



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



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

**THEME :**  
**Etude bibliographique sur la diarrhée néonatale des veaux due aux  
cryptosporidioses**

Présenté par

- ✓ **Rahali Abdessamed**
- ✓ **Rahal Loubna**

**Devant le jury :**

<b>Président(e) :</b>	Dr. BELABDI .B	MAA	ISV Blida
<b>Examineur :</b>	Dr. DAHMANI .H	MAA	ISV Blida
<b>Promoteur :</b>	Dr. DADDA. A	MAA	ISV Blida
<b>Co-promoteur :</b>	Dr. KAABOUB. E	MAA	ISV Blida

**Année : 2015-2016**

## Table des matières

Résumé .....	I
Abstract .....	II
ملخص.....	III
Liste des figures .....	IV
Liste des tableaux .....	V
Liste des abréviations .....	VI
Dédicaces .....	VII
Remerciements .....	VIII
Introduction .....	1
CHAPITRE I :Etude générale sur Cryptosporidium et son Importance	
1.Définition .....	3
2.Importance.....	3
3.Historique .....	3
4.Taxonomie.....	4
5.Biologie du parasite.....	7
5.1.Morphologie du parasite.....	7
5.1.1. Oocyste.....	7
5.1.2. Sporozoïtes et Mérozoïtes .....	8
5.1.3. Trophozoïte .....	8
5.1.4. Mérontes.....	8

5.1.5. Microgamontes.....	9
5.1.6. Macrogamontes .....	9
5.2.Cycle évolutif .....	11
6.Epidémiologie .....	13
6.1. Sources d'infection humaine.....	13
6.2. Prévalence de la cryptosporidiose .....	14
6.2.1. Au niveau des fermes (au moins un animal excréteur) .....	14
6.2.2. Variation géographique et saisonnière .....	16
6.2.3. Variation selon l'âge .....	16
6.2.4. Différences espèce/ génotype selon l'âge .....	17
6.2.5. Variation selon le type de production bovine .....	18
6.3. Modes de transmission .....	18
6.3.1. Transmission verticale (mère à veau) .....	18
6.3.2. Transmission horizontale .....	19
6.3.2.1. Veau à veau .....	19
6.3.2.2. Par des vecteurs externes animés .....	19
6.3.2.3. Par des vecteurs externes inanimés .....	20
6.4. Ookystes et résistance aux conditions adverses .....	21
6.5. Facteurs de risque.....	23
6.5.1. Exposition en bas âge .....	23
6.5.2. Densité animale .....	23
6.5.3. Type de sol et nettoyage .....	23
6.5.4. Type de logement .....	24

6.5.5. Prise de colostrum .....	24
6.5.6. Alimentation.....	25
CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite	
7.Clinique et lésions .....	26
7.1. Clinique .....	26
7.1.1.Diarrhée et douleur abdominale .....	27
7.1.2.Déshydratation et perte d'électrolytes .....	27
7.1.3. Amaigrissement.....	28
7.1.4. Diminution de la production laitière .....	28
7.2. Lésions .....	29
7.3. Pathogénie .....	29
7.4.Pratiques à risque .....	32
8. Diagnostique.....	33
8.1 Méthodes diagnostiques à partir de matières fécales .....	34
8.1.1 Microscopie, examen après concentration .....	34
8.1.2 Microscopie après coloration, technique d'immuno-fluorescence avec anticorps monoclonaux .....	34
8.1.3.ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) .....	36
8.1.4. PCR (Polymerase Chain Reaction) .....	36
8.1.4.1 Intérêt de la technique .....	36
8.1.4.2.Limites de la technique .....	37
8.1.4.3. Choix d'un gène d'intérêt.....	38
9.2 Diagnostic différentiel.....	38

### CHAPITRE III: Traitement et mesures préventives

9. Traitement et prophylaxie .....	44
9.1. Traitements médicaux .....	44
9.2. Prévention.....	45
Conclusion.....	46
Références bibliographiques .....	47

## Résumé

Souvent, La diarrhée néonatale de veau constitue un problème préoccupant aussi bien pour l'éleveur que pour le vétérinaire. La morbidité et la mortalité sont élevées, engendrant des pertes économiques considérables.

Nous avons fait une étude bibliographique qui s'articule sur trois chapitres, dont le premier, des généralités sur le parasite ou nous avons détaillé l'histoire de l'agent pathogène *Cryptosporidium sp*, son importance et leur taxonomie. Le deuxième comporte le tableau clinique et lésionnel de la parasitose, en fin le troisième chapitre le traitement et les mesures préventives de la maladie.

**Mots clés :** *Cryptosporidium*, Veau, Diarrhée Néonatale, Mortalité.

## **Abstract**

Often , neonatal calf diarrhea is a serious problem both for the breeder to the vet. Morbidity and mortality are high , resulting in major economic loss .

We made a bibliographic study focuses on three chapters, the first , generalities on the parasite or we detailed the history of the pathogen *Cryptosporidium* sp , its importance and their taxonomy. The second includes the lesion and clinical picture of the parasitosis in the end the third chapter the treatment and preventive measures of the disease.

Keywords: *Cryptosporidium* , calf, Neonatal diarrhea , mortality .

## ملخص

في كثير من الأحيان اسهال حديثي الولادة عند العجول يسبب مشكلة خطيرة سواء بالنسبة للمربي او للطبيب البيطري حيث نسبة المرض والوفيات مرتفعة، مما يؤدي إلى خسائر اقتصادية فادحة

وقد قمنا في هذا العمل بدراسة مكتنية التي تمثلت في ثلاث محاور حيث في المحور الاول تطرقنا الى العموميات عن الطفيليات وتحدثنا بالتفصيل عن تاريخ الكريبتوسبورديوم وكذلك عن اهميته والتصنيف الخاص به، اما في المحور الثاني تحدثنا عن مجموعة الاعراض و الافات التي يسببها مرض الكريبتوسبورديوم، وفي الاخير في المحور الثالث تحدثنا عن العلاج و التدابير الوقائية من المرض.

**كلمات مفتاحية:** اسهال حديثي الولادة، الوفيات، العجل، كريبتوسبورديوم

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : classification taxonomique. ....	5
<b>Tableau 2</b> : Espèce validé de Cryptosporidium de l’homme, des animaux domestiques, et de quelques faunes. ....	5,6
<b>Tableau 3</b> : Prévalence de la cryptosporidiose. ....	14,15
<b>Tableau4</b> : présente des éléments d’orientation du diagnostic différentiel des causes les plus fréquentes de diarrhée néonatale chez les veaux. ....	40, 41, 42,43

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure01</b> : Morphologies des différentes espèces de cryptosporidium spp. ....	6
<b>Figure 02</b> : Image de microscopie électronique par transmission d'Oocyste. ....	7
<b>Figure 03</b> : Image de microscopie électronique par transmission d'un sporozoïte. ....	8
<b>Figure 04</b> : Image de microscopie électronique par transmission d'un trophozoïte. ....	8
<b>Figure 05</b> : Image de microscopie électronique par transmission d'un mérontes. ....	9
<b>Figure 06</b> : Image des gamontes de cryptosporidium par microscopie électronique par transmission. ....	9
<b>Figure 07</b> : NOMARSKI microphotographies interférence contraste des stades de développement de <i>C. parvum</i> dans les frottis des muqueuses obtenus à partir d'intestin grêle des souris infectés expérimentalement. ....	10
<b>Figure 08</b> : Cycle biologique de <i>Cryptosporidium</i> spp. ....	12
<b>Figure 09</b> : les différentes étapes d'infestation d'entérocyte par <i>cryptosporidium</i> spp. ....	12
<b>Figure 10</b> : Taux d'infestation par le <i>cryptosporidium</i> spp en fonction d'âge. ....	17
<b>Figure 11</b> : Ookystes de <i>Cryptosporidiu m.</i> ....	22
<b>Figure 12</b> : Début de développement d'un trophozoïte de <i>Cryptosporidium parvum</i> .....	29
<b>Figure 13</b> : Trophozoïte de <i>Cryptosporidium parvum</i> développé dans la membrane cytoplasmique d'un entérocyte. ....	30
<b>Figure 14</b> : Cellules intestinales infestées par des trophozoïte de <i>Cryptosporidium parvum</i> en microscopie à balayage. ....	30
<b>Figure 15</b> : Microscopie électronique à balayage montrant de nombreux stades de développement de <i>Cryptosporidium</i> dans la région microvillositaire de l' muqueuse intestinale. ....	31
<b>Figure 16</b> : site de la première interaction hôte-parasite. ....	32

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**CSA** : *Cryptosporidium* Specific Antigen

**DAPI** : 4', 6'-diamidino-2-phénylindole

**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism

**ZN** : Ziehl-Neelsen

**K** : Potassium

**ETEC** : Escherichia coli entérotoxinogène

**Se** : sélénium.

**Sp** : spécificité.

**P** : Phosphore.

**Ig** : immunoglobulin.

**Ca** : calcium.

**Cl** : chlorure.

**Na<sup>+</sup>** : sodium.

**BVD/MM** : Bovine Viral Diarrhoea / mucosal Disease.

## DEDICACES :

*Je dédie ce travail :*

*A ma chère maman grâce à tes tendres encouragements et tes grands sacrifices, elle a pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.*

*Aucun dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiment envers elle. je pris le bon dieu de la bénir de veiller sur elle, on espérant qu'elle sera toujours fière de moi.*

*A mon chère futur mari qui me donne le courage et l'esprit d'étude.*

*A mes proches amies, mes camarades de promo qui ont partagés ensemble des moments inoubliables au cours de cursus.*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai oublié involontairement de citer.*

*A tous mes enseignants tout au long de mes études.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Loubna**

## DEDICACES :

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mon père*

*Pour tous les sacrifices consentis pour ma Formation et pour sa présence à tout Instant.*

*A ma mère*

*Pour toutes ses peines durant les années, Humble témoignage de ma grande affection, Qu'elle*

*Retrouve ici l'expression de mon profond amour.*

*A mon promoteur Dr : DADDA .A*

*A mon co.promoteur Dr :KABOUB.E*

*Qui m'a guidé et éclairci de ses précieux conseils et sa grande expérience et à qui tous les mérites*

*Reviennent, qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.*

*A mon frère et ma sœur*

*Qui m'ont accompagné durant cette vie pénible.*

*A ma fiancée Pour sa compréhension et sa sagesse.*

*A mes oncles et mes tantes.*

*A mes cousins et cousines.*

*A mes collègues de promotion.*

*A mes grands parents.*

*A tous mes amis et camarades.*

*A monsieur GHouali Mohamed et monsieur Rahiche Amine docteurs vétérinaires Pour leurs aides et leurs accueils chaleureux,*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Abdessamed**

## Remerciement :

*Tout d'abord Dieux Merci..*

*Je remercie :*

*Le président ainsi les membres du jury pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail, qu'ils trouvent ici  
L'expression de mon profond respect.*

*Mon promoteur Dr : DADDA .A pour ses efforts, ses conseils et son dévouement.*

*Mon co.promoteur Dr :KABOUB.E pour ses efforts, ses conseils et son dévouement.*

*Tout A tout le personnel du département des sciences vétérinaires, pédagogique et administratifs.*

*Vifs remerciements a tous les personnes qui de prêt ou de loin m'ont aidé à mener bien ce travail.*



## Introduction

Les protozoaires appartenant au genre *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae), dont le nom en grec signifie « spores cachées », sont des organismes unicellulaires eukaryotes capables d'infecter le système digestif des mammifères et autres vertébrés (oiseaux, reptiles, amphibiens et poissons) et causant des signes cliniques associés [1,2]. Plusieurs espèces ont été décrites, mais *C. parvum* demeure de loin la plus connue en médecine humaine et vétérinaire [3, 4]. La maladie peut affecter l'espèce humaine (immunosupprimés tels les sidéens en particulier) ainsi que les bovins (les plus jeunes principalement) causant une morbidité et une mortalité élevées [5, 6, 7, 8]. Villeneuve rapporte que lors d'une épidémie de cryptosporidiose en absence de tout autre agent entéropathogène, 85 % des veaux eurent une diarrhée qui a duré 7 jours (âge moyen de 15 jours) [8].

La cryptosporidiose bovine est une maladie appartenant au complexe des diarrhées néonatales qui entraîne une diarrhée profuse et liquide chez l'hôte infecté avec anorexie, perte de poids, douleur abdominale et déshydratation [7, 8]. Elle débute habituellement une semaine après la naissance, résiste aux traitements basés sur les antibiotiques et persiste environ deux semaines [9]. Les pâturages et les fermes contaminées seraient les sources d'infection les plus importantes pour les animaux de consommation alors que l'eau contaminée représente la voie principale chez l'humain [8, 10]. Les bovins sont présentement considérés comme étant le principal réservoir de *Cryptosporidium* [8]. De nombreuses caractéristiques dont la haute résistance dans l'environnement, la contagiosité élevée, la grande susceptibilité des veaux dont le système immunitaire est immature, le faible nombre d'unités infectieuses nécessaires pour entraîner des signes cliniques, l'absence de traitements ainsi que le manque d'efficacité des désinfectants font que *Cryptosporidium* est un microorganisme occasionnant des pertes économiques importantes au sein du cheptel laitier [6, 8].

Au sein des troupeaux laitiers du Blida, le genre *Cryptosporidium* a une prévalence très élevée. Une étude de Ouakli et son équipe a montré que 65% des troupeaux de l'ensemble des régions du Blida étaient porteurs du parasite [100], mettant en évidence une vaste répartition géographique pour ce type de protozoaire qui a une distribution mondiale. Bien que *C. parvum* soit l'espèce la mieux connue et la plus fréquemment rencontrée, il en existe plusieurs autres présentes un peu partout dans l'environnement mais plus particulièrement dans les milieux

humides . De nombreuses études ont été effectuées depuis les années 80 afin de mieux comprendre l'épidémiologie de ces parasites, notamment les modes de transmission, la prévalence chez les animaux de la ferme, l'animal hôte vs l'espèce de *Cryptosporidium* et les sources d'infection pour les animaux ainsi que les humains. Cependant, il est souvent difficile de travailler avec ce type de microorganisme car de nombreux génotypes existent, la culture du parasite est très difficile, les sources de contamination peuvent être nombreuses, la présence du parasite au sein des animaux de la faune est encore mal définie à ce jour et l'évolution du génotype et du phénotype lorsque le parasite passe d'une espèce animale à une autre demeure peu connue .



# CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

## 1. Définition

Protozoaire parasite du tube digestif, les espèces du genre *Cryptosporidium* se rencontrent chez une très large gamme de vertébré: Mammifères, Oiseaux, Reptile et poissons.

L'espèce *Cryptosporidium parvum* a été recensée chez 79 à 152 espèces de Mammifères parmi lesquelles les ruminants sont les plus représentés. *Cryptosporidium parvum* est essentiellement un parasite du nouveau-né bien qu'il soit décrit chez les individus de tout âge.

## 2. Importance

Le syndrome de diarrhée néonatale est une des causes les plus fréquentes de mortalité et de pertes économiques aussi bien chez les agneaux et chevreaux que chez les veaux. Il s'agit d'un ensemble de maladie non distinguables les unes des autres cliniquement et qui sont dues à des virus, des bactéries ou des parasites. L'impossibilité de réaliser un diagnostic étiologique rapide pose un réel problème pour la mise en place du traitement qui se réduit souvent à un traitement symptomatique. Généralement on considère qu'avant l'âge de 3 jours, les symptômes sont à relier à des bactéries dont les plus courantes sont les ETEC (*Escherichia coli* entérotoxigènes); entre l'âge 4 jours et celui de 6 semaines, virus et *Cryptosporidium parvum* sont les plus fréquents; ensuite, on retrouve d'autres pathovirus d'*Escherichia coli* provoquant des lésions d'attachement et d'effacement des microvillosités intestinales.

Une synergie pourrait avoir lieu entre ces agents et *C. parvum* aboutissant à une intensification et une prolongation des symptômes.

## 3. Historique

Le genre *Cryptosporidium* est décrit pour la première fois en 1907 par TYZZER qui observe ce protozoaire parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*). Le parasite est considéré comme un nouveau genre de sporozoaire et le genre *Cryptosporidium* qui signifie « sporocyste caché » est établi. L'espèce découverte est nommée *Cryptosporidium muris*. Cinq ans plus tard Tyzzer découvre chez la souris également, une autre espèce du genre morphologiquement identique mais plus petite et localisée à l'intestin grêle : il s'agit de *Cryptosporidium parvum*.

En 1955, Salvin découvre l'importance pathogénique du genre : *Cryptosporidium meleagridis* provoquant diarrhée et faible mortalité chez la dinde. Vingt ans plus tard, on retrouve le genre *Cryptosporidium* dans l'intestin du veau diarrhéique ce qui confirme le rôle

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

pathogène potentiel du parasite. On considère aujourd'hui que l'espèce en cause était *Cryptosporidium paravum*.

En 1976, *Cryptosporidium* sp. Eest mis en évidence chez deux patients humains présentant une diarrhée sévère. Un ans plus tard, une nouvelle espèce est établie chez un serpent: *Cryptosporidium serpentis*. D'autres cas de *Cryptosporidium* humaine sont ensuite décrits essentiellement chez des patients immunodéprimés ( immunodépression congénitale ou thérapie immunosuppressive). L'intérêt médical s'accroît quand la maladie touche des individus immunocompétents en contact étroit avec des veaux malades ainsi que des patients infectés par le VIH et ayant développé un SIDA chez les lesquelles elle prend un caractère chronique et souvent mortel.

Depuis la *Cryptosporidium* est connue comme une cause primaire, fréquente et grave de diarrhée chez de nombreux mammifères dont l'homme. Elle entre dans le domaine de la santé publique dans les années 90 quand plusieurs foyers causés par la consommation d'eau contaminée sont recensés.

### 4-Taxonomies

Les parasites du genre *cryptosporidium* sont des protistes appartenant au phylum des Apicomplexa et au groupe des Coccidies, comprenant également par exemple, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Emiera* ou *Theileria*. Tous les membres du phylum Apicomplexa ont des caractères spécifiques liée au parasitisme, notamment la présence dans leurs formes invasives d'un complexe apical lié à la locomotion et à l'invasion cellulaire, En dépit de caractéristique partagées, les Apicomplexa ont également des divergences, comme la spécificité d'hôte, le tropisme pour différents tissus, et l'obligation dans certains cas de se développer chez plus d'un hôte pour compléter leur cycle biologique. [11]

#### - Position taxonomique :

Les cryptosporidies sont des protozoaires appartenant au sous règne des *Protozoa*, embranchement des *Apicomplexa*, classe des *Sporozoa*, sous-classe des *Coccidia*, ordre des *Eimeriina*, famille des *Cryptosporidiidae*, dans laquelle on ne trouve qu'un seul genre : *Cryptosporidium*. On connaît 2 espèces infestantes les mammifères : *C. muris* et *C.parvum*. Cette dernière est la plus fréquente et la plus pathogène chez les jeunes ruminants. [12]

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

**Tableau 1** : classification taxonomique. [13]

<b>Règne</b>	<i>Protiste</i>	Eucaryote unicellulaire
<b>Phylum</b>	<i>protozoaire</i>	Protiste à affinité animale hétérotrophe
<b>Embranchement</b>	<i>Apicomplexa</i> ( <i>sporozoa</i> )	Parasite obligatoire, intracellulaire, complexe apical à certain stade (organe de pénétration dans la cellule hôte)
<b>Classe</b>	<i>Coccidea</i>	Reproduction sexuée et asexuée, formation d'oocystes.
<b>Ordre</b>	<i>Emiriida</i>	Macrogamonte et Microgamante se développent indépendamment, zygote non mobile.
<b>Famille</b>	<i>Cryptosporidiidae</i>	Oocystes à 4 sporozoïtes nus, cycle monoxène.
<b>Genre</b>	<i>Cryptosporidium</i>	Le seul genre important.

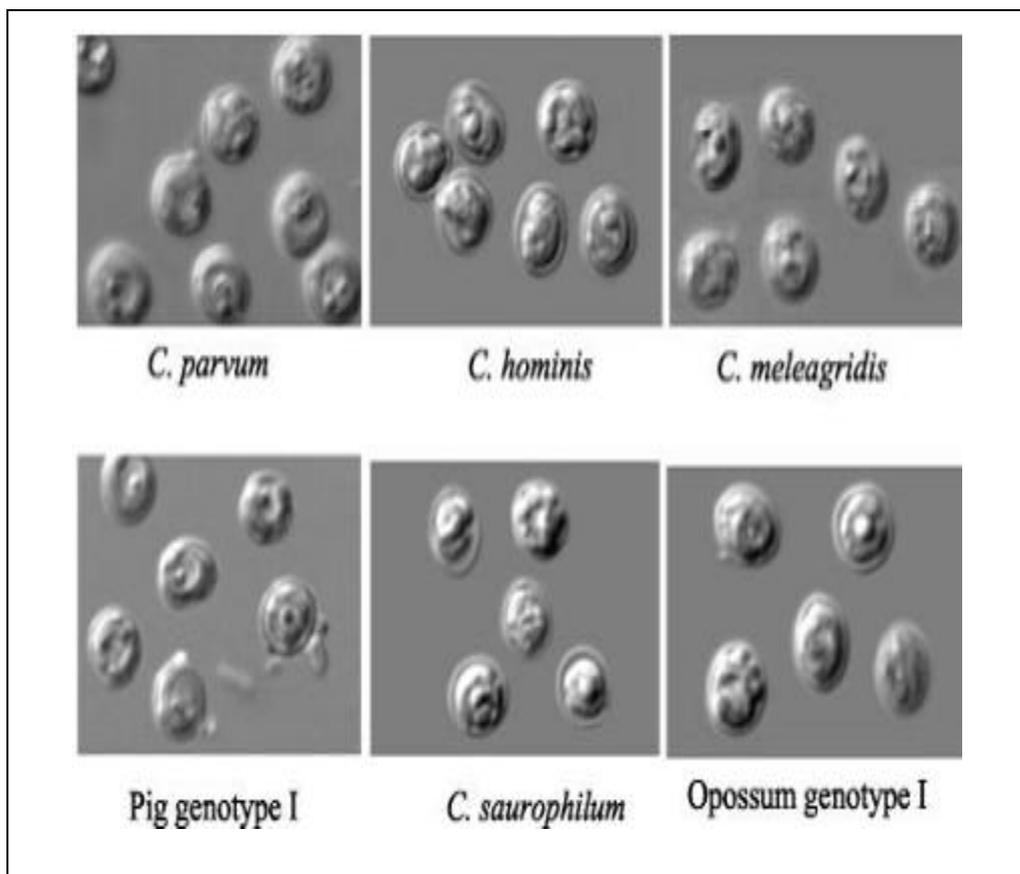
Au début du siècle, avec la découverte de *Cryptosporidium muris*, Tyzzer établit le genre *Cryptosporidium*. La 1ère espèce décrite est *Cryptosporidium muris* qui infecte la souris et un nombre limité d'autres mammifères. C'est le même auteur qui décrit avec précision la morphologie, la localisation et les stades du cycle évolutif de l'espèce qui va devenir la plus importante et la plus préoccupante pour l'homme : *Cryptosporidium parvum*. Cette espèce infecte un grand nombre de mammifères dont l'homme [14].

**Tableau 2** : Espèce validé de *Cryptosporidium* de l'homme, des animaux domestiques, et de quelques faunes. [15,13]

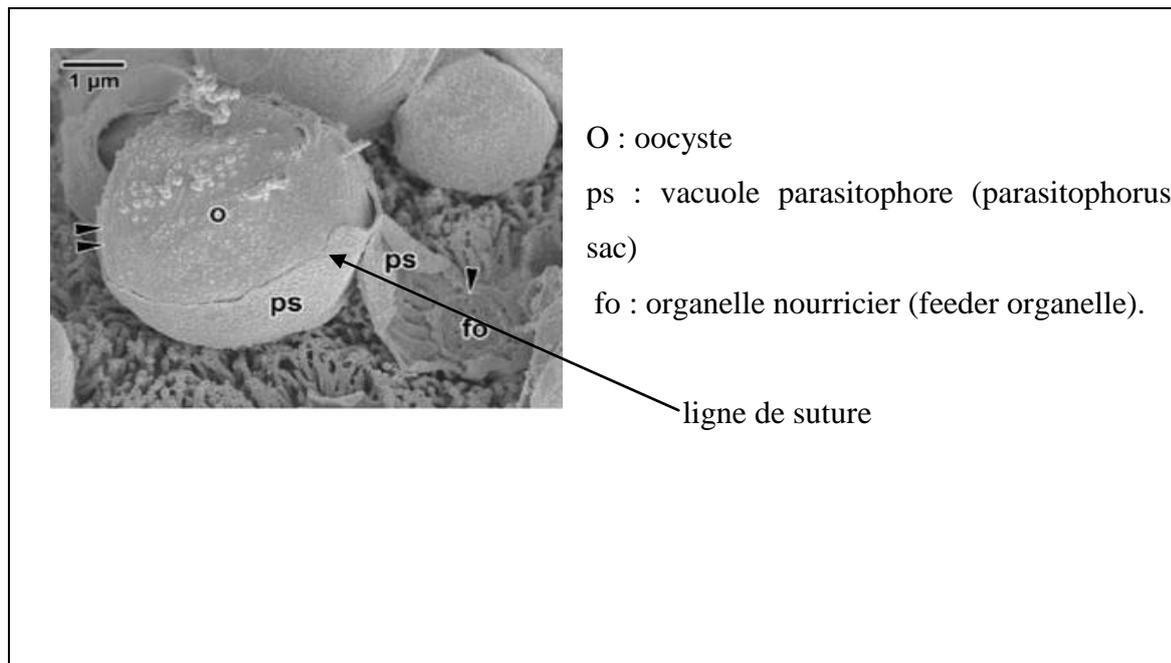
Espèce	Hôte major	Hôte mineur	Taille oocyste (micromètres)
<i>C. muris</i>	Rongeurs, chameaux bactriens.	Humains, hyrax de roche, chèvres de moutain.	8,4 × 6,3
<i>C. andersoni</i>	Bovin, chameaux bactriens	ovins	7,4 × 5,5
<i>C. parvum</i>	Bovin, ovin, caprin, homme	Cerfs communs, souris, porcs	5,0 × 4,5
<i>C. hominis</i>	Homme, singe	Dugongs, ovin	

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

<i>C. wrairi</i>	Cobayes		5,4× 4,6
<i>C. félis</i>	Chat	Homme, bovin	4,6 × 4,0
<i>C. canis</i>	Chien	homme	
<i>C. meleagridis</i>	Dinde, homme	Perroquets	5,2 × 4,6
<i>C. baileyi</i>	Poulet, dindes	Cockatiels, cailles, autruches, canards	6,2 × 4,6
<i>C. galli</i>	Pinsons, poulet, capercalles, gros-becs		
<i>C. serpentis</i>	Serpents, lézards		
<i>C. saurophilum</i>	lézards	serpents	
<i>C. molnari</i>	poissons		



**Figure01** : Morphologies des différentes espèces de cryptosporidium spp. [15]



**Figure 02** : Image de microscopie électronique par transmission d'Oocyste. [11,19]

## 5- Biologie de parasite

### 5.1 Morphologie

La forme du cryptosporidium est différente de stade évolutif à l'autre, en fonction de stade évolutif du cycle parasitaire on peut distinguer les formes suivantes :

**5.1.1. Oocyste:** est de forme sphérique à ovoïde, avec un diamètre de 4 à 8  $\mu\text{m}$  et varie selon l'espèce.

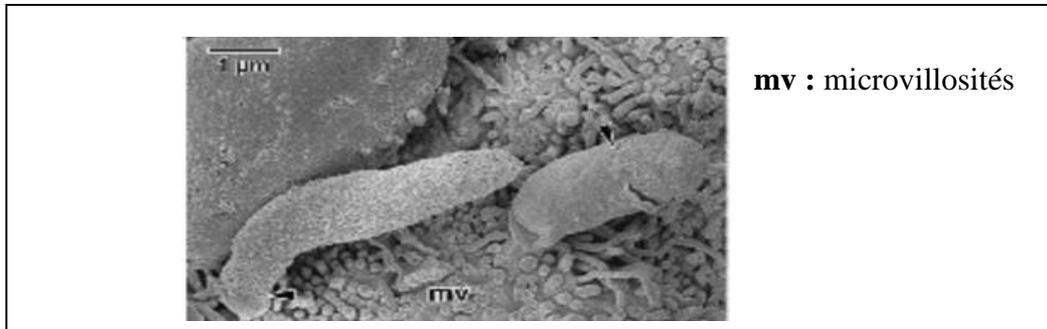
Chaque Oocyste contient quatre sporozoïtes nus sans sporocystes, et présente un corps résiduel granuleux central très réfringent. [16,17,18]

L'Oocyste est entourée par une paroi de deux couches (d'environ 50 $\mu\text{m}$  d'épaisseur) séparé par un fin espace transparent, la couche externe est composée d'un polysaccharide hautement immunogène et résistant aux protéases. La couche interne est formée par une glycoprotéine filamenteuse et joue un rôle dans la robustesse et élasticité de la paroi. au niveau d'un de leurs pôles il apparait une ligne qui entoure partiellement la paroi, c'est le lieu de suture, semblable à une fente s'étend sur 1/3 à 1/2 de leur circonférence, l'ouverture de cette suture permet la libération des sporozoïtes lors de l'excystation[18,11].

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

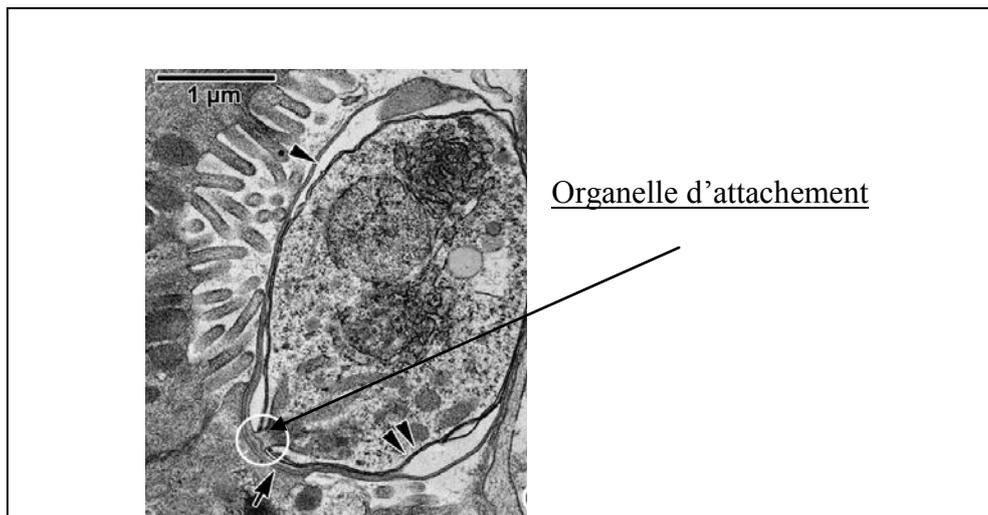
---

**5.1.2. Sporozoïtes et Mérozoïtes:** sont des cellules mobiles, allongées falciforme, présentent d'un complexe apical et sont entourées d'une double membrane. Au microscope électronique on peut observer les rhoptries, les micronèmes, les granules denses, le noyau (qu'est apical), et les microtubules ainsi que les anneaux apicaux.[4, 11,12]



**Figure 03 :** Image de microscopie électronique par transmission d'un sporozoïte. [11]

**5.1.3. Trophozoïte:** Ils possèdent un noyau unique proéminent et une organelle d'attachement/nourricier bien développé. [11]

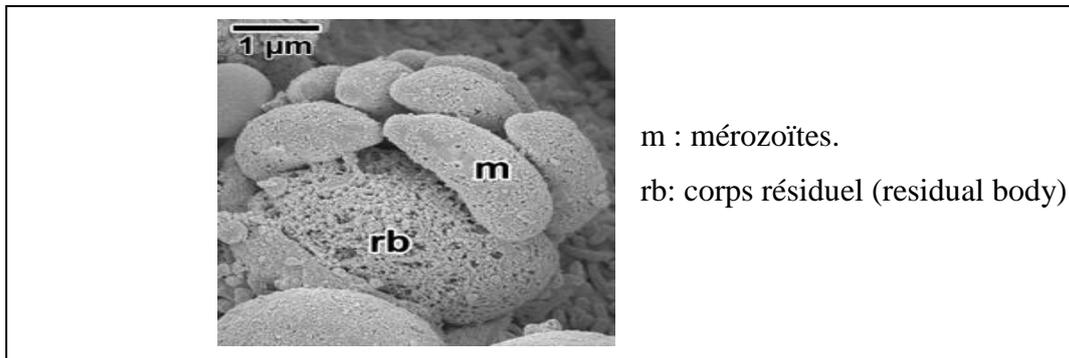


**Figure 04 :** Image de microscopie électronique par transmission d'un trophozoïte. [11]

**5.1.4. Mérontes:** Un cycle de multiplication asexué (mérogonies ou schizogonie), mène à la formation de mérontes de type I contenant chacun six à huit mérozoïtes. Les mérozoïtes restent attachés à un corps résiduel par leur extrémité postérieure. Une fois matures, les mérozoïtes se séparent du corps résiduel. La membrane cellulaire de l'hôte entourant les mérontes se lyse et les mérozoïtes deviennent extracellulaires, capables d'infecter d'autres

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

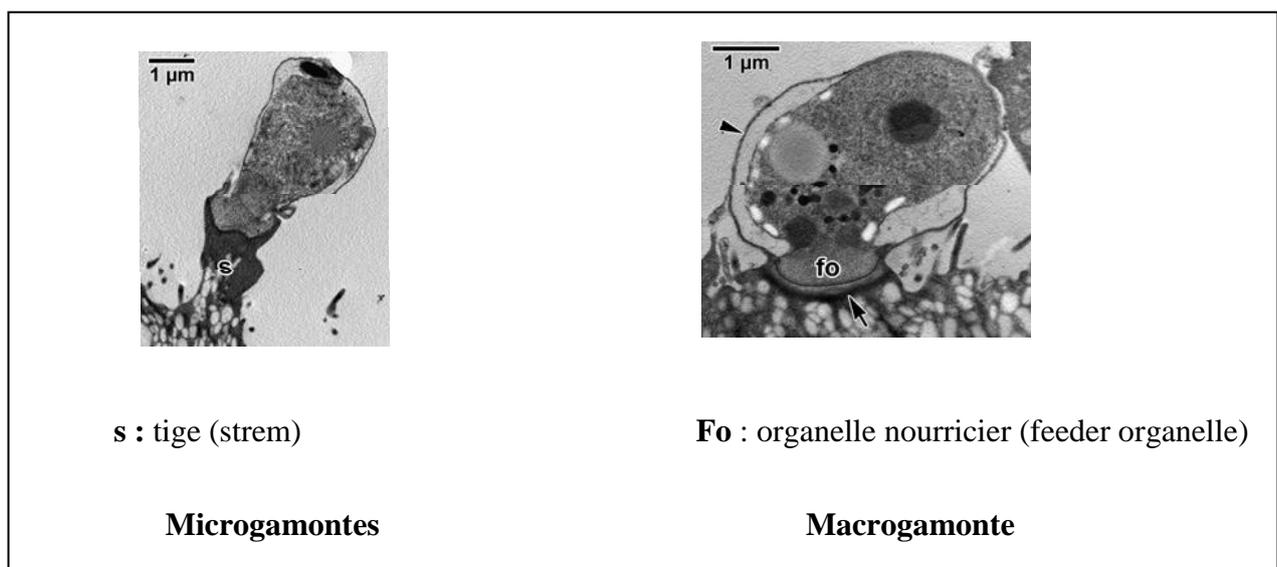
cellules hôtes pour produire de nouveaux mérontes type I ou ils peuvent évoluer vers des mérontes type II à quatre mérozoïtes. [11]



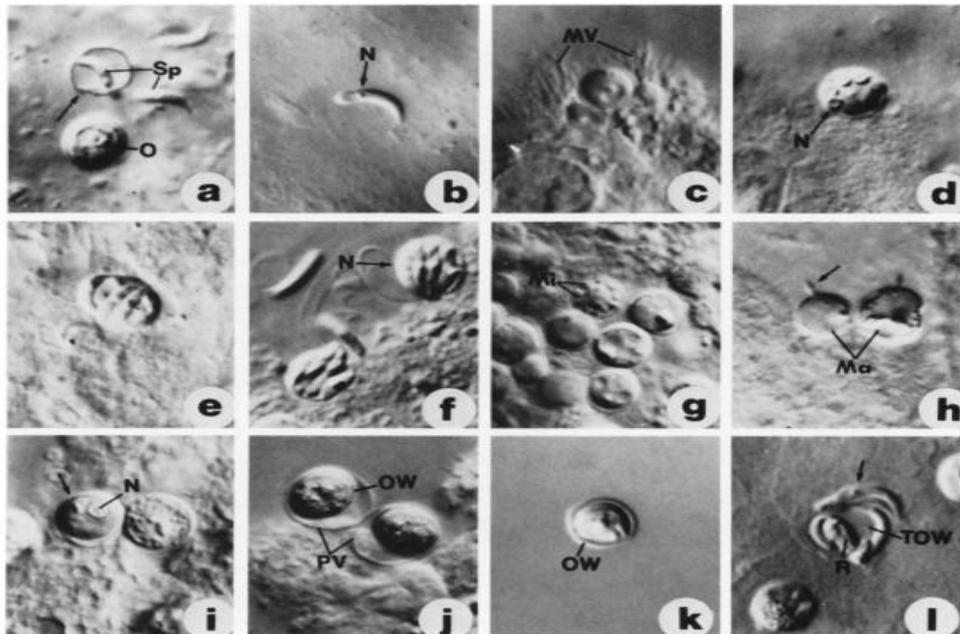
**Figure 05 :** Image de microscopie électronique par transmission d'un mérontes. [11]

**5.1.5. Microgamontes:** Ils ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. Après leurs divisions nucléaires successives donnent des microgamètes. Chaque microgamète se forme par une protrusion nucléaire à la surface du gamonte. Ils sont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie. [18,12,16]

**5.1.6. Macrogamontes:** Ils sont des formes sphériques ou ovoïdes. Ils présentent en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent. Les microgamètes s'attachent par les bords de leur coiffe apicale à la surface des cellules comportant des Macrogamontes, qu'ils fécondent pour produire un zygote, qui se développe ensuite en oocyste. Ils donnent naissance à un seul macrogamète. [11]



**Figure 06:** Image des gamontes de cryptosporidium par microscopie électronique par transmission. [11]



**Figure 07:** NOMARSKI microphotographies interférence contraste des stades de développement de *C. parvum* dans les frottis des muqueuses obtenus à partir d'intestin grêle des souriceaux infectés expérimentalement.

(A) Les sporozoïtes (Sp) excystation et libération de l'ouverture (flèche) dans un oocystes, et un oocystes intact (O). (B) sporozoïte libre montre l'emplacement postérieure du noyau (N). (C) Trophozoïte (mérontes uninucléés) entouré par hypertrophier microvillosités (MV). (D) le type immature je mérontes avec située à la périphérie des noyaux (N), dont six sont au point.

(E) méronte mature type I contenant six ou huit mérozoïtes. (F) Mature schizont Type II (méronte) montrant les quatre mérozoïtes disposés comme les segments d'une orange. Les noyaux (N) de tous les quatre mérozoïtes sont alignés dans le centre de la méronte. (G) Microgamonte avec microgamètes (Mi) bourgeonnement de la surface de la partie résiduelle. (H) Deux Macrogamonte (Ma), chacune avec une microgamonte ci-joint (flèche pointe à celui qui est dans le focus). (I) Deux Macrogamontes (Ma), dont l'un contient un microgamonte (flèche). (J) Deux oocystes avec des murs épais (OW), à l'intérieur parasitophore vacuoles (PV). (K) des oocystes à paroi épaisse intacts qui vont passer inchangée dans les fèces. (L) Un auto-infection, oocystes à paroi mince qui a rompu lamelle sous pression, en libérant les quatre sporozoïtes provenant de la paroi des oocystes mince ou

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

de la membrane (TOW). Notez le résidu d'oocystes granulaire (R) et la localisation postérieure des noyaux des sporozoïtes (flèche). [20]

### 5.2. Cycle évolutif

Les genres de cryptosporidium sont des parasite monoxène. L'oocyste est la forme de résistance du cryptosporidium, qui va assurer la dissémination de l'infestation par leur excrétion dans les fèces des sujets infectés.

Le cycle se commence par l'ingestion des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes, l'oocyste se excyste sous l'action de la trypsine et des Seles biliars, libérant ses 4 sporozoïtes, éléments infestant.

Les sporozoïtes sortent de l'oocyste et se déplacent par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Les sporozoïtes présentent alors leur complexe apical à la membrane entérocytaire. Ils sont progressivement recouverts par la membrane plasmique des cellules épithéliales. Logés dans la vacuole parasitophore ainsi formée, ils acquièrent une position atypique: intracellulaire et extra-cytoplasmique. Ce stade parasitaire internalisé est appelé trophozoïte. [3][4]

Le cycle de développement comporte deux mérogonies ou schizogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie. Le trophozoïte donne naissance à un mérontes de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I. Ces huit mérozoïtes de 1<sup>ère</sup> génération vont infecter les cellules voisines et auront alors deux destins possibles: soit donner naissance à de nouveaux mérontes de type I, soit initier une mérogonie de 2<sup>ème</sup> génération ou type II (qui donnera des mérozoïtes de type II). Ces derniers, qui sont 4 par mérontes II, initient la reproduction sexuée ou gamétogonie. Pour cela, ils se différencient soit en Microgamonte mâle, soit en Macrogamonte femelle. Les microgamonte deviennent multinucléés, chaque noyau étant ensuite incorporé dans un microgamète. Les Macrogamonte demeurent uninucléés en devenant de microgamètes. La fécondation a lieu suite à l'union des microgamètes et des microgamètes. Celle-ci aboutit à la formation de zygotes qui deviennent des oocystes. Ces derniers sont émis sporulés dans la lumière intestinale, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur et sont directement infectants pour un autre hôte sensible. [16,11]

Un maintien de l'infestation est possible au sein d'un même individu grâce aux oocystes à paroi fine qui libèrent de façon spontanée leur sporozoïtes dans la lumière intestinale. La

# CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

période prépatente peut durer de 2 à 7 jours et l'excrétion des oocystes dure en moyenne 10 jours.[12,19]

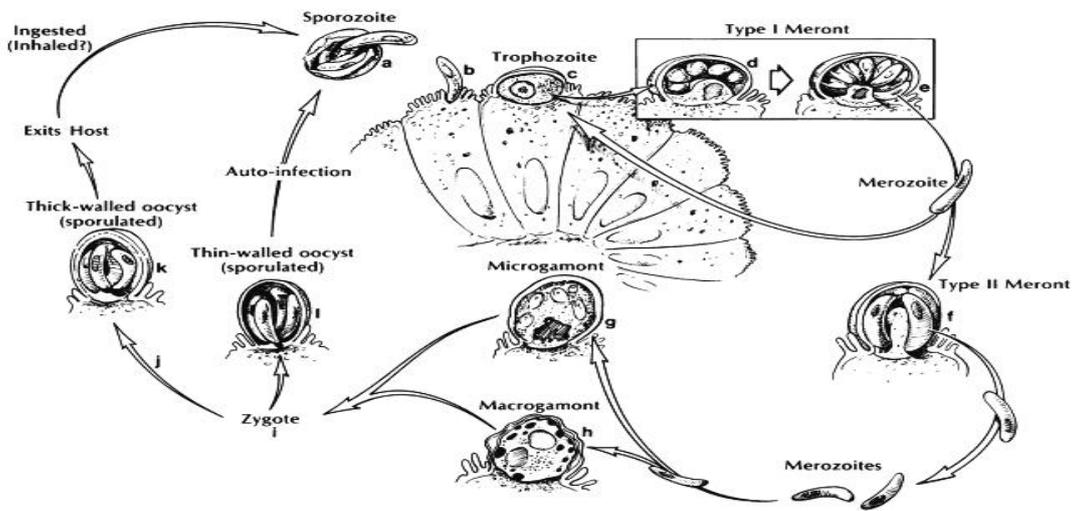


Figure 08. Cycle biologique de *Cryptosporidium* spp. [20]

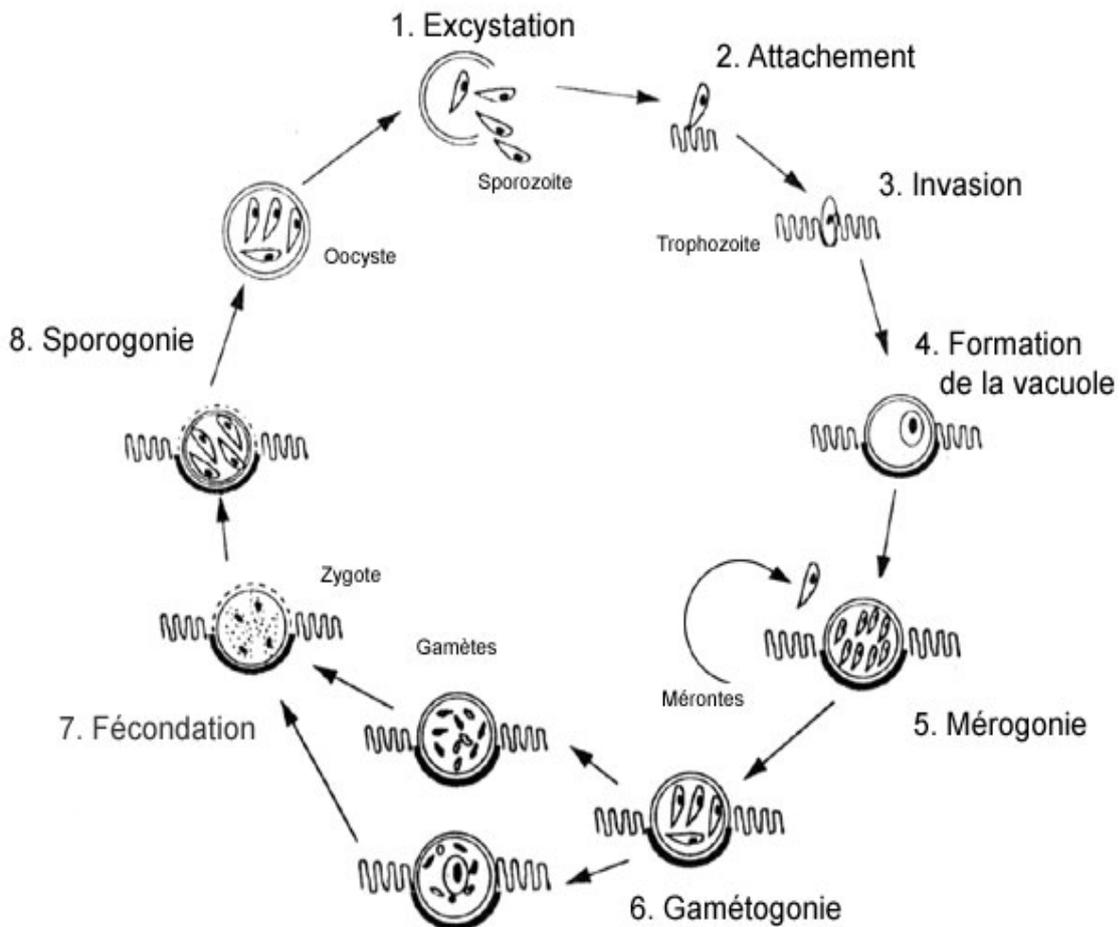


Figure 09 : les différentes étapes d'infestation d'entérocyte par *cryptosporidium* spp. [21]

### 6. Epidémiologie

Le *cryptosporidium spp*, est un protozoaire ubiquiste qu'a été isolé dans plusieurs pays au monde.

Chez le veau, on peut le rencontrer dans la première semaine avec un pic d'infestation aux alentours des 2<sup>ème</sup> à 3<sup>ème</sup> semaines d'âge. [12,16,41]

En effet l'excrétion des oocystes de *cryptosporidium* commence le 2<sup>ème</sup> jours et reste possible jusqu'à plusieurs mois. [39] La mortalité après un épisode de cryptosporidiose est faible alors que la morbidité est presque 100%. Comme le cycle de vie de *cryptosporidium* dure moins deux semaine, les veaux qui s'infectent excréteront rapidement la forme infectieuse du parasite. De cette façon ils représentent eux-mêmes une source d'infection pour leurs congénères. Le mode de transmission se fait par l'intermédiaire d'un contact direct, de matériel souillé ou par l'environnement. [42, 14,43,44]

La voie de contamination est surtout orale, plusieurs sources jouent un rôle très important dans la dissémination de l'infestation tel que les points d'eau collectif, les vaches excréteurs, les boxes et zone de parcage des veaux contaminés. [45]

Le degré d'infestation est varié en fonction de la sensibilité individuelle qui lié étroitement à l'âge et l'immunité passive et acquise de nouveau-né, plusieurs enquêtes ont été montré que la 2<sup>ème</sup> semaine présente la période d'excrétion massif des oocystes de *cryptosporidium spp*. [39,41,17]

Des facteurs liés aux l'environnement, les conditions d'élevage (les grands élevages, types de parcage des veaux, contacte étroite entre la mère et son veau dans les élevages allaitant).et le défaut de transfert passive de l'immunité chez le nouveau-né favorisent l'infestation par les cryptosporidies, ainsi le veau devient plus sensible qu'il est atteint d'infections concomitantes (entérite virale ou bactérienne). [16]

#### 6.1.Sources d'infection humaine

Les données publiées à partir de plusieurs laboratoires au début des années 1980 ont démontré que les veaux sont une source d'infection humaine. Les animaux de compagnie comme les rongeurs, chiots, chatons et peuvent également servir d'hôtes de réservoir. Ces résultats, conjointement avec les rapports de plus de 40 mammifères qui abritent le parasite et la réalisation que *C. parvum* traverse facilement la barrière des espèces d'accueil, a conduit à l'idée que la plupart des infections humaines sont le résultat de transmission zoonotique. Ce

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

point de vue est probablement correct pour personnes vivant et travaillant dans des environnements où l'exposition de contamination fécale (notamment à base d'eau) de potentiel hôte réservoirs est probable. Cependant, la transmission zoonotique ne peut pas expliquer le grand nombre d'infections signalées depuis personnes vivant et travaillant dans les zones urbaines où l'exposition à excréments d'animaux est minime. Les données actuelles indiquent que transmission de personne à personne de la cryptosporidiose est Commun en 1983, un accident d'infection en laboratoire ont démontré que isolat humain de *C.parvum* peut être transmis d'une personne à l'autre. Depuis ce temps, des épidémies de cryptosporidiose chez les enfants dans les garderies ont été rapportés. [40, 46]

### 6.2.Prévalence de la cryptosporidiose

Il existe bien des facteurs expliquant la variation de la prévalence selon les études épidémiologiques. Les méthodes diagnostiques ne sont pas les mêmes selon l'année (plus de biologie moléculaire depuis 2000) et selon le but visé (établir une prévalence ou caractériser des isolats). Il existe aussi des variations inhérentes à la pathogénie du parasite. Ainsi, l'excrétion d'ookystes varie en fonction de l'âge des animaux échantillonnés et selon le nombre d'échantillons réalisés sur le même animal (excrétion transitoire et variable du parasite) [47]. Lorsqu'on échantillonne deux fois par semaine pendant un mois les veaux d'un marché, on peut trouver une prévalence très élevée (93 % selon une étude de Villacorta et ses collaborateurs effectuée en 1991 dans la Galice située au nord-ouest de l'Espagne) [48] comparativement à ce que l'on trouverait au même âge en échantillonnant une seule fois (environ 30 % selon l'équipe de Maldonado-Camargo en 1998 et l'équipe de Garber en 1994) [49,50].

#### 6.2.1 Au niveau des fermes (au moins un animal excréteur)

**Tableau 3:** Prévalence de la cryptosporidiose. [51,52,17,41,53,54,55,45,56,57,58,14]

Lieu (année)	Nombre d'échantillon	Méthode de diagnostic	Fréquence d'isolement (%)	Références
France [Midi-pyrénèse 1999]	211	ELISA indirect	15.6 %	Bendali et al
Algérie [Centre-Est 2000]	3452	Coloration de Ziehl-Neelsen	16.9 %	Khelèf. et al

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

Algérie [Blida <b>2010</b> ]	1066	Coloration de Ziehl-Neelsen	35 % <b>ND</b>	N.Ouakli
			65% <b>D *</b>	
France [Orne <b>2011</b> ]	530	Coloration de Hein	43 %	Paraud et al
			37% <b>ND</b> /63% <b>D *</b>	
Algérie [Sétif <b>2012</b> ]	634	Coloration de Ziehl-Neelsen	22%	Benakhla et al
France [5départements <b>1995</b> ]	331 (veaux allaitants)	Coloration de Ziehl-Neelsen ELISA	50 %	Naciri et al
	382 (veaux laitiers)	Heine staining	17 %	
Danemark ( <b>1985</b> )	4269		11 %	Henriksen et Krogh
Chine ( <b>2012</b> )	2056	- Technique de coloration Acido- résistant modifié - PCR.	19 %	Fu Chen et Kehc Huang
Ethiopie (Centre <b>2008</b> )	580	- coloration Acido- résistant modifié.	17,5 %**	R.Abebe et al
Canada (Ontario <b>2002</b> )	500	- Technique d'enrichissement de saccharose (PCR) - (RFLP)	40.5 %*	Trotz williams et al.
Suède ( <b>2003</b> )	270	- Coloration de Ziehl- Neelsen.	14%	C.Bjökman et al
France(Brittany <b>2007</b> )	442***	PCR	34%	J.Follet et al

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

**ND** : Prévalence chez les veaux non diarrhéiques. **D** : Prévalence chez les veaux diarrhéiques.

\* Une forte corrélation entre la présence de diarrhée et l'excrétion des oocystes de *cryptosporidium*.

\*\*identification seulement de *cryptosporidium andersoni*.

\*\*\* 3 prélèvements des différentes classes d'âge des veaux allaitants.

### 6.2.2 Variation géographique et saisonnière

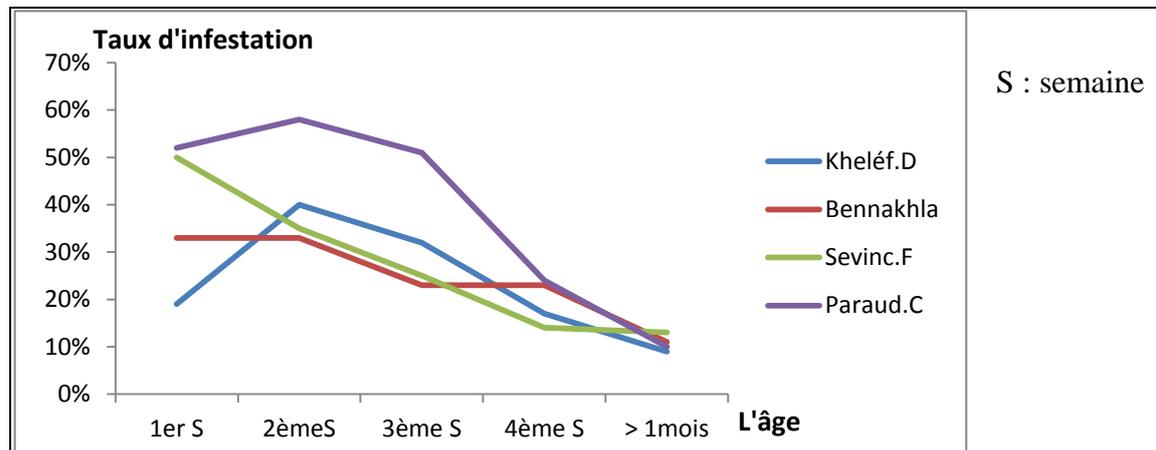
L'étude de l'équipe d'Atwill effectuée en 1999 ainsi que celle de l'équipe de Heitman en 2002 montrent une variation saisonnière puisque les ookystes de *Cryptosporidium* sont plus abondants au printemps et en été sur les fermes bovines [59, 60]. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce phénomène, notamment le fait que cette augmentation de prévalence coïncide avec la saison de vêlage, donc avec une augmentation d'animaux dans l'âge à risque [8, 59, 61, 60]. Mais Mohammed et Huetink établissent un risque accru au contraire durant l'hiver [62, 63]. De plus, certains auteurs ne trouveront aucune incidence de la saison sur la prévalence [22, 64]. Aucun ookyste n'est retrouvé dans l'eau d'un réservoir du Massachusset aux États-Unis entre la mi-avril et la mi-octobre (sauf une exception en juillet) dans l'étude de Jellison, Hemond et Schauer effectuée en 2002 [65]. La majorité sont retrouvés à la fin de l'automne et au début du printemps lorsque la température de l'eau du réservoir est inférieure à 9 °C, ce qui favorise la conservation des ookystes [65]. Des facteurs comme le climat pourraient donc intervenir. L'étude de Heitman et ses collaborateurs suppose que les événements de forte pluie pourraient avoir une incidence [60]. La région géographique échantillonnée ne semble pas avoir d'influence sur la prévalence si on se fie à l'étude de Ruest, Faubert et Couture réalisée au Québec en 1998 [10]. L'équipe d'Olson a fait une étude de la prévalence de *Cryptosporidium* en Colombie-Britannique et arrive à des conclusions similaires [24].

### 6.2.3 Variation selon l'âge

Plusieurs enquêtes épidémiologiques ont montrés que le pic d'excrétion des oocyste de *cryptosporidium* spp est autours de 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> semaine d'âge. Cependant que l'excrétion peut se commencer à partir de 3<sup>ème</sup> jour, [52,54] Aussi la prévalence des différentes espèces de *cryptosporidium* est varié selon l'âge dont 80% d'infestation par *cryptosporidium* est causé par *C.parvum* avant 5 semaines d'âge, et seulement 2% dans 15 semaines. *C.ryanae* et

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

*C. bovis* ont identifiés respectivement avec prévalence de 45% et 44% dans l'âge de 15 semaine et 45% et 50% dans 22 semaines d'âge. [14,66,44]



**Figure 10** : Taux d'infestation par le *cryptosporidium spp* en fonction d'âge. [39,41,67,53]

### 6.2.4. Différences espèce / génotype selon l'âge

Wade suggèrent que *C. parvum* infecte principalement les jeunes veaux et que l'espèce retrouvée le plus souvent chez les animaux de plus de 30 jours est *C. andersoni* [22]. Ce diagnostic est posé par technique microscopique et la morphologie de l'ookyste est le critère de classification à l'espèce. Il a été montré grâce aux techniques moléculaires que d'autres espèces ou génotypes pouvaient avoir la même morphologie que *C. parvum* ou *C. andersoni* (*C. deer-like* et *C. bovine B* ont une taille comparable à *C. parvum* selon Santin et collaborateurs [69]). C'est pourquoi on devrait parler d'ookystes de *C. parvum-like* ou *C. andersoni-like* lorsque la microscopie est le seul moyen de discrimination utilisé. L'étude de l'équipe de Santin a permis de génotyper les différents isolats trouvés selon l'âge. Ainsi, *C. parvum* serait l'espèce majoritaire chez les animaux en pré-sevrage (5 jours à 2 mois). En post-sevrage, elle représente seulement 1 % des isolats. *Cryptosporidium andersoni* ne serait que la troisième espèce en termes de prévalence post-sevrage. *Cryptosporidium bovine* type B est le génotype majoritairement retrouvé dans cette catégorie (55 % des cas), et il représente 9 % des cas pré-sevrage. *Cryptosporidium deer-like* est isolée également très fréquemment en post-sevrage (31 % des cas) alors qu'elle représente 5 % des cas au pré-sevrage [69]. Ainsi,

avec l'âge, les souches observées tendraient à être distinctes en plus du fait que la prévalence diminue fortement.

### 6.2.5. Variation selon le type de production bovine

(Boucherie vs laitière) La prévalence globale chez les veaux de moins de 3 semaines n'est pas différente selon le type de production (boucherie vs laitière) mais il semblerait que le moment où la prévalence atteint un pic soit retardé chez les veaux de boucherie [64, 59]. L'immunité passive conférée par le colostrum et le lait, riches en immunoglobulines, serait plus longue chez les veaux qui demeurent avec leur mère plus longtemps malgré une incertitude concernant le pouvoir de l'immunité passive via le colostrum pour *Cryptosporidium* [59, 70, 71].

## 6.3. Modes de transmission

### 6.3.1. Transmission verticale (mère à veau)

Il est important de savoir s'il existe une transmission des mères aux veaux dans le but d'adopter ou non des mesures préventives autour du vêlage. Plusieurs études ont exploré cet aspect. Si l'étude de Faubert et Litvinsky émet l'hypothèse de la possibilité d'une telle transmission, d'autres s'opposent à ce point de vue [72]. Cela dépendrait finalement des espèces diagnostiquées aux différents âges. Wade, Huetink et Ralston ont identifié plus spécifiquement des ookystes de *C. muris*-like et ont conclu qu'il était impossible qu'une transmission mère à veau puisse avoir lieu sur cette base [22,62,73]. Toutes ces études employaient des méthodes de diagnostic microscopiques et il est connu que la discrimination des souches est limitée avec ces techniques. L'étude de la transmission mère à veau passe inévitablement par une caractérisation génétique des souches aux différents âges. Ainsi, l'étude de l'équipe de Santin a permis de montrer qu'il y a peu de souches communes entre adultes et veaux. Sur un total de 971 veaux, 345 étaient contaminés par *Cryptosporidium* sp dont 243 étaient en pré-sevrage et 92 en post-sevrage. Environ 85 % des infections en pré-sevrage étaient causées par *C. parvum* alors que seulement 1 % des veaux en post-sevrage étaient infectés par cette espèce. La transmission entre ces deux groupes d'âge, sensibles à des parasites différents, est probablement négligeable [69].

Une étude de l'équipe de Kanyari a permis de mettre en évidence la transmission transplacentaire de *C. parvum*. Ils ont prélevé des ookystes provenant de veaux infectés et ont administré oralement 2 millions d'unités viables à des souris de laboratoire gestantes de 5

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

jours qui ont reçu de la dexaméthasone, une molécule de la famille des corticostéroïdes fréquemment utilisée comme immunosuppresseur, durant 6 jours,. Ils ont ensuite observés *C. parvum* à différents stades de développement à l'intérieur des intestins fœtaux. Malgré l'utilisation de la souris de laboratoire comme modèle pour l'infection expérimentale, les auteurs considèrent que la situation est fort probablement la même pour les autres espèces animales incluant les bovins et les humains. Il est donc possible pour une vache gestante ayant un système immunitaire affaibli de transmettre *C. parvum* au fœtus par la voie transplacentaire [74].

### 6.3.2. Transmission horizontale

#### 6.3.2.1. Veau à veau

Selon certaines études, la possibilité de contact entre les veaux est un facteur significatif d'augmentation des infections chez les jeunes âgées de moins de trois mois [75]. Par contre, d'autres trouveront qu'il n'y a pas d'influence significative du type de logement (en groupe ou individuel) sur le risque d'infection [69, 49]. Des vecteurs mécaniques comme les bottes de travail pourraient être responsables de la transmission dans une ferme où les veaux sont maintenus physiquement séparés les uns des autres [69, 49].

#### 6.3.2.2. Par des vecteurs externes animés

les travailleurs à la ferme pourraient représenter des vecteurs mécaniques de transmission entre les veaux. L'étude de l'quipe d'H'andley le suggère alors que la prevalence est très fort dans une étable où le contact entre les veaux est impossible[76].Klesius et ses collaborateurs montre que les souris presents dans les batiments d'élevage bovins pourraient jouer le role de reservoir pour les jeunes animaux de l'étable[77].Ils ont inoculé 7 veaux avec les matières fécales de souris porteuses et excrétrices attrapée dans le même élevage [77]. Tous les veaux montrèrent des signes cliniques compatibles avec la cryptosporidiose et excrétèrent des ookystes [77]. Ainsi, les souris pourraient non seulement assurer la transmission de l'infection d'un veau à un autre mais également maintenir cette infection car les souris excrètent en moyenne les ookystes plus longtemps que les jeunes bovins [77]. Une étude menée par Quay et son équipe a montré que les rats norvégiens (*Rattus norvegicus*) pouvaient également servir de

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

réservoir sur les fermes laitières de la Grande-Bretagne et que la prévalence pour ces rongeurs était plus élevée chez les jeunes en comparaison avec celle retrouvée chez les adultes [78]. Les rongeurs sont généralement attirés par la moulée entreposée pour les animaux de ferme et peuvent ainsi la contaminer. L'eau donnée aux animaux peut également être contaminée par les fèces de rongeurs porteurs de *Cryptosporidium*[78].

La transmission par des insectes vecteurs comme les mouches (diptères) ou les bousiers (coléoptères coprophages), bien que considérée mineure, a aussi été étudiée. L'équipe de Clavel a trouvé *C. parvum* sur 18 % des mouches d'une ville où les infections à *Cryptosporidium* sont connues chez les bovins [79]. Les mouches porteraient les ookystes aussi bien dans leur tractus digestif que sur leur cuticule [81]. Elles pourraient transporter jusqu'à 1000 ookystes capables d'infecter des souris pour un minimum de 3 semaines [80]. Szostakowska et ses collaborateurs ont montré que les mouches capturées aux alentours des fermes portaient beaucoup plus de *Cryptosporidium* que celles retrouvées ailleurs, notamment dans les villes [81]. Les insectes se nourrissant de matières fécales comme les bousiers ont aussi le potentiel de transporter des ookystes [82].

### 6.3.2.3. Par des vecteurs externes inanimés

Des échantillons pris sur du fumier sec ramassé à l'intérieur de l'étable, dans des enclos de vèlage et à partir des poussières prises de 3 à 6 mètres du sol (fenêtres, mangeoires et poutres) montrent une grande contamination de *Cryptosporidium* dans l'environnement des vaches et, contrairement aux résultats de l'étude de l'équipe de Huetink [62], les échantillons pris sur les murs et le sol des huttes de veaux sont en grande partie positifs à *Cryptosporidium parvum*-like [72, 83, 84].

De nombreuses études montrent l'omniprésence de *C. parvum* dans l'eau en général qu'elle soit potable ou non [82]. Même si le parasite peut infecter l'homme à partir d'un animal excréteur, la majorité des épidémies humaines rapportées dans la littérature sont le résultat de l'ingestion d'eau contaminée. À Milwaukee aux États-Unis en 1993, la contamination de l'eau potable était responsable de quelque 400 000 infections et d'environ une centaine de décès [85]. L'eau des piscines serait à suspecter selon l'équipe de Takagi qui rapporte 288 cas à Nagano au Japon suite à une baignade en compagnie de personnes infectées affichant des signes cliniques de diarrhée [86].

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

Pour Huetink et ses collaborateurs, l'eau de pluie, en ruisselant à partir de fumier contaminé, serait un vecteur potentiel de contamination entre les veaux [62]. L'équipe de Heitman a montré en 2002 que l'eau de consommation pour les animaux est à considérer dans la transmission des ookystes : les fermes où l'approvisionnement est l'eau de pluie sont plus à risque de contamination [60]. De plus, l'accès direct des animaux à l'eau de rivière est un facteur de risque alors que l'eau d'un puits serait moins souvent contaminée [60]. Castro-Hermida, Gonzàlez-Losada et Ares-Mazàs n'ont pas observé de différence entre l'eau de puits et celle de distribution municipale quant au risque d'infection [83].

### 6.4. Ookystes et résistance aux conditions adverses

La microscopie permet une distinction entre deux types morphologiquement différents d'ookystes. *Cryptosporidium parvum* apparaît sous forme sphérique de 4 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre alors que *C. mûris* est de forme ovale et d'un diamètre de 7 à 9  $\mu\text{m}$  [22]. Sous leur forme dormante, les espèces du genre *Cryptosporidium* sont relativement résistantes aux conditions adverses de l'environnement en comparaison avec les autres protozoaires et ils peuvent même survivre au traitement chloré de l'eau potable ainsi qu'aux désinfectants utilisés dans les laboratoires, les hôpitaux et les fermes d'élevage [23]. En 1998, une étude de Ruest, Faubert et Couture a montré que *Cryptosporidium*, contrairement à *Giardia*, avait le même pouvoir infectieux pour les bovins élevés à l'intérieur que pour ceux élevés à l'extérieur où les conditions sont généralement moins propices à la survie des protozoaires en raison des rayons ultra-violet, des écarts de température et du manque d'humidité [10]. Cependant, les auteurs de cette étude mentionnent que l'excrétion du parasite est intermittente et qu'un seul échantillon fut prélevé sur chaque animal, ce qui pourrait avoir sous-estimé la prévalence réelle de *Cryptosporidium* chez les animaux élevés à l'intérieur et à l'extérieur [10]. L'ookyste, la forme de résistance par excellence du parasite, peut survivre plus de 3 mois à des températures situées entre  $-4$  et  $4^{\circ}\text{C}$  dans des milieux variés comme l'eau, le fumier ou le sol [24,25]. Cependant, cette résistance environnementale a ses limites. Ainsi, les températures extrêmes comme la chaleur ou la congélation accélèrent la destruction des ookystes [26,27]. Le caractère infectieux du microorganisme est complètement disparu en moins de 6 mois dans des conditions idéales pour la survie, en moins de 2 semaines à une température variant entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$  et en moins de 5 jours à  $37^{\circ}\text{C}$  [28]. Les ookystes meurent en quelques heures en milieu sec à température ambiante [29]. Cependant, lorsqu'enfouis dans le sol ou en milieu aqueux, les ookystes peuvent demeurer actifs et conserver leur pathogénicité pendant

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

plusieurs mois selon la température ambiante [7, 30] Par exemple, la viabilité des ookystes peut durer 12 mois dans l'eau à 4 °C [30].



**Figure 11.** Ookystes de *Cryptosporidium m* (tiré du site [www.marvistavet.com](http://www.marvistavet.com))

Les ookystes de *Cryptosporidium* sont très résistants à la plupart des désinfectants et des antiseptiques. En ce qui à trait aux produits couramment utilisés en milieu hospitalier, certains produits peuvent détruire les ookystes : le formaldéhyde 10 %, l'ammoniac 5-10 %, le peroxyde d'hydrogène 3 % et les produits javellisants. Malheureusement, la majorité de ces produits ne peuvent être utilisés à de telles concentrations en milieu hospitalier en raison de leur toxicité [31,32]. De plus, l'efficacité du chlore est diminuée par la présence de matières fécales où se trouvent le plus souvent les ookystes [8]. En 1999, Wilson et Margolin ont confirmé que ni le glutaraldéhyde 2,5 %, ni le phénol 10 % pas plus que la providone-iodine 10 % ne sont efficaces pour l'élimination des ookystes [66]. En 1996, Fayer et ses collaborateurs ont testé l'efficacité de la désinfection par certains gaz [26]. Ainsi, l'ammoniac, l'oxyde d'éthylène et le bromure de méthyle (ou bromométhane) ont une excellente efficacité selon cette étude [26]. L'oxyde d'éthylène, utilisé dans les hôpitaux pour la stérilisation du matériel, est potentiellement carcinogène [33]. En ce qui concerne le bromure de méthyle, utilisé comme antiparasitaire en agriculture, on le considère nocif pour l'environnement (destruction de la couche d'ozone) ainsi que pour les humains (cancers de la peau) [34]. Le traitement de l'eau de consommation par les produits chlorés, comme pratiqué pour certains processus de traitement des eaux, n'est pas suffisant pour l'élimination complète du pouvoir infectant [8]. L'ozonation et le traitement aux UV sont les plus efficaces pour la désinfection de l'eau [30]. Une concentration aussi faible que 0,59 mg d'ozone par litre d'eau suffit à réduire de 96 % le nombre de souris qui produisent des ookystes (*inoculum* de  $1 \times 10^5$  ookystes/mL) [30]. Mais l'ozonation serait moins efficace à température basse [35]. Un autre obstacle pour pour l'utilisation à grande échelle de l'ozone est la formation de bromate

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

lorsque l'eau contient du bromide. Il s'agit d'un produit carcinogène [35]. Une dose de rayons ultra-violets aussi faible que  $9 \text{ mJ cm}^{-2}$  peut inactiver 99.9 % des ookystes de *Cryptosporidium* [35]. Le dioxyde de chlore a également montré des effets intéressants [30]. Une concentration de 0,46 mg de dioxyde de chlore par litre d'eau suffit à réduire de plus de 93 % le nombre de souris qui produisent des ookystes (*inoculum* de  $1 \times 10^4$  ookystes/mL) [30]. La filtration standard de l'eau est peu efficace puisque les cellules de *Cryptosporidium* ont la capacité de se déformer pour traverser des pores de dimension inférieure à leur diamètre [36]. L'utilisation de filtre de sable réduit le nombre d'ookystes sans les éliminer totalement [8].

### 6.5. Facteurs de risque

#### 6.5.1. Exposition en bas âge

Tel que mentionné précédemment, l'exposition en bas âge demeure le principal facteur de risque de voir apparaître la diarrhée chez les bovins. De plus, il a été montré que plus l'infection survient tôt dans la vie du veau, plus l'excrétion est prolongée [98].

#### 6.5.2. Densité animale

Le nombre de vaches laitières dans une étable tout comme le nombre d'animaux de ferme autres que des bovins sont des facteurs de risque importants [87, 141]. De même, Kvàc et Vitotec trouvent une prévalence plus élevée de *C. andersoni* lorsque les vaches sont à l'étable plutôt qu'au pâturage [94]. Certains chercheurs ont trouvé que les fermes ayant une densité d'animaux élevée étaient moins à risque mais une meilleure hygiène pourrait fausser l'interprétation de ces résultats [98].

#### 6.5.3. Type de sol et nettoyage

Les mauvaises conditions de salubrité augmentent significativement le risque de cryptosporidiose. Castro-Hermida, González-Losada et Ares-Mazàs définissent trois facteurs de risque : la méthode de nettoyage, la fréquence des nettoyages ainsi que le type de sol. Même si le produit utilisé n'est pas précisé, le simple fait de désinfecter diminue significativement le risque [142]. La fréquence de nettoyage est également importante. Si les stalles sont lavées une seule fois par mois, les veaux peuvent être jusqu'à deux fois plus à risque d'être infectés comparativement à si on les nettoie quotidiennement [98]. La litière semble avoir également beaucoup d'influence. Les animaux logés sur de la paille avec un sol en terre ont plus de risque d'être infectés que ceux vivant sur le ciment. La terre et la paille

## CHAPITRE I: Etude Générale du Parasite

---

conservent beaucoup mieux l'humidité que les sols en ciment ce qui permet une meilleure survie du parasite [118]. De plus, il est possible de désinfecter un plancher de ciment et cela diminue les risques de contamination de 62 % [98]. Le balayage est aussi un facteur de risque important en permettant le transport des ookystes d'une stalle à l'autre [49]. La majorité des désinfectants comme ceux à base de chlore ne sont pas reconnus efficaces pour éliminer *Cryptosporidium* de l'environnement. Récemment, des désinfectants à base d'amines comme le KENO<sup>TM</sup> COX, un brevet en instance, se sont montrés très efficaces. L'équipe de Naciri a montré que les ookystes sont détruits ou inactivés complètement après un traitement de 2 heures avec une solution de KENO<sup>TM</sup> COX concentrée à 3 % [143].

### 6.5.4. Type de logement

Le type de logement (individuel ou en groupe) ne semble pas avoir d'effet significatif sur le risque d'infection [69, 49]. Les vecteurs de transmission animés et inanimés pourraient expliquer en bonne partie cette absence de différence entre les types de logement [69, 49].

### 6.5.5. Prise de colostrum

Dans une étude de Tzipori et collaborateurs sur des veaux diarrhéiques, la plupart des veaux étaient hypoglobulinémiques [144]. On pourrait supposer que la prise de colostrum serait un facteur de protection face à *Cryptosporidium* [144]. Le fait d'administrer du colostrum frais plutôt que congelé diminue l'incidence de la maladie [87]. D'autres trouveront que le colostrum n'offre aucune protection face à la cryptosporidiose [145, 141]. Une étude de Baillargeon en 2004 a même montré que le colostrum bovin pouvait être contaminé par *C. parvum* et devenir, paradoxalement, une source d'infection pour le veau naissant [146]. Cependant, administrer un colostrum hyperimmun bovin permet de diminuer le temps d'excrétion (6,2 jours en moyenne contre 8,5 jours), la durée de l'épisode de diarrhée (2,3 jours contre 5 jours) et le nombre d'ookystes excrétés par rapport à un colostrum normal [147]. Martin-Gomez, Alvarez-Sanchez et Rojo-Vazquez obtiennent des résultats similaires avec du colostrum hyperimmun provenant de brebis mais seulement 3 individus furent utilisés pour leur étude ce qui n'est pas très significatif [70].

### **6.5.6. Alimentation**

Le fait de donner de la moulée serait un facteur de risque à cause d'une contamination par les fèces de rongeurs ou en raison d'une trop grande perturbation de la microflore intestinale au moment du sevrage des veaux [49]. Les veaux nourris au lait reconstitué sont 5 fois moins à risque que ceux nourris au lait naturel dont les risques de contamination sont beaucoup plus élevés [87]. L'eau aussi peut être contaminée puisque la désinfection de l'eau, généralement à base de chlore, est inefficace pour éliminer complètement les ookystes [8].

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

### 7. Clinique et lésions

#### 7.1. Clinique

Chez les bovins, comme pour la majorité des espèces animales sensibles, la maladie causée par *C. parvum* est surtout observée chez les jeunes âgés de 4 à 30 jours alors que le système immunitaire est encore relativement immature. Au sein des troupeaux laitiers, le parasite fait partie du complexe de la diarrhée néonatale qui occasionne d'importantes mortalité et morbidité [7]. Les pertes économiques pour l'éleveur sont associées à la mortalité, au retard de croissance, aux mesures de prévention mises en place et au coût des traitements instaurés [6,9]. De nombreux veaux peuvent être exposés à *C. parvum* dès les premières heures de vie [7, 72] et ainsi excréter les parasites à partir de 3 ou 4 jours d'âge [87, 88, 89, 90]. De plus, il a été montré que l'excrétion fécale de *Cryptosporidium* sp chez la vache porteuse asymptomatiquement est plus importante lors du stress associé au vêlage, augmentant davantage l'exposition du nouveau-né [72]. Cependant, les adultes n'excrètent pas nécessairement les génotypes de *Cryptosporidium* qui infectent les jeunes veaux [22]. On rapporte habituellement une forte morbidité associée à une mortalité modérée à élevée [72]. Une plus forte mortalité est généralement associée à une infection concomittante avec d'autres agents pathogènes appartenant au complexe des diarrhées néonatales comme *Escherichia coli*, les rotavirus de même que les coccidies [7, 8, 89]. L'équipe d'Enemark avait d'ailleurs remarqué que la co-infection avec rotavirus pouvait rendre la cryptosporidiose beaucoup plus grave [91]. Une étude de Heine et ses collaborateurs a montré que *Cryptosporidium* à elle seule peut produire les signes cliniques suivants: anorexie, dépression, diarrhée et fièvre [92]. Des rechutes sont possibles après rémission apparente [93]. Les adultes et parfois les jeunes peuvent excréter le protozoaire tout en demeurant porteurs asymptomatiques [8]. Les veaux peuvent également être porteurs asymptomatiques lors d'infection à *C. muris* qui est une espèce différente de *C. parvum* [94]. La virulence, la pathogénicité, l'antigénicité, la sensibilité aux différents médicaments ainsi que le caractère infectieux peuvent être influencés par la variabilité phénotypique entre les différentes souches de *Cryptosporidium* [95, 96]. Ainsi, un patient souffrant de cryptosporidiose peut montrer des signes cliniques légers ou sévères en fonction du phénotype (virulence et pathogénicité) du parasite [95]. La guérison dépend de la réponse au traitement qui peut être bonne ou mauvaise selon les protéines exprimées par le microorganisme [95]. La nature des protéines d'un organisme change en fonction du phénotype exprimé ce qui peut grandement

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

influencer la réponse immunitaire de l'hôte qui est basée essentiellement sur la reconnaissance des protéines antigéniques retrouvées à la surface des ookystes [95].

### 7.1.1. Diarrhée et douleur abdominale

La diarrhée persiste 5 à 12 jours, avec une moyenne de 7 jours [8,9]. Un dos arrondi en raison de la douleur abdominale fait souvent partie des signes cliniques [7]. La sévérité et la durée varient considérablement d'un individu à l'autre [97]. Certains auteurs ont montré une corrélation significative entre la présence de diarrhée et l'excrétion de *Cryptosporidium* [7, 22, 64, 98] alors que d'autres n'arrivaient pas aux mêmes conclusions [10, 62]. Selon une étude de Wade, Mohammed et Schaaf réalisée en 2000, un animal diarrhéique a 36,5 fois plus de chance d'être excréteur de *C. parvum* qu'un animal en santé [22]. En revanche, un animal normal a 2 fois plus de chances d'excréter *C. muris* qu'un animal diarrhéique [22]. Cela pourrait s'expliquer par le fait que *C. muris* est faiblement pathogène (porteurs asymptomatiques la plupart du temps) chez les bovins et qu'elle n'est pas l'espèce à suspecter lors d'épisodes de diarrhée [99].

Olson et ses collaborateurs ont trouvé une prévalence de 20% de *Cryptosporidium* chez 104 bovins adultes au Canada en 1997, alors qu'aucun n'a de signes de diarrhée (porteurs asymptomatiques) [25]. Mais d'autres aspects du fumier peuvent être corrélés avec l'excrétion du parasite selon les observations de l'équipe de Castro-Hermida effectuées en 2002 (fèces molles ou liquides avec présence de mucus et de sang) [64, 98]. Cependant, la diarrhée causée par *Cryptosporidium parvum* seule n'entraîne pas l'apparition de sang dans les fèces en raison de la localisation très superficielle du parasite [64, 98] et, selon l'étude de l'équipe d'Atwill datant de 1999, il y a une faible corrélation entre la présence de fèces liquides et l'excrétion du protozoaire [59]. En général, la présence de sang et les fèces liquides sont plutôt associées à une coexistence entre *Cryptosporidium parvum* et d'autres agents entéropathogènes (infection mixte avec rotavirus, coronavirus, *Salmonella*, ou autres) [7, 100].

### 7.1.2. Déshydratation et perte d'électrolytes

La déshydratation et la perte d'électrolytes sont les conséquences directes de la perte importante d'eau par malabsorption intestinale lors de diarrhée. Naciri et ses collaborateurs rapportent 11,8% (n=153) de veaux de boucherie déshydratés de façon importante lors de cryptosporidiose (pli de peau persistant au-delà de 30 secondes, yeux enfoncés dans les orbites et muqueuses sèches) [7]. Cette étude, qui a eu lieu en 1999, montre également l'existence d'un

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

décalage entre le moment de la diarrhée, qui se produit autour du troisième jour d'observation, et celui de la déshydratation qui survient plutôt vers le quatorzième jour [7]. Des déséquilibres électrolytiques (Na, Cl, K, Ca et P) ainsi que des variations du pH sanguin sont à prévoir lors de diarrhées importantes s'étalant sur plusieurs jours [8].

### 7.1.3. Amaigrissement

Les maladies entériques causant de l'amaigrissement sont habituellement celles qui causent une diarrhée modérée sur une longue période (chronique) plutôt qu'une diarrhée aigüe pendant une courte période de temps comme c'est le cas en général lors de cryptosporidiose simple [7, 8]. Cependant, la maladie ouvre la porte à d'autres agents pathogènes opportunistes permettant de prolonger et d'augmenter la sévérité de la diarrhée en plus d'occasionner un amaigrissement important [7, 8]. Selon Anderson en 1987, *C. muris* pourrait entraîner une diminution du gain moyen quotidien comme l'a montré l'examen post-mortem de bouvillons contaminés appartenant à un parc d'engraissement de 88 têtes [99]. Des lésions importantes au niveau de l'abomasum ainsi qu'une forte présence du parasite semblaient indiquer une performance suboptimale du système digestif. Cependant, le gain moyen quotidien des animaux infectés était semblable à celui des individus qui n'ont pas été colonisés par le parasite [99].

### 7.1.4. Diminution de la production laitière

*Cryptosporidium muris* serait responsable d'une diminution significative de la production laitière [99]. En 1995, Esteban et Anderson avaient remarqué une diminution de la production laitière sur 5 fermes différentes [101]. La perte était de 3,2 kg par jour de production laitière (moyenne de 4 fermes sur 5), soit 13% de lait en moins par rapport aux vaches non-porteuses des autres fermes [101]. Cette diminution de productivité a été notée pour les vaches de 70 à 149 jours en lactation [101]. *Cryptosporidium muris*, découverte d'abord chez les rongeurs, infecte principalement les glandes de l'abomasum des bovins ce qui n'entraîne pas de signes cliniques décelables. Cependant, la production d'acide chlorhydrique est retardée ce qui ralentit la digestion stomacale des protéines. Selon Anderson en 1998, ce phénomène pourrait

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

expliquer la baisse de production laitière chez les vaches portant ce parasite. Mais le même auteur affirme qu'il est plus important d'éviter le contact de l'eau de surface par des fèces contaminées pour éviter la baisse de production laitière [102].

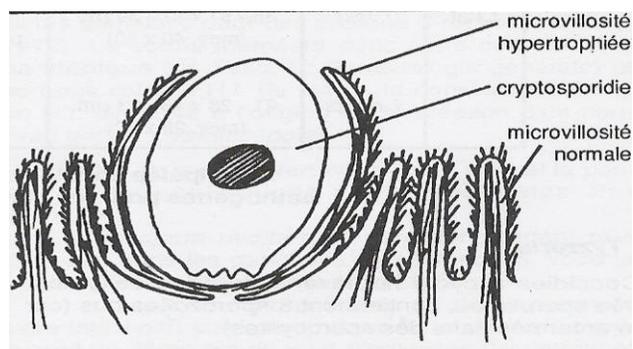
### 7.2. Lésions

Histologiquement, *C.parvum* atteint principalement la partie distale de l'intestin grêle, on retrouve également des lésions dans le caecum et le côlon, et occasionnellement dans le duodénum, les lésions sont les mêmes que celles rencontrés dans les entérites virales, à savoir une atrophie des villosités, on note également une hyperplasie de l'épithélium au niveau des cryptes, une infiltration de la lamina propria par des neutrophiles et parfois des macrophages, une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques, les schizontes et les trophozoïte sont visibles dans les microvillosité en nombre plus conséquent dans le jéjunum et l'iléon.[103]

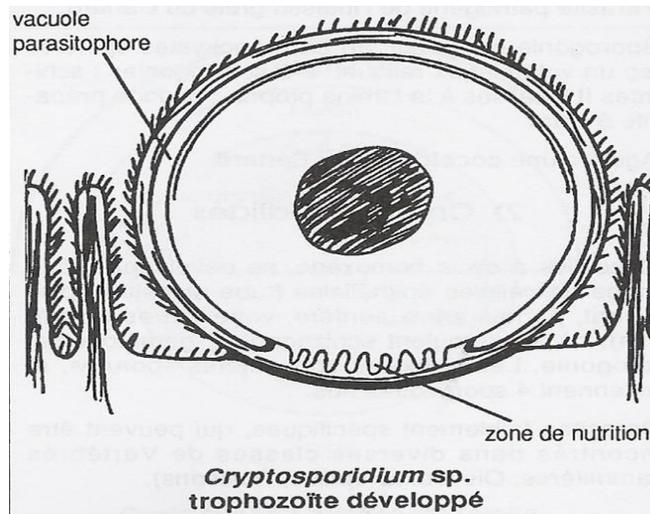
### 7.3. Pathogénie

Après ingestion, les oocystes libèrent des sporozoïtes qui se fixent aux microvillosités des cellules superficielles de la muqueuse intestinale. Ceux-ci se transforment en trophozoïte qui sont invaginés par la membrane cytoplasmique et restent donc extra cytoplasmiques. Cette invasion entraîne la destruction de l'épithélium et une atrophie bénigne à modérée des villosités.

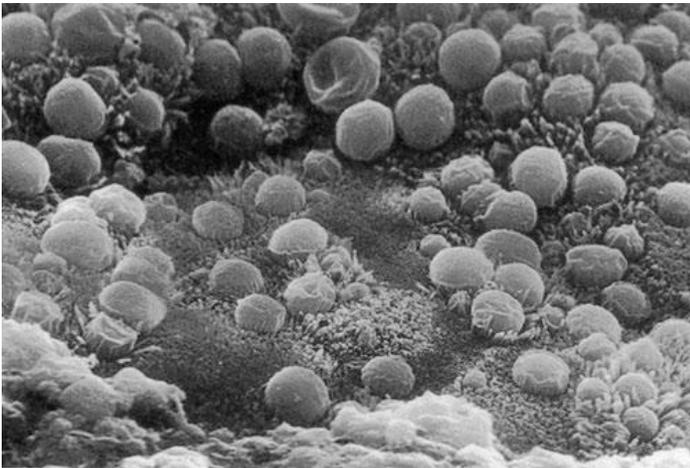
Cela empêche l'absorption intestinale et entraîne donc une diarrhée par malabsorption des nutriments et malnutritions.[ 37,12,38]



**Figure 12:** Début de développement d'un trophozoïte de *Cryptosporidium parvum* [37]



**Figure 13 :** Trophozoïte de *Cryptosporidium parvum* développé dans la membrane cytoplasmique d'un entérocyte . [37]

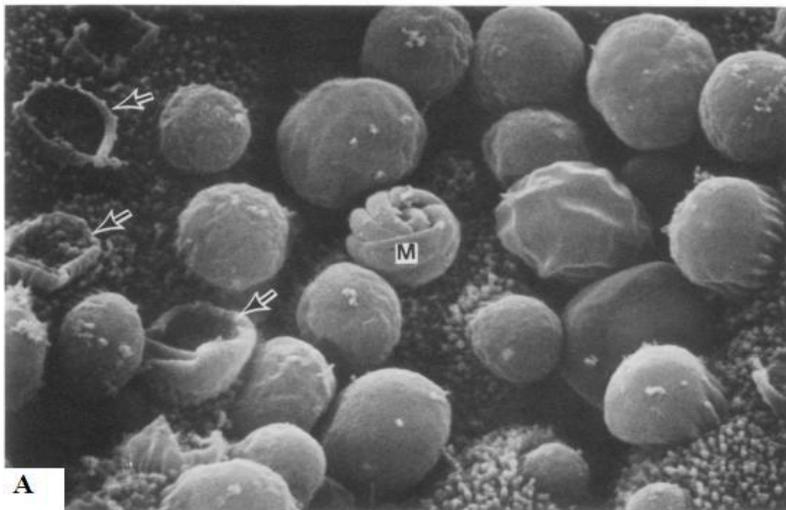


**Figure 14 :** Cellules intestinales infestées par des trophozoïtes de *Cryptosporidium parvum* en microscopie à balayage. [39]

La première interaction hôte-parasite d'attachement et d'invasion sont les principaux événements critiques dans la pathogenèse à l'intervention des facteurs et des molécules spécifiques hôte-parasite. Cependant, on en sait peu sur les molécules du parasite et de l'hôte spécifiques impliqués dans ces processus. La connaissance d'une telle molécule est cruciale pour la compréhension du mécanisme pathogène utilisé par ces parasites. La première interaction hôte-parasite de l'attachement, de l'invasion et la formation de vacuole parasitophore sont complexes processus qui impliquent plusieurs ligands de parasites et hôtes récepteurs. Ces interactions ont

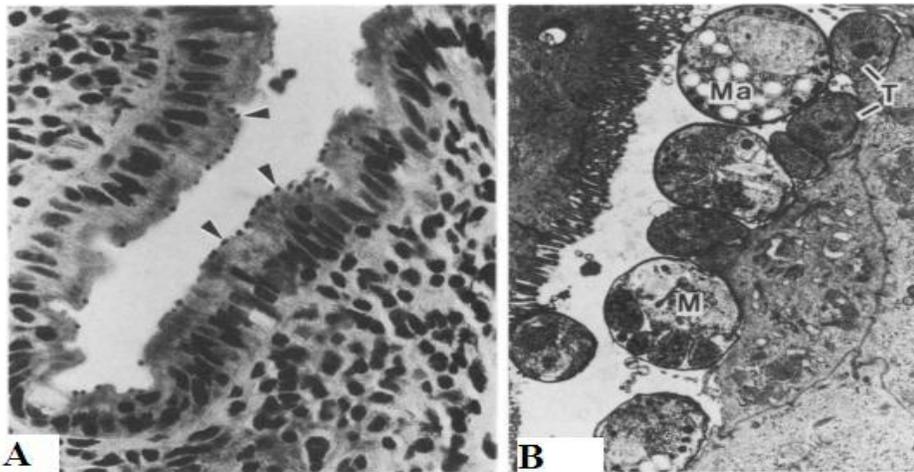
## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

été le mieux étudié dans Apicomplexa tels que Toxoplasma, Plasmodium et Eimeria. L'étapes envahissantes « zoïte » de Apicomplexa possèdent spécialisées organelles sécrétoires (rhoptries, les, micronèmes et granules denses) connues collectivement comme le complexe apical. Pendant les interactions hôte-parasite initiale, ces organites sécrètent les protéines successivement exocytose, qui facilitent l'attachement, l'invasion et la formation de vacuole parasitophores. De nombreuses protéines micronémale ont « modules » adhésives qui sont conservés parmi les parasites apicomplexes, alors que d'autres expriment des domaines uniques. La reconnaissance croissante de Cryptosporidium comme un agent pathogène humain émergent a conduit à l'identification de la surface et / ou complexe apical protéines (telles que CSL, GP900, p23/27, TRAP C1, GP15, CP 15, CP60/15, CP47, gp40/45 et gp15/Cp17) qui ont caractéristiques en commun avec celles des autres Apicomplexa et qui sont impliqués dans la médiation de ces interactions. [40]



**Figure 15 :** Microscopie électronique à balayage montrant de nombreux stades de développement de Cryptosporidium dans la région microvillositaire de l'muqueuse intestinale.

**A :** Chaque parasite est contenu dans une vacuole parasitophore qui est bombée de la région microvillositaire des entérocytes. Certains mérozoïtes d'un type mûr méronte (**M**) sont exposés à la suite d'une partie de la membrane de la vacuole parasitophore être retiré au cours du traitement. Les flèches indiquent les cratères de la surface de la muqueuse formée par vacuoles vides qui restent après que les parasites sont libérés. [20]



**Figure 16 :** site de la première interaction hôte-parasite. [20]

**A :** Microphotographie lumière d'une coupe histologique (colorées à l'hématoxyline et à l'éosine) d'une biopsie de l'intestin grêle obtenue auprès d'un patient immunodéprimé. Trois étapes de développement de *C. parvum* dans la brosse bordure des entérocytes sont désignés par des flèches.

**B :** Microscopie électronique à transmission des stades de développement de *C. parvum* dans les vacuoles parasitophore renflement de la région microvillositaire des entérocytes de l'iléon d'une souris infectées expérimentalement. Macrogamète (celle intitulée Ma) contient la caractéristique granules amylopectine près du centre et des organismes de formation de paroi à proximité de la périphérie. Plusieurs (deux marqué T) trophozoïtes (mérozoïtes uninucléés) et une mérozoïte (M) avec mérozoïtes en herbe peut être vu. Sur les fermes laitières de l'état de New York, il a été montré que 17 % des échantillons de sols de ces exploitations étaient contaminées par le parasite [83, 148]. La présence des ookystes dans l'eau a plusieurs explications : le drainage à partir des tas de fumier, le contact direct des bovins avec les cours d'eau, le drainage après épandage et le lavage de sols chargés en fumier [83, 149].

### 7.4.Pratiques à risque

L'étude de l'équipe Sicho sur la contamination des cours d'eau attendant à 10 fermes laitières a permis de reconnaître certaines pratiques agricoles plus à risque [75]. Ainsi, l'épandage fréquent de fumier (plus de 6 fois par an) était associé à un risque beaucoup plus élevé de transmission de l'infection par *Cryptosporidium* sp. L'eau en amont des fermes était incriminée

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

plutôt que l'eau en aval. Ainsi, d'autres sources de contamination étaient possibles comme l'eau d'égout des résidences situées à proximité [75].

### 8. Diagnostique

Le retour au laboratoire pour le diagnostiquer les cas de la cryptosporidiose est indispensable car les signes cliniques de gastroentérites néonatales sont très semblables, et l'association des entéropathogènes est très fréquente.

La détection de l'infection s'effectue souvent par l'identification de *cryptosporidium spp* à partir des différents prélèvements (féces, liquide d'aspiration duodénal, biopsie ou liquide de lavage broncho-alvéolaire) par des méthodes de coloration, on distingue la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Polhenz considérée comme une technique de référence dans le diagnostic de la cryptosporidiose à cause de sa sensibilité et l'obtention d'une bonne qualité de la morphologie du parasite pendant la lecture microscopique. [104, 16]

Aussi le degré d'infestation est influencé sur la sensibilité de teste pour identifier le parasite, cependant dans les cas où les selles moyennement ou fortement infectées la sensibilité est très voisine entre la technique de flottaison sur saccharose et ELISA. [104]

Des tests immunologiques plus performants et rapides à réaliser ont été aussi mis en place afin de diagnostiquer l'infection : une capture de copro-antigène est possible par la technique ELISA (ELISA direct avec Se 93%, Sp 99% et VPP 99% ) [46], ou un marquage des cryptosporidies par un anticorps spécifique couplé à un fluorochrome (IFA), une technique d'agglutination de latex est apparue fiable avec une sensibilité et spécificité de 98,7% et 98,2% respectivement quand on prenait teste ELISA comme une méthode de référence. [11,105]

Toutefois, l'avènement des techniques de la biologie moléculaire comme le PCR (PCR niché, PCR-RFLP, Analyse microsatellite) a permis d'obtenir une meilleure sensibilité. Ces tests permettent aussi de faire la distinction entre les différentes espèces du *cryptosporidium*. [11,13,104]

### 8.1 Méthodes diagnostiques à partir de matières fécales

De nombreux microorganismes peuvent provoquer de la diarrhée chez le jeune veau et des techniques de diagnostic précises sont donc nécessaires afin d'identifier les différents agents infectieux en cause [2]. Avant 1978, le diagnostic de la maladie dépendait de l'examen histopathologique des tissus intestinaux affectés [106]. Depuis les années 80, la détection sur matières fécales est possible suite au développement de nombreuses techniques de purification et de concentration des ookystes mais de nos jours, la biologie moléculaire est mise à profit pour une détection encore plus sensible et spécifique [107].

#### 8.1.1 Microscopie, examen après concentration

Pour un diagnostic de routine, on augmente la sensibilité en concentrant les ookystes soit par simple flottation dans une solution sucrée saturée, soit par centrifugation (dans une solution sucrée saturée ou de formol et d'éther chez les carnivores). Ensuite, il est possible de colorer les ookystes simplement en posant une goutte de solution de sucrose sur la lame [8] ou par d'autres techniques (Ziehl Neelsen modifié ; coloration négative de Heine) [108]. Lorsqu'une solution saturée en sucrose est utilisée, les ookystes prennent une couleur rosée visible au microscope [106]. Les propriétés alcool-acido-résistantes de la membrane des ookystes permettent leur détection via une technique de coloration Ziehl Neelsen [109]. La sensibilité d'une technique avec concentration est bonne comparativement à un frottis direct, soit 92 et 61 % respectivement [8]. La microscopie permet une distinction entre deux types morphologiquement différents d'ookystes : *C. parvum* apparaît sous forme sphérique de 4 à 6 µm de diamètre alors que *C. muris* est de forme ovale et d'un diamètre de 7 à 9 µm [22]. Cependant, la prévalence trouvée est faible comparativement aux autres techniques. La microscopie n'est pas un bon moyen de discrimination pour les espèces telles que *C. deer-like* et *C. bovine B* car leur taille est comparable à celle de *C. parvum*. Cela laisse supposer un sur-diagnostic de *C. parvum* au détriment de ces dernières dans les études employant la microscopie seule [22]. L'expérience du manipulateur demeure importante pour la détection du parasite et les débris fécaux et autres artéfacts doivent être différenciés du protozoaire recherché afin d'assurer la spécificité de la méthode utilisée [106, 110, 111].

#### 8.1.2 Microscopie après coloration, technique d'immuno-fluorescence avec anticorps monoclonaux

Les techniques d'immuno-fluorescence directe avec anticorps monoclonaux

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

permettent d'améliorer la détection des ookystes dans les matières fécales avec une sensibilité et une spécificité de près de 100 % [112]. En comparaison avec les techniques de coloration Ziehl-Nielson, l'immuno-fluorescence est 10 fois plus sensible pour la détection d'ookystes tout en étant plus spécifique (moins de faux positifs) [113]. Des immunoglobulines fluorescentes sont alors dirigées contre les protéines de surface de *Cryptosporidium* ce qui permet une visualisation et un comptage cellulaire en microscopie [114]. L'énumération des ookystes peut également se faire à l'aide d'un hémacytomètre, par comptage séquentiel dans 25 champs microscopiques adjacents ou par dénombrement dans 25 champs microscopiques dispersés de façon aléatoire. Ces techniques, bien que plus rapides et faciles à utiliser, sont beaucoup moins efficaces et précises que l'immuno-fluorescence pour le dénombrement des ookystes [115]. L'immuno-fluorescence permet la détection très spécifique de *Cryptosporidium* dans des échantillons où le parasite est peu concentré [112, 116, 117]. L'immuno-fluorescence directe, plus rapide et plus sensible, est le plus souvent utilisée [118]. Cependant, un prétraitement de purification et de concentration est nécessaire. De plus, un investissement important doit être fait pour le matériel qui inclut notamment un microscope à lampe de mercure.

Cette technique ne permet pas l'identification de l'espèce de *Cryptosporidium* en cause et des réactions croisées entre des anticorps fluorescents et certains débris de l'échantillon ou d'autres protozoaires coccidiens partageant des épitopes semblables (genre *Eimeria*) peuvent occasionner l'apparition de faux positifs [112, 114]. Les lipides présents dans les matières fécales humaines réduisent également la sensibilité de la technique [119, 120]. Plusieurs trousse commerciales comme Merifluor®, d'utilisation facile, sont utilisées de nos jours dans les laboratoires de diagnostic clinique et de recherche [110]. Selon Kehl, Cicirello et Havens, la trousse Merifluor® représente la méthode de détection idéale pour *Cryptosporidium* car, en plus d'occasionner des coûts moins élevés que l'ELISA, elle demeure simple à effectuer puisqu'elle restreint le nombre d'étapes tout en permettant le regroupement des échantillons [121]. La trousse Merifluor® utilise un fluorochrome, la fluorescéine isothiocyanate, couplée à un anticorps monoclonal dirigé contre une protéine de surface du parasite. Une couleur vert brillant enrobe les cellules détectées qui deviennent visibles et facilement dénombrables au microscope [121]. L'énumération des unités viables, essentielle lors d'infection expérimentale, est possible grâce au DAPI (4-6-diamidino-2-phénylindole). Il s'agit d'un acide nucléique qui fluoresce bleu et qui peut ainsi se localiser au

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

sein des noyaux des ookystes toujours viables. L'absence de couleur bleue sur un ookyste est un signe de mort cellulaire [121, 122, 123].

### 8.1.3 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

L'ELISA permet également de détecter la présence d'antigènes parasitaires dans les matières fécales [124, 110]. Il s'agit d'une méthode simple et rapide qui offre l'avantage de pouvoir utiliser l'échantillon directement, sans prétraitement et elle permet aussi d'analyser des spécimens congelés. De plus, les techniques de concentration peuvent être utilisées pour améliorer la sensibilité [124, 110]. La sensibilité varie selon que les selles sont normales (83%) ou diarrhéiques (66%) [111]. Des trousse commerciales existent (ProSpecT, Optimum T), facilitant d'autant la procédure [124, 110, 111]. La trousse ProSpecT, la plus souvent utilisée, permet de détecter une concentration aussi faible que 20 nanogrammes par mL d'un antigène soluble nommé « *Cryptosporidium* Specific Antigen » (CSA) produit par le protozoaire lorsqu'il se reproduit dans l'intestin de son hôte [125]. La sensibilité de la trousse commerciale serait de 95 à 100% et la spécificité de près de 100% pour les échantillons de matières fécales provenant d'humains infectés [121, 125, 126]. Pour la recherche de parasite dans l'environnement, le seuil de détection semble trop faible puisque le CSA est probablement trop dilué [125]. La technique ne permet pas de discrimination entre les différentes espèces de *Cryptosporidium* et lorsque des anticorps polyclonaux anti-*Cryptosporidium* sont utilisés pour la détection, des valeurs surestimées sont à prévoir en raison des faux positifs découlant de réactions croisées avec des coccidies du genre *Eimeria* retrouvées fréquemment chez les bovins et autres herbivores [127].

### 8.1.4 PCR (Polymerase Chain Reaction)

#### 8.1.4.1 Intérêt de la technique

Cette technique permet d'atteindre une très bonne sensibilité et spécificité comparativement à d'autres méthodes comme la microscopie ou l'ELISA [128]. En comparant une analyse de routine par microscopie (coloration Ziehl Neelson) et une analyse par PCR, la microscopie montre une sensibilité de 83,7 % et une spécificité de 98,9 % [129]. La PCR est particulièrement sensible et spécifique pour l'identification de *Cryptosporidium* à partir d'un échantillon d'eau où la concentration du parasite est généralement beaucoup plus faible que dans les matières fécales d'un animal excréteur [130, 131, 132]. Elle a l'avantage de détecter un

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

plus grand nombre de cas de cryptosporidiose que les autres techniques existantes et permet l'identification des porteurs asymptomatiques au sein d'une population animale [128]. La PCR a permis de différencier plusieurs espèces parmi le genre *Cryptosporidium* et de refaire une taxonomie plus juste, jouant ainsi un rôle clé pour la compréhension de ce groupe [133].

### 8.1.4.2. Limites de la technique

Si le protocole est relativement facile à effectuer, les étapes sont malgré tout nombreuses et représentent un important facteur de variation des résultats. Citons par exemple la possibilité d'augmenter 100 fois le seuil de détection en incluant plusieurs cycles de gel-dégel dans le protocole (pour permettre la rupture des ookystes) [128]. Cependant, chaque étape augmente d'autant la possibilité de contamination par de l'ADN exogène. Cette technique requiert donc un minimum d'expérience et demeure dispendieuse pour les diagnostics de routine [128]. Des produits comme l'acide humique et l'acide fulvique utilisés lors du traitement des eaux usées peuvent également inhiber la PCR et un second cycle pour une détection adéquate du parasite est alors nécessaire [36]. Les études ont d'ailleurs montré qu'une double PCR donnait presque toujours de meilleurs résultats de détection comparé à une simple [36]. La détection des *Cryptosporidium* dans l'eau nécessite le plus souvent l'utilisation de la Nested PCR. Les amorces utilisées ne permettent pas l'amplification spécifique de l'ADN de *Cryptosporidium* (amplification d'ADN de différentes espèces d'eukaryotes) mais une seconde amplification à l'aide de nouvelles amorces permet d'amplifier l'acide nucléique du protozoaire [36]. Le retrait des substances inhibant la PCR est souvent essentiel. Des substances inhibitrices existent dans le fumier de même que dans l'eau et elles nuisent à la recherche efficace de parasites [134, 135]. De plus, de nombreuses réactions croisées avec des espèces d'algues présentes normalement dans les échantillons d'eau furent notées avec la PCR surtout lors de la détection de *Cryptosporidium* [36]. Il est donc nécessaire de purifier les ookystes avant toute chose. Cette purification peut se faire par plusieurs méthodes : gradient de densité, magnétisme, dilution et plusieurs autres [134, 135]. Pour *Cryptosporidium*, qui ne se cultive pas facilement, la séparation immuno-magnétique est souvent utilisée [136]. Des billes magnétiques recouvertes d'immunoglobulines anti-*Cryptosporidium* sont ajoutées à l'échantillon pour permettre la capture des ookystes à l'aide d'un aimant. Il est également possible de se servir de produits permettant une meilleure amplification en bloquant l'activité des inhibiteurs de la PCR (albumine d'origine bovine et polyvinylpyrrolidone). Des polymérases plus résistantes aux inhibiteurs sont également efficaces [136]. Il est important de noter que la PCR, malgré une spécificité et sensibilité de

près de 100 % [121, 125, 126], ne peut faire la différence entre une unité viable de *Cryptosporidium* et une qui ne l'est pas alors que l'immuno-fluorescence est efficace pour évaluer la viabilité [36, 114, 121, 137].

### 8.1.4.3. Choix d'un gène d'intérêt

Ce choix dépend du type d'étude réalisée. Par exemple, si l'on s'attend à une grande variabilité dans les génotypes, le gène d'intérêt doit être suffisamment polymorphe pour permettre la discrimination de ces génotypes. Mais il devra être entouré de régions plus conservées, c'est-à-dire moins variables et complémentaires à des amorces adéquates. La plupart des gènes utilisés actuellement ont été développés à partir de la séquence génétique de *C. parvum*. Or, il existe une diversité génétique au sein du genre *Cryptosporidium*. Ces gènes peuvent être moins efficaces pour le diagnostic d'espèces peu apparentées à *C. parvum* comme *C. felis*, *C. canis*, *C. muris* et *C. suis* car les amorces utilisées n'ont pas nécessairement une homologie de séquence adéquate pour permettre l'amplification de l'ADN [139]. Le séquençage complet de *C. parvum* a récemment été finalisé et devrait permettre de trouver d'autres gènes intéressants [138].

Le choix d'amorces adéquates est primordial puisque celles-ci devront se lier de façon non discriminante aux séquences d'ADN des isolats rencontrés sans pour autant permettre l'amplification d'ADN de parasites autres que *Cryptosporidium* comme *Giardia* et les coccidies du genre *Eimeria* [140].

## 9.2 Diagnostic différentiel

Diagnostic différentiel comprend l'ensemble des causes présentes dans le complexe des gastro-entérites néonatales des agneaux, des chevreaux et des veaux :

- Des viroses: corona virose, rotavirose, virus BVD/MM ? torovirus, parvovirus...;
- Des atteintes bactériennes : colibacilloses, toxi-infection à clostridium perfringens B, campylobactériose ;
- Des parasitoses : gardoise, coccidiose, toxocarose, strongyloïdose ;
- Des causes non infectieuse, à savoir alimentaires ou dues au stress .

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

---

Voici les caractéristiques des principales maladies entrant dans le diagnostic différentiel des diarrhées néonatales chez les jeunes ruminants domestiques :

--**Coronavirose:** Elles apparaissent entre 3 jours et 3 mois d'âge, et sont à l'origine d'une diarrhée pâteuse à liquide et fétide, d'un abattement important et d'une hyperthermie. Une atteinte est possible chez les jeunes, et une atteinte digestive chez les adultes également (dysenterie hivernale).

--**rota virose:** la morbidité est élevée la mortalité faible. La diarrhée est pâteuse à liquide, fétide; les animaux sont abattus, l'hyperthermie est modérée. Les animaux sont principalement atteints entre 6 et 10 jours de vie. La guérison est spontanée sauf en cas d'association avec d'autres pathogènes ce qui est fréquent.

--**colibacillose:** elle peut toucher des animaux très jeunes la souche bactérienne. L'animal est apathique, très déshydraté, hypotherme ; il présente une diarrhée aqueuse jaune paille parfois mucoïde avec du sang digéré

--**Salmonellose:** elle est d'aspect enzootique. Chez les veaux, elle peut prendre plusieurs formes, notamment septicémique avec des morts subites, entéritique avec une anorexie marquée, une diarrhée nécrotique parfois hémorragique et hyperthermie importante, et respiratoire. Des animaux de tout âges peuvent être atteints, avec notamment des avortements chez les adultes. Les lésions d'entérite nécrosante.

--**Entérotoxémie = toxi-infection à Clostridium perfringens type B ou C :** cette affection est rencontrée dans un contexte d'alimentation intensive, particulièrement chez les ovins. Les ovins et les caprins sont plus sensibles que les bovins. L'apparition de l'affection est brutale et d'aspect enzootique. Souvent, ce sont les animaux les plus beaux qui sont touchés. La létalité est quasiment de 100%. On observe chez les animaux de moins de 3 semaines soit un abattement, un refus de téter, une hyperthermie prononcée, une diarrhée jaunâtre puis brunâtre et une mort en 2-3 jours après une phase de coma ou convulsion. Chez les animaux de 36 semaine à 3 mois, on peut observer une mort subite ou une phase d'anorexie, des symptômes nerveux, une diarrhée verdâtre une jetage mousseux puis la mort. Les lésions, notamment rénales, sont assez caractéristiques.

--**Giardiose:** Se déclare chez des animaux de plus de semaine, et provoque une diarrhée avec amaigrissement et passage à la chronicité.

--**Coccidiose:** Apparaît en général après 3 semaines d'âge et entraîne une diarrhée noirâtre sanguinolente.

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

**BVD/MM:** les diarrhées néonatales dues au virus BVD/MM sont rares. Souvent, il ya une atteinte mixte avec une atteinte digestive (diarrhée profuse), une forte hyperthermie, un ptyalisme, des ulcères et des signes oculaires et cutanés.

Le tableau 4 ci-dessous présente des éléments d'orientation du diagnostic différentiel des causes les plus fréquentes de diarrhée néonatale chez les veaux

<b>Cause de la diarrhée</b>	<b>Age d'apparition</b>	<b>Aspect de la diarrhée</b>	<b>Signes cliniques pouvant accompagner la diarrhée</b>	<b>Modalités du diagnostic</b>
Colibacilles entérotoxigènes	< 4 jours	Aqueuse profuse jaunâtre a jaune paille	Dépression. Déshydratation. Hypothermie.	Fèces : recherche de facteurs d'attachement F5
Colibacilles attachant-effaçant	> 4 jours	Mucoïde, sang non digéré, fausses membranes.	Anémie, Déshydratation. Hypothermie	Clinique et nécropsique : typhlocolite fèces : recherche d'antigènes colibacillaires et de toxines
Colibacilles septicémiques	>6 jours	Parfois absente.	Abattement, Hypothermie rapide, décubitus localisations articulaires, hépatique .....	Epidémioclinique recherche sur matières fécales sang : recherche de bactériémie (plusieurs prélèvements par animal)
salmonelles	Tous âges.	Tous types, sang, fausses membranes	Forte hyperthermie, abattement, anorexie. Atteinte respiratoire possible. Avortements chez	Fèces, coproculture

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

		(nécrose)	les adultes.	
<i>Rotavirus</i>	6-10 jours	Liquide a pâteux, fétide (malabsorption). rarement hémorragique.	Abattement, anorexie, hyperthermie modérée.	Fèces : kits immunoenzymatiques ELISA, tests d'agglutination de particules de latex
<i>Coronavirus</i>	5a 10 jours. possibles de 3 jours à 3mois.	Liquide a pâteux (malabsorption). Parfois présence de sang.	Abattement anorexie, forte déshydratation. Signes respiratoires sur veaux, atteinte. Digestive sur adultes (type dysenterie hivernale).	Fèces : ELISA Organes : immunofluorescence sur coupes (congélation du prélèvement possible)
Virus BVD/MD	Tous âges	Profuse. Parfois hémorragique.	Hyperthermie, ptyalisme, ulcères buccaux, signes oculaires et cutanés.	Recherche virale sur cadavres, recherche d'antigènes in vivo (immunotolérants ) . Attention a la sensibilité des tests et a la persistance des anticorps colostraux. Sérologie chez animaux sentinelles (mères,

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

				veaux>6mois)
Autres virus (torovirus, astrovirus, parvovirus)	>3 jours	Tous types	Similaire a l'atteinte par le rota virus	Fèces : microscopie électronique. Pas de recherche en routine. Inoculation de cultures cellulaires, immunofluoresce nce
cryptosporidies	5 à 15 jours (2mois)	Liquide puis mucoïde, odeur putride.	Atteinte de l'état général, faiblesse.	Fèces : recherche des oocystes par coprologie. Epidémioclinique : antécédent de traitement antibiotique prolongé.
Giardia sp	>1 semaine (passage a la chronicité)	Mucoïde.	Amaigrissement.	Fèces : visualisation des protozoaires (kystes) (examen direct)
Coccidies vraies eimeria bovis, émiera zuernii	2a3 semaines	Profuse hémorragiq ue, noirâtre (flux de sang)	Troubles nerveux (éventuellement sans signes digestifs).atteinte rapide de l'état général et forte déshydratation. Ténésme.	Fèces : visualisation des oocystes. nombreux animaux faux- négatifs pendant les phases aigues

## CHAPITRE II: Tableau Clinique et lésionel du parasite

D-lactacidémie	7a12 jours	Absente ou discrète. mucoïde.	Gastro-entérite paralysante, veau (mou) parésie postérieure, démanche ébrieuse, œdèmes palpébraux, létalité » faible,	Fèces : recherche des colibacilles possédant le facteur d'attachement CS3 Mesure pH sanguin et D-lactacidémie
Candida sp	>2 semaines	Mucoïde non hémorragique	Parfois lésions buccales (muguet) et œsophagiennes visibles à l'œil nu	Epidémioclinique : antécédent ce traitement antibiotique prolongé fèces : examen direct et culture

### 9. Traitement et prophylaxie

Le traitement de la cryptosporidiose est généralement difficile. Ceci s'expliquerait en partie par la position intracellulaire mais extracytoplasmique (via une vacuole parasitophore) du parasite au sein de la cellule épithéliale qu'il infecte. Il s'isole ainsi des substances médicamenteuses présentes dans la lumière intestinale ainsi que des organelles destructrices présentes dans le cytoplasme de l'hôte en demeurant caché à l'intérieur de ces vacuoles [150].

#### 9.1. Traitements médicaux

De très nombreux médicaments ont été utilisés sans succès pour le traitement de la cryptosporidiose car la plupart possèdent une activité antiparasitaire limitée. La paromomycine agit sur les formes intracellulaires du protozoaire. Il y a malheureusement de nombreux facteurs qui atténuent grandement son efficacité tels que la diarrhée, la baisse de l'immunité d'origine cellulaire, la diminution du pH et la présence de lait [8].

De tous les essais visant à évaluer l'efficacité de médicaments chez le veau, l'halofuginone, un anti-coccidien, est celui qui a montré le plus d'intérêt puisqu'une réduction de l'excrétion et une prévention de la diarrhée peuvent alors être observés [8]. Selon Mohammed, Wade et Schaaf, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre afin de prévenir les infections bactériennes en pré- ou en post-sevrage serait un facteur de diminution des infections à *Cryptosporidium* [87].

L'essai d'un sérum concentré pour le traitement par voie orale sur des veaux a donné des résultats intéressants car il permettait de diminuer la perméabilité intestinale, le nombre d'ookystes excrétés et le volume de fèces diarrhéiques tout en améliorant l'état de la surface intestinale [151]. Des vaccins, vivants et tués, font également l'objet d'études. Ils permettent une réduction des signes cliniques et de l'excrétion des ookystes ce qui permet de diminuer l'utilisation de médicaments [152]. Finalement, il a été montré que l'utilisation de probiotiques comme *Lactobacillus acidophilus* et *L. reuteri* permet de diminuer l'incidence de la diarrhée chez les veaux [153].

Chez l'humain, la nitazoxanide est recommandée par la FDA aux États-Unis pour le traitement de la cryptosporidiose car elle permet une diminution de la sévérité des signes cliniques et du taux d'excrétion. Mais la molécule serait peu efficace chez les bovins selon une étude de l'équipe de Schnyder effectuée en 2009 [154].

La vaccination des mères en vue d'obtenir un plasma hyperimmun a fait l'objet de nombreuses études. Cette méthode entraîne une diminution de la diarrhée ainsi que de l'excrétion d'ookystes selon l'étude de Perryman et collaborateurs où les vaches furent immunisées avec une protéine recombinante de *C. parvum* [155].

Devant le manque de médicaments réellement efficaces et l'aspect souvent autolimitant de la diarrhée, les traitements symptomatiques demeurent appropriés. Ainsi, une fluidothérapie orale ou intraveineuse protège le patient de la déshydratation. L'ajout de protecteurs de muqueuse comme le sucralfate et d'antibiotiques pour la prévention des infections bactériennes secondaires peut également s'avérer bénéfique [8, 23].

### 9.2. Prévention

Concernant les locaux, il est recommandé de conserver un environnement le plus propre et sec possible et de décontaminer les surfaces à l'aide d'ammoniac et d'eau à 120°C sous pression légère car il est important de minimiser la dispersion du parasite. Un nettoyage quotidien des vêtements, des bottes et du matériel d'entretien est aussi recommandé [8]. Une étude de l'équipe de Barwick a permis de montrer l'utilité de maintenir bas le pH du sol pour diminuer la contamination de l'environnement par *Cryptosporidium* et *Giardia* car ces protozoaires se développent plus facilement dans un environnement neutre [83].

D'après Mohammed, Wade et Schaaf, les facteurs associés à une diminution de l'infection au pré-sevrage sont: la présence de ventilation dans l'étable ou l'élevage des veaux à l'extérieur, l'addition et/ou le changement quotidien de litière et le fait de donner du lait reconstitué aux veaux [87]. L'élevage en box individuel jusqu'à trois semaines permet de réduire la transmission entre jeunes. Le fait de déménager les veaux après le vêlage ainsi que l'utilisation d'un supplément de vitamines et minéraux permet de prévenir la cryptosporidiose en post-sevrage [87]. Il faut cependant noter que l'étude effectuée par Mohammed, Wade et Schaaf était une analyse épidémiologique basée sur des observations et que la relation de causalité n'a pas réellement été testée [87].

## Conclusion

*Cryptosporidium parvum* représente indéniablement l'espèce cryptosporidienne la plus importante, que ce soit sur le plan économique, médical, vétérinaire ou zoonotique.

Ce micro-organisme peut probablement parasiter toutes les espèces de mammifères, dont l'homme, et ses incroyables capacités de multiplication et de résistance dans le milieu extérieur lui confèrent un fort caractère cosmopolite et ubiquiste.

Chez les bovins, le parasite est fortement impliqué dans le complexe des entérites diarrhéiques néonatales, généralement, la parasitose ne s'exprime sous sa forme clinique que lorsque la pression parasitaire est suffisamment forte.

Quand elle affecte le veau, la diarrhée cryptosporidienne n'a rien de pathognomonique. Le recours au diagnostic de laboratoire est donc indispensable, d'autant plus que le parasite est couramment associé d'autres agents entéropathogènes.

Bien que le tableau clinique observé sur le veau soit principalement relié à une diarrhée par malabsorption--mal digestion, les mécanismes pathogéniques de la diarrhée à *C.parvum* demeurent quelque peu obscurs. L'immunité spécifique acquise vis-à-vis du parasite est également mal comprise. L'immunité à médiation cellulaire semble cependant jouer un rôle essentiel.

*C.parvum* se révèle indifférent à la plupart des agents chimio-thérapeutiques. Sur plus de deux cent substances testées, quatre molécules seulement ont montré une activité anti cryptosporidienne digne d'intérêt chez les bovins, mais aucune n'est efficace à 100%. L'utilisation prophylactique du colostrum hyperimmun fournit également de bons résultats ; toutefois, son emploi chez les bovins est incompatible avec les systèmes de production animale.

Les vétérinaires ruraux ne disposent de très peu de moyens de lutte spécifiques pour faire face à la cryptosporidiose bovine. Ils ne doivent donc pas négliger la lutte sanitaire, en espérant la découverte et la mise au point de nouveaux moyens préventifs ou curatifs. Malgré cela, ils ouvrent, à travers leur acte vétérinaire, à une mission de santé publique.

## Références bibliographiques

- 1- Upton SJ, Current WL. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: cryptosporidiidae) infecting mammals. *J Parasitol.* 1985; 71(5):625-9.
- 2- Fayer R, Ungar BLP. *Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiol Rev.* 1986; 50(4):453-483.
- 3- Moore DA, Zeman DH. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *J Am Vet Med Assoc.* 1991; 198(11):1969-71.
- 4- De la Fuente R, Luzón M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, García A, Cid D, Orden JA, García S, Sanz R, Gómez-Bautista M. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet Parasitol.* 1999; 80:179-85.
- 5- Chen X-M, Keithly JS, Paya CV, LaRusso NF. Cryptosporidiosis. *N Engl J Medecine.* 2002; 346(22):1723-31.
- 6- De Graaf DC, Vanopdenbosch E, Ortega-Mora LM, Abbassi H, Peeters JE. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int J Parasitol.* 1999; 29(8):1269-87.
- 7- Naciri M, Lefay M-P, Mancassola R, Poirier P, Chermette R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol.* 1999; 85:245-57.
- 8- Villeneuve A. Les zoonoses parasitaires. Les Presses de l'Université de Montréal. 2003. 499 pp.
- 9- Sanford SE, Josephson GKA. Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in 42 scouring neonatal calves. *Can Vet J.* 1982; 23(12):343-7.
- 10- Ruest N, Faubert GM, Couture Y. Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy farms in Quebec. *Can Vet J.* 1998; 39:697-700.
- 11- Gabriela CERTAD., 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.  
Thèse doctorat des sciences de l'université de Lille2, Spécialité Parasitologie (2008).

- 12-** Vallet, D., “Évaluation d’un protocole de terrain d’aide au diagnostic et à la thérapeutique du veau diarrhéique de 0 à 4 semaines”. Thèse de Doctorat. Vétérinaire. ENV Alfort, (2006), 109 p.
- 13-** Tzipori, S., Griff, THS, J.K. - Natural history biology of cryptosporidium parvum. *Advance in parasitology*. (1998), **40**, 5-36.
- 14-** Jérôme Follet, Karine Guyot, Hélène Leruste, Anne Follet Dumoulin, Ourida Hammouma Ghelboun, Gabriela Certad, Eduardo Dei- Cas and Patrice Halama : Cryptosporidium infection in a veal calf cohort in France: molecular characterization of species in a longitudinal study. *Veterinary Research 2011*, **42**:116.
- 15-** Lihua Xiao, Ronald Fayer, Una Ryan and Steve J.Upton .Cryptosporidium Taxonomy :Recent Advance and Implication for Public Health. *Clin Microbiol Rev*. 2004 January; **17**(1): 72–97.
- 16-** Lise A., Tortz-Williams, Andrewes Pergrine, Ken E. Leslie ; La Cryptosporidiose chez les veaux laitiers: facteurs de risque, diagnostic et potentiel zoonotique. *Rondes Clinique (Avril 2007)*. volume 7, n° 4-1.
- 17-** Ouakli Nadia, Kaidi Rachid, "Prévalence de la cryptosporidiose chez les veaux et facteurs de risque dans la willaya de Blida" .Thèse magister ; université Saad Dahleb. Blida. Algérie (2010)- p5.
- 18-** Khelèf Djamel 2007 : « Enquête épidémiologique sur les diarrhées néonatales du veau dans certains élevages du centre et de l’est de l’ALGERIE et essai de prophylaxie » Thèse de doctorat d’état es-science. INA, Algérie 2007.
- 19-** R.Fayer, B.L.P Ungar: Cryptosporidium spp and cryptosporidiosis. *Microbiological Reviews*. Dec 1986. P:458-483.
- 20-** William L.Current, Lynne S.Garcia: Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, July 1991, **Vol.4, No. 3** p. 325-358
- 21-** Ward, Cevallos, A.M. Cryptosporidium: molecular basis of host-parasite interaction. *Advance in parasitology*, (1998), **40**.151-85.
- 22-** Wade SE, Mohammed HO, Schaaf SL. Prevalence of *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Vet Parasitol*. 2000; 93:1-11.
- 23-** Campbell I, Tzipori AS, Hutchison G, Angus KW. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. *Vet Rec*. 1982; 111(18):414-5.

- 24-** Olson ME, Guselle NJ, O’Handley RM, Swift ML, McAllister T A, Jelins MD, Morck DW. *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British-Columbia. *Can Vet J.* 1997; 38(11):703-6
- 25-** Olson ME, Thorlakson CL, Deselliers L, Morck DW, McAllister TA. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Vet Parasitol.* 1997; 68:375-81.
- 26-** Fayer R, Graczyk TK, Cranfield MR, Trout JM. Gaseous disinfection of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62(10):3908-9.
- 27-** Fujino Matsui T, Kobayashi F, Haruki K, Yoshino Y, Kajima J, Tsuji M. The effect of heating against *Cryptosporidium* oocysts. *J Vet Med Sci.* 2003; 64(3):199-200.
- 28-** Sherwood D, Angus KW, Snodgrass R, Tzipori S. Experimental cryptosporidiosis in mice. *Infect Immun.* 1982; 38(2):471-5.
- 29-** Robertson LJ, Campbell AT, Smith HV. Survival of *Cryptosporidium* oocysts under various environmental pressures. *Appl Environ Microbiol.* 1992; 58:3494-500.
- 30-** Peeters JE, Ares-Mazas E, Masschelein WJ, De Maturana IVM, Debacker E. Effect of disinfection of drinking water with ozone or chlorine dioxide on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol.* 1989; 55(6):1519-22.
- 31-** Casemore DP. A pseudo-outbreak of cryptosporidiosis. *Commun Dis Rep CDR Rev.* 1992; 2(6):66-7.
- 32-** Casemore DP, Armstrong M, Sands RL. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol.* 1985; 38(12):1337-41.
- 33-** Butterworth BE, Chapman JR. Exposure of hematopoietic stem cells to ethylene oxide during processing represents a potential carcinogenic risk for transplant recipients. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2007; 49(3):149-53.
- 34-** Gullimo ML, Clini C, Garibaldi A. Life without methyl bromide: the Italian experience in replacing the fumigant. *Commun agric appl biol sci.* 2005; 70(3):13-25.
- 35-** Rose JB, Huffman DE, Gennaccaro A. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. *FEMS Microbiol Rev.* 2002; 26(2):113-23.
- 36-** Mayer CL, Palmer CJ. Evaluation of PCR, nested PCR, and fluorescent antibodies for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* species in wastewater. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62(6):2081-5.

- 37-** Paul MAES, « Etiologie des diarrhées néonatales chez le veau et transfert colostrale, Enquête dans la Creuse ». Thèse pour le doctorat vét. ENV-Alfort 2010.
- 38-** Bérangère Ravary, Nicolas Sattlet avec collaboration de Nicolas Roch « Néonatalogie du veau »(2000).
- 39-** Khelèf.D,M., M.Z.Saib,A.Akam., R.Kaidi., V.Chirila.,V.Coзма.,et K.T.Adjou :Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les bovins en Algérie. *Revue Méd. Vét.*, 2007, **158**, 5, 260-264.
- 40-** S.Tzipori.,H.Ward. Cryptosporidiosis: biology,pathogenesis and disease . *Microbes and Infection* **4 (2002)** 1047–1058.
- 41--** N.Ouchene.,N.A.Ouchene – Khelifi., M.Aissi.,A.Benakhla.Prévalence de *Cryptosporidium* spp et *Giardia* spp de la région de Sétif au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 2012,**65**(3-4) : p53-56.
- 42—** Karine Sonzogni.D. L'importance de la cryptosporidiose chez les veaux, Qubec, Canada (2009) CRAAQ- Congrès du Bœuf (Qubec2009).
- 43-** N.Ouchene.,N.A.Ouchene-Khelifi.,A.Benakhla.,S.Righi.,C.Paraud .,C.Chartier : Prevalence of *Cryptosporidium* spp in dairy calves in north-eastern Algeria .*Revue Méd.Vét.*2012, **163**, 4, 163-166.
- 44-** Lise A.Tortz-Williams.,S.Waayne Martin.,Kenneth E.Leslie.,Todd Duffield.,Daryl V.Nydam.,Andrew S.Peregrine : Calf-level risk factors for neonatal diarrhoea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine* **82** (2007) 12-28.
- 45-** Naciri.M.,Lefay.M.P.,Mancassola.R.,Poirier.P.,Chermette.R. Role of *cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complexe in sucking and dairy calves in France .*Veterinary Parasitology* **85**(1999) 245-257.
- 46-** Jone E.Rosenblatt.,Lynne M.Sloan: Evaluation of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay for detection of *Cryptosporidium* spp in stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, June 1993, **Vol 31, No 6**; p: 1468-1471
- 47-** Buret A, Gall DG, Nation PN, Olson ME. Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol Today*. 1991; 7(6): 141.
- 48-** Villacorta I, Ares-Mazas E, Lorenzo MJ. *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain). *Vet Parasitol*. 1991; 38:249-52.

- 49-** Maldonado-Camargo S, Atwill ER, Saltijeral-Oaxaca JA, Herrera-Alonso LC. Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central Mexico. *Prev Vet Med.* 1998; 36:95-107.
- 50-** Garber LP, Salman MD, Hurd HS, Keefe T, Schlater JL. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *J Vet Med Sci.* 1994; 205(1):86-91.
- 51-** Fatah BENDALI, Epidémiologie des gastroentérites néonatales chez le veau. Enquête dans Midi-Pyrénées ; Thèse doctorat de l'université de Franche-Comté. (1998). 59-61,84-85.
- 52-** Akam A., D. Khelèf., R.Kaidi., Kh.Rahal.A. Mekroud., H. Tali-Maamar., F. Chirilã., F. Mouffok. Frequency of isolation of *Cryptosporidium* spp. F5 *Escherichia coli* and *Salmonella* spp, in eight calves dairy farms Mitidja.Algeria .*Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 66(2)/2009.
- 53-** Paraud.C.,Delafosse. A., Dupuy M.C.,Chartier .Epidémiologie descriptive de la cryptosporidiose en élevage bovin laitier dans le département de l'Orne(Basse-Normandie) France. *Renc. Rech. Ruminants* (2011)**18**.271.
- 54-** Henriksen.T.,Krogh.H.V:Bovine cryptosporidiosis in Denmark,Prevalence,age distribution, and seasonal variation. *Nord.Vet.Med.*1985.Jan-Feb; **37**(1):34-41.
- 55-** Fu chen., Kehc Huang:Prevalence and molecular characterization of *cryptosporidium* spp in dairy cattle farms in China. *J.Vet.Sci*(2012),**13**(1),15-22.
- 56-** R.Abebe.,A.Wossene.,B.Kumsa: An epidemiological study of *cryptosporidium* infection in dairy calves on selected dairy farms of central Ethiopia.(2008) .*Revue Méd. Vét*, 2008, **159**, 2, 107-111
- 57-** Lise A. Trotz-Williams, Brenna D. Jarvie, S. Wayne Martin, Kenneth E. Leslie, Andrew S. Peregrine: Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in south-western Ontario and its association with diarrhoea in neonatal dairy calves (2002). *Can Vet J* 2005; **46**:349-351.
- 58-** C. Björkman., C. Svensson., B. Christensson., And K. de Verdier: *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in Calf Diarrhoea in Sweden. *Acta Vet. scand.* vol. **44** no. 3-4, (2003).
- 59-** Atwill ER, Johnson E, Klingborg DJ, Veserat GM, Markegard G, Jensen WA, Pratt DW, Delmas RE, George HA, Forero LC, Philips RL, Barry SJ, McDougald NK,

- Gildersleeve RR, Frost WE. Age, geographic and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cowcalf herds. *Am J Vet Res.* 1999; 60(4):420-5.
- 60-** Heitman TL, Frederick LM, Viste JR, Guselle NJ, Morgan UM, Thompson RCA, Olson ME. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from wildlife, human, and agricultural sources in the North Saskatchewan River Basin in Alberta, Canada. *Can J Microbiol.* 2002; 48:530-41.
- 61-** Mann ED, Sekla LH, Nayar GP, Koschik C. Infection with *Cryptosporidium* spp. in humans and cattle in Manitoba. *Can J Vet Res.* 1986; 50(2):174-8.
- 62-** Huetink REC, van der Giessen JWB, Noordhuizen JPTM, Ploeger HW. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Vet Parasitol.* 2001; 102:53-67.
- 63-** Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol.* 1999; 83:1-13.
- 64-** Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Ares-Mazàs E. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N.W. Spain). *Vet Parasitol.* 2002; 106:1-10.
- 65-** Jellison KL, Hemond HF, Schauer DB. Sources and species of *Cryptosporidium* oocysts in the Wachusett reservoir watershed. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68(2):569-75.
- 66-** J.A.Castro-Hermida.,I.Pors.,E.Ares-Mazas and Chartier : *In vitro* activity on *Cryptosporidium parvum* oocyst of different drugs with recognized anticryptosporidial efficacy. *Revue Méd. Vét.*, (2004), **155**, 8-9, 453-456.
- 67—** F.Sevinc.,K.Irmak.,M.Sevinc.The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non-diarrhoeic calves.Turkey(2003). *Revue Méd. Vét.*, 2003, **154**, 5, 357-361.
- 68-** Paraud.C.,Delafosse. A., Dupuy M.C.,Chartier .Epidémiologie descriptive de la cryptosporidiose en élevage bovin laitier dans le département de l'Orne(Basse-Normandie) France. *Renc. Rech. Ruminants* (2011)**18**.271.
- 69-** Santin M, Trout JM, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet Parasitol.* 2004; 122(2):103-17.
- 70-** Martin-Gomez S, Álvarez-Sánchez MA, Rojo-Vázquez FA. Obtaining

hyperimmune anti-*Cryptosporidium parvum* ovine colostrum. A study of the humoral immune response in immunized sheep. Parasitol Res. 2005; 98:119-29.

**71-** Schmidt J, Kuhlenschmidt MS. Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum*: identification of a colostrum-derived inhibitory lipid. Mol Biochem Parasitol. 2008; 162(1):32-9.

**72-** Faubert GM, Litvinski Y. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. J Parasitol. 2000; 83(3):495-500.

**73-** Ralston BJ, McAllister TA, Olson ME. Prevalence and infection pattern of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. Vet Parasitol. 2003; 114:113-22.

**74-** Kanyari PWN, Oyejide AO, Alak JIB, Anderson DL, Wilson ST, Srivastava K. *Cryptosporidium parvum*: experimental transplacental transmission in murine hosts. Isr J Med Vet. 2002; 57(2).

**75-** Sisco WM, Atwill ER, Lanyon LE, George J. Cryptosporidia on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. Prev Vet Med. 2000; 43:253-67.

**76-** O'Handley RM, Cockwill C, McAllister TA, Jelinski M, Morck DW, Ols ME. Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis dairy calves and their association with diarrhea. J Am Vet Med Assoc. 1999; 214(3):391-6.

**77-** Klesius PH, Haynes TB, Malo LK. Infectivity of *Cryptosporidium* sp. isolated from wild mice for calves and mice. J Am Vet Med Assoc. 1986; 189(2):192-3.

**78-** Quy RJ, Cowan DP, Haynes PJ, Sturdee AP, Chalmers RM, Bodley-Tickell AT, Bull SA. The Norway rat as a reservoir of *Cryptosporidium parvum*. J Wildl Dis. 1999; 35(4):660-70.

**79-** Clavel A, Doiz O, Santiago M, Varea M, Seral C, Castillo FJ, Fleta J, Rubio C, Gomez-Lus R. House fly (*Musca domestica*) as a transport vector of *Cryptosporidium parvum*. Folia Parasitol. 2002; 49:163-4.

**80-** Graczyk TK, Fayer R, Knight R, Mhangami-Ruwende B, Trout JM, Da Sylva JD, Pieniazek NJ. Mechanical transport and transmission of *Cryptosporidium parvum* oocysts by wild filth flies. Am J Epidemiol. 2000; 63:178-83.

**81-** Szostakowska B, Kruminis-Lozowska W, Racewicz M, Knight R, Tamang L, Myjak P, Graczyk TK. *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* recovered from flies on a cattle farm and in a landfill. Appl Environ Microbiol. 2004; 70(6):3742-4.

- 82-** Mathison BA, Ditrich O. The fate of *Cryptosporidium parvum* oocysts ingested by dung beetles and their possible role in the dissemination of cryptosporidiosis. *J Parasitol.* 1999; 85(4):678-81.
- 83-** Barwick RS, Mohammed HO, White, ME, Bryant RB. Factors associated with the likelihood of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in soil from dairy farms. *J of Dairy Sci.* 2003; 86:784-91.
- 84-** Atwill ER, Harp JA, Jones T, Jardon PW, Checel S, Zylstra M. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection. *Am J of Vet Res.* 1998; 59(9):116-21.
- 85-** Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose JB. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med.* 1994; 331:161-7.
- 86-** Takagi M, Toriumi H, Endo T, Yamamoto N, Kuroki T. An outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming pools. *Kansenshogaku Zasshi.* 2008; 82(1):14-9.
- 87-** Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol.* 1999; 83:1-13.
- 88-** Quilez J, Sanchez-Acedo C, del Cacho E, Clavel A, Causape AC. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Vet Parasitol.* 1996; 66(3-4):139-46.
- 89-** Snodgrass DR, Angus KW, Gray EW, Keir WA, Clerihew LW. Cryptosporidia associated with rotavirus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scour. *Vet Rec.* 1980; 106(22):458-60.
- 90-** Xiao L, Herd RP, McClure KE. Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. *J Parasitol.* 1994; 80(1):55-9.
- 91-** Enemark HL, Ahrens P, Bille-Hansen V, Heegaard PMH, Vigre H, Thamsborg SM, Lind P. *Cryptosporidium parvum*: infectivity and pathogenicity of the “porcine” genotype. *Parasitol.* 2003; 126, part 5:407-16.
- 92-** Heine J, Pohlenz JFL, Moon HW, Woode GN. Enteric lesions and diarrhea in

- gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. J Infect Dis. 1984; 150(5):768-74.
- 93-** Tzipori S, Halpin C, Angus KW, Sherwood D, Campbell I. Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. Vet Rec. 1983; 112:116-120.
- 94-** Kvac M, Vitovec J. Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* in one herd of beef cattle. J Vet Med. 2003; 50:451-7.
- 95-** Thompson RC, Lymberry AJ, Genetic Variability in parasites and host-parasite interactions. Parasitol, 1996; 112 Suppl: S7-22.
- 96-** Pozio E, Gomez Morales MA, Barbieri FM, La Rosa G. *Cryptosporidium*: different behavior in calves of isolates of human origin. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992; 86(6):636-8.
- 97-** Fayer R, Gasbarre L, Pasquali P, Canals A, Almeria S, Zarlenga D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. Int J Parasitol. 1998; 28:49-56.
- 98-** Castro-Hermida JA, Yolanda A, González-Losada YA, Mercedes M-M, Ares-Mazàs E. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. Vet Parasitol. 2002; 106:11-7.
- 99-** Anderson BC. Abomasal cryptosporidiosis in cattle. Vet Parasitol. 1987; 24:235-8.
- 100-** De la Fuente R, García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzón M, Cid D, García S, Orden JA, Gómez-Bautista M. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. Prev Vet Med. 1998; 36(2):145-52.
- 101-** Esteban E, Anderson BC. *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency and detrimental effect on milk production in a drylot dairy. J Dairy Sci. 1995; 78:1068-72.
- 102-** Anderson BC. Cryptosporidiosis in bovine and human health. J Dairy Sci. 1998; 81:3038-41.
- 103-** S.Tzipori, M.Smith, C.Halpin, KW.Sherwood et I.Cambell : Experimental cryptosporidiosis in calves :clinical manifestation and pathological findings. *Veterinary Record* 1983; **112**: 116-120.
- 104--** D.Khelef, A.Akem, R.Kaidi, Maria.S, Abdul hussein, E.Suteu, V.Coзма: Evaluation comparative des methods de détection de l'oocyste de *Cryptosporidium parvum* dans les selles des veaux. *Scientia arasitologica*, 2002, **1**, 22-27.

- 105-** David J.Nussbamm,,Jérôme R.Salord,,Dominique D.Rimmel : Evaluation of quantitative latex agglutination for detection of *cryptosporidium parvum*, *E.Coli K99* and *rotavirus* in calf feces. *J Vet Diagn Invest* 11:314–318 (1999).
- 106- Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev.* 1991; 4(3):325-58.
- 107-** Lindergard G, Nydam DV, Wade SE, Schaaf SL, Mohammed HO. The sensitivity of PCR detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples using two DNA extraction methods. *Mol Diagn.* 2003; 7(3-4):147-53.
- 108-** Abd-El-Wahed MM. *Cryptosporidium* infection among sheep in Qalubia Governorate, Egypt. *J Egypt Soc Parasitol.* 1999; 29(1):113-8.
- 109-** Henriksen SA, Pohlenz JF. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand.* 1981; 22(3-4):594-6.
- 110-** Aarnaes SL, Blanding J, Speier S, Forthall D, de la Maza LM, Peterson EM. Comparison of the ProSpec T and Color Vue enzyme-linked immunoassays for the detection of *Cryptosporidium* in stool specimens. *Diagn microbiol infect dis.* 1994; 19(4):221-5
- 111-** Newman RD, Jaeger KL, Wuhib T, Lima AA, Guerrant RL, Sears CL. Evaluation of an antigen capture linked-immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* oocysts. *J Clin Microbiol.* 1993; 31(8):2080-4.
- 112-** Garcia LS, Brewer TC, Bruckner DA. Fluorescence detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1987; 25(1):119-21.
- 113-** Garcia LS, Shum AC, Bruckner DA. Evaluation of a new combination reagent for direct fluorescence detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1992; 30(12):3255-7.
- 114-** MacPherson DW, McQueen R. Cryptosporidiosis: multiattribute evaluation of six diagnostic methods. *J Clin Microbiol.* 1993; 31(2):198-202.
- 115-** Kao TC, Ungar BL Comparison of sequential, random and hematocytometer methods for counting *Cryptosporidium* oocysts. *J Parasitol.* 1994; 80(5):816-9.
- 116-** Madore MS, Rose JB, Gerba CP, Arrowood MJ, Sterling CR. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluent and selected surface waters. *J Parasitol.* 1987; 73:702.
- 117-** Ongerth JE, Stibbs HH. Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water.

Appl Environ Microbiol. 1987; 53:672.

**118-** Goodgame RW, Genta RM, White AC, Chappell CL. Intensity of infection in AIDS-associated cryptosporidiosis. *J Infect Dis.* 1993; 167(3):704-9.

**119-** Weber R, Bryan RT, Bishop HS, Wahlquist SP, Sullivan, JJ, Juranek DD. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens: evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(7):1323-7.

**120-** Weber R, Bryan RT, Juranek DD. Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1992; 30(11):2869-73.

**121-** Kehl KS, Cicirello H, Havens PL. Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(2):416-8.

**122-** Connelly JT, Nugen SR, Borejsza-Wysocki W, Durst RA, Montagna RA, Baeumner AJ. Human pathogenic *Cryptosporidium* species bioanalytical detection method with single oocyst detection capability. *Anal Bioanal Chem* 2008.

**123-** Santos LU, Bonatti TR, Cantusio Neto R, Franco RMB. Occurrence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in activated sludge samples in Campinas, sp, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2004; 46(6):309-13.

**124-** Anusz KZ, Mason PH, Riggs MW, Perryman LE. Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol.* 1990; 28(12):2770-4.

**125-** Lindergard G, Wade SE, Schaaf S, Barwick RS, Mohammed HO. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in soil samples by enzyme-linked immunoassay. *Vet Parasitol.* 2001; 94:163-76.

**126-** Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(6):1526-9.

**127-** Ortega-Mora LM, Requejo-Fernandez JA, Pilar-Izquierdo M, Pereira-Bueno J. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturient rise. *Int J Parasitol.* 1999; 29:1261-8.

**128-** Bialek R, Binder N, Dietz K, Joachim A, Knobloch J, Zelck UE. Comparison of fluorescence, antigen and PCR assays to detect *Cryptosporidium parvum* in fecal

specimens. *Diagn microbiol infect dis.* 2002; 43:283-8.

**129-** Morgan UM, Pallant L, Dwyer BW, Forbes DA, Rich G, Thompson RCA.

Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(4):995-8.

**130-** Hallier-Soulier S, Guillot E. Detection of cryptosporidia and *Cryptosporidium parvum* oocysts in environmental water samples by immunomagnetic separation-polymerase chain reaction. *J Appl Microbiol.* 2000; 89(1):5-10.

**131-** Hallier-Soulier S, Guillot E. An immunomagnetic separation-polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Cryptosporidium parvum* in drinking water. *FEMS Microbiol Lett.* 1999; 176(2):285-9.

**132-** Deng MQ, Cliver DO, Mariam TW. Immunomagnetic capture PCR to detect viable *Cryptosporidium m* oocysts from environmental samples. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63(8):3134-8.

**133-** Kozwicz D, Johansen KA, Landau K, Roehl CA, Woronoff S, Roehl PA.

Development of a novel, rapid integrated *Cryptosporidium parvum* detection assay. *Appl Environ Microbiol.* 2000; 66(7):2711-7.

**134-** Widmer G, Tchack L, Chappell CL, Tzipori S. Sequence polymorphism in the B-tubulin gene reveals heterogeneous and variable population structures in *Cryptosporidium m parvum*. *Appl Environ Microbiol.* 1998; 64(11):447-81.

**135-** Widmer G. Genetic heterogeneity and PCR detection of *Cryptosporidium parvum*. *Adv Parasitol.* 1998; 40:223-39.

**136-** Jiang J, Alderisio KA, Singh A, Xiao L. Development of procedures for direct extraction of *Cryptosporidium* DNA from water concentrates and for relief of PCR inhibitors. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71(3):1135-41.

**137-** Deng MQ, Cliver DO. *Cryptosporidium parvum* studies with dairy products. *Int J Food Microbiol.* 1999; 46:113-21.

**138-** Abrahamsen MS *Cryptosporidium parvum* genome project. *Comp Funct Genomics.* 2001; 2(1): 19-21.

**139-** Xiao L, Ryan UM. Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology. *Curr Opin Infect Dis.* 2004; 17:483-490.

**140-** Sulaiman IM, Xiao L, Lal AA. Evaluation of *Cryptosporidium parvum* genotyping techniques. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65(10):4431-5.

**141-** Quigley JD, Martin KR, Bemis DA, Potgieter LND, Reinemeyer CR, Rohrbach

BW, Dowlen HH, Lamar KC. Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of Jersey Calves. J Dairy Sci. 1994; 77:3124-31.

**142-** Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Ares-Mazàs E. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N.W. Spain). Vet Parasitol. 2002; 106:1-10.

**143-** Naciri M, Mancassola R, Fort G, Danneels B, Verhaeghe J. Efficacy of amine-based disinfectant KENO™COX on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Vet Parasitol. 2011; 179(1-3):43-9.

**144-** Tzipori S, Smith M, Halpin C, Angus KW, Sherwood D, Campbell I. Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. Veterinary records. 1983; 112(6):116-20.

**145-** Harp JA, Woodmansee DB, Moon W. Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. Infect Immun. 1990; 58(7):2237-40.

**146-** Baillargeon J. Étude de la contamination du colostrum bovin par des oocystes de *Cryptosporidium parvum*. Université de Montréal 2004; 196 pp.

**147-** Fayer R, Andrews C, Ungar BLP, Blagburn B. Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. J Parasitol. 1989; 75(3):393-7.

**148-** Olson ME, O'Handley RM, Ralston BJ, McAllister TA, Thompson RCA Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. Trends Parasitol. 2004; 20(4):185-91.

**149-** Ong C, Moorehead W, Ross A, Isaac-Renton J. Studies of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in two adjacent watersheds. Appl Environ Microbiol. 1996; 62(8):2798-805.

**150-** Chen X-M, LaRusso NF. Mechanisms of attachment and internalization of *Cryptosporidium parvum* to biliary and intestinal epithelial cells. Gastroenterology. 2000; 118(2):368-79.

**151-** Hunt E, Fu Q, Armstrong MU, Rennix DK, Webster DW, Galanko JA, Chen W, Weaver EM, Argenzio RA, Rhoads JM. Oral bovine serum concentrate improves cryptosporidial enteritis in calves. Pediatr Res. 2002; 51(3):370-6.

- 152-** Innes EA, Bartley PM, Rocchi M, Benavidas-Silvan J, Burrells A, Hotchkiss E, Chianini F, Canton G, Katzer F. Developing vaccines to control protozoan parasites in ruminants: dead or alive? *Vet Parasitol.* 2011; 180(1-2):155-63.
- 153-** Alak JI, Wolf BW, Mdurvwa EG, Pimentel-Smith, GE, Kolavala S, Abdelrahman H, Suppiramaniam V. Supplementation with *Lactobacillus reuteri* or *L. a cidophilus* reduced intestinal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cell mol Biol.* 1999; 45(6):855-63.
- 154-** Schnyder M, Kohler L, Hemphill A, Deplazes P. Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Vet Parasitol.* 2009; 160(1-2):149-54.
- 155-** Perryman LE, Kapil SJ, Jones ML, Hunt EL. Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a *Cryptosporidium parvum* recombinant protein. *Vaccine.* 1999; 17(17):2142-9.

