

(26)Fayer R., 2004. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology* 126 : 37–56

(27)Fayer R.,Speer CA., Dubey JP., 1990. General biology of *Cryptosporidium* . In :cryptosporidiosis of men and animals(Ed. Dubey JP, Speer CA et Fayer R) CRC Press.Boston. 1-30.

(28)Finch G.R. et al(1993). : Ozone inactivation of *cryptosporidium parvum* demand-free phosphate buffer determined by in vitro excystation and animals infectivity. Appl. Environ. Microbiol, **59** (12).P.4203-4210.

(29)Fukushima K., Helman Helman R.G (1984) : cryptosporidiosis in a pup with distemper.*Vet.Pathol.*,21 : 247-248.

(30)Gabriela Certad., 2008. De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive. P.17.

(31)Gati A.E., 1992. La cryptosporidiose :diagnostic parasitologique, infections naturelles chez onze especes animales et chez l'homme et étude des effets de l'immunodéficience et de l'immunostimulation expérimentales chez le lapereau. These : Doctorat 3eme cycle. Option : parasitologie.P.1-82.

(32)Gookin J.L., Levy M.G., Law J.M., Papich J.M., Poore M.F., Breitschwerdt.B., 2001.Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *Am. J. Vet. Res.*, **62**:P.1690-1697.

(33)Gookin J.L., Riviere J.E., Gilger B.C., Papich M.G., 1999. Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *J. Am.Vet Med.Assoc.*, **215** :P. 1806, 1821-1823.

(34)Goucem R.,2013.Prevalence de l'infection à *Cryptosporidium* spp. Dans quelques élevages de poulets de chaire et de dindes dans les régions de Boumerdes et Alger.p.39.

(35)Greene Ce, Jacob Gj, Prickett D., 1990. Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*,197.p. 365-367.

(36)Guechtouli S.,2011.Etude de prevalence de l'infection à *Cryptosporidium* sp.chez le poulet de chaire et la dinde chaire dans quelque elevage de la wilaya de boumerdes.p.25.

(37)Kirkpatrick C.E., Dubey J.P.,1987. Enteric coccidial infections. Isospora, Sarcocystis, *Cryptosporidium*, *Besnoitia*, and *Hammondia*. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **17**(6). P. 1405-1420.

(38)Laatamna A., Wagnerová P., Sak B., Dana Kvetonová D., Aissi M., Rost M. et Kvac M., 2013. Equine cryptosporidial infection associated with *Cryptosporidium* hedgehog genotype in Algeria. *Veterinary Parasitology*, Article in press: 4p.

(39)Lindsay D.S., Zajac A.M.,2004.*Cryptosporidium* infections in cats and dogs.*Compend.Cont.Educ.Pract.Vet.*, **26**(11).p. 864-874.

- (40) **Loganthan S., Yang R., Bath A., Gordon C. et Ryan U., 2012.** Prevalence of *Cryptosporidium* species in recreational versus non-recreational water sources. *Experimental Parasitology*, 131 : 399–403.
- (41) **Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E., Kazmierczak, J.J., Addiss, 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.
- x (42) **Morin R., 2002.** Cryptosporidiose chez les ruminant. www.biblio.vet-nantes.fr. these. Morin 02-148. Biblio. Pdf.
- (43) **Mosele D., 1998.** Les Cryptosporidioses Aviaires : Synthèse bibliographique. These de doctorat veterinaire. ENV-Alfort, p.1-89.
- (44) **Mourin M. et al., 1978.** Neonatal colic diarrhoea : pathology and microbiology of spontaneous cases in dairy herds and incidence of the enteropathogens implicated as ethiological agents. *Porc. Second Intern. Symposium on neonatal diarrhea*, University of Saskatchewan, Canada, P.347-370.
- (45) **Naciri M (1994) :** la cryptosporidiose des ruminants et santé publique. *Le point veterinaire*, 26, numero special (ruminants et santé publique). P.49-55.
- (46) **Naciri M., Mancassola R., Reperant J.M ; Canivez O., Quique B., Yvor P (1994):** treatment of experimental ovine cryptosporidioseis with ovine or bovine hyper immune colostrum. *Veterinary Parasitology*, 53.173-190.
- (47) **Naciri M ; Lefay M.P Mancassola R., Poirier P., Chermette R(1999):** role of *cryptosporidium parvum* in neonatal diarrhea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary Parasitology*, 85.P.245-257.
- (48) **Naciri M ; Yvore P.(1989):** efficacité du lactate d'halofuginone dans le traitement de la cryptosporidiose chez l'agneau. *Receuil de medecine vétérinaire ;* 165(10).P.823-826.
- SA (49) **Naciri M., 1992.** La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. *INRA prod. Anim.* Vol. 5, N° 5, p. 319-327.
- (50) **Naciri M., Lacroix S., Laurent F., 2000.** Cryptosporidiose des ruminants. 1^{ere} partie. *L'Action veterinaire*, n°1536.p. 17-23
- (51) **Nime F.A., Burek J.D., Page D. L., OLSCHER M.A., Yardley J. H., 1976.** Acute enterocolitis in a human being infected with protozoan cryptosporidium. *Gastroenterology*. Vol. 70.P. 592-598.

- (52) Nolan M.J., Jex A.R., Haydon S.R., Stevens M.A. et Gasser R.B., 2010. Molecular detection of *Cryptosporidium cuniculus* in rabbits in Australia. *Infection, Genetics and Evolution* 10: 1179–1187.
- (53) O'Donoghue P.J., 1995. cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animals. *international journal for parasitology*. vol 25N°2, p.139-195.
- (54) Okhuysen Pc, Chapell Cl, Crabb Jh, Sterling C.R., Dupont H.L., 1999. Virulence of three distinct *C. parvum* isolates for healthy adults. *J. Infect. Dis.*, 180.P.1275-1281.
- (55) Ouakli N., 2011. Prévalence de la cryptosporidiose chez le veau et les facteurs de risque dans la wilaya de Blida. Mémoire de Magister. Département des sciences vétérinaires, université Saâd Dahlab, 95p.
- (56) Ouchene N., Ouchene-Khelifi N.A., Aissi M. et Benakhla A., 2012. Prévalence de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia* spp. chez les bovins de la région de Sétif au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 65 (3-4) : 53-56.
- (57) Pavlasek I, 1999. Cryptosporidia : biology diagnostis, host spectrum specificity and the environnement. *Klinicka Mikrobiologie a infekcni Lekastvi*. 3.P.209-301.
- (58) Peeters J., Villacorta I (1995) : *cryptosporidium* . In Guidelines on techniques in coccidiosis research. Editors : Eckert J., braun R., shirley M.W., Couder P, Biotechnology COST 89 /820, Report EUR 16602 EN. European Commission. Brussels.P.202-240.
- (59) Pergent P.B., 1988. Lutte contre les Cryptosporidioses : approche therapeutique – application chez le Veau . th .Med. VET. :Alfort : 39.
- (60) Rayan U.M., Xiao L., Read C., Sulaiman I.M., Monis P., Lal A.A., Fayer R., Pavlasek I., 2003. A redescription of *cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomlexa: cryptosporidiidae) from birds. *J.Parasitol*. Vol.89,P 809-813
- (61) Reynal P.H.(1991) :Coccidiose et cryptosporidioses .Bulletin des GTV,6 B 399.P.111-123.
- (62) Robinson G. And Chalmers R.M., 2009."The European Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), a Source of Zoonotic Cryptosporidiosis". *Zoonoses Public Health*.
- (63) Ryan M.J., Sundberg J.P., Sauerschell R.J. et Todd K.S., 1986. *Cryptosporidium* in a wild cottontail rabbit (*Sylvilagus oridanus*). *Journal of Wildworld Disease* 22:267.
- (64) Samuel Boucher Et Loïc Nouaille., 2003. *Maladies des lapins*. 2ème édition. P.140.

- (65) **Scorza A.V., Brewer M.M., Lappin M.R. (2003)** Polymerase chain reaction for the detection of *Cryptosporidium* infection in dogs in Edinburgh. *Vet. Rec. P.123* :445.
- (66) **Sisk D.B., Gosser H.S., Styer E.L., Branch L.O., 1984** Intestinal cryptosporidiosis in two pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **184**(7).p. 835-836.
- (67) **Slavin, D., 1955.** *cryptosporidium meleagridis* (sp.nov). *J. Comp. patho.* Vol. 65, P.262-266.
- (68) **Smith MU, Caccio SM, Cook N, Nichols RAB, Tait A., 2007.** *Cryptosporidium* and giardia as foodborne zoonose. *Vet. Parasitol.* 149 :P.29-40
- (69) **Sonia Lacroix-Lamande., 2001.** role de l'interferon gamma dans la reponse immuniare mucosale a l'infection par *Cryptosporidium parvum* chez la souris
- (70) **Thompson HP., Dooley JS, Kenny J, McCoy M, Lowery CJ, Moore JE, Xiao L, 2007.** Subtypes and subtypes of *cryptosporidium* spp. In neonatal calves in Northern Ireland. *Parasitol, Res.* 100: p.619-624.
- (71) **Triffit, M.J., 1925.** observation on two species of coccidian parasites in snakes. *J. Protozool.* Vol. 1, P.19-26.
- (72) **Turnwald G.H., Barta O., Taylor W., Kreeger J., Coleman S.U., Pourciau S.S. (1988)** cryptosporidiosis associated with immunosupression attributable to distemper in a pup. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **192** :79-81
- (73) **Tyzzler E.E., 1907 .** A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 5: P.12-13.
- (74) **Tyzzler E.E., 1910.** An extracellular coccidium, *cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov), of the gastric gland of the common mouse. *J. Med. Res.* Vol. 23, P.487-509.
- (75) **Tyzzler 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. (
- (76) **Tyzzler E.E., 1907.** A sporozoan found in the peptic gland of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Vol. 5. P.12-13.
- (77) **Tzipori S, Angus K. W., Campbell I., Gray E.W., 1980.** *Cryptosporidium* : evidence for a single-species genus. *Infect. Immun.* 30: p.884-886
- (78) **Tzipori S, Ward H., 2002.** *Cryptosporidiosis* : biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect.*, **4**. P.1047-1058.
- (79) **Ungar B.L.P et al (1990) :** *cryptosporidium* infection in immunodeficient hosts. *Infect. Immun.*, **58**(4), 961-969.
- (80) **Webser K.A (1993) :** Molecular methods for the detection and classification of *cryptosporidium*. *Parasitology Today.*, **9**(7). 263-268.

(81)Woodmansee D.B.,1987. Studies of in vitro excystation of *Cryptosporidium parvum* from calves. J. Protozool. Vol. 34, p. 398-402