



550THV-2

République algérienne D

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahleb de Blida
Département des sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'étude :

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

Thème :

*Recherche de Cyptosporidiose bovines dans quelques
fermes de la wilaya de Médéa.*

Présenté par : LAHOUAZI MANEL

Jury:

Président : Dr DJOUDI .M

Examineur : Dr AKLOUL ~~K~~,

Promotrice : Dr OUAKLI .N

Promotion : 2011/2012



Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier tous ceux et celles qui m'a apporté

Tout l'aide de près ou de loin pour l'élaboration de ce mémoire.

Plus précisément je tiens à remercier sincèrement :

- Ma promotrice Madame OUAkli NADIA pour

M'avoir guidé et conseillé durant la période du travail.

- Docteur BENSALeM ACHOuR, d'avoir trouvé

À chaque fois dans son agenda très chargé, le temps

Pour m'aider.

-Docteur DJOUdi MUSTAPHA.

- Docteur AKLOUL.K

- Et même, le personnel du laboratoire de biochimie.

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

Dédicace

À TOUS CEUX QUI SONT CHÈRES

À MON CŒUR :

MES PARENTS

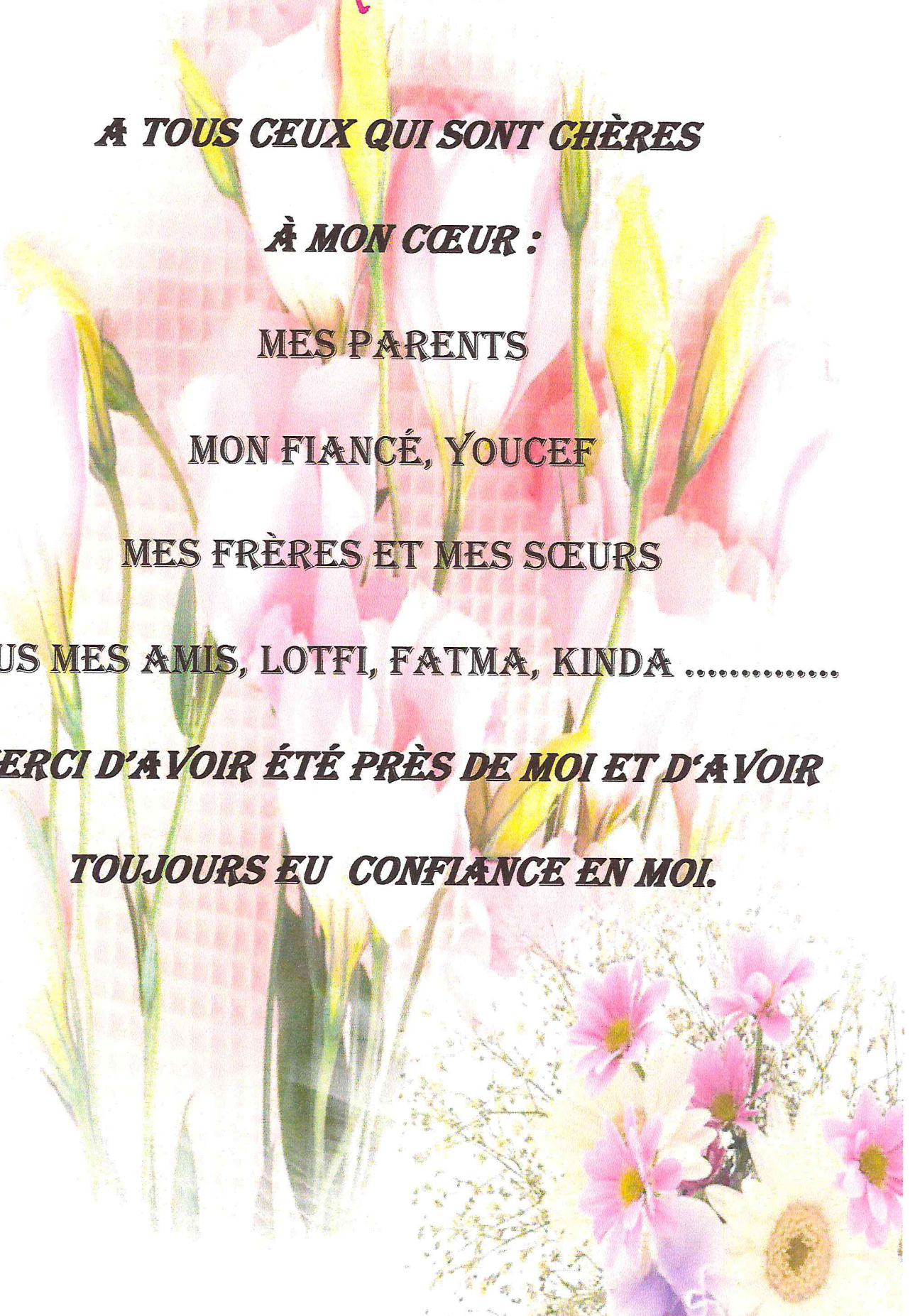
MON FIANCÉ, YUCEF

MES FRÈRES ET MES SŒURS

TOUS MES AMIS, LOTFI, FATMA, KINDA

MERCI D'AVOIR ÉTÉ PRÈS DE MOI ET D'AVOIR

TOUJOURS EU CONFLANCE EN MOI.



Résumé :

La cryptosporidiose est une maladie très fréquente dans l'élevage bovin en Algérie, elle touche toutes les classes d'âges mais plus fréquente chez les veaux de moins de 30 jours avec une sensibilité plus marquée chez les jeunes de 4-15 jours.

Notre étude a été effectuée pour connaître la situation de la Cryptosporidiose dans les élevages bovins dans la wilaya de Médéa.

Des échantillons fécaux de veaux ont été prélevés du 3^{ème} jusqu'au 30^{ème} jour, chaque prélèvement a été examiné macroscopiquement pour déterminer la consistance et la couleur, la présence ou non de mucus et de sang.

Sur un total de 80 échantillons 70% étaient des prélèvements diarrhéiques et 30 % étaient des prélèvements non diarrhéiques.

Le *Cryptosporidium sp* a été identifié microscopiquement par la coloration de Ziehl Neelsen modifiée, le parasite a été retrouvé dans 75 % et 25% de cas se sont avérés négatifs. L'âge des veaux s'avère jouer un rôle important. En outre le *Cryptosporidium sp* est présent dans les fèces des veaux dans toutes les tranches d'âge, avec un pic qui a été observé au 15^{ème} et le 30^{ème} jour d'âge.

De plus, les 16 échantillons fécaux prélevés une seule fois des vaches mères, le parasite a été retrouvé dans 81 %.

Mots clés : Diarrhée - *Cryptosporidium sp* – veau - coloration de Ziehl Neelsen modifiée.

Abstract:

Cryptosporidiosis is a very common disease between cattle in Algeria, affects all group ages, but common in calves under 30 days with a greater sensitivity among young ones that between 4-15 days.

Our study was conducted to know the situation of cattle farms in the province of Médéa. Fecal samples from calves were taken from the 3rd until the 30th day, each sample was examined macroscopically to determine the consistency and the color, the presence or absence of mucus and blood.

AMONG a total of 80 samples, 70% WERE of diarrheal specimens and 40% were non-diarrheal samples.

Cryptosporidium sp was identified microscopically by the coloration of Ziehl Neelsen modified, the parasite was found in 75%, and 25% of the cases were negative.

The age of calves appears to play an important role, in addition Cryptosporidium sp is present in the feces of calves in all age groups, with a peak which was observed at the 15th and the 30th day of age.

In addition, 16 fecal samples were collected once from the mother cows, the parasite was found in 81%, and 19% of the cases were negative.

Keywords: Diarrhea - Cryptosporidium sp - Veal - Ziehl Neelsen modified.

ملخص :

كريبتوسبورديوز هو مرض شائع جدا في الماشية في الجزائر، ويؤثر على جميع الفئات العمرية لكنها شائعة في العجول تحت 30 يوما و بالأخص بين الشباب من 4 إلى 15 يوم.

أجريت دراستنا من أجل معرفة حالة مزارع الأبقار في محافظة المدية

قد تم أخذ عينات البراز من العجول من اليوم 3 حتى اليوم 30، و تم فحص كل عينة ظاهريا لتحديد الاتساق واللون، وجود أو عدم وجود المخاط والدم.

من ما مجموعه 80 عينة كانت 70% من عينات براز رخو أما 40% الباقية كانت براز صلب.

قد تم تحديد الكريبتوسبورديوم مجهريا بواسطة تلوين تسيل نلسن المعدل، وجد الطفيلي في 75% و 25% من الحالات كانت سلبية.

سن العجول يلعب دورا مهما، بالإضافة إلى أن الكريبتوسبورديوم موجودة في براز العجول في جميع فئات العمر، مع ملاحظة وجود ذروة في الأيام 15 و 30 من العمر.

وبالإضافة إلى ذلك، عينات البراز 16 جمعت مرة واحدة من الأبقار الأم، تم العثور على الطفيليات في 81%، و 19% من الحالات كانت سلبية.

كلمات البحث: الإسهال - الكريبتوسبورديوم , العجل, تلوين تسيل نلسن المعدل.

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

partie bibliographique

CHAPITRE I : Etudes du parasite.

1 - Importance	2
2 - Historique	2
3-Taxonomie	3
4 -Spécificité d'hôte	5
5-Localisation du parasite	6
6-Cycle évolutif	7
6-1 Excystation	7
6-2Mérogonie	8
6-3Gamétogonie	8
6-4Sporogonie ou sporulation	9
7-Particularité du cycle	9
8-Résistance des cryptosporidies	10

CHAPITRE II : La cryptosporidiose.

I-Epidémiologie

I-1 Répartition géographique	13
I-2 Prévalence	13
I-3 Dose infectante	13
I-4 Mode de transmission	14

I-5	Source de contamination	14
	Les jeunes animaux.....	14
	Les meres.....	14
	Animaux sauvages.....	15
	Eau.....	15
I-6-	Facteurs de risque	
	I-6-1 Saison.....	15
	I-6-2 Densité animale.....	16
	I-6-3 Conduite d'élevage.....	16
	I-6-4 Role d'épandage de fumier.....	16
	I-6-5 L'alimentation.	16
II-	Etude clinique.	
II-1	Pathogénie	17
II-2	Symptômes	
	II-2-1 Les symptomes generaux.....	18
	II-2-2 Les symptomes digestifs.....	18
II-3	Lésions	18
II-4	Diagnostic	19
	II-4-1 diagnostic ante mortem.....	19
	II-4-1-1 concentration des oocystes.....	19
	II-4-1-2 coloration.....	20
	➤ coloration acide rapide de KINYOUN.....	20
	➤ coloration de Heine.....	20
	➤ technique auromine O.....	20
	➤ coloration de Zeihl Nielsen modifiée.....	20

➤ technique de flottaison d'Anderson.....	21
II-4-2 diagnostic post mortem.....	22
II-4-2-1 anatomo pathologique.....	22
II-4-2-2 examen histologique.....	23
II-4-2-3 examen de raclage.....	23
II-5 Traitement.....	23
II-6 Prophylaxie	24
<u>partie expérimentale.</u>	
I -objectifs.....	26
II- Zone d'études.....	26
III-population étudiée.....	26
VI –matériels et méthodes	
IV-1 Matériel utilisé.....	27
IV-2 Méthodes.....	27
a-Protocole de prélèvement.....	27
b-examen macroscopique.....	27
c-examen microscopique.....	27
V-résultats.....	29
VI -discussion.....	33
Conclusion et recommandations.....	34

Liste des tableaux

Partie bibliographique :

Tableau 01 : Taxonomie et classification des cryptosporidium parvum.....	3
Tableau 02 : Liste des espèces de cryptosporidium sp .considérées comme valides.....	4
Tableau 03 : Résistance de C parvum aux contraintes physiques et aux conditions environnementales.....	11
Tableau04 : Estimation de la qualité de morphologie de l'oocystes cryptosporidium visualisée par différentes techniques.....	24

Partie expérimentale :

Tableau I : Répartition des prélèvements des vaches mères dans les fermes étudiées	
Tableau II : Répartition des prélèvements des veaux.	
Tableau III : Répartition des échantillons selon la consistance des fèces	
Tableau IV: Distribution des échantillons selon l'âge.	

Liste des figures

Partie bibliographique :

Figure 01 : Muqueuse d'un iléon sain en microscopie optique.....	6
Figure 02 : Cycle biologique de Cryptosporidium sp	7
Figure 03 : Sporozoïtes et mérozoïtes.....	8
Figure 04 : Mérontes de cryptosporidium sp.....	8
Figure 05: Microgamonte de cryptosporidium.....	9
Figure 06 : Macrogamonte de cryptosporidium.....	9
Figure 07: Oocystes de cryptosporidium sp.....	20
Figure 08: Coloration négative de Heine.....	21
Figure 10 : Coloration de Ziehl Neelsen.....	21

Partie expérimentale :

Figure 1 : Carte géographique de la wilaya de Médéa.....	26
Figure 2: mode opératoire de coloration de Ziehl Neelsen modifiée.....	28
a -Étaler les fèces sur la lame.....	28
b-Fixer au méthanol puis sécher à l'air.....	28
c -Colorer la lame dans la solution de Fuschine phéniquée	28
d-Rincer sous le robinet d'eau.....	28
e-Décolorer dans l'acide sulfurique à 2%	28
f-Contre colorer avec le vert de malachite).....	28
g-Rincer sous le robinet d'eau et laisser sécher	28

h-Observer au microscope (G x40 et G x100).....	28
i- Répartition des prélèvements des vaches mères.	29
Figure 3 : Répartition des cas positifs et négatifs chez les veaux.....	30
Figure 4 : Distribution des échantillons selon la consistance des fèces.....	31
Figure 5: Répartition des échantillons selon l'âge.....	32

Introduction

Chez le veau nouveau-né, plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de diarrhées. Ces maladies néonatales constituent l'une des causes majeures de mortalité des jeunes veaux issus des cheptels allaitants.

La diarrhée est caractérisée par un ramollissement des fèces et une fréquence d'émission trop élevée. Les diarrhées des veaux âgés de 2 jours à 3 mois sont souvent dues à plusieurs causes agissant en même temps. Elles sont très souvent une pathologie de groupe. Elles peuvent avoir des conséquences graves : maladie, retards de croissance, mortalité, pertes économiques. Certains germes peuvent, dans quelques rares cas, être transmissibles à l'homme. Une bonne connaissance des diarrhées et de leurs facteurs de risque peut aider chaque éleveur à évaluer son niveau de risque et à prendre les mesures adaptées pour protéger ses veaux et pour les soigner de manière appropriée.

Dans le domaine vétérinaire, la cryptosporidiose des ruminants est l'une des 1^{ères} causes des entérites diarrhéiques du veau nouveau-né (1). Elle occasionne d'importantes pertes économiques dans les élevages de ruminants par la morbidité, la mortalité et les coûts liés aux traitements.

C'est un parasite qui a été considéré comme un agent de surinfection, *Cryptosporidium parvum* est reconnu maintenant comme un agent pathogène majeur, et très répandu, des diarrhées néonatales des ruminants (7;8; 9).

La cryptosporidiose se voit principalement chez les veaux de 4-30 jours d'âge (10), tandis que, les individus adultes restent la plupart du temps des porteurs asymptomatiques (2). Nous avons distingué qu'aucune étude n'a été réalisée dans la wilaya de Médéa pour cela, notre objectif était de connaître la situation de quelques élevages bovins concernant cette zoonose mineure.

partie bibliographique

chapitre I

1 -Importance:

Bien qu'elle ait été longtemps insoupçonnée, l'importance de la cryptosporidiose s'avère considérable, autant sur le plan économique que sur le plan médical ou zoonotique (11)
Chez le veau de moins d'un an d'âge, les diarrhées néonatales représentent la première cause de morbidité et de mortalité : on estime que 20% des veaux nés sont atteints de diarrhée avant l'âge de quatre semaines et que 3% ont meurent (12,13)

L'infection cryptosporidienne est le plus souvent diagnostiquée sur des veaux âgés de 4 jours à 4 semaines et l'apparition des signes cliniques reflète généralement une forte pollution environnementale du parasite (14).

2- Historique:

- En 1895, Clarke fut le premier à observer une espèce de Cryptosporidies qu'il décrit comme « une multitude de spores à la surface de l'épithélium gastrique de souris» (Clarke 1895)

- En 1907, ces petits micro organismes devaient correspondre aux mérozoïtes de *C. muris*, un parasite extra cellulaire observé sur les coupes histologiques de la souris, espèce décrite par Tyzzer.(16)

-En 1912, Tyzzer fait la découverte d'une 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 nomme cette nouvelle espèce *Cryptosporidium parvum*.(17).

- Durant un demi siècle, ces protozoaires ne semblent pas avoir d'importance économique ni médicale et intéressent peu les chercheurs. De 1961 à 1986, dix neuf espèces de *cryptosporidium* sont décrites chez des poissons, des reptiles, des oiseaux et des mammifères.

-En 1955, SLAVIN décrit *Cryptosporidium meleagridis* chez le Dindon (*Meleagris gallopavo*) (18,19). Le parasite est associé à une maladie diarrhéique aiguë, ce qui apporte la première supposition du rôle pathogène des cryptosporidies (19).

- L'intérêt de la maladie grandie chez les vétérinaires quand ces protozoaires sont rendus responsables de diarrhées bovines en 1971. Depuis, elle est reconnue comme cause importante de diarrhée néonatale des veaux et des agneaux.

- Les premiers cas de cryptosporidiose humaine sont décrits en 1976.

- C'est en 1980 que *C. parvum* a émergé comme l'agent causal de diarrhées sévères chez les sujets atteints du SIDA. Aujourd'hui, l'utilisation systématique de la trithérapie chez les personnes atteintes du SIDA a considérablement réduit le nombre de cas de cryptosporidiose humaine en France.

3-Taxonomie

La connaissance des caractères morphologiques des différents stades du parasite, a amenée à plusieurs classifications dont celles de Levine en 1973 puis celles de Bird et Smith en 1980 d'autres classifications ont été proposées par la suite, (20 ,21, 22) (Tableau 1).

Tableau 1 : Taxonomie et classification de *Cryptosporidium.sp* (20,21,22)

Classification	Nom	Caractéristiques biologiques
Phylum	Apicomplexa	Complexe apical à l'extrémité antérieure des éléments libres (sporozoïtes et mérozoïtes) composé d'un anneau polaire, rhoptries, conoïde, micronèmes, et microtubules sous-pelliculaires.
Classe	Sporozoasida	Eléments libres mobiles se déplaçant par flexion, glissement ou ondulation
Sous-classe	Coccidiasina	Cycle de développement comprenant une ou plusieurs mérogonie , gamétogonie et sporogonie.
Ordre	Eucoccidioridae	Mérogonie présente chez les vertébrés.
Sous-ordre	Eimeriorina	Macrogamonte et microgamonte se développent indépendamment.
Famille	Cryptosporidiidae	Cycle homoxène. développement du parasite sous membrane de la cellule-hôte. microgamètes sans flagelles sporogonie chez l'hôte.
Genre	Cryptosporidium	Absence de spocyste.l'oocyste 4 spozoites nus.

Tableau 2 : Liste des espèces de *Cryptosporidium sp* .considérées comme valides (Crurent, W.L.,Garcia ,L.S,1991)

Espèces	Hôtes principaux	Principaux sites d'infection	Associé à pathologie	Taille des oocystes (µm)
<i>C.andersoni</i> (23)	Bovin domestique	Estomac	Oui	7,4x5,5
<i>C.baileyi</i> (24)	Poulet	Trachée, bourse de Fabricius, cloaque	Oui	6,3x5,2
<i>C.bovis</i> (25)	Bovin domestique	Intestin	Non	4,9x4,6
<i>C.canis</i> (26)	Chien domestique	Intestin grêle	Oui	4,8x7,2
<i>C.fayeri</i> (27)	Kangourou	-	-	4,9x4,3
<i>C.felis</i> (28)	Chat domestique	Intestin grêle	Oui	4,6x4,0
<i>C.hominis</i> (30)	Homme	Intestin	Oui	4,9x5,2
<i>C.galli</i> (31)	Poulet domestique	Proventricule	Oui	8,3x6,3
<i>C.Macropodum</i> (32)	Kangourou	-	-	4,9x5,4
<i>C.molnari</i> (33)	Poisson (dorade)	Estomac	Oui	4,7x4,5
<i>C.nasorum</i> (35)	Poisson (licorne d'eau de mer)	Intestin	-	4,3x3,3
<i>C.parvum</i> (17)	Souris, bovins domestique, homme	Intestin	Oui	4,9x4,4
<i>C.ryanae</i> (ancien deer-like genotype)(36)	Bovin domestique	-	Non	3,7x3,16
<i>C.saurophilum</i> (37)	Lézard	Intestin, muqueuse cloaquale	Oui	5,0x4,7
<i>C.serpentis</i> (38)	Serpent	Estomac	Oui	6,2x5,3
<i>C.suis</i> (39)	Sanglier	Intestin	Non	4,6x4,2
<i>C.scophitalhalmi</i> (40)	Poisson(turbot)	Intestin, estomac	Non	4,4x3,9
<i>C.wrairi</i> (41)	Cochon d'inde	Intestin grêle	-	5,4x4,6

4- Spécificité d'hôte :

On a longtemps cru que les expériences de transmission croisée, et l'on s'est aperçu que des parasites issus d'une espèce particulière étaient capables d'infecter expérimentalement des espèces différentes de l'espèce-hôte d'origine (19, 42, 43). Consécutivement à cela, l'apparente lacune de spécificité d'hôte a incité certains auteurs à considérer le genre *Cryptosporidium* comme un genre monotypique (à espèce unique) (19,44, 43).

Peu après, en 1984, LEVINE reconsidère les essais de transmission croisée et s'aperçoit que la plupart des expériences de transmission croisée ont été réalisées de mammifères à d'autres mammifères. Il soutient alors que seules quatre espèces sont valides (*C. muris* chez les mammifères ; *C. meleagridis* chez les oiseaux ; *C. Crotali* chez les reptiles et *C. Nasorum* chez les poissons et la polémique est relancée. Effectivement, les scientifiques remarquent alors que la majorité des essais de transmission de l'infection entre des hôtes appartenant à la même classe de vertébrés (de mammifère à mammifère ou d'oiseau à oiseau) a réussi, alors que la plupart des essais de transmission de l'infection entre des hôtes appartenant à des classes de vertébrés différentes (de mammifère à oiseau, d'oiseau à mammifère ou de reptile à mammifère) ont échoué (19,43,44). Ces résultats corroborent le concept d'une spécificité de classe de vertébrés, mais cette spécificité ne semble pas stricte dans et entre les différentes classes de vertébrés (19.44).

La nature ubiquiste du genre *Cryptosporidium* (probablement infectant pour tous les vertébrés (44) et la difficulté de la spéciation des cryptosporidies amènent de plus en plus les chercheurs à utiliser le terme d'"isolat" de parasite, référencé à partir de l'espèce-hôte dont il est issu (isolat de Souris, isolat d'Agneau, isolat d'origine humaine). Toutefois, une hétérogénéité considérable est détectée entre les isolats, concernant leur morphologie, leur spécificité d'hôte, leur site d'infection, leur inactivité, leurs protéines, leurs antigènes, leurs enzymes, leur génétique (19, 45, 44). De plus, la nécessité d'identifier les parasites présentant des risques pour l'Homme et pour les animaux domestiques, avec un éventuel potentiel zoonotique (46), va motiver le réexamen de la structure des espèces au sein du genre *Cryptosporidium*.

Les études prennent alors en considération divers éléments de caractérisation parasitaire : (47, 46):

- La morphologie du parasite : taille, forme et structure des différents stades de développement, notamment de l'oocyste.
- La spécificité d'hôte : naturelle ou expérimentale par essais de transmission croisée.
- Le site d'infection préférentiel : plus ou moins étendu selon la sensibilité de l'hôte.

- L'ineffectivité du parasite : virulence, durée des périodes prépatentes et patentes, intensité de l'excrétion oocystale.
- Les critères biochimiques : profils protéiques, typages d'enzymes et d'isoenzymes.
- Les critères immunologiques : caractérisations antigéniques, réactivités des antigènes avec les sérums ou les lactosérums de différentes espèces-hôtes.
- Les critères génétiques : analyses de la séquence nucléotidique de gènes bien caractérisés.

5- Localisation du parasite :

L'organe de prédilection de *C. parvum* est l'intestin, principalement l'intestin grêle distal (jéjunum inférieur et iléon) (43,48 ,49) mais des infections sont aussi vues dans le cæcum, le côlon et occasionnellement dans le duodénum (49). Le tissu préférentiel du parasite est l'épithélium villositaire de l'intestin grêle, sans porter atteinte à l'épithélium cryptique des glandes de Lieberkühn (figure 1). Les dômes épithéliaux des plaques de Peyer sont également infectés (43), mais le parasite ne semble pas pouvoir poursuivre son développement dans ce tissu (50). Quand le gros intestin est parasité, à la fois l'épithélium cryptique et l'épithélium de surface sont touchés (49). Au niveau cellulaire, les stades endogènes de *C. parvum* sont localisés dans la bordure microvillositaire des entérocytes et ils se développent dans une vacuole parasitophore constituant une niche intracellulaire exceptionnelle (43, 42). Cette position caractéristique dans la cellule-hôte est qualifiée d'intracellulaire mais extracytoplasmique(43).

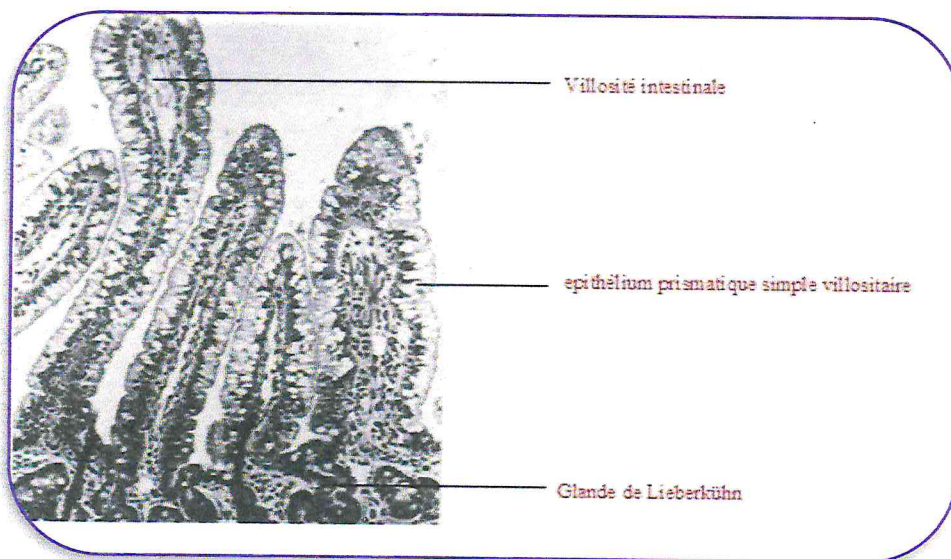


Figure 1: Muqueuse d'un iléon sain en microscopie optique (99)

Dans certains cas, notamment chez l'individu immunodéprimé, l'infection peut s'étendre naturellement à d'autres organes et tissus : l'ensemble du tube digestif dont l'œsophage et le pharynx, les systèmes pancréatique et hépatobiliaire, l'arbre respiratoire et les poumons (42, 51, 43).

6-Cycle évolutif:

Cryptosporidium parvum a un cycle de développement complexe débutant par l'ingestion de sa forme de résistance : l'oocyste sporulé, directement infestant et éliminé dans les selles des individus ou animal hôte ; c'est un cycle monoxène dont toutes les étapes de son développement se déroulent chez un même hôte (figure 2)

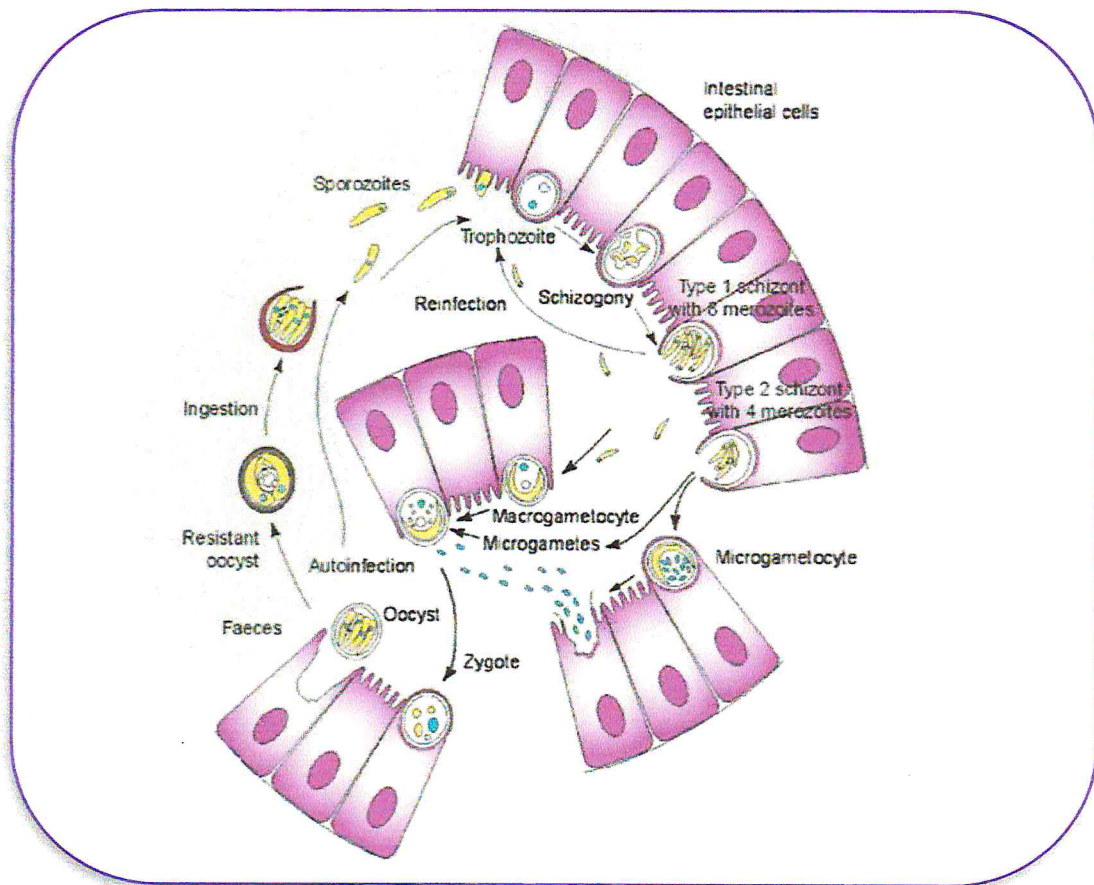


Figure 02 : Cycle biologique de *Cryptosporidium* sp (52)

6-1- Excystation

Après l'ingestion, les oocystes libèrent dans le tractus digestif les sporozoïtes ; les conditions du milieu intestinal (température, enzymes, sels biliaires, milieu réducteur) altèrent la paroi de l'oocyste (figure 3) qui se fend (52).

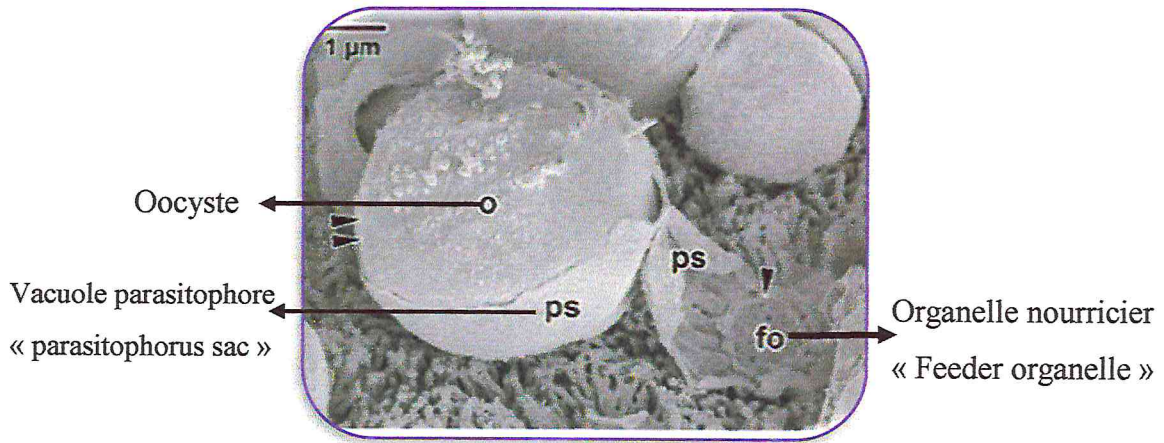


Figure 3: oocystes de *Cryptosporidium sp.* (53)

6-2- Mérogonie

C'est la première génération de la reproduction asexuée ou mérogonie donnant ainsi des mérontes de type I qui contiennent 8 mérozoïtes (figure 4), ces derniers sont libérés de la vacuole parasitophore et envahissent les cellules épithéliales voisines. Ils y évoluent alors en mérontes de type II qui contiennent 4 mérozoïtes (2^{ème} génération de la reproduction asexuée) mais ils peuvent également reformer des mérontes de type I (recyclage des mérontes de type I). Ce recyclage des mérozoïtes de 1^{ère} génération est une particularité du cycle de *Cryptosporidium*. (52)

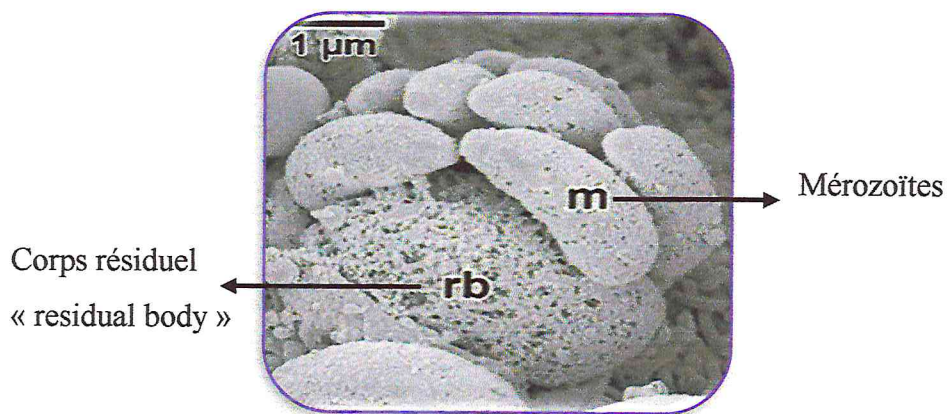


Figure 4 : Schéma de Mérozoïtes (53)

6-3- Gamétogonie

Les mérozoïtes de 2^{ème} génération produisent des microgamontes (figure 5) mâles et des macrogamontes femelles qui évolueront en micro et macro gamètes. Un microgamonte produit jusqu'à 16 microgamètes qui, une fois matures, féconderont le macrogamète pour donner un zygote. Un gamonte produit jusqu'à 16 microgamètes qui, u(-ne fois matures, féconderont le macrogamète (figure 6) pour donner un zygote. (52)

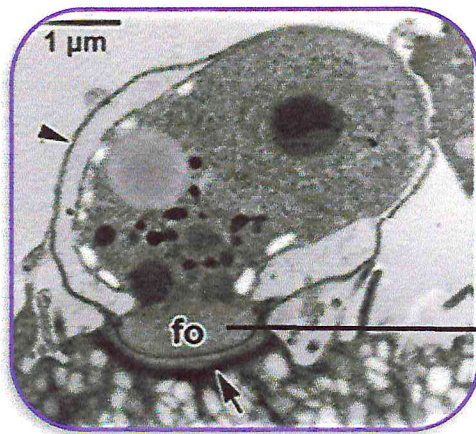


Figure 5: Microgamonte de
Cryptosporidium (53)

« Steam »
Organelle nourricier
« feeder organelle »

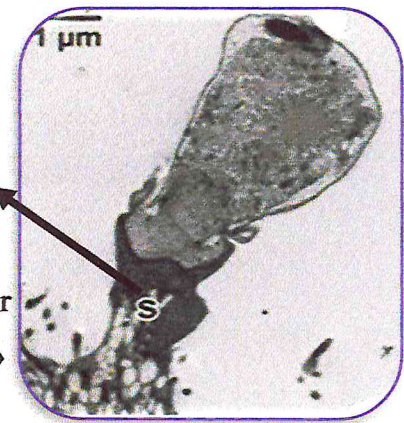


Figure 6 : Macrogamète de
Cryptosporidium (53)

6-4- Sporogonie ou sporulation

La sporogonie se déroule chez l'hôte : le zygote évolue en oocyste sporulé directement dans le tractus intestinal. Il existe deux sortes d'oocystes en fonction de l'épaisseur de leur paroi. Les oocystes à paroi épaisse sont directement éliminés avec les fèces ; ceux à paroi plus fine (environ 20 %) libèrent leurs sporozoïtes directement dans le tractus digestif et donnent lieu à une **auto infestation** et un nouveau cycle de développement chez le même hôte. (52).

7- Particularités du cycle :

Les caractéristiques du cycle biologique de *C. parvum* permettent d'expliquer certains aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection cryptosporidienne :

La multiplication exponentielle du parasite dans les tissus infectés est permise par :

- deux mérogonies, primaire et secondaire successives,
- le phénomène de rétro-infection qui induit une réactivation en boucle de la mérogonie de première génération,
- Le phénomène d'auto-infection qui autorise l'initiation d'un nouveau cycle Parasitaire complet.

Les phénomènes de rétro-infection et d'auto-infection pourraient expliquer :

- les infections persistantes et les infections chroniques rencontrées sur les individus les plus sensibles, sans nouvelle exposition à des oocystes exogènes (54, 19),
- l'extension de l'infection à l'ensemble du tractus digestif, voire aux voies respiratoires chez les individus les plus sensibles,

- les faibles nombres d'ocystes ingérés suffisants pour créer une cryptosporidiose-infection, voire une cryptosporidiose-maladie (54 ,56).

L'émission dans le milieu extérieur d'un très grand nombre d'ocystes sporulés, directement infectants et très résistants aux diverses conditions environnementales, permet au parasite de contaminer aisément de nouveaux hôtes.

La rapidité de la phase interne du cycle explique en partie l'épidémiologie de la cryptosporidiose, notamment chez les jeunes ruminants.

La localisation particulière des stades parasitaires intracellulaires dans la cellule-hôte n'est retrouvée que dans le genre *Cryptosporidium*. Cette position intracellulaire mais extracytoplasmique explique en grande partie l'incapacité de nombreuses substances médicamenteuses à empêcher le développement parasitaire. (54)

8- Résistance des cryptosporidies :

8-1 Résistance aux agents physiques :

Les études de laboratoire ont montré que les ocystes restaient viables en solution aqueuse pendant plus de 3 mois à température ambiante (15-20°C) et pendant plus d'un an à 4°C (43) (tableau 3).

Le pouvoir infectant est perdu grâce à l'action de la chaleur, soit au moins 30 minutes à 65°C (19).

Le froid cause également des dommages aux ocystes même en présence de cryoprotecteurs (55).

La dessiccation et la chaleur humide sont également efficaces (57) .

8-2 Résistance aux agents chimiques :

La plus part des désinfectants couramment utilisés dans les laboratoires ou les élevages sont inefficaces, excepté l'ammoniaque à 5% et le formol à 10% agissant pendant au moins 18 heures (58). L'ammoniaque à 50% avec un temps de 30 minutes (59)

Tableau 3: Résistance de *C parvum* aux contraintes physiques et aux conditions environnementales.

	Contraintes	Conditions	Résultats
eau	Stockage Robeston et Al.59	T°C ambiante 167 jours(1) submergé dans rivière	Réduction de 96%
		T°C ambiante 167 jours(2)	Réduction de 94%
		4 °c,35 jours (3)	Réduction de 38%
		0,5,10 ,15 ;20°(1) 24 semaines	I (60)
	Chaleur (61)	59,7°c ,5 minutes	I
		64,2°c, 5 minutes	NI
		67,5°c, 1 minute	I
		72,4°c,1 minute	NI
		55°c,30 seconde	(62)
		60°c,15 seconde	NI
		70°c,5 seconde	NI
	Congélation	- 196°c,10 minutes	NI(63)
		-20°c,3 jours	NI
		-70°c,1 h	NI(64)
		-20°c,8h ;1jour	I ;NI
		-15°c,24h ;1 sem	I,NI
		-10°c, 1 sem	I (68)
		Azote liquide	Réduction de 100%(65)
		-22°c,<32 jours	Réduction de 98%
		-20°c ,24h	Réduction de 92%.(66)
	Dessiccation	Air sec ,2h	Réduction de 97%.(65)
		Air sec ,4 h	Réduction de 100%

Salinité	10-30% de Na, 10°C, 1-12 sem	I (68)
	10% de Na, 20°C, 1-12 sem	I
	20-30% de Na, 20°C, 12 sem	NI
	4°C, 410 jours(4)	Réduction de 90%(67)
Congélation	-20°C ; 2, 7, et 30 jours	Réduction de 66% à 88%(69)
Dessiccation	Air sec 1 à 4 jours	NI

I : infectieux ; NI : non infectieux.

Eau du robinet ; (2) eau de rivière ; (3) eau de mer ; (4) fèces bovine ;

chapitre II

I-Epidémiologie :

I- 1 Répartition géographique :

La cryptosporidiose est présente dans le monde entier , elle est cosmopolite (72). Des études coprologiques ont montré l'existence de *C. parvum* chez 152 mammifères du monde entier(70), y compris des rongeurs et insectivores sauvages(71).tout ceci illustre les multiples possibilités de transmission croisée et le rôle que peuvent jouer les rongeurs, entre autres, dans la dissémination du parasite.

I-2 Prévalence de la cryptosporidiose :

La prévalence globale sonde le cheptel bovin sans distinction de l'âge ou du statut clinique de l'animal. Les résultats obtenus par différentes études dans des pays variés rapportent un taux d'infection sur:

- 5 à 20 % des animaux prélevés,
- 63 à 80 % des exploitations testées, une exploitation positive présentant au moins un animal positif. (47, 73 ,74)

Cependant, lors de ces enquêtes, les animaux ne sont généralement prélevés qu'une seule fois. Il est probable que ces résultats seraient fortement augmentés si l'on utilisait des techniques de détection plus sensibles et si les animaux étaient prélevés plusieurs fois à des moments espacés dans le temps (.75).

La séroprévalence, qui utilise la recherche des anticorps sériques anti- cryptosporidiens, n'est pas forcément à corréliser avec une infection active mais reflète généralement une infection passée (74). Les résultats de séroprévalence vont de 13 à 100 % et sont souvent supérieurs à 90 % chez les bovins adultes (74, 47, . 42, . 76). Par conséquent, la circulation du parasite au sein de l'espèce bovine apparaît très importante et semble concerner l'ensemble du cheptel mondial.

I-3 Dose infectante :

La dose infectante pour *C. parvum* varie d'un isolat à un autre et d'une espèce-hôte à une autre. Pour les nouveau-nés de souris, la dose moyenne infectante (DI50) est entre 87 et 60 d'oocystes (77).

- Certains auteurs considèrent que des doses faibles (10 000 oocystes), voire très faibles (10 à 100 oocystes) suffisent pour infecter un veau (72,73).

L'infection orale avec 100 oocystes de *C. baileyi* peut entraîner une cryptosporidiose intestinale (78).

I-4 Mode de transmission :

L'infection du jeune veau se fait essentiellement par voie orale, soit directement par un contact étroit avec les animaux excréteurs, soit indirectement par l'intermédiaire de l'environnement contaminé (54, 43, 73, 74). L'origine fécale de la production parasitaire laisse déjà supposer le rôle que tient l'hygiène dans la propagation de *C. parvum* au sein d'un troupeau.

La transmission *in utero* a été suspectée par quelques auteurs (74). Bien que l'infection utérine ait été réalisée expérimentalement chez la Souris, cette hypothèse est aujourd'hui complètement abandonnée (14, 43).

La transmission aérienne a été très peu étudiée chez les ruminants. L'infection du tractus respiratoire est fréquente chez les oiseaux parasités par *C. baileyi* (19,43). Une extension respiratoire de l'infection à *C. parvum* semble également assez courante chez les enfants, quoique généralement inapparente, et la transmission par voie aérienne est suspectée chez l'Homme (44).

Un isolement du parasite dans le tissu pulmonaire d'un veau a été rapporté par BOURGOUIN H (73).

L'événement paraît être rarissime chez les bovins mais le protozoaire n'est, pour ainsi dire, jamais recherché dans le tractus respiratoire des veaux infectés(19,43). Par conséquent, il nous semble qu'il serait intéressant d'étudier la fréquence de la forme respiratoire chez les veaux et de déterminer le rôle de la transmission aérienne non seulement chez les ruminants, mais aussi chez l'Homme

I-5 Sources de contamination :

Les sources potentielles sont multiples et pas toutes connues d'où la difficulté de lutter contre le parasite mais la principale source est constituée par les matières fécales disséminées dans le milieu extérieur.

➤ Les jeunes animaux:

La principale source est représentée par les fèces des autres animaux de l'élevage : en premier lieu, les nouveau-nés. La contamination est très aisée pour un animal nouveau-né à partir des fèces de ses voisins du même âge.

➤ Les mères :

Les mères jouent aussi un rôle dans la contamination du milieu mais leur importance est sujette à controverse. Elles représentent une source insidieuse : elles sont excrétrices d'oocystes en l'absence de symptômes. Les adultes sont excréteurs et bien que le niveau d'excrétion soit faible, il est suffisant pour contaminer un nouveau-né : une vache rejette 900 oocystes par gramme de fèces et 30 à 40 kg de fèces par jour (72). Soit un nombre d'oocystes excrétés par jour de l'ordre de $2 \text{ à } 3 \times 10^7$ par adulte.

➤ Les animaux sauvages :

Les mammifères sauvages constituent également un réservoir parasite qui ne peut être occulté, principalement les ruminants sauvages. En effet, ces derniers, en partageant les pâtures des ruminants domestiques, entretiennent probablement la circulation du parasite d'une espèce à l'autre (47).

➤ L'eau :

Ce risque est certainement accru si elle provient non pas du réseau de distribution mais d'un point d'eau local susceptible d'être souillé par les effluents d'élevage (75,83).

L'eau joue probablement un faible rôle dans la contamination des veaux allaitants qui boivent principalement le lait maternel (75). Néanmoins, il est rare que les abreuvoirs ne soient pas souillés par des matières fécales, ce qui peut, tout au moins, entretenir la circulation des cryptosporidies sur les animaux adultes.

I-6 Facteurs favorisants :

➤ Saison :

La période à risque pour la contamination des veaux est l'hiver car c'est à cette période qu'il y a le plus grand nombre d'animaux dans la classe d'âge la plus à risque.

La saison à laquelle se produisent les vélages n'a pas non plus d'influence sur l'excrétion des oocystes. On pourrait penser que, les oocystes étant sensibles à la chaleur et à la dessiccation, il y aurait une diminution du nombre de cas pendant la saison chaude. Même si certains auteurs notent cette baisse en (83) ., la tendance générale est à une absence d'influence de la saison. Ceci est en faveur d'une contamination directe d'animal à animal sans laisser aux oocystes le temps de résider au sol et de subir les aléas de température et d'humidité du milieu extérieur.

➤ Densité animale :

Une trop forte densité animale dans un troupeau est responsable d'une augmentation du risque de transmission. Il apparaît que plus le troupeau est important, plus la probabilité d'avoir de la cryptosporidiose sur les veaux est grande.

➤ Conduite d'élevage :

La maladie touche plus fréquemment les élevages allaitants. En effet, les veaux en permanence avec leurs mères peuvent facilement s'infecter en tétant la mamelle ou par contact avec la litière contaminée (54).

Un faible niveau d'hygiène générale a été plusieurs fois évoqué pour favoriser l'apparition des diarrhées cryptosporidiennes (85, 83, 86, 54). Il semble clair qu'une litière sale et humide favorise la charge et la persistance des oocystes dans l'environnement proche du veau nouveau-né (75)

➤ Rôle de l'épandage de fumier :

L'application de fumier sur les champs dans un but de fertiliser et d'enrichir le sol permet indirectement un recyclage des micro-organismes. L'épandage de fumier contenant des oocystes de *Cryptosporidium parvum* peut être responsable de la dissémination et de la pérennisation de la maladie dans une exploitation. Etant donnée la très grande résistance des oocystes, ces derniers peuvent persister dans les herbages ou sur le sol et ainsi être transmis aux animaux lors de la mise à l'herbe. (84).

➤ L'alimentation :

La distribution aux veaux laitiers d'aliments "de démarrage" aux céréales est également une pratique à risque. L'utilisation d'une telle alimentation augmente de 6,8 fois les chances d'excrétion ; il semblerait, en fait, qu'elle prolonge la période patente chez les veaux (87).

Deux explications possibles sont apportées à ce phénomène :

- L'aliment peut être contaminé par des excréments de rongeurs.
- L'aliment peut perturber suffisamment la microflore intestinale pour accroître la sensibilité du Veau au parasite (par un mécanisme qui reste inconnu).

II-Etude clinique :

II-1 Pathogénie :

Les facteurs spécifiques de virulence de *Cryptosporidium* sp. ne sont pas bien connus. Néanmoins, certaines molécules candidates ont été identifiées par des méthodes immunologiques et moléculaires, et certains mécanismes associés à la pathogénicité ont été décrits. Ils sont les suivants :

-adhérence :pour établir l'infection, l'étape initiale critique est l'attachement du parasite aux cellules hôtes. Récemment, plusieurs molécules probablement associées à l'adhérence ont été caractérisées comme par exemple le CSL (circumsporozoite like) (76), la gp900 ,le complexe gp 15/40/60 (77), tarp c-1 et trap C-2(thrombospondin related adhesion proteins) et la Cps 500.

La production de toxines : des études précédentes ont postulé que *Cryptosporidium* sp produirait une entérotoxine responsable de la diarrhée sécrétoire profuse, la diminution du flux d'anions en présence d'inhibiteurs de cyclo-oxygénase a mené à l'hypothèse d'une activité potentielle entérotoxino-gène de *Cryptosporidium*. Celle-ci impliquerait la sécrétion des prostaglandines par les cellules épithéliales intestinales(78)

lésions cellulaires : les mécanismes impliqués dans la rupture des membranes pendant l'invasion de *Cryptosporidium* sp demeurent inconnus.les phospholipases , les protéases, ou les hémolysines sont des molécules qui peuvent potentiellement altérer directement les tissus.une protéine spécifique de *Cryptosporidium* sp pourrait être associées à l'invasion cellulaire et à la perte de fonction barrière. c'est l'hémolysine H4 codée par le gène hemA (79).

Apoptose :Chen et al. ;1999(80) ont démontré que l'effet cytopathogène est lié à l'apoptose des cellules infectées et des cellules non infectées au moment de l'entrée du parasite dans la cellule.(81)ont montré in vitro que *Cryptosporidium* sp pourrait favoriser l'apoptose au moment de l'entrée dans la cellules épithéliales, et une fois installé, il peut produire une inhibition de l'apoptose par un mécanisme associé à l'activation du facteur nucléaire K_b (82),après l'étude de *C. parvum* en culture , de cellules HCT- ont observé que le parasite peut moduler l'apoptose ont favorisant la mort programmée de celle-ci au moment de l'infection ,et en inhibant l'apoptose après l'infection, afin probablement de faciliter sa croissance dans des cellules infectées.

II-2 Symptômes :

➤ Les symptômes généraux :

L'abattement et l'anorexie sont habituellement les premiers signes cliniques exprimés (72, 48). Ils ne sont cependant pas constants et varient en intensité .

Une hyperthermie modérée et transitoire peut être observée de façon non systématique .

Généralement, la déshydratation est modérée et n'apparaît pas de façon aiguë. Elle peut cependant être sévère, en relation avec l'intensité de la diarrhée, et assombrir le pronostic individuel (88).

Une soif intense a été décrite par quelques auteurs, les animaux recherchant fréquemment l'abreuvoir (51).

➤ Les symptômes digestifs :

La diarrhée est le principal symptôme de l'infection à *C. parvum* et sa sévérité est variable : les selles émises vont de pâteuses et non moulées à aqueuses et profuses (54).

Les diarrhées cryptosporidiennes notées chez les veaux sont habituellement décrites comme

- de consistance très liquide au début, puis muqueuse à partir du deuxième ou troisième jour et pouvant contenir du lait non digéré (89),
- d'odeur nauséabonde, putride au bout d'un à deux jours (89),
- de couleur variable, allant de blanchâtre à jaunâtre, à gris verdâtre, à marron foncé (54) .
- de volume abondant (diarrhée profuse) à peu augmenté par rapport à la normale (51).
- ne présentant habituellement pas de traces de sang (90).

De plus, certains veaux infectés ne présentent pas de diarrhée, mais peuvent être au contraire constipés, leurs fèces renfermant alors un très grand nombre d'oocystes (72).

Des signes de douleurs abdominales sont aussi décrits, avec parfois des coliques, des ballonnements, un dos voûté(91). La défécation peut être douloureuse, avec épreintes (reflétant peut-être l'extension de l'infection au gros intestin) (91). Une ptôse abdominale peut également accompagner la diarrhée (48, 91).

II-3 Lésions :

Les différentes lésions nécrosiques observables sur un veau atteint d'infection à *C. parvum* ne sont pas toutes constamment présentes :

- Des lésions d'entérite (parfois qualifiée de catarrhale) sont généralement rencontrées (73, 43, 51).

- Des lésions de colite sont parfois notées suivant l'extension de l'infection (73, 92, 19).
 - Une inflammation hémorragique du rectum a été rapportée ().
 - Habituellement, certaines portions de l'intestin, parfois même la caillette, sont distendues par les gaz et le contenu digestif qui présente des altérations variées de couleur, d'odeur et de consistance (14, 85, 48, , 19,). Cette distension intestinale pourrait témoigner d'une certaine atonie de l'organe (48).
 - Un épaissement, une inflammation et une hyperhémie des muqueuses intestinales infectées sont généralement observés (73, 85, 43).
 - Une hypertrophie et un œdème des nœuds lymphatiques mésentériques, principalement des nœuds lymphatiques juxta-intestinaux, sont notés de façon occasionnelle (, 85).
 - Une hépatomégalie est parfois relevée (90).
 - Une cachexie ou une amyotrophie plus ou moins prononcées sont en relation avec la durée et la sévérité de la maladie avant l'autopsie (48, 86).
- En général, ces différentes lésions varient seulement par leur gravité et/ou par leur extension (48).

II-4 Diagnostic:

Les symptômes rencontrés dans les infections par *Cryptosporidium.sp* ne sont pas suffisamment spécifique pour permettre de poser un diagnostic clinique différentiel valable il est donc nécessaire que celui-ci soit parasitologique ou biologique. Différentes techniques de coloration permettent de détecter *Cryptosporidium sp*; à partir des différents prélèvements selles, liquide d'aspiration duodénale, biopsie ,liquide de lavage) néanmoins ,la technique de référence est la coloration de Ziehl Nelsen modifiée sur frottis obtenus directement ou après des techniques de concentration (87)

II-4-1 Diagnostic ante mortem:

C'est un diagnostic faisant appel à des techniques de concentration et de coloration à partir des matières fécales.

II-4-1-1 Concentration des oocystes:

La concentration des oocystes peut être réalisée par flottation, par sédimentation ou par l'utilisation alternée de ces deux méthodes(88). Généralement une dilution, une filtration et une centrifugation améliorent ces techniques (48). Elles sont habituellement utilisées sur des échantillons pauvres en parasites (72).

II-4-1-2 Coloration:

Les meilleures méthodes sont celles qui colorent le parasite lui-même plutôt que celles avec lesquelles le parasite apparaît en contraste de phase. (TABLEAU 04)

coloration acide rapide de KINYOUN ,cette méthode est très proche de coloration de Ziehl Neelsen modifiée(par Henriksen ou par Augus) est rapide, sensible et très spécifique. Le temps de décoloration s'avère être le point délicat, important à maîtriser (89)

- Coloration de Heine : cette méthode est plus fiable et rapide, mais présente un inconvénient majeur : sa lecture est très limitée dans le temps (89)

Les oocystes apparaissent très réfringent, non coloré avec un point sombre dans le centre, sur un fond rouge. la réfringence ne dure qu'une quinzaine de minutes.

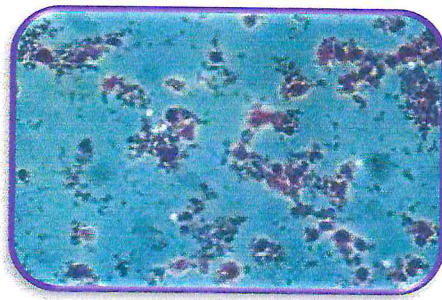


Figure 7:Coloration négative de Heine.

- Technique Auromine O : comme pour la technique de Kinyoun le temps de décoloration est délicat, mais assure une lecture plus facile, tous les autres éléments se trouvent décolorés.
- Coloration de Ziehl Neelsen modifiée: elle est réalisée sur un frottis de la muqueuse iléale ou un étalement mince de fèces. fixer au méthanol ou éthanol absolu pendant 5mn, sécher à l'air colorer les lames pendant 1heure dans la fuchsine phéniquée (10 ml de solution (150 gde fuchsine dans 1 L d'eau) et 90 ml d'eau phéniquée à 5 p 100 rincer a l'eau du robinet différencier dans une solution d'acide sulfurique à 2 p100 pendant 20 secondes en agitant la lame. Rincer à l'eau du robinet. Colorer avec une solution de vert de malachite à 5 p100 pendant 5 mn rincer à l'eau du robinet et sécher à l'air observer au microscope : les cryptosporidies apparaissent rondes à ovoïdes, de 4-6 micron, rouge vif sur un fond vert .leur cytoplasme est granuleux avec un centre plus clair. Tous les autres éléments des selles sont colorés en vert. Les coccidies sont également colorées en rouge vif, mais elles sont beaucoup plus grosses.

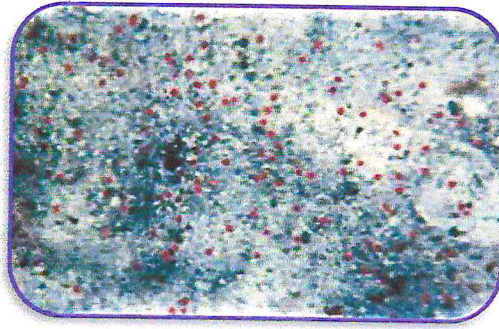


Figure 8 : Cryptosporidium sp

➤ Technique de flottaison d'Anderson :

-mélanger 1 à 5g de fèces dans 10 à15 ml d'eau et agité .filtrer a travers 6 épaisseurs de gaz.
centrifuger le filtrat 10 mn à 500g

-Reprendre le culot dans 10 ml de solution saturée en saccharose (d=1,27) centrifuger 10mn
à 500g.prelever un liquide sur la surface du ménisque et le déposer entre lame et lamelle.

-observer au microscope.les oocystes apparaissent juste en dessous de la lamelle légèrement
colorés intrinsèquement du rose au bleu gris.au bout d'une heure les oocystes sont détruits.

coloration par la méthode de Giemsa

-réaliser un frottis de muqueuse iléale ou un étalement mince des fèces

-fixer au méthanol ou éthanol absolu pendant 5 mn

-sécher à l'air

-colorer pendant 10 mn dans du Giemsa rapide dilué au 1/2

-observer au microscope

-les cryptosporidies apparaissent avec un cytoplasme bleuté granuleux et un centre
généralement plus clair et contenant des corpuscules rouge foncé. Elles sont souvent
entourées d'un halo clair.

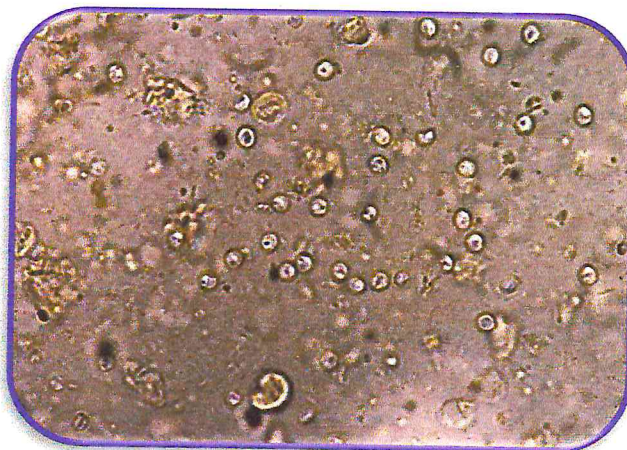


Figure10 :Flottation (solution de Sheather)

Tableau04 : Estimation de la qualité de morphologie de l'oocystes *Cryptosporidium* visualisée par différentes techniques.

Technique	Morphologie de l'oocyste	
Zeihl-Nielsen modifié par Henriksen et Pohlenz	A	Excellente
Zeihl-Nielsen modifié par Angus	A	Bonne
Giemsa	A	±bonne
Haine	B	Moyenne
L'auromine O	C	Mauvaise
Anderson	A	Très bonne
Formol-éther	A	Mauvaise

La qualité de la morphologie du parasite (tableau 04) est basée selon les critères suivant : la taille ,la forme et les structures internes du parasite :

(A) examen sous microscope optique.

(B) examen sous microscope a contraste de phase.

(C) examen sous microscope a fluorescence sensible, à un degré moindre celles d'Anderson et de Heine.

II-4-2 Diagnostic post mortem :

Le diagnostic de la cryptosporidiose était initialement basé sur l'identification des stades endogènes par un examen histologique dont l'intérêt est de localiser les zones infectées et d'évaluer l'étendue des lésions.

II-4-2-1 Diagnostic anatomo-pathologique :

Des études utilisant des modèles animaux ont décrit certain modifications histologique de l'épithélium intestinal induite par l'infection par *Cryptosporidium* comme l'atrophie villositaire et l'allongement des cryptes dans la partie proximale de 'l'intestin grêle (49) ou dans le caecum et colon (90), avec hyperplasie cryptique et abcès des cryptes dans le gros intestin (49) et fusion des villosités intestinal(91).

II-4-2-2 Examen histologique :

Des coupes histologiques d'organe (intestin, cloque trachée), classiquement fixés au Bouin ou au formol 10%, puis colorés au Giemsa ou à l'hématoxyline-éosine ou au bleu de toluidine permettent d'observer les parasites surface des cellules épithéliales(72)

II-4-2-3 Examens de raclage :

Cet examen concerne plusieurs organe comme l'intestin permettent également de mettre en évidence les cryptosporidies (92), il consiste à réaliser un frottis mince puis fixation au méthanol pendant 5 mn après séchage.

Les étalements sèches à l'air et fixé au méthanol peuvent être conservé à température ambiante pendant au moins 6 mois avant coloration.

II-5 Traitement :

Le lactate d'halofuginone

A titre préventif, le traitement doit être instauré dans les premières 24 à 48 heures de vie (LABORATOIRE HOECHST ROUSSEL VET 2000).

A titre curatif, le traitement est le même mais le fabricant recommande de ne traiter que les diarrhées apparues depuis moins de 24 heures (LABORATOIRE HOECHST ROUSSEL VET 2000).

Le sulfate de paromomycine : (Halocur)

A titre préventif, la posologie préconisée est de 100 mg/kg/j en deux prises (50 mg/kg/j matin et soir), par voie orale et pendant 11 jours. Le traitement est instauré à l'âge de un ou deux jours (92, 74).

A titre curatif, il semble que la paromomycine produit également de bons résultats sur le terrain à la dose de 500 mg/kg/j pendant 4 à 5 jours (44) (entretiens avec certains praticiens l'utilisant). Toutefois, la posologie et la durée du traitement n'ont, à notre connaissance, pas été précisées expérimentalement.

Le lasalocide :

A titre curatif, la posologie préconisée est de 3 à 5 mg/kg/j par voie orale pendant 3 jours (93, 94,95).

A titre préventif, la posologie et la durée du traitement demandent à être précisées.

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 (97). Son activité thérapeutique est très peu documentée.

II-6 Prophylaxie :

La lutte médicale doit être une des voies de la réduction de la contamination environnementale. En plus il y a la lutte sanitaire :

Désinfection :

Une désinfection idéale doit concerner tout matériel inerte susceptible de contaminer le Veau nouveau-né (78) : le logement (sol et partie basse des murs), le matériel d'élevage, principalement les ustensiles servant à la préparation et à l'administration du lait de remplacement pour les veaux nourris artificiellement et les bottes et les vêtements du personnel d'élevage.

De plus, il paraît évident que toute désinfection doit être précédée d'un curage et d'un nettoyage attentif (désinfecter "la merde" ne sert à rien) (96).

Enfin, il faut laisser aux surfaces désinfectées le temps de bien sécher (plusieurs jours si possible), les oocystes de *C. parvum* étant sensibles à la dessiccation (98).

RETARDER LE CONTACT DU VEAU NAISSANT AVEC LE PARASITE :

Le meilleur moyen est de placer les veaux, dès la naissance, dans un environnement sain, propre, sec et isolé, en évitant la surpopulation (96).

Il faut absolument éviter le mélange d'animaux de classes d'âge différentes (.96, 83).

Lors d'épizootie de cryptosporidiose, il est nécessaire d'isoler les animaux malades des animaux sains (surtout des veaux naissants) et de préférence dans des bâtiments séparés (96, 19).

On peut également déplacer les vaches non vèlées vers d'autres bâtiments ou pâtures plus sains, afin de soustraire les futurs veaux à naître à un environnement fortement contaminé).

a- Gestion du troupeau :

Les veaux doivent être élevés en boxes individuels jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines et ensuite regroupés en lots du même âge. Or, cette mesure de prévention est difficilement applicable

dans les élevages allaitants. Les programmes de vaccination doivent être à jour car la mortalité est plus importante lors de co-infection avec d'autres entéropathogènes.

La gestion des animaux malades est un point crucial du contrôle de la propagation de la maladie. Les animaux malades sont immédiatement placés dans des locaux séparés des autres nouveau-nés ; si possible dans des bâtiments différents. Les éleveurs veilleront à toujours s'occuper des animaux sains avant des malades et à ne pas véhiculer d'oocystes par leurs bottes ou leurs vêtements (98).

b- Alimentation :

Les carences alimentaires en fin de gestation augmentent le taux de morbidité et de mortalité à la naissance. L'éleveur contrôle que chaque animal ait bien reçu une quantité suffisante de colostrum et que l'apport nutritionnel soit adapté surtout lors d'allaitement artificiel.

I- Objectifs :

L'objectif de notre étude est de connaître si la cryptosporidiose existe dans les élevages bovins situés dans la commune de Hamdania (Médéa).

II- Zone d'étude :

Notre étude a été réalisée dans sept (07) petites fermes à vocation laitière, situées dans la wilaya de Médéa, plus précisément dans la commune de Hamdania.

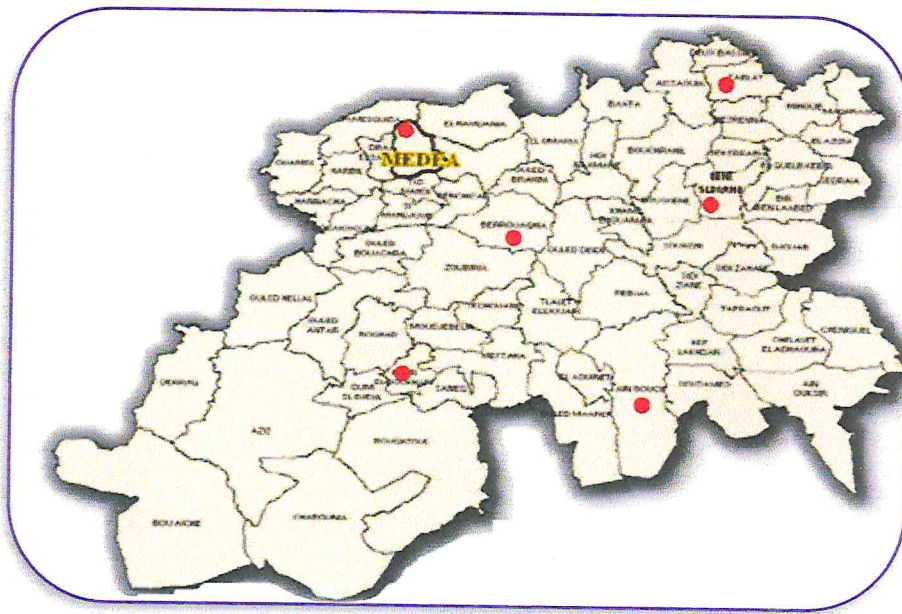


Figure1 : Carte géographique de la wilaya de Médéa.

III-Population étudiée :

La population cible est constituée de seize (16) veaux âgés de trois (03) jours durant une période allant de décembre 2011 à mai 2012, les prélèvements de fèces ont été effectués du 3^{ème} jour de la naissance jusqu'à un (01) mois d'âge, avec une fréquence d'un prélèvement par semaine. D'autre part, les vaches mères ont été prélevées une seule fois en début



Figure 2: veaux vivant en collectivité

IV-MATERIEL ET METHODES

IV-1- Matériel utilisé :

- les lames.
- bacs à coloration.
- minuterie.
- microscope optique
- Glacière
- Tubes en plastique pour prélèvement

Les Réactifs :

- Méthanol
- Fuschine phéniquée.
- Acide sulfurique à 2%
- Vert de malachite à 5%

IV-2- Méthodes :

a- Protocole de prélèvement :

Les prélèvements fécaux ont été réalisés sur des veaux diarrhéiques et non diarrhéiques, après nettoyage de l'orifice anal , les échantillons sont recueillis soit spontanément, soit après excitation de l'anus dans des tubes en plastique stériles d'une quantité de 5 g d'environ. Juste après la récolte , les tubes ont été identifiés et conservés dans une glacière et acheminés au laboratoire de parasitologie du département des sciences vétérinaires pour analyse .Chaque échantillon est accompagné d'une fiche signalétique .

b-Examen macroscopique

Un total de 80 échantillons fécaux ont été analysés macroscopiquement en décrivant la couleur et la consistance de chaque prélèvement (annexe 1)

c-Examen microscopique

C'est la recherche des oocystes du *Cryptosporidium* sp dans les matières fécales par la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. C'est une coloration de référence, rapide simple, peu onéreuse et de lecture facile, de plus les lames peuvent être conservées.

Protocole de coloration :

Mode opératoire :

- Etaler les fèces sur la lame.(figure 1)
- Fixer au méthanol puis sécher à l'air.(figure 2)
- Colorer la lame dans la solution de Fuschine phéniquée pendant 60 minutes . (figure 3)
- Rincer sous le robinet d'eau.(figure 4)
- Décolorer dans l'acide sulfurique à 2% pendant 80 secondes (figure 5).
- Rincer sous le robinet d'eau.
- Contre colorer avec le vert de malachite pendant 10 minutes (figure 6).
- Rincer sous le robinet d'eau et laisser sécher (figure 7).
- Observer au microscope (G x40 et G x100).(figure 8)

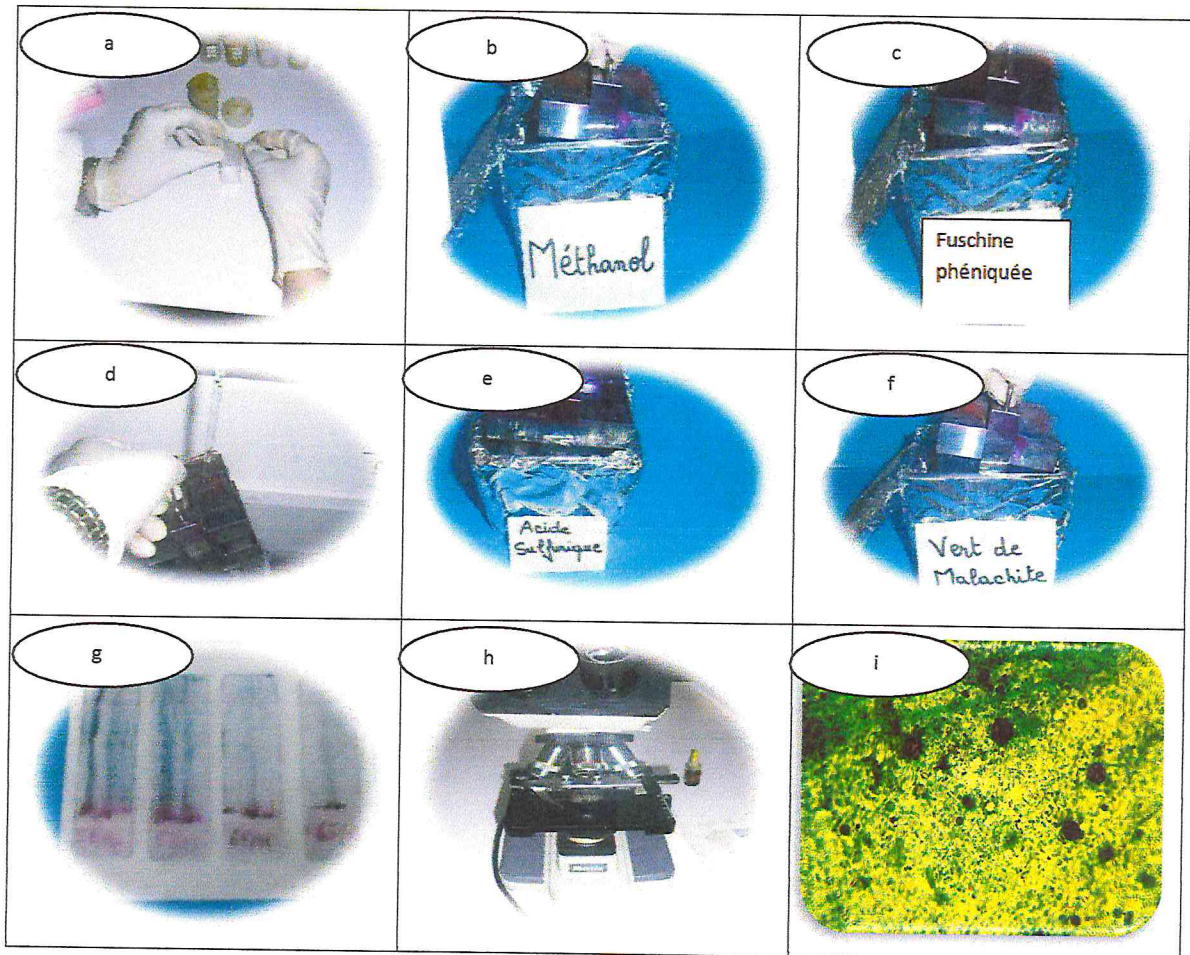


Figure 3 : mode opératoire de coloration de Zeihl Neelsen modifiée(photos personnelles)

La lecture : Observer la lame au microscope au grossissement x 40 et x 100 , confirmer leur présence avec le grossissement 100. Les oocystes du *Cryptosporidium sp* (figure 9) apparaissent en rouge sur un fond vert, les autres éléments sont colorés en vert. Les coccidies sont également colorées en rouge vif mais plus grosse.

V- Résultats :

a-vaches mères :

Tableau I : Répartition des prélèvements des vaches mères dans les fermes étudiées

Ferme	Nombre de Vaches gestantes	Cas positifs	Cas négatifs
1	3	2	1
2	2	1	1
3	5	4	1
5	1	1	0
6	2	2	0
7	2	2	0
Total	16	13	3
Fréquence		81%	19%

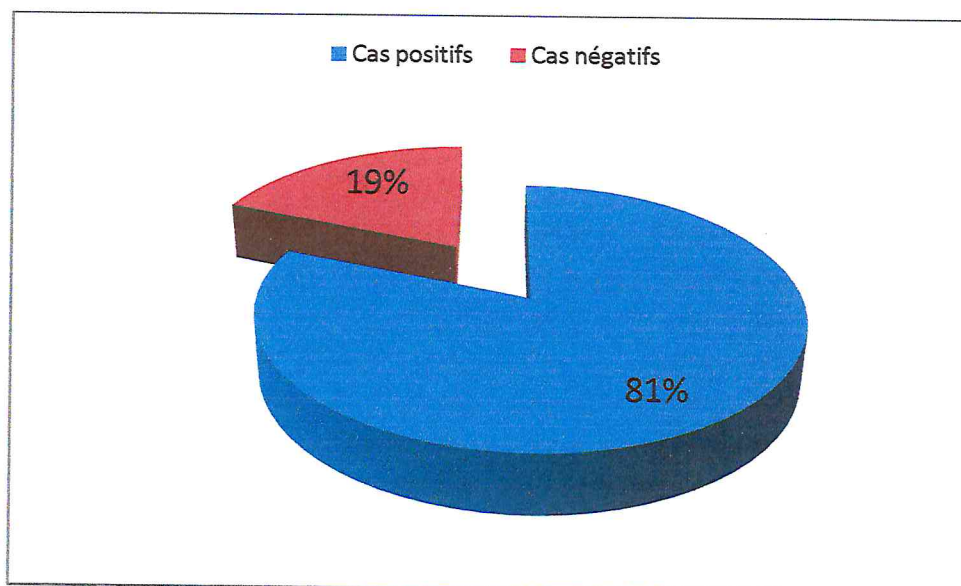


Figure 4: Répartition des prélèvements des vaches mères.

Sur les 16 prélèvements fécaux des vaches analysés par la coloration de Ziehl Neelsen modifiée, le *Cryptosporidium sp* a été identifié dans 81% des cas et 19% se sont avérés négatifs (figure 4).

b- veaux :

Tableau II : Répartition des prélèvements des veaux.

Ferme	Nombre des veaux	Cas positifs	Cas négatifs
1	3	2	1
2	2	2	0
3	5	3	2
4	1	1	0
5	1	1	0
6	2	2	0
7	2	1	1
Total	16	12	4
Fréquence		75%	25%

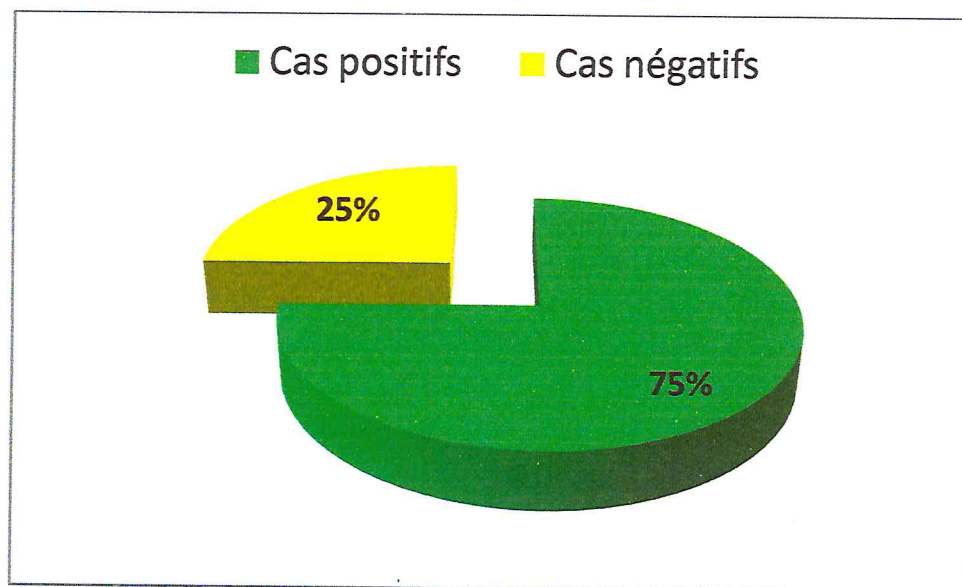


Figure 5: Répartition des cas positifs et négatifs chez les veaux.

La figure 5 montre un taux de 75 % des veaux sont positifs sur les 16 échantillons analysés.

C-consistance des fèces :

Tableau III: Répartition des échantillons selon la consistance des fèceschez les veaux.

Consistance	Nombre de prélèvement	Cas positif	Fréquence	Cas négatifs	Fréquence
Diarrhéiques	10	7	70%	3	30%
Non diarrhéiques	6	4	60%	2	40%

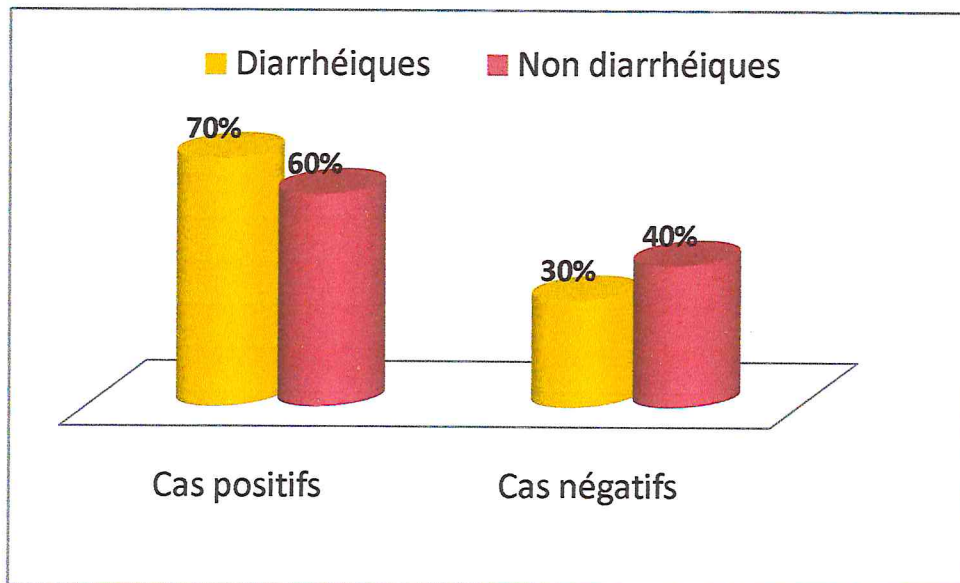


Figure 6 : Distribution des échantillons selon la consistance des fèces.

La figure 6 montre que les échantillons diarrhéiques sont plus infestés que les non diarrhéiques avec des taux de 70 % et 60 % respectivement.

Tableau IV: Distribution des échantillons selon l'âge.

Age	Cas positifs	Fréquence	Cas négatifs	Fréquence
3 jours	5	31,25%	11	68,75%
7 jours	7	43,75%	9	56,25%
15 jours	10	62,5	6	37,5
30 jours	12	75%	4	25%

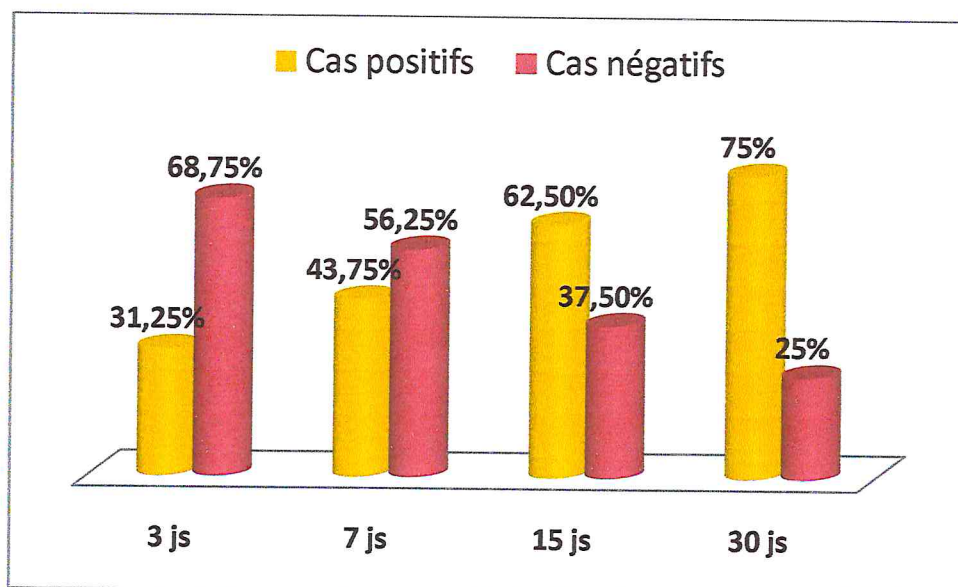


Figure 7: Répartition des échantillons selon l'âge des veaux.

Nous pouvons constater que les veaux âgés de 15 et 30 jours sont les plus touchés avec un taux de 62.50% et 75% respectivement (figure 7).

IV-Discussion :

A la lumière de nos résultats obtenus lors de notre travail, il en ressort que le *Cryptosporidium* sp parasite ubiquiste est retrouvé dans les quelques fermés visitées dans la wilaya de Médéa quelque soit l'âge des veaux.

En effet, sur les 64 échantillons fécaux prélevés et analysés par la méthode de Ziehl Neelsen modifiée le parasite a été identifié aussi bien dans les échantillons diarrhéiques et non diarrhéiques avec des taux de 70% et 60% respectivement.

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Akam et , Baroudi D , Singh B.B., al, Lise (107, 108,109,111) pour les échantillons non diarrhéiques avec des taux de 22,83% ; 25,68% ; 23,5% et 36,01% respectivement, et les diarrhéiques avec des taux de 42,9% ; 44,43% ; 50% ; 50,5% ; 63,73% et 52,5% respectivement.

Une autre étude effectuée en 2003 par Hani (110)a enregistré un taux de prévalence de 78,57% correspondant aux prélèvements diarrhéiques et 40,78% correspondant aux prélèvements non diarrhéiques. Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés par cet auteur pour les prélèvements diarrhéiques contre les non diarrhéiques qui sont inférieurs à nos résultats.

Il est à signaler que la prévalence mondiale varie entre 10 et 75% chez les veaux diarrhéiques.

Durant notre étude, nous avons remarqué que le parasite a été retrouvé dans les échantillons fécaux du 3^{ème} jour de la naissance jusqu'à 1 mois où les veaux sont plus sensibles à l'infection durant le 15^{ème} et le 30^{ème} jour d'âge, ce qui a été signalé par (10) où la maladie se voit principalement chez les veaux de 4 à 30 jours d'âge .En outre ,ce qui explique que la cryptosporidiose est une maladie du jeune animal (101) , dont le système immunitaire des nouveaux nés est encore immature d'où cette grande sensibilité à l'infection cryptosporidienne (100).

Elle est considérée comme une cause majeur des mortalités des veaux nouveaux nés et responsable de grandes pertes économiques (102).

L'absence du *Cryptosporidium* sp dans les fèces des veaux de moins de 4 jours est en relation avec le cycle évolutif dont la période pré patente est de 3-4 jours chez les ruminants (100).

Conclusion :

Notre étude nous a permis de connaître la situation des quelques élevages bovins de la commune de Hamdania (wilaya de Médéa).

Nous pouvons conclure à la lumière des résultats obtenus que la cryptosporidiose existe dans nos élevages.

Nos résultats ne représentent pas la totalité des fermes de la wilaya de Médéa, il serait préférable pour mieux connaître la prévalence de cette pathologie, de prospecter et d'explorer les grandes et les petites fermes afin d'augmenter le nombre de prélèvements. La grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur expose les animaux à un risque élevé de contamination. En outre l'absence d'un traitement efficace contre cette zoonose, rend difficile la lutte contre cette maladie.

Recommandations

La mise en œuvre des moyens prophylactiques pour éliminer ou même réduire la source de l'infection :

- L'hygiène joue un rôle important dans un élevage, comme la désinfection.
- La gestion des animaux malades est un point crucial du contrôle de la propagation de la maladie dans le but de réduire le risque de la cryptosporidiose.
- Une étude épidémiologique plus approfondie ainsi que l'étude de tous les facteurs de risque conduisant à l'apparition de la cryptosporidiose.
- Effectuer de manière systématique des examens coproscopiques chez les veaux qui présentent des diarrhées
- La sensibilisation des éleveurs, vétérinaires et techniciens de laboratoire sur le risque de contamination de cette zoonose mineure.

annexes

Tableau :examen macroscopique des échantillon

N°	Age	Consistance	Couleur	Résultats
1	3 jours	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7 jourrs	Non diarrhéiques	Brune	-
	15 jours	Non diarrhéiques	Verte	-
	30 jours	Non diarrhéiques	Brune	+
2	3 jours	Non diarrhéiques	Jaune	+
	7 jours	Non diarrhéiques	Verte	+
	15 jours	Non diarrhéiques	Jaune	+
	30 jours	Non diarrhéiques	verte	+
3	3	Non diarrhéiques	Jaune	+
	7	Non diarrhéiques	Verte	+
	15	diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	brune	+
4	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Brune	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	verte	+
5	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Verte	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	verte	+
6	3	Non diarrhéiques	Jaune	+
	7	Non diarrhéiques	Brune	+
	15	Non diarrhéiques	Brune	+
	30	Non diarrhéiques	brune	+
7	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	diarrhéiques	Jaune	+
	15	Non diarrhéiques	Jaune	+
	30	Non diarrhéiques	brune	+
8	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Brune	+
	15	Non diarrhéiques	Brune	+
	30	Non diarrhéiques	Verte	+
9	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Jaune	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	Verte	+
10	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Jaune	-
	15	Non diarrhéiques	Brune	-
	30	Non diarrhéiques	Brune	-

11	3	diarrhéiques	Jaune	+
	7	Non diarrhéiques	Brune	+
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	Verte	+
12	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	diarrhéiques	Verte	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	verte	+
13	3	diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Verte	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	-
	30	Non diarrhéiques	brune	-
14	3	Non diarrhéiques	Jaune	-
	7	Non diarrhéiques	Verte	-
	15	diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	Verte	+
15	3	Non diarrhéiques	Verte	-
	7	diarrhéiques	Verte	-
	15	Non diarrhéiques	Verte	-
	30	Non diarrhéiques	Brune	-
16	3	Non diarrhéiques	Jaune	+
	7	Non diarrhéiques	Verte	+
	15	Non diarrhéiques	Verte	+
	30	Non diarrhéiques	brune	+

références bibliographiques

Références bibliographiques :

- 1- **Laurent F., Lamandé S., Barrier M., Mancassola R., Naciri M.** « Les zoonoses ,la cryptosporidiose ».UR 86. Bio agresseurs, santé, environnement, Tours équipe Contrôle et immunologie des maladies à protozoaires. INRA mensuel N° 123. Dossier juin (2005).
- 2 - **Ramirez, N.E., Ward, L.A., Sreevatsan, S., 2004.** A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection*, 6 773–785.
- 3- **Bussiéras, J., Chermette, R., 1992.** Parasitologie vétérinaire : protozoologie. Fascicule II. Edité par le service de parasitologie Ecole nationale vétérinaireAlfort
- 4- **Bourée, P., 1994.** Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale. (388P) Médecine et science Edition : Flammarion.
- 5- **Mage C., 1998.** Parasites des moutons (124p). Edition France agricole.
- 6- **Forney, J.R., Dewald, D.B., Yang, S., Speer, C.A., Healey, M.C., 1999.** A Role for Host Phosphoinositide 3-Kinase and Cytoskeletal Remodeling during *Cryptosporidium parvum* Infection. *Infection and Immunity*, Feb. 1999, Vol. 67, No. 2, p. 844–852
- 7- **Chartier, C., 2003.** Cryptosporidiose des ruminants 1559-1568. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail ; Maladies bactériennes, mycoses et maladies parasitaires. Lefèvre Pierre-Charles, Blancou Jean, Chermette René. (1761pages). Editions médicale internationale.
- 8- **Chizu, K., Yokoyama, H., Nguyen, S.V.,Kodama, Y., Kimatab, T., Izeki, M., 2004.** Effect of egg yolk antibody on experimental *Cryptosporidium parvum* infection in scid mice. *Vaccine* 23, 232–235.
- 9- **Martin-Gomez S., Alvarez-Sánchez M.A., Rojo-Vázquez F.A., 2005.** Immunization protocols against *Cryptosporidium parvum* in ovines: protection in suckling lambs. *Veterinary Parasitology*, 129, 11–20.
- 10- **Alain V., 2003.** Les zoonoses parasitaires : L'infection chez les animaux et chez l'homme (500p). Les presses de l'université de Montréal
- 11- **PEETERS J. ;VILLACORTA I .1995** in :guidelines on techniques on coccidiosis research.editors:ECKERT J.;BRAUN R.;SHIRLEY M.WCOUDER P.;biotechnology cost 89\820, report EUR 16 602 EN,Europeancommission,Brussels,1995.202-240.
- 12- **PORTEJOIE ETIOLOGIE DES DIARRH2 NEONATALES ,comontaires des resultat d'analyse de differentes regions. In :pathologies et chirurgie neonatales. Journée nationale des GTV.edité par SNGTV,Paris ;1995.175-177. 150 (SCHELCHER F ; GASTROENTERITES NEOTATALES DU VEAU IV session de pathologie bovine,UCAAB , Paris, 2 et 3 fevrier 1999**
- 13- **NACIRI M. ; LEFAY M P. ; MANCASOLA R. ;POIRIER P. ; CHERMETTE R.** Role de *cryptosporidium parvumas* pathogen in neonatal diarrhoeacomplex in suckling and dairy

calves in France Veterinary parasitology ;1999,85.245-257

14- **ANGUS K.W** ;Cryptosporidiosis in ruminants. In :*cryptosporidiosis in men and animals*.editors :*dubey J P ;speer C A and fayer R . ,CRC .press boca raton, florida ,usa , 1990.83-103 .*

16- **TYZZER E.E.** A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proceeding of the Society of Experimental Biology and Medicine, 1907, 5. 12-13.

17- **TYZZER E.E.** *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a Coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Protistenkd., 1912, 26. 394-412.

18- **LEMMON J.M. ; MAC ANULTY J.M. ; BAWDEN-SMITH J.** Outbreak of cryptosporidiosis linked to an indoor swimming pool. M.J.A., 1996, 165. 613-616.

19- **O'DONOGHUE P.J.** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. International Journal for Parasitology, 1995, 25 (2). 139-195.

20-. **LEVINE N.D.** Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). Journal of Protozoology, 1984, 31 (1). 94-98.

21- The NCBI entrz taxonomie home page : *cryptosporidium*. <http://www.ncbi.nih.gov/taxonomy/browser/wwwtax.cgi>.

22- **taxonomicon**, 2010 :www.taxonomy.nl/taxomicon.

23- **Lind,B.L.,upton, s.j.,owens,d.s.,morgan,U.MIM,mead, j.r.,blagburn, b.l** «*cryptosporidium andersoni* n. sp (apicomlexa :*cryptosporididae*) from cattle»,*bostaurus*. J eukaryot microbiol ,(2000),2 91,624.629.

24- **Current, w.l ., reese, n.c .,** «a comparison of endogenous developement of three isolates of *cryptosporidium* in suckling mice.»j protozool ,(1986) ;1933,98,108.

25- **Fayer, R., santin , m xiao, l ;,** *cryptosporidium bovis* n . sp.(apicomplexa : *cryptosporidea*) in cattle (*bostaurus*) .j,(2005),2 91,624.629.

26- **Fayer , R., trout ,j.m .,xiao, l., morgan, u.m.,lai,A.A.,dubey, j-p .,**«*cryptosporidium canis* n ;sp. From domestics dogs» j parasitol, (2001), 87,1415,1422.

27- **Ryan ,U., power , M., xiao, l .,**«*cryptosporidium fayeri* n . sp.(apicomplexa :*cryptosporidae*) from the red kangaroo (*macropusrufus*).j eucaryot microbiol , (2008),55,22.26»

28- **Iseki, m.**«*cryptosporidium felis* sp .n (protozoa :*eimeriorina*) from the domestics cats»jpn . j. parasitol.,(1979),28,285.307.

29- **Jirku, m valigurova, a., krikez, j., modry, d ., slapeta, j.,** «new species of **cryptosporidium tyzzer, 1907** (apicomplexa) from amphibian host : morphology, biology and phylogeny». *Folia parasitol (praha)*, 2008, 55, 81, 94.

30- **Morgan. Ryan, u.m., A. fall, l .award, n.hijjawi, l . sulaiman, r. fayer, r . c. thompson, m.olson, A. lal , and l.xiao.** «**cryptosporidium hominis** n . sp ». (apicomplexa : cryptosporidae) from homo sapiens. *J eukaryot microbio*, (2002), 49 : 433.

31- **Ryan, u.m xiao, l ., c.sulaiman, i.m monis, p lal, A.A fayer, r ., pavlasek, l .,** «a description of **cryptosporidium galli pavlasek** », 1999 (apicomplexa : cryptosporidae) from birds. *J parasitol*, (2003), 89, 809.813.

32- **Power, m ., ryan, u ., (2008)** «**cryptosporidium macropodum** n.sp (apicomplexa : cryptosporididae) from eastern grey kangaroos *macropus gigantus* » *j parasitol*, 1.

33- **Alvarez. Pellitero, p., quiroga, m.l., sitja. Bobadilla, a ., redondo, m.j., palenzuela, o ., pardos, f., vazquez, s ., nieto j.m ., 2004** «**cryptosporidium scophthalmi** n SP from cultured turbot *scophthalmus maximus*. light and electron microscope description and histopathological study ». *dis aquat organ* ? (2004), 62, 133 ; 145.

34- **Hoover, d .m., hoerr, f.j., carlton, w.w., hinsman,, e.j ferguson, h.w.,** «entric cryptosporidiosis in a nasotang, *nasulitatus bloch schneider. j.fish* », *dis* , (1981), 4, 425.428 .

36- **FAYER, R ;, SANTIN , TROUT ? J ; M** «**cryptosporidium ryanae** n . sp. In cattle » *vet parasitol*, 2008

37- **koudela, b., modrey, d., vtovec, j.,** «infectivity of **cryptosporidium muris** isolated from cattle » *vet parasitol*, (1988), 76, 181.188.

38- **levine, n .d.,** «some corrections of coccidian (apicomplexa: protozoa) nomenclature» *j parasitol*, (1980), 66, 830.834.

39- **Ryan, u.m., monis, p ., H.l., sulaiman, l ., samarasinghe, b ., read, c.; budle, r., roberston, l., zhou, l., thompson, r.c., xiao, L.,** «**cryptosporidium suis** N . sp.; (apicomplexa) in pigs" (*sus scrofa*). *j parasitol*. (2004), 90, 769.773.

40- **Alvarez . Pellitero, p, sitja. Bobadilla, a,** «**cryptosporidium molnari** n. sp infecting tow marines fish species », *sparus ayra l. and disentrarchus labrax l. j parasitol*, (2002), 32, 1007.1021.

41- **Vetterling, j .m ., jervis, h.r., merril, t.g ; sprinz, h .,** «**cryptosporidium wrairi** sp .n . from the guinea caviaporcellus, with an enendation of the genus » *j prozool* , (1971), 18, 243.247.

42- **TZIPORI S. et GRIFFITHS J.K.:** Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. *Advan. Parasitol.*, 1998, 40, 5-36.

43- **CHERMETTE R., BOUFASSA-OUZROUT S.** : Cryptosporidiose :une maladie animale et humaine cosmopolite. Série technique n° 5, 2ème édition. Edité par l'Office International des Epizooties, Paris,1988.

44- **GRIFFITHS, J.K.** - Human cryptosporidiosis : epidemiology, transmission, clinical disease, treatment, and diagnosis.- *Advances in Parasitology*, 1998, **40**, 37- 85.

45- **TZIPORI S. ; O'DONOGHUE P. ; WATKINS J. ; SMITH M. ; ANDREWS R.H. ; CHILTON N.B. ; UPCROFT P. ; UPCROFT J.A. ; MORGAN U. ; THOMPSON R.C.A. ; CASEMORE D.P. ; WIDMER G. ; GASSER R.B. ; CARTER D.A. ; ROCHELLE P.A. ; JUTRAS E.M. ; DE LEON R. ; STEWART M.H.** Isolation, propagation and characterisation of *Cryptosporidium*. Edited by Gasser R.B. and O'Donoghue P. *International Journal for Parasitology*, 1999, **29**. 1379-1413.

46- **XIAO L. ; MORGAN U.M. ; FAYER R. ; THOMPSON R.C.A. ; LAL A.A.** *Cryptosporidium* systematics and implications for public health. *Parasitology Today*, 2000, **16** (7). 287-292.

47- **CHILOU D.** Epidémiologie de la cryptosporidiose des mammifères. Th. Méd. Vét. : Nantes : 2000.

48- **PERGENT P.B.** Lutte contre les cryptosporidioses : approche thérapeutique – application chez le Veau. Th. Méd. Vét. : Alfort : 1988 ; 39.

49- **HEINE J. ; POHLENZ J.F.L. ; MOON H.W. ; WOODE G.N.** Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *The Journal of Infectious Diseases*, 1984, **150** (5). 768-775.

50- **MARCIAL M.A. ; MADARA J.L.** *Cryptosporidium* : cellular localization, structural analysis of absorptive cell-parasite membrane-membrane interactions in Guinea pigs, and suggestion of protozoan transport by M cells. *Gastroenterology*, 1986, **90**. 583-594.

51- **EUZEBY J.** Cryptosporidioses. In : Protozoologie médicale comparée, volume II. Edité par la Fondation Marcel Mérieux, Lyon, 1987. 307-324.

52- **Smith, h ,v.,coccio, s.m.,cook,n., nichols,r.a.,trait,a.(2007)** :cryptosporidium and giardia as foodborne zoonoses. *Vet parasitol*,149,29-40.

53- **Valigurova, A., jirku, m., koudela,,b ., gelnar,m.,modry , d., slapeta, j.(2008)**:cryptsporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane.int *j.parasitol*,38,913-922.

54- **NACIRI M. ; LACROIX S. ; LAURENT F.** La cryptosporidiose des ruminants (1ère partie). *L'Action Vétérinaire*, 2000, n° 1536. 17-23.

55- **LINDSAY D.S. ; BLAGBURN B.L. ; SUNDERMANN C.A. ; ERNEST J.A.** Chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in chickens, using halofuginone, salinomycin, lasalocid, or monensin. *American Journal of Veterinary Research*, 1987, **48** (3). 354-355

56- **DUPONT H.L. ; CHAPPELL C.L. ; STERLING C.R. ; OKHUYSEN P.C. ; ROSE J.B. ; JAKUBOWSKI W.** The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *New England Journal of Medicine*, 1995, 332. 855-859.

57- **Anderson b.c .**, effect of drying on the infectivity of cryptosporidia laden calf feces for 3 to 7 days old mice. *Am. J. Parasitol.*, (1986)27,1531-6.

58- **Campbell L., tzipori s., hutchison g., angus k.w (1982)** ; effect of disinfection on survival of *cryptosporidium oocysts.*, 111,414-415.

59- **Sudermman c.a., lindsay d.s., blagburn b ; l (1987)** : evaluation of disinfections for ability to kill avian *cryptosporidium oocysts.* *compan. anim . pract.* 1,36-39.

60- **Fayer R ., , R., trout , j.m ., Jenkins M.C , 1998** «infectivity of *cryptosporidium parvum oocysts* stored in water at environmental temperatures» *J parasitol* , 84,6,1165-1169.

61- **Fayer R ., 1994** «effect of high temperature on infectivity of *cryptosporidium parvum oocysts* in water» *appl environ microbiol*, 60,8,2732-2735.

62- **Fujino T., Matsui T ., Kobayashi F . et al 2002** «the effect of heating against *Cryptosporidium oocysts*» *J vet Med Sci*, 64,199-200.

63- **Sherwood D., Angus K ; w., Snodgrass D.R. et tzipori S. 1982** «experimental cryptosporidiosis in laboratory mice» *infect immune* , 38,2,471-475.

64- **Fayer R. et Neard T. 1996** «effects of low temperature on viability of *cryptosporidium parvum*» *appl environ microbial*, 62,4,1431-1433.

65- **Robeston L .J ., Campbell A.T., Smith H.V 1992** «survival of *cryptosporidium parvum oocysts* under various environmental pressures» *Appl environ microbial*, 58,11,3494-3500.

66- **Deng M.Q. et Cliver D.O. 1999** «*cryptosporidium parvum* studies with dairy products» *Int J food microbial*, 46,2,113-121.

67- **Jenkins M.b., Anguish L.J., Bowman D.D. et al . 1997** «assessment of dye permeability assay for determination of inactivation rates of *cryptosporidium parvum oocysts*» *appl environ microbial*, 63,10,3844-3850.

- 68- **Fayer R., Graczyk T.K., Lewis E.J et al 1998** «survival of infectious cryptosporidium parvum oocysts in the Chesapeake Bay» *Appl Environ Microbiol*, 64, 1070-1074d
- 69- **Kim H.C. et Jheale M.C. (2001)** «infectivity of cryptosporidium parvum oocysts following cryo preservation» *J Parasitol*, 87, 5, 1191-1194.
- 70- **Fayer R., Morgan U., Upton S.J 2000.** «epidemiologie of cryptosporidium : transmission, detection and identification» *Int J parasitol*, 30, 1305-1322.
- 71- **Torres J., Gracenea M., Gomez M.S et al 2000** «the occurrence of cryptosporidium parvum and C. muris in wild rodents and insectivores in Spain» *Vet Parasitol* 92, 253-260.
- 72- **Vallet**, Devaluation d'un protocole de terrain d'aide au diagnostic et à la thérapeutique du veau diarrhéique de 0 à 4 semaines. Thèse doctorat vétérinaire. **ENV. ALFORT (2003)**
- 73- **QUILEZ J. ; SANCHEZ-ACEDO C. ; DEL CACHO E. ; CLAVEL A. ; CAUSAPE A.C.** Prevalence of Cryptosporidium and Giardia infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, 1996, 66. 139-146.
- 74- **CHARTIER C.** : Cryptosporidiose des ruminants: actualités en matière d'épidémiologie, de diagnostic et de contrôle. *Protozooses bovines: Actualités. Société Française de Buiatrie*, Annecy, 3 octobre 1996, 19-31.
- 75- **SCOTT C.A. ; SMITH H.V. ; GIBBS H.A.** Excretion of Cryptosporidium parvum oocysts by a herd of beef suckler cows. *The Veterinary Record*, 1994, 134. 172.
- 76 - **LORENZO M.J. ; BEN B. ; MENDEZ F. ; VILLACORTA I. ; ARES-MAZAS M.E.** Cryptosporidium parvum oocyst antigens recognized by sera from infected asymptomatic adult cattle. *Veterinary Parasitology*, 1995, 60. 17-25.
- 77 - **KORICH D.G., MARSHALL M.M., SMITH H.V., O'GRADY J., BUKHARI Z., FRICKER C.R., ROSEN J.P. & CLANCY J.L. (2000).** Inter-laboratory comparison of the CD-1 neonatal mouse logistic dose-response model for *Cryptosporidium parvum* oocysts. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 47, 294-298. 72 **NACIRI, M.** - Cryptosporidiose des ruminants et santé publique. - *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial « Ruminants et santé publique », 1994, 26, 49-55. 73 **BOURGOUIN H.** La place de la cryptosporidiose dans les maladies néonatales du Veau en Corrèze. *Bulletin des GTV*, 1996, n° 2. 19-41.
- 78- **CURRENT W.L. (1997).** Cryptosporidiosis. *In: Diseases of Poultry*, Tenth Edition, Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R. & Saif Y.M. eds. Mosby-Wolfe, Mosby International, Lynton House, 7-12 Tavistock Square, London WC1H 9LB, UK, 883-890.
- 79- **SCHELCHER F.** Gastroentérites néonatales du Veau. IV session de pathologie bovine, UCAAB, Paris, 2 et 3 février 1999. μ

80- **Riggs, M.W., stone, A.I., Yount, P.A., Langer ?R.C., Arrowood, M.J**
., Bently, D.L ,<protective monoclonal antibody defines a circum sporozoite.like
glycoprotein exoantigen of cryptosporidium parvum sporozoites and
merozoites>, *J Immunol*, (1997), 158, 1787.1795.

81 -

**Cavallos, a.M., Zhang, X., Waldor, M.K., Jaison, S., Zhou, X., Tzipori, S., Neutra,
M.R., Ward, H.D** ., <molecular cloning and expression of a gene encoding cryptosporidium
parvum glycoproteins gp 40 and GP15> *infect immune*, (2000), 68, 4108, 4116.

82

Okhuysen, P.C., Rich, S.M., Chappel,, C.L., Grimes, K.A., Widmer, G., Tzipori, S.
, <infectivity of a cruptosporidium parvum isolate of corvine origin for healthy adults and
interferon.y knockout mice.> *J infect dis*, (2002), 185, 1320, 1325.

83- **Steele, mM.I., kuhls, T.L., Nida, K., Meka, C.S., Halabi, i.M., Mosier, D.A**
., Elliott, W, W., Crawford, D.L., greenfield, R.A <a cryptosporidium parvum genomic
region encoding hemolytic activity> *infect immune* (1995), 63, 3840, 3845.

84- **chen, X.M., gores , G.j., Paya, C.V., LaRusso , N.F** <cryptosporidium parvum
induces apoptosis in biliary epithelia by a fas/fas ligand. depend mechanisms>, *Am J physiol*
277? (1999), G599, 608.

85- **McCole et al. ;2000 (mc cole, D.F., L.Eckmann, F.Laurent, and
M.F.Kagnoff.** <intestinal epithelial cell appoptosis following cryptosporidium parvum
infection> *infect immune* 68, (2000), 1710, 1713

86- **NFkB. Mele et al. ;2008 (liu, j., enomoto, S lancto, C .A., Abrahamsen,
M.S, rutherford, M.S,** <inhibition of apoptosis in cryptosporidium infected intestinal
epithelial cells is dependent on surviving>, (2008), *infect immun*.

87 - **CHARTIER C.** La cryptosporidiose du Chevreau. Réussir la Chèvre, 2000, n° 236.
31-32.

88- **LEFAY, D., NACIRI, M., POIRIER, P., CHERMETTE, R.** - Prevalence of
Cryptosporidium infection in calves in France.- *Veterinary Parasitology*, 2000,
89, 1-9.

89- **MERRY, R.J., MAWDSLEY, J.L., BROOKS, A.E., DAVIES, D.R.** - Viability of
Cryptosporidium parvum during ensilage of perennial ryegrass.- *Journal of
Applied Microbiology*, 1997, 82, 115-20.

90- **NACIRI M. ; YVORE P** 1989 efficacité de lacctate d'alufuginate dans le traitement de
la cryptosporidiose chez l'agneau. *rec.med.vet.* 165 :823-826.

91- **BOULDAY S.** La cryptosporidiose bovine. Analyse du marché en France, résultats
épidémiologiques, approche du positionnement du lactate d'halofuginone. Th. Méd. Vét. :
Nantes : 2000 ; 9.87

92- **JOHNSON E.H. ; WINDSOR J.J. ; MUIRHEAD D.E. ; KING G.J. ; AL-BUSAIDY R.** Confirmation of the prophylactic value of paromomycin in a natural outbreak of caprine cryptosporidiosis. *Veterinary Research Communications*, 2000, 24 (1). 63-67.

93- **FONTAINE C.** Utilisation du lasalocide dans le traitement de la cryptosporidiose chez le Veau : étude de terrain. *Th. Méd. Vét. : Lyon* : 1999 ; 103.

94- **LEBOUC A.** Les entérites néo-natales du Veau. *La Semaine Vétérinaire*, 1995, n° 764. 27-28

95- **VANDAËLE E.** Additifs et prémélanges contre les cryptosporidioses du Veau. *La Semaine Vétérinaire*, 1995, n° 771. 25-26.

96- **NACIRI M. ; LACROIX S. ; LAURENT F.** La cryptosporidiose des ruminants (2ème partie) : diagnostic, moyens de lutte et risques pour l'Homme. *L'Action Vétérinaire*, 2001, n° 1543. 11-18.

97- **CHARTIER C.** Epidémiologie et contrôle de la cryptosporidiose chez le Veau. *Société Française de Buiatrie*, Paris, 20, 21 et 22 octobre 1999. 181-190.

98- **HARP J.A. ; GOFF J.P.** Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81 (1). 289-294.

99- **ARGENZIO R.A. ; LIACOS J.A. ; LEVY M.L. ; MEUTEN D.J. ; LECCE J.G. ; POWELL D.W.** Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology*, 1990, 98 (5). 1129-1140.

100- **Morin, R., 2002.** Lutte Contre L'infection A *Cryptosporidium Parvum* : Application à la Cryptosporidiose Bovine. Thèse de l'ENVNantes, N-2002-148.

101- **Euzéby, J., 1984.** Les parasites humains d'origine animale : caractère épidémiologique

(324p). Flammarion Medecine Science.

102- **Shianna, K.V., Rytter, R., Spanier, J.G., 1998.** Randomly Amplified Polymorphic DNA PCR Analysis of Bovine *Cryptosporidium parvum* Strains Isolated from the Watershed of the Red River of the North. *Applied and Environmental Microbiology*, June 1998, p. 2262-2265 Vol. 64, No. 6.

103- **Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., Chermette, R., 2000.** Prevalence of cryptosporidium infection in calves in France. *Veterinary Parasitology*, 89, 1-9

104- **Sevinc, F., Irmak, K., Sevinc, M., 2003.** The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non- diarrhoeic calves. *Revue Méd. Vét.*, 154, 5, 357-361.105-

105-**Akam, A., Khelef, D., Kaidi, R., Abdulhussain, M. S., Suteu, E., Cozma, V. 2002.** Epidémiologie de la Cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie. *Scientia Parasitologica*, 2, 22-27.

106- **Uga, S., Matsuo, J., Kono, E., Kimura, K., Inoue, M., Rai, S.K., Ono, K., 2000.** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Veterinary Parasitology*, 94, 27-32.

107- **Akam A., Khelef D., Kaidi R., Lafri M., Cozma V., Suteu E.** « Cryptosporidiose bovine dans certaines fermes laitières de la Mitidja d'Algérie ». Communication : la 2ème journée des sciences vétérinaires . E.N.V.A . 19 Avril(2005).

108 - **Lise, A.T.W., Brenna, D.J., Martin, S.W., Kenneth, E.L., Andrew S.P,** « Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infections in southwestern Canada and its association with diarrhea in neonatal dairy calves ». *Can. Vet. J.* 46 (4), 349-351 (2005).

109- **Baroudi D.** « La cryptosporidiose bovine dans certaines fermes du centre d'Algérie et l'impact sur la santé humaine » Mémoire de Magister option : Zoonose parasitaire E.N.V.S El Harrach.(2005).

110- **Hani F.A.** « Etude étiologique des diarrhées néonatales du veau et influence des conditions zootechniques ». Thèse de Magister. Ecole Nationale vétérinaire El Harrach-Alger.

111- **Singh B.B., Sharma R., Kumar H., Banga H.S., Aulakh R.S., Gill J.P.S., Sharma J.K.** « Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves » *Veterinary Parasitology* 140.162-165 (2006).