

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA-1

Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Epidémiologie appliquée à la santé animale

**ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE *CRYPTOSPORIDIUM SP*
ET SON ASSOCIATION AVEC D'AUTRES
ENTEROPATHOGENES CHEZ LES AGNEAUX AU
CENTRE D'ALGERIE.**

Par

Hichem DAHMANI

Devant le jury composé de:

R.KAIDI	Professeur, U. de Blida 1	Président
D. KHELAF	Professeur, ENSV., Alger	Examineur
N OUCHENE	Maitre de conférence A U. de Blida 1	Examineur
M. OUMOUNA	Professeur, U. de Médéa	Promoteur
A.HAKEM	Professeur, U. de Djelfa	Co-Promoteur

Blida, Janvier 2019

RESUME

Souvent, La diarrhée néonatale de l'agneau 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.

La présente étude s'articule sur quatre volets menée dans différentes régions du centre d'Algérie

1-Une enquête de prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.

2-Une enquête sur l'éventuelle association avec *Giardia* et *Eimeria* sp chez les agneaux de 1 à 6 mois.

3-Une enquête de prévalence sur les 4 principaux agents pathogènes *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de la diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux.

4- Enquête sur la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immuno-enzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et recherche des éventuelles lésions du à *Cryptosporidium* sp sur des agneaux trouvés mort au moment du prélèvement.

La première enquête nous a permis de montrer que les quarante troupeaux ont fourni un résultat positif au dépistage de *Cryptosporidium* sp. soit une prévalence troupeau de 84 % [IC₉₅ % 75 % - 93 %].

La prévalence individuelle globale était 12,4 %, la prévalence de l'infestation des agneaux, de 13,5 %, de 10 % pour les brebis et de 3,4 % pour les béliers (p < 0,05). Elles ne concernent cependant que l'échantillon étudié

La deuxième enquête a montré que les cryptosporidies marquent la prévalence la plus élevée suivies de *Giardia* et *Eimeria* a des taux différents, les

cryptosporidies sont isolés pendant les deux premières semaines de vie, alors que Giardia et Eimeria infestent les agneaux les plus âgés, d'où apparaît l'importance de l'âge comme facteur prédisposant à l'infestation.

La troisième enquête a fourni les résultats suivants : une prévalence des cryptosporidies (18%), suivi du colibacille F5 (K99+) (12%), le rotavirus (9%), et enfin le coronavirus (5%). Les différents germes sont plus retrouvés isolés qu'associés, leur prévalence a été plus importante chez les agneaux diarrhéiques, 39% pour *Cryptosporidium* sp, 23% E-coli, 21% Rotavirus et 15 % Coronavirus. Rotavirus est plus fréquemment détecté chez les agneaux pendant la première quinzaine de vie soit (17%) ainsi que E-coli soit (15%), pour *cryptosporidium* sp, il a été détecté surtout durant la deuxième quinzaine de vie soit 28%. En outre aucune infection n'a été détectée pour rotavirus et coronavirus, dans cette période.

La quatrième enquête a décrit que la méthode microscopique s'est montrée moins efficace pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. Le test de khi-deux montre qu'il y a une différence significative entre les deux méthodes $P < 0,05$ et le test de Kappa = 0,577 montre une concordance moyenne entre les deux techniques

Mots clés : *Cryptosporidium*, Agneau, Diarrhée, Centre d'Algérie.

ABSTRACT

Often, neonatal diarrhea in the lamb is a serious problem for both the farmer and the veterinarian. Morbidity and mortality are high, causing considerable economic losses.

This study is divided into four sections in different regions of central Algeria

- 1- A prevalence survey of *Cryptosporidium* sp. in sheep and the relationship with certain factors known to be predisposing to cryptosporidian infestation.
- 2- An investigation of the possible association with *Giardia* sp and *Eimeria* sp in lambs of 1 to 6 months
- 3- A prevalence survey on the 4 main pathogens *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronaviruses responsible for diarrhea based on clinical status and age of lambs.
- 4- Survey on the detection of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in faeces of lambs by two methods: Enzyme Immunoassay (ELISA) and modified Ziehl-Neelsen staining and search for possible lesions of *Cryptosporidium* sp on lambs found dead at the time of sampling.

The first survey showed that 52 herds were tested positive for *Cryptosporidium* sp., with herd prevalence of 84% [95% CI 75% - 93%].

The overall individual prevalence was 12.4%, the prevalence of lamb infestation was 13.5%, 10% for ewes and 3.4% for rams ($p < 0.05$). However, they only concern the sample studied

The second survey showed that *cryptosporidium* sp had the highest prevalence followed by *Giardia* sp and *Eimeria* sp at different rates, *cryptosporidium* sp were isolated during the first two weeks of life, while *Giardia* sp and *Eimeria* sp infest older lambs, hence the importance of age as a predisposing factor for infestation.

The third survey provided the following results: a prevalence of *cryptosporidium* sp (18%), followed by E. coli F5 (K99 +) (12%), rotavirus (9%), and

finally the coronavirus (5%). The different germs are found more isolated than associated their prevalence was higher in diarrheal lambs, 39% for *Cryptosporidium* sp, 23% E-coli, 21% Rotavirus and 15% Coronavirus. Rotavirus is more frequently detected in lambs during the first fortnight of life (17%) as well as E-coli (15%), for *cryptosporidium* sp, it was detected especially during the second fortnight or 28%. In addition no infection was detected for rotavirus and coronavirus in this period.

The fourth survey described the microscopic method as being less effective for the detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts. The chi-square test shows that there is a significant difference between the two methods $P < 0.05$ and the Kappa test = 0.577 shows a mean agreement between the two techniques.

Key words: *Cryptosporidium*, Lamb, Diarrhea, Central Algeria.

ملخص

في كثير من الأحيان ، الإسهال الوليدي في الحمل هو مشكلة خطيرة لكل من المربي والطبيب البيطري. تعتبر معدلات الاعتلال والوفيات عالية، مما يتسبب في خسائر اقتصادية كبيرة

هذه الدراسة مقسمة إلى أربعة أقسام في مناطق مختلفة من وسط الجزائر.

1- دراسة وبائية لمدى انتشار طفيلي الكريبتوسبورديوم في الأغنام والعلاقة ببعض العوامل المعروفة بأنها مهددة للإصابة .

2- تحقيق في إمكانية الارتباط مع جيارديا و إيمريا في الحملان من 1 إلى 6 أشهر.

3- دراسة وبائية عن مسببات الأمراض الرئيسية الأربعة : الكريبتوسبورديوم ، ايشريشيا كولي، روتا فيروس، كورونافيروس ،المسؤولة عن الإسهال على أساس الحالة السريرية وعمر الحملان.

4- البحث عن طفيلي الكريبتوسبورديوم في براز الحملان بطريقتين: الانزيم المتقطع و صبغة نيلسون والبحث عن الجروح المحتملة ل الكريبتوسبورديوم في الحملان الميت وقت أخذ العينات.

أظهر المسح الأول أن أربعون قطيعا كانت إيجابية بالنسبة لـ الكريبتوسبورديوم بمقدار IC95 [84 % : 93 - 75 %].نسبة الإصابة ب: الكريبتوسبورديوم على مستوى الانتشار الفردي العام 12.4 % ، في الغنم 13.5 % ، 10 % للنعاج و 3.4 % للكباش.

أظهر المسح الثاني أن الكريبتوسبورديا لديها أعلى معدل انتشار تليها الجيارديا وإيمريا بمعدلات مختلفة ، وتم عزل الكريبتوسبورديا خلال الأسبوعين الأولين من الحياة ، بينما تقوم جيارديا وإيميريا بضرب الحملان الأقدم ، ومن هنا تأتي أهمية السن كعامل مؤهب للإصابة.

قدم المسح الثالث النتائج التالية: انتشار الكريبتوسبورديا (18 %) ، تليها الاشريشيا القولونية (+ K99 F5 12 %) ، فيروس الروتا (9 %) ، وأخيرا فيروس كورونا (5 %). تم العثور على الجراثيم المختلفة أكثر عزلة من المرتبطة ، وكان انتشارها أعلى في الحملان الإسهال ، و 39 % لـ الكريبتوسبورديوم ، 23 % القولونية ، 21 % روتا فيروس و 15 % ، كورونافيروس . يتم الكشف عن الفيروسات بشكل متكرر أكثر في الحملان خلال أول أسبوعين من الحياة (17 %) وكذلك القولونية (15 %) ، لـ الكريبتوسبورديوم ، تم الكشف عن وجوده خاصة خلال الأسبوعين الثاني أو 28 % . وبالإضافة إلى ذلك ، لم تُكتشف أي عدوى بالفيروسات والفيروسات التاجية ، في هذه الفترة.

وصف المسح الرابع الطريقة الميكروسكوبية بأنها أقل فاعلية للكشف عن الكريبتوسبورديوم . يظهر اختبار كاي مربع أن هناك اختلاف كبير بين الطريقتين $P < 0.05$ و $Kappa\ test = 0,577$ يدل على اتفاق متوسط بين الطريقتين

الكلمات المفتاحية: الكريبتوسبورديوم ، الحمل ، الإسهال ، وسط الجزائر

REMERCIEMENTS

À Monsieur KAIDI R

Professeur à l'Université Saad-Dahleb de Blida 1, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de thèse de doctorat. Remerciements respectueux.

À Monsie

ur KHELAF D

Professeur à l'Ecole nationale supérieure vétérinaire El harrache pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de thèse de doctorat. Remerciements respectueux.

À Monsieur OUCHEN N

Maitre de conférences A à l'Université Saad-Dahleb de Blida1 pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de thèse de doctorat. Remerciements respectueux.

À Monsieur OUMOUNA M

Professeur à l'Université de Yahia Fares, Médéa qui m'a aidé tout au long de la réalisation de ce travail. Je lui suis très reconnaissant pour tout le temps qu'il m'a consacré pendant la réalisation des différentes étapes de la thèse. Très sincères remerciements.

À Monsieur HAKEM H

Professeur à l'Université de Ziane Achour Djelfa, qui m'a aidé tout au long de la partie expérimentale, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

À tous les vétérinaires qui nous ont aidés dans la réalisation de ce travail : Dr Dahmani Ali, Dr Kaaboub Laid, Dr Ben Ali Reda., Dr Rachid Kaddour.

À tous les éleveurs de la région d'Ain Oussera, El-aziza, Laghaouat qui ont contribué à la réalisation de ce travail .

Nous tenons à remercier aussi, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

À mes parents pour leur soutien, amour et patience durant ces longues années d'études, qu'ils trouvent ici un modeste témoignage de tout l'amour que j'ai pour eux,

À ma chère femme Amina pour son précieux soutien et encouragement.

À mes chères enfants (Lina et Ahmed), sœurs, À tou(te)s mes ami(e)s.

TABLE DES MATIERES

RESUME.....	1
REMERCIEMENT.....	6
TABLE DES MATIERES.....	7
LISTE DES FIGURES.....	12
LISTE DES TABLEAUX.....	14
INTRODUCTION.....	16
1 : CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DU PARASITE.....	18
1.1. Historique.....	18
1.2. Position taxonomique.....	19
1.2.1. <i>Cryptosporidium sp.</i>	19
1.2.2. Taxonomie du genre <i>Cryptosporidium sp.</i>	20
1.2.3. Localisation du parasite.....	22
1.2.3.1. Site d'infection.....	22
1.2.3.2 Formation de la vacuole Parasitophore.	23
1.3. Biologie	23
1.3.1. Cycle biologique	23
1.4 .Propriétés physico-chimiques et résistance de l'oocyste.	25
1.4.1. Propriété physico-chimique	25
1.4.2. Résistance de l'oocyste dans la matière fécale.	26
1.4.3. Résistance aux désinfectants.	26
2 : EPIDEMIOLOGIE.	27
2.1. Répartition géographique et les espèces affectées.	27
2.2. Epidémiologie descriptive.	27
2.3 .Epidémiologie analytique.	27
2.3.1. Sources de contamination	27
2.3.1.1 Les jeunes animaux du troupeau.	27
2.3.1.2. Les mères.	27
2.3.1.3. Les animaux sauvages.	28
2.3.1.4. Eau.	28
2.4 .Critères de sensibilité de l'hôte et les facteurs de risques.	28
2.4.1. Critères de sensibilité.	28
2.4.1.1. L'espèce.	28

2.4.1 .2. L'âge.	29
2.4.1.3 .le statu immunitaire.	29
2.4.1.4. Influence de la prise de colostrum.	29
2.4.1.5. L'état de santé des mères.	29
2.4.2. Facteurs de risques.	30
2.5. Voies et mode de transmission.	31
2.5.1. Direct.	31
2.5.2. Indirect.	32
2.5.3. Dose infectante.	33
2.6. Prévalence de la cryptosporidiose.	33
3 .ASSOCIATION DES CRYPTOSPORIDIES AVEC D'AUTRES ENTITES PATHOLOGIQUES.....	35
3.1. Introduction	35
3.2. Principaux entités pathologiques.....	35
3.2.1. Escherichia coli.	35
3.2.2. Rotavirus.	37
3.2.3. Coronavirus	37
3.2.4. Giardia duodenalis.	38
3.2.4.1. Le cycle parasitaire de <i>Giardia</i> sp.....	39
3.2.4.2. Données épidémiologiques.	40
3.2.5. <i>Eimeria</i> sp.	40
3.2.5.1. Le cycle parasitaire d' <i>Eimeria</i> sp.	40
4 : PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DIARRHEE CRYPTOSPORIDIENNE	43
4.1 .Pouvoir pathogène du genre <i>Cryptospridium</i>	43
4.2. Réponse immunitaire à l'infection au <i>Cryptospridium</i> sp.	44
4.3. Signes cliniques.	45
4.4. Lésions anatomo-pathologiques.	45
4.4.1. Examen macroscopique.	45
4.4.2. Examen histologique.	46
4.5. Diagnostic.	46
4.5.1. Diagnostic épidémiologique et clinique	46
4.5.2. Diagnostic différentiel	46
4.5.3. Diagnostic de laboratoire.	47
4.5.3.1. Les techniques d'étalement sur lame et coloration.	47
4.5.3.2. Techniques de concentration	47
4.5.3.3 Techniques de marquage immunologique.....	48

4.6. Traitement.	48
4.6.1. Traitement spécifique.	48
4.6.2. Traitement symptomatique.	49
4.7. Prophylaxie sanitaire.	49
4.7.1. Désinfection de l'environnement proche de l'agneau	49
4.7.2. Prévention de l'infection.	50
4.7.3. Gestion du troupeau	50
4.8. Prophylaxie médicale.	50
5 : PARTIE EXPERIMENTALE.	52
5.1. Problématique.....	52
5.2. Enquête sur la prévalence de <i>Cryptosporidium</i> sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.....	53
5.2.1. Introduction	53
5.3. Matériel et Méthodes.	54
5.3.1. Conception générale.	54
5.3.1.1. Elevages.	55
5.3.1.1.1. Population cible.....	55
5.3.1.1.2. Echantillonnage.	55
5.4. Traitement statistique des données.....	58
5.5. Matériel de laboratoire.	58
5.5.1. Méthode.	59
5.5.1.1. Protocole de prélèvement.....	59
5.5.1.2. Technique de laboratoire utilisée	60
5.5.1.2.1. Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley.....	61
5.5.1.2.2. Technique de Ziehl-Neelsen modifiée (Henriksen et Pohlenz 1981).....	62
5.6. Résultat des prélèvements et analyse coprologique	62
5.6.1. Description de l'échantillon.....	62
5.6.2. Résultats d'ensemble.....	63
5.7. Discussion de la représentativité des résultats	69
5.7. Discussion des résultats des prélèvements.....	70
5.9. Conclusion.	72
5.10. Enquête de prévalence sur <i>Giardia</i> sp, <i>Emeria</i> sp et <i>Cryptosporidium</i> sp chez les agneaux de 1 à 6 mois seul ou en association.....	73

5.10.1 Introduction.....	
5.10.2. Matériel et méthodes.....	74
5.10.3. Techniques de laboratoire utilisées.....	74
5.10.4. Analyses statistiques.....	74
5.10.5. Résultats.....	74
5.10.6 Discussion.....	77
5.10.7 Conclusion.....	78
5.11 : Enquête de prévalence sur les 4 principaux agents pathogènes <i>Cryptosporidium</i> sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux.....	79
5.11.1 : Introduction.....	79
5.11.2. Matériel et Méthodes.....	80
5.11.2.1. Matériel :	80
5.11.2.1.1 L'enquête (questionnaire)	80
5.11.2.1.2 Modalité du recueil des données.....	80
5.11.2.1.3 Données collectées.....	80
5.11.2.1.4 .Traitement statistique des données.....	81
5.11.2.2 L'enquête proprement dite.....	81
5.11.2.1 Animaux.....	81
5.11.3 Méthodes.....	81
5.11.3.1 Analyses statistiques.....	82
5.11.4 Résultats du questionnaire.....	82
5.11.5 Discussion du questionnaire.....	92
5.11.6 Résultat du l'enquête.....	95
5.11.7 Discussion.....	97
5.11.8 Conclusions.....	101
5.12. Enquête sur la détection des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immuno-enzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et recherche des éventuelles lésions du à <i>Cryptosporidium</i> sp sur des agneaux trouvés mort au moment du prélèvement.....	101
5.12.1. Introduction.....	101
5.12.2. Matériel et méthodes	102
5.12.2.1. Matériel.....	102
5.12.2.2. Méthodes	102
5.12.2.2.1. Comparaison des deux Méthodes.....	102

5.12.2.2.2. Etude hitopthologique des intestins.....	103
5.12.3. Résultats de comparaison entre deux techniques.....	103
5.12.4. Résultats de l'étude hitopthologique.....	104
5.12.5. Discussion.....	106
5.12.6. Conclusion	109
CONCLUSION GENERALE	110
RECOMMANDATIONS	112
ANNEXE.....	
A .Liste des symboles et des abréviations.....	
B. Questionnaire auprès des vétérinaires.....	
C. Les étapes de la technique de test ELISA	
D. Traitement de questionnaire.....	
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Muqueuse d'un iléon sain en microscopie optique.....	22
Figure 1.2	Approche d'une cellule intestinale par un sporozoïte en électronique à transmission.....	23
Figure 1.3	Cycle biologique de <i>Cryptosporidium sp.</i>	24
Figure 2.1	Mauvaise hygiène des bergeries.....	31
Figure 2.2	Bergerie collective.....	32
Figure 2.3	Léchage du mur.....	32
Figure 2.4	Aliment souillé par les croûtes des chevreaux.....	32
Figure 3.1	Cycle biologique de <i>Giardia sp.</i>	39
Figure 3.2	Cycle biologique de <i>Eimeria sp.</i>	42
Figure 4.1	Mécanisme de la réponse immunitaire.	44
Figure 5.1	Carte géographique d'Ain Oussera.....	55
Figure 5.2	Observation de l'oocyste avec microscope optique.....	62
Figure 5.3	Distribution des troupeaux selon le nombre d'agneaux.....	63
Figure 5.4	Distribution du degré d'infestation moyenne des troupeaux selon les prélèvements des agneaux.	64
Figure 5.5	Fréquence des pathologies néonatales des agneaux .rencontrées sur le terrain.....	84
Figure 5.6	Fréquence des diarrhées néonatales sur le terrain.....	85
Figure 5.7	Fréquence des diarrhées néonatales en fonction de l'âge.....	86
Figure 5.8	Fréquence des diarrhées néonatales en fonction de la saison	87
Figure 5.9	Fréquence de déshydratation lors la mort de l'agneau.....	88
Figure 5.10	Fréquence des réponses concernant l'hygiène des bergeries.....	88
Figure 5.11	Fréquence des diarrhées selon le type d'élevage.....	89
Figure 5.12	Fréquence des diarrhées des agneaux issus des brebis vaccinées contre l'entérotoxémie ou non.....	89
Figure 5.13	Fréquence de supplémentasson du troupeau.....	90
Figure 5.14	Fréquence de recours au laboratoire par les vétérinaires.....	91

Figure 5.15	Traitement préconisés par les vétérinaires.....	91
Figure 5.16	Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> sp attachés à la surface épithéliale après coloration par H&E d`une section de l`iléon d`un agneau, grossissementsx400.	104
Figure 5.17	Atrophie, destruction des villosités, après coloration par H&E d`une section de jéjunum d`un agneau, grossissementsx400.....	105
Figure.5.18	Infiltration proliférative par des lymphocytes et des macrophages desquamations de l`épithélium intestinale, après coloration par H&E d`une section de jéjunum d`un agneau, grossissementsx400.....	105
Figure 5.19	Atrophie, destruction des villosités + épaissement de la membrane basale, après coloration par H&E d`une section de l`ion d`un agneau, grossissementsx400.....	106

LISTE DES TABLEAUX.

Tableau 1.1	Position taxonomique du genre <i>Cryptosporidium sp.</i>	19
Tableau 1.2	Liste des espèces de <i>Cryptosporidium sp.</i> considérées comme valide.	21
Tableau 2.1	La prévalence de l'infection dans plusieurs pays.	34
Tableau 5.1	Nombre de troupeau nécessaire en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée, dans une population infinie.....	56
Tableau 5.2	Table de nombre au hasard.	57
Tableau 5.3	Prévalence de <i>Cryptosporidium sp.</i> sur un échantillon d'ovins de la région d'Aïn Oussera (2014-2016).....	64
Tableau 5.4	Prévalence de <i>Cryptosporidium sp.</i> chez les agneaux (n = 1050) en fonction de leur statut clinique (région d'Ain Oussera, 2014-2016)...	65
Tableau 5.5	Pourcentage de prélèvements des matières fécales positifs en fonction de l'âge des agneaux.....	65
Tableau 5.6	Distribution des agneaux selon leur degré d'infestation des matières fécales par <i>Cryptosporidium sp.</i> en fonction de l'âge jusqu'à quatre semaines (n = 865)	66
Tableau 5.7	Comparaison des pourcentages de résultats positifs du tableau 4 des agneaux de 1 à 3 semaines par leur rapport aux résultats correspondants des agneaux de 4 semaines.....	67
Tableau 5.8	Pourcentage de prélèvements des matières fécales positifs par <i>Cryptosporidium sp</i> chez la brebis avant et après mise bas.....	67
Tableau 5.9	Fréquence des troupeaux positifs à <i>Cryptosporidium sp.</i> en fonction de différents facteurs (n = 62 troupeaux).....	68
Tableau 5.10	Prévalence des protozoaires seul ou en association.....	74
Tableau 5.11	Prévalence de l'infestation de : <i>Cryptosporidium sp</i> , <i>Giardia sp</i> , et <i>Eimeria sp</i> en fonction de l'âge des agneaux.....	75
Tableau 5.12	Prévalence des 03 protozoaires et leur association en fonction	

	des selles diarrhéiques et non diarrhéiques.....	76
Tableau 5.13	Différentes Wilayas à partir desquels nous avons obtenu des réponses	83
Tableau 5.14	Fréquence des pathologies néonatales de l'agneau selon les vétérinaires.....	83
Tableau 5.15	Fréquence des diarrhées néonatales sur le terrain.....	84
Tableau 5.16	Fréquence des diarrhées néonatales selon l'âge de l'agneau....	85
Tableau 5.17	Fréquence des diarrhées selon la saison.....	86
Tableau 5.18	Fréquence de déshydratation lorsque l'agneau est mort.....	87
Tableau 5.19	Fréquence de supplémentasson du troupeau.....	90
Tableau 5.20	Prévalence des 4 principaux agents pathogènes dans les fèces d'agneaux.....	95
Tableau 5.21	Prévalence des 4 principaux agents entéropathènes et de leurs associations.....	96
Tableau 5.22	Fréquence d'isolement des 4 principaux agents pathogènes en fonction de l'âge.....	96
Tableau 5.23	Répartition des résultats selon le statut clinique des agneaux...	97
Tableau 5.24	Comparaison entre ELISA et ZN pour la détection des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> sp.....	103

INTRODUCTION

Mouton ou ovin, un mot qui sort au premier lorsqu'on parle de l'élevage en Algérie. C'est sûr puisque cette espèce représente la « tradition » en matière d'élevage et l'effectif le plus important (approximativement 26 millions en 2016), les ovins se répartissent sur toute la partie Nord du pays avec toutefois une forte concentration dans la steppe et les hautes plaines céréalières (80% de l'effectif total), avec en premier lieu la wilaya de Djelfa [1].

L'élevage ovin joue un rôle socioculturel important, il compte pour 25 à 30% dans la production animale et 10 à 15% dans la production agricole. Et aussi, il fournit plus de 50% de la production nationale en viande rouge [2]. Il se pratique dans les différentes zones climatiques d'Algérie, depuis la côte méditerranéenne jusqu'aux oasis du Sahara, Ce dernier se trouve confronté aux pathologies qui spolient l'économie de cette population rurale qui n'a d'autre source de substance que l'élevage.

Les premiers jours qui suivent la naissance représentent une période critique dans la vie des animaux. Parmi les ruminants, l'agneau qui se trouve dès la naissance dans un environnement hostile; il est vulnérable aux infections vu que sa défense immunitaire est immature.

Parmi les maladies néonatales, les entérites diarrhéiques sont les plus fréquentes et représentent une des préoccupations des éleveurs. Elles sont dues à différents agents pathogènes, bactéries, virus et parasites intestinaux. Des co-infections provoquées par l'association de deux de ces agents sont souvent signalées [3].

Les parasites qui affectent le plus souvent l'agneau, entre la naissance et les premières semaines, sont des protozoaires, *Cryptosporidium* sp. [4], *Giardia duodenalis* et *Eimeria spp*; avec une prévalence croissante à partir de la troisième semaine [5].

Chez les agneaux, la morbidité de la cryptosporidiose varie de 80 à 100% en bergerie, avec 10 à 15 % de mortalité et les survivants peuvent demeurer des non-

valeurs économiques à cause du retard de croissance lié à l'atrophie des villosités intestinales et à l'hypertrophie des cryptes [6].

La cryptosporidiose, qui provoque une diarrhée néonatale grave chez les agneaux, peut être transmise à l'homme à partir des animaux atteints.

En Algérie, La plupart des publications récentes sur la cryptosporidiose et sa prévalence portent sur le veau [7][8][9]. Cependant, les données épidémiologiques à l'échelle nationale sur les entérites diarrhéiques des agneaux demeurent absentes, ce qui nous a incités à entreprendre une étude pour répondre aux objectifs suivants :

- 1- Connaitre la prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.
- 2- Eventuelle association avec *Giardia* et *Eimeria* sp chez les agneaux de 1 à 6 mois.
- 3- Déterminer la prévalence des 4 principaux agents pathogènes *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de la diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux.
- 4- Détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immunoenzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et recherche des éventuelles lésions dus à *Cryptosporidium* sp sur des agneaux trouvés mort au moment du prélèvement.

Pour ce faire, nous avons établi une recherche bibliographique sur l'état actuelle de cette parasitose, suivie de 4 enquêtes répondant à chaque objectif cité au-dessus

Enfin, nous avons fini par les recommandations pour réduire le risque de la cryptosporidiose et les autres entités pathologiques afin d'améliorer le bien-être et la résistance des animaux aux maladies néonatales:

CHAPITRE 1

CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DU PARASITE

1.1. Historique:

C'est en 1907 : Ernest Eduard Tyzzer a décrit la présence d'un parasite unicellulaire vivant dans les glandes gastriques des souris de laboratoire (*Mus musculus*) qu'il a nommé *Cryptosporidium muris* [10], il décrit ensuite en 1910 les stades sexués et asexués du parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'un organelle spécialisé, il détailla alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre des sporozoaires apparentés aux coccidies : *Cryptosporidium* [11].

En 1912 : Tyzzer a décrit chez la souris, l'espèce *C. parvum*, Il s'agit bien d'espèces distinctes car les oocystes sont de forme et taille différentes. En plus, *C. muris* est localisé au niveau des glandes alors que *C. parvum* est localisé dans l'épithélium intestinal [12].

Le parasite est cependant resté ignoré ou considéré comme un organisme commensal jusqu'à sa reconnaissance par les vétérinaires dans les années 70 comme responsable d'épidémie de diarrhées parfois mortelles dans les élevages des jeunes veaux [13][14].][15].

En 1971 : Panciera et al [14] font la première description des cryptosporidies cliniques sur une génisse de 8 mois. Cependant, l'âge de la vèle et la chronicité de la diarrhée qu'elle présentait font penser à un état d'immunodéficience.

Le premier cas de cryptosporidiose ovine a été rapporté en 1974 par Baker et Carbonell [16]. Le rôle de ce parasite dans les diarrhées néonatales ovines a été rapporté au début des années 1980.

-1974 : deux nouveaux cas de cryptosporidioses bovines sont rapportés dont l'un sur un veau âgé de deux semaines et qui avait eu la diarrhée pendant 10 jours [17] [18] [19] [20].

En Algérie, les premiers travaux menés sur la cryptosporidiose (bovine) étaient faites par Akam et al [7], Khalef et al [8] et Ouchen et al [9]. Cependant, les premiers cas humains ont été diagnostiqués en 1992 à l'hôpital d'El Kettar chez trois immunocompétents et deux immunodéprimés par le Dr Azzam [23].

1.2. Position taxonomique :

1.2.1. *Cryptosporidium sp.*

La position systématique de *Cryptosporidium sp* au sein des protistes est décrite dans Le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Position taxonomique du genre *Cryptosporidium sp.* [21]-[22]-[24].

Classification	Caractéristiques biologiques
<i>Eukaryota</i>	Caractérisés principalement par des cellules possédant un noyau avec enveloppe nucléaire
<i>Alveolata</i>	Présence de vésicules sous membranaires (alvéoles)
<i>Apicomplexa</i>	Présence d'un complexe apical chez les formes invasives
<i>Coccidiasina</i>	Cycle biologique comprenant mérogonie, gamétogonie et sporogonie
<i>Eucoccidiorida</i>	Existence de mérogonie (Schizogonie)
<i>Eimeriorina</i>	Développement indépendant des macro- et microgamontes
<i>Cryptosporidiidae</i>	Cycle biologique monoxène. Oocystes contenant quatre sporozoïtes nus. Développement sous la bordure en brosse des cellules épithéliales colonisées.

Cryptosporidium sp a été déjà décrit comme une coccidie atypique. Dans une révision, Barta et al., en 2006 [25] ont regroupé toutes les différences significatives entre *Cryptosporidium* sp et les autres coccidies. Par exemple, *Cryptosporidium* sp. est considéré comme un parasite intracellulaire, mais extra-cytoplasmique. Contrairement aux autres coccidies. *Cryptosporidium* sp. présente un organelle d'attachement à la cellule hôte et deux types d'oocystes peuvent être distingués: les oocystes à paroi épaisse et les oocystes à paroi fine. Ces derniers libèrent leurs sporozoïtes dans l'intestin et sont responsables d'un cycle d'auto-infection [25].

1.2.2. Taxonomie du genre *Cryptosporidium* sp. :

La Taxonomie du genre *Cryptosporidium* sp. a rapporté les critères suivants pour la classification du genre *Cryptosporidium* sp [26].

1. Une étude morphométrique des oocystes (taille, forme, structure des différents stades de développement).
2. Une caractérisation génétique (analyses des séquences nucléotidiques de différents gènes).
3. L'étude du spectre des hôtes naturels et l'analyse de la spécificité d'hôte naturelle ou expérimentale lorsque cela est possible.
4. La conformité aux règles de «l'International code of zoological nomenclature»[26].

Toutefois, il est évidemment difficile de définir une nouvelle espèce sur tous ces critères à la fois. Dans le tableau 1.2, se trouve la liste des espèces de *Cryptosporidium* sp. considérées actuellement comme valides selon les critères évoqués ci-dessus.

Tableau 1.2 : Liste des espèces de *Cryptosporidium sp.* considérées comme valides. [27]

Espèces	Hôte Principaux	Présence Chez L'homme	Principaux Sites D'infection	Associé A Pathologie	Taille Des Oocystes (µm)	Réf.
<i>C. Andersoni</i>	Bovin Domestique	Oui	Estomac	Oui	7,4 X 5,5	[28]
<i>C. Baileyi</i>	Poulet	Oui	Trachée, Bourse De Fabricius, Cloaque	Oui	6,3 X 5,2	[29]
<i>C. Bovis</i>	Bovin Domestique	NR	Intestin	Non	4,9 X 4,6	[30]
<i>C. Canis</i>	Chien Domestique	Oui	Intestin Grêle	Oui	4,8 X 7,2	[31]
<i>C. Fayeri</i>	Kangourou	NR	-	-	4,9 X 4,3	[33]
<i>C. Felis</i>	Chat Domestique	Oui	Intestin Grêle	Oui	4,6 X 4,0	[34]
<i>C. Fragile</i>	Crapaud	NR	Estomac	NR	6,2 X 5,5	[35]
<i>C. Galli</i>	Poulet Domestique	NR	Pro Ventricule	Oui	8,3 X 6,3	[32]
<i>C. Hominis</i>	Homme	Oui	Intestin	Oui	4,9 X 5,2	[36]
<i>C. Macropodum</i>	Kangourou	NR	-	-	4,9 X 5,4	[37]
<i>C. Meleagridis</i>	Dindon	Oui	Intestin	Oui	5,0 X 4,4	[47]
<i>C. Molnari</i>	Poisson(Dorade)	NR	Estomac	Oui	4,7 X 4,5	[38]
<i>C. Muris</i>	Souris	Oui	Estomac	Oui	8,4 X 6,2	[10]
<i>C. Nasorum</i>	Poisson (Licorne D'eau De Mer)	NR	Intestin	-	4,3 X 3,3	[39]
<i>C. Parvum</i>	Souris, Bovin Domestique, Homme	Oui	Intestin	Oui	4,9 X 4,4	[40]
<i>C. Ryanae (Ancien Deer-Like Genotype)</i>	Bovins Domestique	NR	-	Non	3,7 X 3,16	[41]
<i>C. Saurophilum</i>	Lézard	NR	Intestine, Muqueuse Cloacale	Oui	5,0 X 4,7	[42]
<i>C. Serpensis</i>	Serpent	NR	Estomac	Oui	6,2 X 5,3	[43]
<i>C. Suis</i>	Sanglier	Oui	Intestin	Non	4,6 X 4,2	[44]
<i>C. Scopithalmi</i>	Poisson (Turbot)	NR	Intestin, Estomac	Non	4,4 X 3,9	[45]
<i>C. Wrairi</i>	Cochon d'inde	NR	Intestin Grêle	-	5,4 X 4,6	[46]

NR : non rapporté.

1.2.3. Localisation du parasite :

La position qu'occupe le genre *Cryptosporidium* dans la cellule est absolument unique, le parasite est en position intracellulaire mais extra cytoplasmique. [48]

1.2.3.1. Site d'infection :

L'organe de prédilection est l'intestin grêle distal (jéjunum inférieur et l'iléon), le caecum, le colon et occasionnellement le duodénum peuvent être infectés, le tissu préférentiel est l'épithélium des villosités de l'intestin grêle (sans l'atteinte des glandes de Lieberküm). Quand le gros intestin est parasité, l'épithélium cryptique et de surface sont touchés (Figure 1.1) [49].

Au niveau cellulaire, les stades endogènes sont localisés dans la bordure en brosse des entérocytes, et se développe dans une vacuole parasitophore constituant une niche intracellulaire [50].

Cette position caractéristique dans la cellule-hôte est qualifiée d'intracellulaires mais extra cytoplasmique [51].

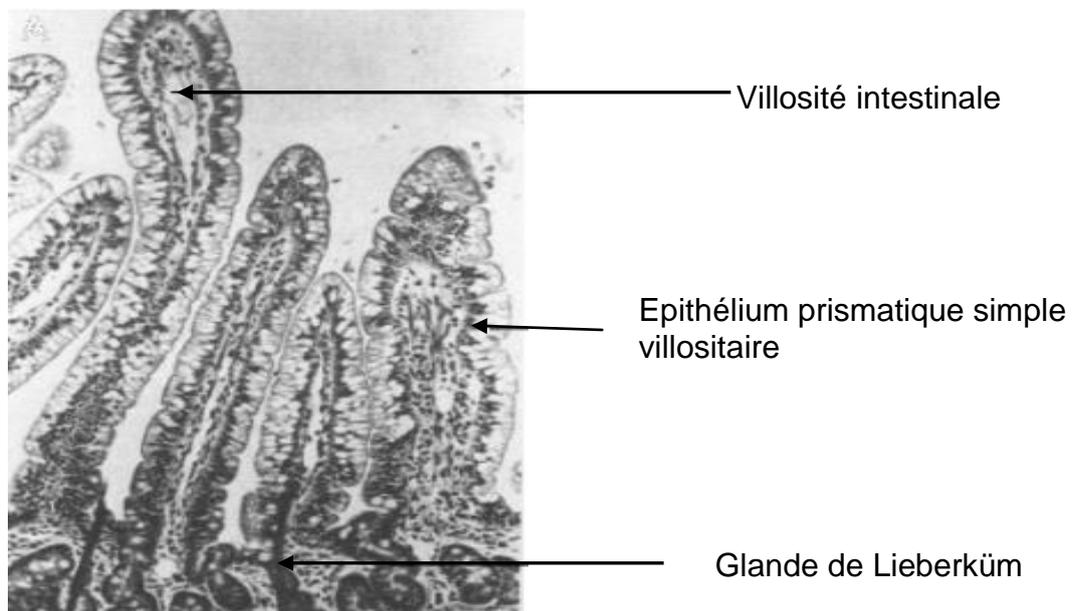


Figure 1.1 : Muqueuse d'un iléon sain en microscopie optique [52]

1.2.3.2. Formation de la vacuole Parasitophore :

Les sporozoïtes sortent de l'oocyste et se déplacent dans la lumière intestinale grâce à des mouvements de reptation [53]. Cette étape initiale de l'infection implique la reconnaissance et la fixation de *C. parvum* à l'épithélium intestinal [54]. Les sporozoïtes arrivent de cette façon au niveau de la bordure en brosse de l'entérocyte et présentent leur complexe apical au contact de la membrane entérocytaire [48]. Le complexe apical consiste en un ensemble d'organites sécréteurs jouant un rôle majeur dans l'invasion cellulaire par les "zoïtes" des Apicomplexa (Figure 1.2) [55].

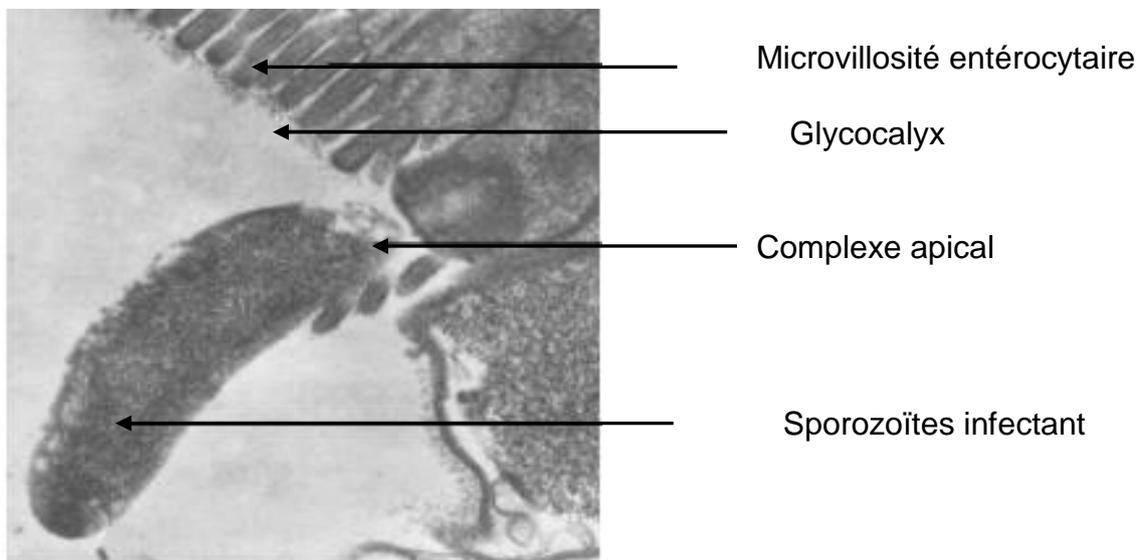


Figure 1.2 : Approche d'une cellule intestinale par un sporozoïte en microscopie électronique à transmission [56].

1.3. Biologie :

1.3.1. Cycle biologique :

Cryptosporidium sp. est un parasite monoxène, c'est à dire à un seul hôte, la forme de résistance et de dissémination de la maladie est l'oocyste excrété en grand nombre dans le milieu extérieur avec des fèces des sujets infectés [57].

Après l'ingestion, l'oocyste excyste sous l'action de la trypsine et des sels biliaires, libérant ses 4 sporozoïtes ou éléments infectants, qui vont se localiser dans la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin et préférentiellement dans les entérocytes de l'iléon. Le cycle de développement comporte 2 schizogonies (multiplications asexuées) suivies de la gamogonie [57].

Les schizontes de la première génération matures libèrent 8 mérozoïtes de la première génération qui vont réinfecter les cellules voisines donnant naissance à des schizontes I ou à des schizontes de la 2^{ème} génération.

Les mérozoïtes II (4 par schizontes II) initient la gamogonie, qui aboutit à la formation de zygotes et d'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 [57].

Les particularités de ce cycle consistent dans l'excrétion d'oocystes directement infectants, le recyclage des mérozoïtes de la première génération et la formation d'oocystes à coque fine 20% qui excyent immédiatement, entretenant l'infection (Figure 1.3). [57].

Ces particularités expliqueraient le maintien de l'infection chez les sujets immunodéprimés en l'absence de toute recontamination [57].

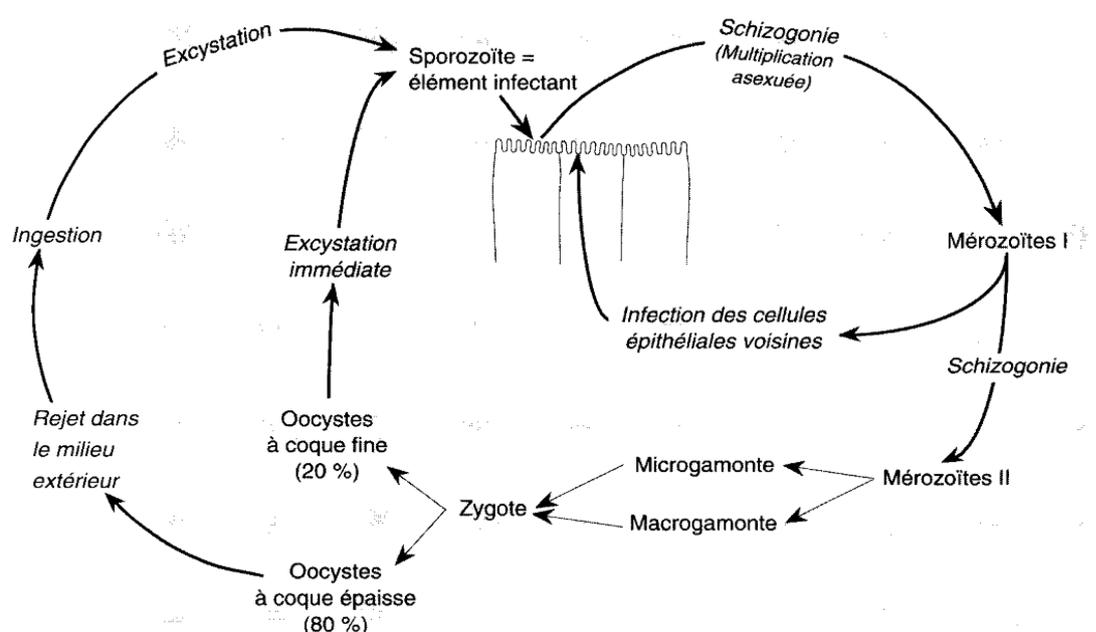


Figure 1.3 : Cycle biologique de *Cryptosporidium*.sp. [57]

1.4 .Propriétés physico-chimiques et résistance de l'oocyste :

1.4.1. Propriétés physico-chimiques :

Les oocystes conservés en solution aqueuse à température ambiante (15 à 20°C) restent viables pendant plus de trois mois [58], ils restent infectants pendant 2 à 6 mois à 4°C, mais leur infectivité est perdue après un chauffage à 65°C pendant au moins 30 minutes, après une minute à 72°C, et après dessiccation pendant au moins quatre heures. De même, la lyophilisation fait perdre leur pouvoir infectant [59].

La pasteurisation, et la congélation subite et rapide tue les oocystes, 100 % sont tués après immersion dans l'azote liquide -172°C [60].

Une congélation lente et progressive semble conserver les oocystes. Certains ont survécu à la congélation à -22°C pendant plus d'un mois et 23 % restent viables à -22°C pendant 21 heures [59]. De plus, des oocystes congelés de -0,3°C par minute, à +4°C à -70°C, dans une solution avec 5% de DMSO (diméthylsulfoxyde) étaient infectieux pour des hamsters immunodéprimés [61].

Parmi des oocystes conservés dans de l'eau avec une salinité de 35 ‰ pendant 40 jours, plus de 20% excytent. De même, les oocystes maintenus pendant 12 semaines à 10°C dans une eau avec une salinité de 30 ‰ restent infectieux pour la Souris [62].

Dans l'eau de distribution le taux de survie et l'infectiosité des oocystes sont plus important à 4°C jusqu'à 10°C, et la chloration de l'eau de boisson (chlore libre résiduel à 0,1 mg/l) n'a aucun effet sur le pouvoir infectant des oocystes, il faut de 8 000 à 16 000 mg/l de chlore pour tuer les oocystes .En plus, les oocystes sont résistants à la plupart des procédés de traitement des eaux ,étant déformables, ils pourraient passer à travers des filtres dont les pores font 3 µm de diamètre, voire seulement 1 µm de diamètre [62].

1.4.2 Résistance de l'oocyste dans la matière fécale :

Les matières fécales mettent les oocytes à l'abri de la dessiccation et augmentent l'imperméabilité de leurs parois aux molécules de petites tailles, ce qui les rend moins exposés aux facteurs létaux de l'environnement [63].

Les oocystes survivent dans les excréments humains et bovins, 34 % des oocystes sont toujours vivants dans des fèces de vache semi-solides maintenues pendant 176 jours à température ambiante. De plus, leur survie est supérieure à un an, à 4-6°C, dans les fèces [63]. Ils sont particulièrement résistants dans les lisiers, les effluents d'élevage et les effluents d'origine humaine, et sont donc susceptibles de contaminer les eaux de surface et les eaux souterraines [64].

1.4.3. Résistance aux désinfectants :

La plupart des désinfectants usuels n'ont également que peu d'effet sur l'oocyste ou alors à des concentrations et des temps d'exposition tels qu'ils ne sont pas compatibles avec une utilisation raisonnée [65].

Une réduction significative du nombre de parasite est atteinte lorsque celui-ci est exposé à l'ammoniac (5% et 10%) et au formaldéhyde (5% et 10%) à des durées dépassant 36 heures [65]

CHAPITRE 2 EPIDEMIOLOGIE

2.1. Répartition géographique et les espèces affectées :

Cryptosporidium sp. est retrouvé dans le monde entier, dans les zones urbaines et rurales, sous des climats tempères ou tropicaux [66].

L'infestation par des parasites du genre *Cryptosporidium* a été décrite chez 152 espèces de mammifères ,30 espèces d'oiseaux ,57 espèces de reptiles et 9 espèces de poisson [58].

2.2. Epidémiologie descriptive :

La cryptosporidiose est une affection parasitaire redoutable chez les ruminants nouveaux nés, et elle peut l'être chez l'homme en cas de dépression du système immunitaire [67].

2.3 .Epidémiologie analytique :

2.3.1. Sources contamination :

2.3.1.1 .Les jeunes animaux du troupeau :

Les nouveau-nés, que ce soit agneaux, chevreaux ou veaux, l'excrétion d'oocystes dans les premières semaines de vie est considérable et le milieu est fortement contaminé. La contamination est très aisée pour un animal nouveau- né à partir des fèces de ses voisins du même âge. Cette contamination se fait encore facilement dans les troupeaux où la densité animale est élevée et où les contacts entre les animaux sont nombreux [68].

2.3.1.2. Les mères :

La transmission de la cryptosporidiose des brebis cliniquement normales aux agneaux qui tètent a été démontrée [69].

Dans une étude faite sur le rôle de la brebis dans la contamination des agneaux pendant l'agnelage, rapporte que la perte d'oocytes augmente pendant la première et la deuxième semaine post-partum. Par conséquent, 71% des agneaux s'infestent pendant cette période. Les animaux adultes, très rarement malades, jouent un rôle de réservoir de parasites en raison de l'excrétion résiduelle, qui s'accroît autour de la mise bas [70].

2.3.1.3. Animaux sauvages :

Il s'agit principalement des cervidés, des rongeurs, des insectivores et des lagomorphes, comme les ruminants domestiques, les cervidés adultes sont des porteurs asymptomatiques participant à la contamination des jeunes et du milieu extérieur [71].

2.3.1.4. L'eau :

L'eau d'abreuvement, comme source de contamination, présente sûrement un risque parasitaire (cela est vrai pour l'homme), d'autant plus que l'eau distribuée aux animaux de rente fait l'objet de moins d'attention que celle qui est distribuée à l'homme surtout, si elle provient d'un point d'eau local susceptible d'être souillé par les effluents d'élevages [72].

2.4 .Critères de sensibilité de l'hôte et les facteurs de risques :

2.4.1. Critères de sensibilité :

2.4.1.1. L'espèce :

Compte tenu du caractère très ubiquiste et d'une spécificité faible du *Cryptosporidium sp.* toutes les espèces hôtes ne réagissent pas de la même façon à l'infection cryptosporidienne. Chez les rongeurs et lagomorphes, ce parasitisme ne se traduit que par une excrétion oocystales, tandis que chez les ruminants domestiques, sauvages, et l'homme sont beaucoup plus réceptifs et les manifestations cliniques sont fréquentes avec des degrés de sévérité variables [73].

2.4.1 .2. L'âge :

La maladie s'observe essentiellement chez les jeunes ruminants âgés de cinq jours à trois semaines. [74].

Il est admis que les animaux s'infectent dès la naissance, l'excrétion fécale d'oocystes débute autour de quatre jours d'âge, atteint un pic vers sept jours puis décline à partir du début de la troisième semaine. L'évolution des signes cliniques se superpose à celle de l'excrétion. Cette sensibilité serait due à l'immaturation de leur système immunitaire [65].

2.4.1.3 .le statut immunitaire :

Le parasite s'installe plus facilement chez l'animal sur un terrain immunodéprimé. Il affecte les individus très jeunes, dont le système immunitaire est encore immature [75].

Au moment de l'agnelage, le niveau d'excrétion d'oocystes augmente chez la brebis. La pression d'infection augmente dans le milieu ambiant au moment où les agneaux sont les plus vulnérables [76].

2.4.1.4. Influence de la prise de colostrum :

Un échec de transfert de colostrum peut induire plus de risque de maladies (X8), plus de risque de mourir avant le sevrage (X5), et une baisse du gain quotidien moyen, la prise de colostrum est nécessaire, elle doit se faire dans les deux heures absolument et de préférence dans la demi-heure après mise bas [77].

2.4.1.5. L'état de santé des mères :

Une concentration faible en immunoglobuline liée à une mammite ou une métrite dans la période proche du part est un premier facteur de contamination [78].

L'absence de mammite à la mise- bas, les trayons ne soient pas bouchés et une alimentation équilibrée sont importants. La complémentation des mères au tarissement est préventive pour la lactation suivante [77].

2.4.2. Facteurs de risques :

L'apparition de la cryptosporidiose passe par une phase d'amplification du parasite qui se produit chez les jeunes, seule cette amplification peut conduire à une contamination massive de l'environnement qui explique l'infection intense des nouveau-nés suivants et l'éclosion de la maladie [74].

Le risque d'apparition de la cryptosporidiose-maladie se situe donc à plusieurs niveaux :

-Lorsque l'infection des premiers jeunes est favorisée :

Ce risque n'est pas simple à maîtriser car un petit nombre d'oocystes peut suffire à initier l'infection. Cependant, More et al., 2003 [79] ont montré que lors d'inoculations uniques d'oocystes à des veaux, la durée de l'excrétion, le nombre total d'oocystes excrétés et donc la contamination de l'environnement étaient supérieurs. Il est donc important de minimiser l'infection chez les premiers jeunes pour limiter l'évolution de la contamination de l'environnement par la suite.

-Lorsque l'accumulation des oocystes dans l'environnement n'est pas maîtrisée au fil du temps :

Une densité animale trop élevée, un défaut dans l'entretien des locaux ou dans la gestion des lots (litière, sale, non séparation des malades,.....Etc.) favorisent la contamination massive de l'environnement. (Figure 2.1)[80].



Figure 2.1 : Mauvaise hygiène des bergeries.(Photo personnelle).

-Certains auteurs notent un effet de saison et du climat :

La prévalence de la cryptosporidiose est généralement plus importante à des saisons pluvieuses et sous des climats humides. Ainsi, la chute de neiges en hiver ou les fortes précipitations de fin d'été ou du début d'automne coïncide avec des pics de cryptosporidiose dans des pays comme les USA ou le Portugal [81].

2.5. Voies et mode de transmission :

2.5.1. Direct :

Le mode d'infection principale se fait par l'ingestion des oocystes précédemment éliminés avec des fèces des nouveau-nés infectés, ou par les animaux porteurs sains ou malades [82].

L'excrétion journalière des oocytes par les agneaux infectés peut dépasser 2×10^9 et plus que 2×10^{10} sont excrétés pendant la période pré patente [83].

Les ovins adultes qui sont porteurs sains peuvent excréter un petit nombre d'oocystes dans l'environnement, de sorte que leurs nombres augmentent dans la période néonatale et maintiennent l'infection pendant la période d'agnelage. Entre 75 et 100% des agneaux qui naissent dans cet environnement contractent l'infection dans la première de semaine de vie (Figure2.2) [84].



Figure 2.2 : Bergerie collective.(Photo personnelle).

Dans des études récentes, les oocytes sont beaucoup plus viables entre le 5 jour et 11^{ème} jour post infection qu'entre le 11 jours et le 15^{ème} jour post infection [85]. Les oocytes contaminants sont absorbés dans les premières heures de vie, soit par contact étroit avec les animaux porteurs sains ou malades, soit par léchage de laitières souillées par d'autres animaux, ou de mamelle souillée de leurs mères (Figure 2. 3 et Figure 2. 4) [75].



Figure 2.3 : Léchage du mur et litière . (Ph Pers).

Figure 2.4 : Aliment souillé par les croûtes des chevreaux. (Photo personnelle).

2.5.2. Indirect :

Par l'intermédiaire de l'environnement contaminé (matériel, litière, aliment, eau), ou de l'homme à l'animal [75].

2.5.3. Dose infectante :

La dose infectante minimale sur des agneaux gnotobiotiques peut même correspondre à un oocyste simple, et la dose infectante moyenne est de 5 oocystes [86].

Dans des infections naturelles et expérimentales, il a été rapporté que le processus clinique qui accompagne l'infection est plus commun chez les agneaux et les chevreaux au-dessous de 30 jours. La prolongation de la période prépatente et la réduction de perte d'oocyste se produisent à mesure que l'âge des agneaux à l'infection augmente. [83].

Dans l'infection naturelle, la majorité des agneaux infectés était moins de 2 semaines et la proportion d'animaux infectés a subi une diminution prononcée chez les animaux plus de 3 semaines [87]. Cependant, la dose infectante joue probablement un rôle dans l'intensité des symptômes exprimés [99], ainsi, un inoculum initial élevé tend à favoriser l'apparition de la cryptosporidiose-maladie et à accentuer la sévérité des symptômes cliniques [88].

2.6. Prévalence de la cryptosporidiose :

Cryptosporidium sp. est très répandu en élevage ovin mais les données chiffrées de prévalence sont très variables selon les enquêtes et les méthodes utilisées pour la recherche du parasite [76].

Nous n'avons pas trouvé des études dans notre pays concernant la prévalence de *Cryptosporidium* sp dans nos élevages ovins.

La prévalence de l'infection par *Cryptosporidium* sp. chez les agneaux a été étudiée dans des fermes aléatoirement choisies (Tableau 2.1.), bien que plus de recherches aient été faites sur les bovins. [76]- [78].

Tableau 2.1 : Prévalence de l'infection dans plusieurs pays [76].

Pays	Prévalence Cheptel	Prévalence individuel
Canada	/	24%(21/89)
Iran	3%(9/280)	4%(18/433)
Italie	8%(5/59)	12%(18/156)
Espagne	73%(16/22)	40%(53/132)
Espagne	47%(43/92)	15%(331/2,02)
Espagne	65%(30/46)	45%(82/183)
Trinidad et Tobago	/	20%(18/90)
USA	/	85%(27/32)

CHAPITRE 3

ASSOCIATION DES CRYPTOSPORIDIES AVEC D'AUTRES ENTITES PATHOLOGIQUES

3.1. Introduction

Cryptosporidium sp est considéré comme un agent étiologique majeur des diarrhées néonatales chez les ruminants, mais il n'est pas rare d'avoir à faire à des associations d'agents entéropathogènes [89]. Ces infections mixtes seraient plus fréquentes et plus graves que les infections à *C. parvum* seul [67].

Selon, (Blanco.et al 1996) l'agent étiologique le plus fréquemment impliqué dans les manifestations de diarrhée dans les agneaux était le *C.parvum* (65% prévalence troupeau et 45% prévalence individu), suivi d'*E. coli* potentiellement pathogène (61% prévalence troupeau et 30% prévalence individu), d'autres agents tels que le rotavirus étaient moins importants (7% de la prévalence troupeau et 2% de la prévalence individus) [90].

Le rôle d'autres protozoaires intestinaux tels que des espèces de *Giardia* est controversé, et bien que l'infection par ce parasite soit souvent diagnostiquée pendant le premier mois de la vie [91].

D'autres associations ont été observées :*C.parvum* et *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium*, mais leurs interactions n'ont pas été démontrées. Il est néanmoins évident que l'infection par un de ces agents pathogènes affaiblit l'animal qui se défendra moins efficacement face à une deuxième infection [92].

3.2. Principaux entités pathologiques

3.2.1. Escherichia coli :

Escherichia coli est l'espèce type du genre *Escherichia*, appelé communément «Collibaciles». *E. coli* appartient à la famille d'*Enterobacteriaceae*, présent de façon normale dans le tractus digestif d'un agneau sain à une concentration de 10⁶ bactéries par gramme de fèces.

Elle colonise l'intestin précocement, dans les huit premières heures de vie de l'animal [93]. Les souches pathogènes d'E. Coli possèdent des facteurs de virulence impliqués dans la pathogénie de la maladie, tels que des adhésines, des entérotoxines et des cytotoxines. Ces souches pathogènes sont transmises des adultes aux nouveau-nés par voie fécale-orale. Les réservoirs de la bactérie sont les individus porteurs sains, ainsi que l'environnement [93].

E-coli fréquemment impliquée lors d'épisodes de diarrhées, associés ou non à des virus (rotavirus, coronavirus) ou à des parasites (cryptosporidies). Il s'agit en général de colibacilles entérotoxigènes (ETEC). Lorsqu'elle sévit dans un lot d'agneaux, la colibacillose néonatale prend un aspect très contagieux, plus fréquemment et de façon plus importante que chez les veaux [94].

Il existe chez les petits ruminants comme chez le veau plusieurs syndromes liés à l'élaboration de toxines par certaines souches de colibacilles, tel que le syndrome, dit de l'agneau mou associé à une acidose métabolique, et le syndrome des "agneaux baveurs", ou syndrome "bouche baveuse" ("watery mouth disease") et le syndrome des agneaux sueurs caractérisé par une septicémie colibacillaire [94].

Les souches de colibacilles les plus importantes chez l'agneau sont F5+. Cependant, chez les petits ruminants, un autre facteur d'attachement semble être parfois plus fréquent : F17, contrairement aux facteurs F5=ex : k99, F41 isolés chez le veau, mais peuvent être retrouvés chez les petits ruminants diarrhéiques [94].

En Algérie, les colibacilloses de l'agneau ont été moins étudiées que celles du veau, et l'on manque de données sur les colibacilles isolés chez les petits ruminants, la maladie est d'une gravité extrême lorsqu'elle affecte des agneaux âgés de moins de 48 heures [94].

3.2.2. Rotavirus :

La démonstration de l'importance de ce virus compte tenu de son pouvoir pathogène et de son incidence, sont des acquisitions relativement récentes. Ce virus fut découvert au Etats-Unis en 1967, et il n'a cessé depuis de susciter un intérêt grandissant dans le monde, non seulement en médecine vétérinaire mais aussi en médecine humaine. [95]

Les agneaux sont sensibles aux différents sérotypes de rotavirus pendant leur première semaine de vie, de véritables épizooties de diarrhées en saison d'agnelage peuvent être observées. [94].

Les rotavirus des groupes A et B infectent les agneaux, mais les rotavirus du groupe B sont plus fréquents chez les agneaux nouveau-nés. [95]

Des rapports sur le rotavirus A ovin ou caprin sont disponibles dans plusieurs pays du monde, avec des taux de détection atteignant 60% et une mortalité estimée entre 10 et 30% [96].

En Algérie, la mise en évidence, ainsi que la prévalence et le rôle de cet entéropathogène dans l'apparition de la diarrhée chez les jeunes agneaux n'a pas été documenté

3.2.3. Coronavirus:

Les coronavirus sont souvent à l'origine d'entérite diarrhéique néonatale chez le veau et l'agneau. La maladie est habituellement observée chez le jeune animal, âgé de 2-8 semaines puis la sensibilité diminue avec l'âge [97].

Les études de prévalence pour cet entéropathogènes n'existent pas dans les élevages ovins en Algérie. Ces virus appartiennent à un seul sérotype et les lésions induites sont plus étendues que celles dues aux rotavirus. [98]

La contamination se fait par voie féco-orale, mais peut se faire par voie aérienne. L'excrétion fécale commence 3 jours après l'infection et s'étend sur une semaine. L'excrétion nasale débute 2 jours après l'infection et persiste pendant 2 semaines.

L'infection virale du tractus digestif débute par la partie proximale de l'intestin grêle et se répand dans le reste du tube digestif. La réplication virale se déroule à la surface des cellules épithéliales, et plus particulièrement des cellules épithéliales de la partie distale des villosités intestinale de l'intestin grêle.[99]

Les coronavirus abrasent les villosités intestinales, et les entérocytes sont remplacés par les cellules des cryptes, cellules immatures. L'abrasion des villosités due aux coronavirus est bien plus importante que celle due aux rotavirus, les symptômes observés sont donc plus importants en cas de coronavirose.[100]

Dans l'intestin grêle, ces changements conduisent à la fusion de villosités adjacentes. Tout comme avec les rotavirus, c'est la diminution de la digestion et des capacités d'absorption, avec en plus une hypersécrétion des cellules des cryptes qui conduisent à la diarrhée, entraînant une perte d'eau et d'électrolytes. L'intestin grêle et le colon sont atteints [99].

3.2.4. Giardia duodenalis :

C'est un parasite flagellé dont le rôle pathogène chez les ovins a longtemps été ignoré, c'est un protozoaire à localisation digestive responsable de troubles digestifs chez les agneaux. *Giardia duodenalis* présente une faible spécificité et se rencontre chez de nombreux mammifères, notamment chez l'Homme.[101]. Les études les plus récentes, fondées sur l'analyse génétique de *Giardia duodenalis*, semblent indiquer toutefois que le bétail et les humains sont infectés par des sous-types différents du parasite.[102].

3.2.4.1. Le cycle parasitaire de *Giardia* sp.:

Giardia duodenalis se multiplie dans la partie antérieure de l'intestin grêle, son cycle ne nécessite qu'un seul hôte.

Les formes végétatives du parasites (trophozoïtes) mesurent 15 µm et possèdent 4 paires de flagelles assurant la locomotion et impliqués dans sa fixation.

Un disque adhésif ventral permet la fixation aux microvillosités des cellules épithéliales de la muqueuse digestive. C'est l'ingestion de kystes sporulés présents dans l'environnement qui provoque l'infection des agneaux.

Dans le tube digestif, sous l'action de l'acidité gastrique, le kyste libère 4 trophozoïtes dans l'intestin grêle. Ceux-ci se divisent par bipartition longitudinale. Suite à cette multiplication asexuée, ils peuvent s'enkyster et être rejetés dans les fèces.

L'excrétion dans le milieu extérieur est discontinue, les kystes sont immédiatement infectants et résistent 2 mois ou plus dans l'environnement [104]. Il peut arriver que les trophozoïtes soient excrétés dans le milieu extérieur ; mais ils n'y survivent pas et ne sont donc pas contaminants [104]

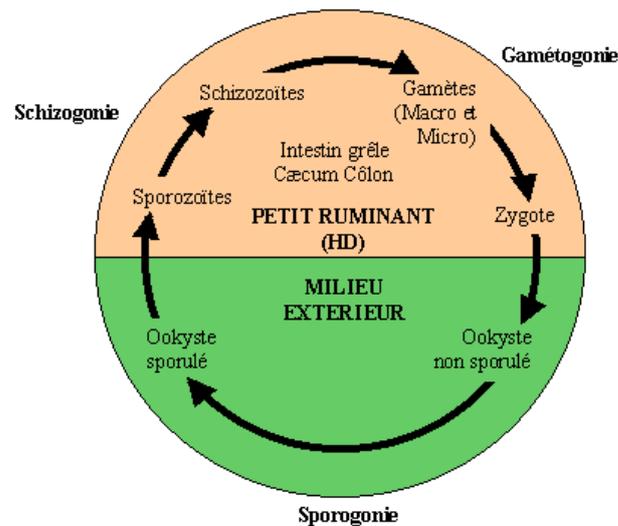


Figure 3.1 : Cycle biologique de *Giardia*.sp. [104]

3.2.4.2. Données épidémiologiques :

La giardiose concerne les jeunes en stabulation. L'excrétion par les animaux infectés peut durer plusieurs mois et assure la transmission entre animaux via l'alimentation (eau incluse) et l'environnement. La surpopulation ainsi que les conditions hygiéniques et sanitaires défavorables favorisent la giardiose.

Peu de données épidémiologiques et de prévalence existent chez les agneaux en Algérie, cependant, l'infestation à *Giardia* présente de grandes similitudes épidémiologiques avec la cryptosporidiose :

- les formes de résistance rejetées dans le milieu extérieur sont directement infectantes (contrairement aux oocystes d'*Eimeria* qui doivent trouver des conditions environnementales favorables pour sporuler), et les parasites sont très résistants dans le milieu extérieur (2 mois à 8°C pour *Giardia duodenalis* (104), 1 an à 4°C pour *Cryptosporidium sp* et face aux agents désinfectants,

- des phénomènes d'auto-infection existent (103), c'est-à-dire l'infection par des kystes ou oocystes produits sans rejet dans le milieu extérieur,

- la contamination est oro-fécale mais aussi d'origine hydrique (eau contaminée).

3.2.5. *Eimeria sp*

Les agneaux sont des porteurs naturels de coccidies et c'est sous certaines conditions de sensibilité ou de stress chez l'animal que la maladie clinique se déclenche. Parmi les espèces inventoriées chez l'espèce ovine: *Eimeria ovinoidalis* et *Eimeria crandallis* [105].

3.2.5.1. Le cycle parasitaire d'*Eimeria sp* :

La transmission du parasite se réalise selon un mode fécal-oral, l'animal se contamine directement par ingestion d'oocystes sporulés, par léchage des murs et des litières ou bien lors de tétées d'un mamelon souillé. Le cycle de développement est de type monoxène avec la succession de deux phases, l'une endogène et l'autre exogène.

La phase endogène est caractérisée par une mérogonie qui dure le plus souvent une quinzaine de jours (marquée par l'absence de signes cliniques), suivie d'une gamétogonie. La multiplication du parasite se déroule au niveau de l'iléon, du caecum et du colon.

La schizogonie se déclenche dans l'entérocyte avec la transformation du sporozoïte en trophozoïte lequel se développe en schizonte primaire. Cette étape représente la schizogonie de première génération, puis chaque cellule-hôte éclate et libère les schizozoïtes. Ceux-ci infectent à leur tour d'autres cellules épithéliales intestinales et déclenchent la schizogonie de seconde génération, ensuite les schizozoïtes de dernière génération entrent en phase de gamétogonie et se différencient en microgamétocytes (mâles) ou macrogamétocytes (femelles) qui évoluent respectivement en microgamètes et macrogamètes, la fécondation a lieu après pénétration d'un des microgamètes par le micropyle d'un macrogamète donnant naissance à un œuf qui devient un oocyste après la formation de la coque. Celui-ci est éliminé dans les fèces après une période pré-patente variable selon les espèces (elle est d'environ plusieurs semaines).

La phase exogène: caractérisée par la sporulation des oocystes, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur ces derniers deviennent infectieux au bout de 2-5 jours, sous des conditions optimales de température (environ 28°C), d'humidité (>70%) et d'oxygène [106].

Ces oocystes sporulés peuvent garder leur pouvoir infectant pendant plusieurs mois dans le milieu extérieur, notamment dans les bâtiments.

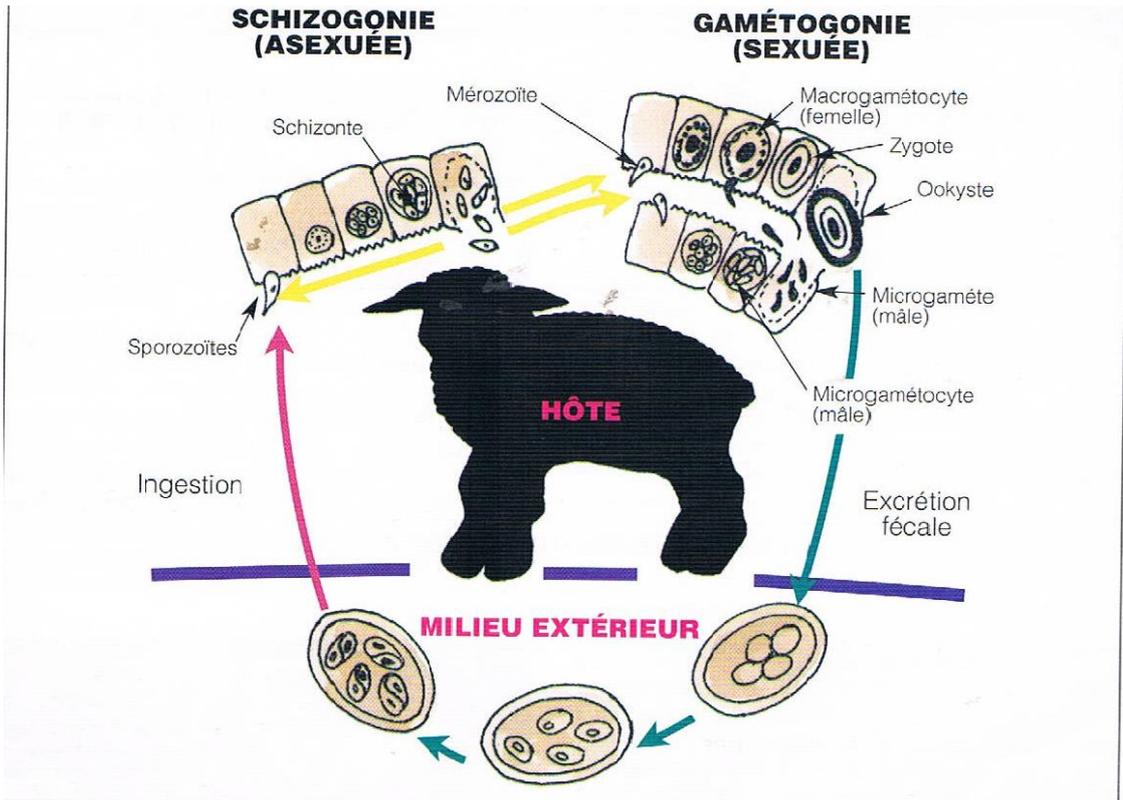


Figure 3.2 : Cycle biologique d'*Eimeria* sp. [106]

CHAPITRE 4

PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DIARRHÉE CRYPTOSPORIDIENNE

4.1 .Pouvoir pathogène du genre *Cryptosporidium*:

Les facteurs spécifiques de virulence de *Cryptosporidium* sp. ont été identifiées par des méthodes immunologiques et moléculaires .ils sont les suivants :

- Adhérence: pour établir l'infection, l'étape initiale critique est l'attachement du parasite aux cellules hôtes, plusieurs molécules probablement associées à l'adhérence ont été caractérisées comme par exemple le CSL (circumsporozoïte -like) [107], la gp900 [108], le complexe gp15/40/60, TRAP-C1 et TRAP-C2 (thrombospondin related adhesion proteins) [109].
- Production de toxines: *Cryptosporidium* sp. produirait une entérotoxine responsable de la diarrhée sécrétoire profuse, la diminution du flux d'anions en présence d'inhibiteurs de cyclo-oxygénase a mené à l'hypothèse d'une activité potentielle entérotoxino-gène de *Cryptosporidium*. Celle-ci impliquerait la sécrétion des prostaglandines par les cellules épithéliales intestinales infectées [110].
- Lésions cellulaires: les phospholipases, les protéases, ou les hémolysines H4 codée par le gène hem A impliqués dans la rupture des membranes pendant l'invasion de *Cryptosporidium* sp peuvent potentiellement altérer directement les tissus [111].
- Apoptose: Mc Cole et al, 2000 [112] ont montré in vitro que *Cryptosporidium* sp. pouvait favoriser l'apoptose au moment de l'entrée dans la cellule épithéliale, et une fois installé, il peut produire une inhibition de l'apoptose par un mécanisme associé à l'activation du facteur nucléaire κ B (NF κ B).

– 4.2. Réponse immunitaire à l'infection au *Cryptosporidium* sp :

Les cellules T (CD4) ont 2 types de fonctionnements distincts, basés sur les cytokines sécrétées. Les 2 types expriment le récepteur des cellules T (TCR) qui reconnaît l'antigène dans le contexte du CMH2.

Le type cellulaire Th1 sécrète la cytokine qui active la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Le cytokine d'INF Gama active les macrophages et L'IL2 résulte de la prolifération des cellules T (CD8). L'antigène spécifique reconnu par les premiers cellules type Th1 dans l'infection de cryptosporidiose n'est pas claire tel que son rôle dans l'élimination des enthérocyte infectées.

Le type cellulaire Th1 peut directement interagir avec les enthérocyte infectées et stimule la réponse des macrophages aux cellules T (CD8) cytotoxiques.

Le type cellulaire Th2 sécrète les cytokines qui activent les lymphocytes B et la synthèse d'anticorps

La neutralisation des anticorps favorise l'élimination et l'immunité de l'infection à la cryptosporidiose (Figure .4.1) [113].

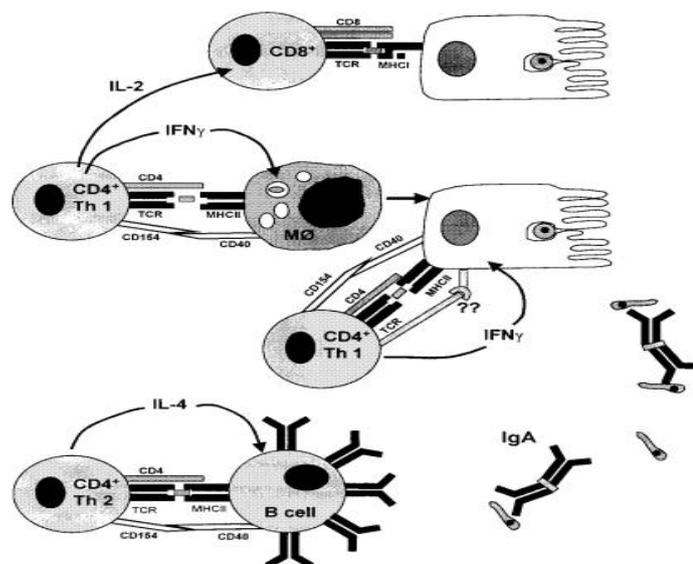


Figure .4.1 : Mécanisme de la réponse immunitaire [113].

4.3. Signes cliniques :

Chez les agneaux, la période pré-patente s'étend entre 2 et 7 jours. Cette période augmente avec la réduction de la dose de l'agent infectieux ou avec l'augmentation de l'âge des animaux [83].

Les principaux signes cliniques de cryptosporidiose chez les petits ruminants nouveau-nés sont: apathie et dépression, anorexie, une perte de poids et retard de croissance pendant les premières semaines de la vie, douleur abdominale [114].

Les fèces sont habituellement jaunes, ont une uniformité et une élasticité douces ou liquides d'une odeur désagréable forte [83].

4.4. Lésions anatomo-pathologiques

4.4.1. Examen macroscopique :

Les différentes lésions nécropsiques observables sur un agneau atteint d'infection à *Cryptosporidium sp* ne sont pas constamment présentes :

Les lésions sont :

-Une cachexie ou une amyotrophie plus ou moins prononcées sont en relation avec la durée et la sévérité de la maladie avant l'autopsie. [115].

-Des lésions d'entérite parfois qualifiée de catarrhale sont généralement rencontrées :

- Distension du coecum et du colon.
- Contenu intestinal plus ou moins liquide, blanc, jaunâtre à brunâtre.
- Possible congestion du dernier tiers de l'iléon et hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques [115].

4.4.2. Examen histologique :

Cryptosporidium sp se développe préférentiellement sur la muqueuse villositaire de l'iléon et de la portion terminale du jéjunum chez les ruminants nouveau-nés. Cependant, l'infection peut s'étendre au duodénum en amont et au cæcum, au côlon, voire au rectum en aval [116].

- Au niveau de l'intestin grêle : ce sont l'iléum et le jéjunum distal qui présentent des lésions les plus sévères.
- Au niveau du gros intestin : les cryptosporidies sont observées à la fois sur l'épithélium de surface et dans l'épithélium cryptique (contrairement à l'intestin grêle où seul l'épithélium villositaire est concerné) [117].

4.5. Diagnostic :

4.5.1. Diagnostic épidémiologique et clinique :

Les manifestations cliniques et épidémiologiques de la cryptosporidiose ovine ne peuvent pas fournir un diagnostic de certitude au vétérinaire rural, la description des diarrhées figure à titre d'information, elle n'est pas une règle.[118].

4.5.2. Diagnostic différentiel :

Toutes les causes nutritionnelles ou infectieuses du complexe des diarrhées néonatales des ruminants entrent dans le diagnostic différentiel.

Les agents infectieux sont nombreux, il s'agit :

- Des colibacillooses
- Des virus (rota virus +coronavirus)
- *Clostridium perfringens* type B
- *Salmonella*
- *Giardia duodenalis*.

Le diagnostic différentiel est donc visiblement complexe, surtout si les agneaux peuvent être victimes d'infection mixtes, le recours au laboratoire est indispensable [67].

4.5.3. Diagnostic de laboratoire :

Le recours aux techniques de laboratoire est le seul moyen de démontrer de façon certaine l'implication de *Cryptosporidium sp.* Ces techniques reposent sur la mise en évidence du protozoaire et peuvent être réalisées à partir d'un animal mort ou vivant, par prélèvement fécal [65].

Différentes techniques existent :

4.5.3.1. Les techniques d'étalement sur lame et coloration :

De nombreuses techniques sont utilisables pour colorer spécifiquement les oocystes de *Cryptosporidium sp.* sont généralement réalisées sur des frottis de matière fécale, parmi ces techniques :

- 1-Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée
- 2-Méthode de Heine
- 3-Coloration au Giemsa
- 4- Coloration au bleu de méthylène Fuschine basique

4-5.3. Techniques de concentration

La concentration des oocystes peut être réalisée par flottation, par sédimentation ou par l'utilisation alternée de ces deux méthodes. Généralement, une dilution, une filtration et une centrifugation améliorent ces techniques. Elles sont habituellement utilisées sur des échantillons pauvres en parasites [118]. Parmi ces techniques :

1. Méthode d'Anderson
2. La flottation rapide sur lame
- 3 .Méthode quantitative sur cellule de Thoma

4.5.3.3. Techniques de marquage immunologique :

Ces techniques font appel à l'emploi d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux :

Les tests ELISA offrent une lecture aisée et objective et une sensibilité de 3.10 opg environ [61].

Les techniques d'immunofluorescence, directes ou indirectes, présentent des difficultés de réalisation [51]. Leur seuil de détection est d'environ 1 000 opg [61].

La méthode ELISA, et principalement l'immunofluorescence ont l'avantage d'être plus sensibles et de bonne spécificité, mais restent trop onéreuses pour une utilisation de routine [119]. Une alternative est toutefois apportée par l'existence de kits commerciaux basés essentiellement sur la méthode ELISA.

La méthode d'amplification par PCR (polymerase chaine reaction) est une méthode récente en biologie moléculaire, qui consiste en la détection et l'identification après concentration de l'ADN de parasite [120].

4.6. Traitement :

4.6.1. Traitement spécifique :

Plusieurs molécules ont été testées (140) mais aucune n'a donné de résultats entièrement satisfaisants, chez les ruminants domestiques, deux molécules seulement ont donné des résultats significatifs en conditions expérimentales et naturelles : le Lactate d'Halofuginone et la paromycine. Elles sont utilisées sur le terrain .et ne permettent pas un contrôle total du parasite.[67].

Le lactate d'Halofuginone est un produit de synthèse dérivé de la fébrifugine isolée d'une plante Asiatique : *Dichroa febrifuga* ;il appartient au groupe chimique des quinazolinones, cette molécule a d'abord été testée en 1989 chez les agneaux infectés expérimentalement par *C.parvum* [121].

La paromomycine est un aminoside à large activité antibactérienne. Actuellement. Elle représente l'agent le plus régulièrement efficace contre *C.parvum* [68], sa bonne efficacité et sa bonne tolérance aux doses utilisées font que cette substance est aujourd'hui considérée comme l'anti-cryptosporidien de référence [88].

4.6.2. Traitement symptomatique :

Un traitement symptomatique de la diarrhée est entrepris en élevage ovin compte tenu du grand nombre d'agneaux et de leur grande valeur économique, ce traitement comporte une Réhydratation des agneaux par la voie orale ou intraveineuse, l'utilisation des anti-inflammatoires : et un apport vitaminique.

Certains auteurs préconisent de ne recourir aux antibiotiques qu'en cas de coinfections avérées par des bactéries. Celle-ci semble indispensable sur les diarrhées à étiologie multiple [122].

4.7. Prophylaxie sanitaire :

Face aux problèmes de cryptosporidiose dans un élevage, la lutte devra avoir pour objectifs :

4.7.1. Désinfection de l'environnement proche de l'agneau :

Plusieurs méthodes de désinfection physiques ou chimiques peuvent tuer ou neutraliser le pouvoir infectant des oocystes :

- Désinfection des bergeries, seul l'ammoniac entre 5 et 10%, l'eau oxygénée à 3% et le formol à 10% ont montré une efficacité réelle.
- L'eau de javel concentrée (5,25% d'hypochlorite de sodium) pendant au moins 10 mn à température ambiante.
- Le dioxyde de chlore à 0,4 ppm pendant 15mn [57].

4.7.2. Prévention de l'infection

L'objectif ici est de retarder au maximum l'exposition des agneaux naissants aux oocytes cryptosporidiens, puisque ces derniers, sont directement infectants pour cela certaines mesures sont à respecter :

- Placer les agneaux dès la naissance dans un environnement sains, propre et sec en évitant la surpopulation.
- Éviter le mélange d'animaux de classes d'âges différentes
- Isoler les animaux malades des animaux sains lors d'épizootie de cryptosporidiose.
- S'assurer de l'hygiène de prise colostrale [123].

4.7.3. Gestion du troupeau :

Les femelles gestantes doivent recevoir une bonne alimentation notamment en fin de gestation, et éviter la carence en minéraux, en oligoéléments et en vitamines [124].

- Vaccinations contre les agents entéropathogènes.
- S'assurer de l'origine et de la qualité de l'eau d'abreuvement.
- Éviter le mélange ou la proximité d'espèces de ruminants différentes, ainsi que le contact étroit et fréquent avec les carnivores domestiques, et lutter également contre les rongeurs [124].

4.8. Prophylaxie médicale :

La prophylaxie sanitaire n'est jamais suffisante pour contrôler l'infection. Pour cela, il faut associer une lutte médicale qui consiste en un traitement spécifique associée à un traitement complémentaire [65].

En conclusion de cette bibliographie, nous pouvons dire que le *Cryptosporidium* sp. est un parasite intestinal très répandu chez l'animal provoquant des diarrhées redoutables chez les petits ruminants , ses caractéristiques biologiques lui confèrent une grande résistance dans le milieu extérieur, les signes cliniques varient d'une infection modérée à inapparente et à

une diarrhée sévère ,en plus les sujets jeunes et immun-compromis sont plus sensibles à la maladie ,néanmoins ,l'animal infecté asymptomatique excrète des oocytes qui peuvent être transmis à d'autres sujets sensibles.

CHAPITRE 5

PARTIE EXPERIMENTALE

5.1. Problématique :

L'infestation par *Cryptosporidium* sp et son association avec d'autres agents pathogènes avait fait l'objet de peu d'études épidémiologiques chez les ovins en Algérie, le bilan de mortalité du à cette dernière n'est pas estimé, l'impact économique de cette entérite chez les animaux est considérable et certainement sous-évalué.

A l'issue de notre étude bibliographique, il ressort que l'infestation cryptosporidienne survient fréquemment dans les trois premières semaines de la vie des jeunes ruminants [125], et se caractérise par une perte de poids et une mortalité qui atteint 40%, ce qui conduit à des pertes économiques très importantes [126]. Les études se rapportant à la cryptosporidiose ovine et son association avec d'autres agents pathogènes en Algérie sont limitées, jusqu'à présent aucun travail d'ensemble n'a été consacré à l'étude de la cryptosporidiose et son association avec d'autres agents pathogènes, ces considérations nous ont incités à réaliser ce travail dont les objectifs sont

Notre travail a pour objectif principale de :

- 1- Estimer la prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.
- 2- Eventuelle association avec *Giardia* sp et *Emeria* sp chez les agneaux de 1 à 6 mois.
- 3- Déterminer la prévalence de 4 principaux agents pathogènes *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux atteints
- 4- Détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immunoenzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et recherche des éventuelles

lésions du à *Cryptosporidium* sp sur des agneaux trouvés mort au moment du prélèvement.

5.2. Enquête sur la prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.

5.2.1. Introduction:

La cryptosporidiose ovine a été décrite pour la première fois en 1974 en Australie chez les agneaux diarrhéiques d'une à trois semaines [16]. Cependant, ce n'est qu'au début des années 1980 que son rôle comme agent étiologique des diarrhées chez les agneaux a été prouvé par des études sur des infestations expérimentales [83] [127] et naturelles [128]. Ensuite, l'infestation a été rapportée dans différents pays : Etats-Unis d'Amérique, Canada, Iran, Espagne, Italie [76].

L'importance de la cryptosporidiose en médecine vétérinaire découle du fait qu'elle entraîne des pertes économiques importantes [129][130]. En outre, les animaux infectés présentent un risque pour l'Homme compte tenu du potentiel zoonotique de ce parasite [48].

Le cheptel ovin d'Ain oussera compte environ 97 500 têtes. Nul ne peut contester l'importance de l'élevage ovin en milieu steppique ; il constitue une ressource rémunératrice de premier choix pour les éleveurs car les productions de viande (engraissement) et d'agneaux (reproduction) constituent leur activité principale. Cette région possède le plus gros marché à bestiaux de l'Algérie [131]

Cette population ovine est confrontée à plusieurs maladies qui spolient l'économie de cette région rurale qui n'a d'autre ressource de subsistance que l'élevage.

Les facteurs de risque comme la taille de troupeau, l'hygiène de la ferme, le type de litière, l'alimentation, la saison, l'existence préalable d'une diarrhée, l'âge, jouent un rôle dans la transmission des espèces de *Cryptosporidium* sp. chez les animaux domestiques [132] [133]. En Algérie, la plupart des publications récentes sur la cryptosporidiose et sa prévalence portent sur le veau [7] [8] [9]. Chez les ovins, peu des travaux sont réalisés dont le but d'estimer la prévalence de cryptosporidiose et les facteurs associés à cette infestation. Ces considérations nous ont incités à entreprendre une enquête sur la cryptosporidiose chez les ovins

qui vise à évaluer sa prévalence dans cette zone steppique de l'Algérie et la relation avec certains facteurs connus comme prédisposant à l'infestation cryptosporidienne.

5.3. Matériel et Méthodes :

5.3.1. Conception générale

Il s'agit d'une enquête descriptive transversale menée dans une zone steppique de l'Algérie (Ain Oussara) entre janvier 2014 et décembre 2016.

La région d'étude (Ain Oussera, Wilaya de Djelfa) est située à 200 km au sud d'Alger et 80 km au nord de Djelfa, Son relief est globalement plat. Elle jouit d'un climat continental, froid et assez humide en hiver, très chaud et sec en été. Le niveau des précipitations est très capricieux, si bien qu'il peut varier du simple au double d'une année à l'autre (240 mm). (Figure 5.1).

Du point de vue de l'importance, l'effectif ovin est estimé à 97 500 têtes avec 650 troupeaux, ce cheptel est de type extensif pendant les bonnes et moyennes années, et durant les mauvaises années, il est alimenté d'orge ou de son de blé.

Ce choix peut être justifié par les raisons suivantes:

- une région relativement proche.
- état des routes qui mènent aux élevages.
- disponibilité des vétérinaires praticiens exerçants sur le terrain.



Figure 5.1: Carte géographique d'Ain Oussera [134].

5.3.1.1. Élevages :

5.3.1.1.1. Population cible :

La population cible varie en fonction de l'unité épidémiologique le troupeau et l'animal. Pour l'unité troupeau, nous n'avons ciblé que les élevages comptant plus de 30 brebis, et nous avons éliminé les élevages très loin et dispersés.

5.3.1.1.2. Échantillonnage :

L'échantillonnage se fait dans chaque unité séparément:

A-Troupeau:

a) Taille de l'échantillon:

D'après la subdivision agricole de la commune d'Ain Oussera 2014, il existe 650 troupeaux dans la région d'étude, ce sont en réalité les troupeaux concernés par la campagne de vaccination [135].

Vu qu'il est impossible de réaliser l'étude sur toute la population, il fallait

travailler sur un échantillon dont la taille est déterminée par la procédure établie par Toma et al, [136] qui consiste à utiliser deux notions à savoir la prévalence attendue et la précision relative, comme suite:

1-La précision relative souhaitée: est fixée par l'enquêteur en fonction de ses besoins. Plus la précision est grande, plus le nombre de troupeau doit être élevé et plus le coup sera lui-même élevé [136].

Donc, nous avons choisi une précision relative de 50% qui n'est pas très élevée, étant donné que c'est une première étude et l'on a besoin seulement d'avoir un aperçu de la réalité du terrain.

2-La prévalence attendue: C'est le pourcentage approximatif des troupeaux atteints par diarrhées néonatales des agneaux. Ceci peut paraître paradoxal puisque nous voulons déjà le déterminer par cette étude. L'un des moyens utilisés pour se doter d'une prévalence attendue est de faire une pré-enquête ou d'utiliser des résultats des autres études faites auparavant sur le même sujet [136].

La prévalence attendue des troupeaux atteints de *Cryptosporidium* sp chez les ovins n'étant pas connue pour Ain Oussera, ni même en Algérie, la valeur de 78 % (Pilar-Izquierdo et al. 1993) [137] a été utilisée, donc, le nombre de troupeaux requis dans ces conditions était de 62. (Ligne d'intersection entre la colonne 20% et la ligne 50%).

Sachons que pour des prévalences attendues supérieures à 50 %, nous devons utiliser le complément de 100% de cette prévalence.

Tableau .5.1 : Nombre de troupeau nécessaire en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée, dans une population infinie (taux de sondage <10%) [136].

Précision relative	Prévalence attendue (p. cent)														
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	
10 p. cent	3 8032	18 824	12 422	9 220	7 300	3 458	2 177	1 537	1 153	897	714	577	470	385	
20 p. cent	9 508	4 706	3 106	2 305	1 825	865	545	385	289	225	179	145	118	97	
30 p. cent	4 226	2 092	1 381	1 025	812	385	242	171	129	100	80	65	53	43	
40 p. cent	2 377	1 177	777	577	457	217	137	97	73	57	45	37	30	25	
50 p. cent	1 522	753	497	369	292	139	88	62	47	36	29	24	19	16	
60 p. cent	1 057	523	346	257	203	97	61	43	33	25	20	17	14	11	
70 p. cent	777	385	254	189	149	71	45	32	24	19	15	13	11	10	

80 p. cent	595	295	195	145	115	55	35	25	20	17	14	13	11	10
90 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10
100 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10

Par la suite nous avons un taux de sondage de 9 % (62/650) inférieur à 10%.

b) Tirage au sort:

Les 62 troupeaux sont tirés au sort grâce à une table de nombre au hasard. Il s'agit d'un échantillonnage aléatoire simple [136]. Les éleveurs qui n'acceptent pas de participer à l'enquête, leurs troupeaux seront remplacés par d'autres tirés aussi au hasard (Tableau .5.2).

Tableau .5.2: Table de nombre au hasard [136].

0	6	3	1	8	2	5	0	1	9	7	9	1	2	5	5	6	7	6	1
9	6	5	9	3	5	8	1	6	1	0	4	2	5	3	1	8	4	2	0
1	3	6	1	4	4	4	2	8	1	0	1	8	0	7	5	2	7	1	6
0	5	5	8	5	3	1	6	1	6	7	1	8	1	0	9	6	9	7	4
5	0	4	2	4	1	7	3	7	6	3	1	4	9	6	6	1	2	9	2
5	4	5	3	3	6	0	1	0	0	3	1	9	8	8	7	6	7	9	0
4	0	5	5	8	4	1	3	2	1	4	6	0	5	8	1	6	2	3	4
2	3	0	4	7	1	7	6	7	2	1	6	0	2	6	5	0	2	4	8
5	7	3	0	2	4	2	1	5	4	2	6	3	6	0	8	2	6	6	0
8	8	4	1	8	2	3	8	7	8	8	7	7	8	0	8	8	6	5	1
8	9	3	0	9	6	7	5	4	6	6	2	0	7	2	9	0	6	2	6
0	2	3	3	0	9	9	9	8	4	2	0	6	0	0	3	7	6	6	1
5	2	1	2	8	2	8	3	0	7	9	0	3	7	4	2	1	6	8	6
0	4	4	1	0	6	2	4	8	8	4	6	9	9	9	9	9	0	0	7
3	7	0	1	8	5	5	6	5	0	6	4	2	8	0	4	9	6	1	7

Nous avons tiré au sort 62 élevages d'une liste de 650 élevages lesquels sont arbitrairement numérotés de 000 à 650, et on choisit au hasard un numéro de trois chiffres. Par exemple, les trois premiers de la troisième ligne, c'est-à-dire, 650 en lisant cette colonne de trois chiffres, par exemple de haut en bas, l'échantillon sera composé des élevages suivant:136, 055, les valeurs supérieures à 650, ou répétitives, seront simplement éliminées. Exemple 884,893.

B-Animaux

a-Agneau:

Dans chaque troupeau, nous avons fait un prélèvement sur tous les

agneaux d'un à six mois, qu'ils aient été diarrhéiques ou non.

b-Brebis et béliers

Dans chaque élevage retenu, 4 ou 5 brebis et 1 ou 2 béliers ont été choisis empiriquement.

5.4. Traitement statistique des données:

La fréquence de l'excrétion des oocytes ainsi que le degré d'infestation ont été évalués en fonction de l'âge des agneaux. Par ailleurs, les informations suivantes ont été enregistrées dans des fiches commémoratives : âge, hygiène des étables, période d'agnelage (septembre jusqu'à janvier), taille du troupeau (inférieur à 100, supérieur à 100), type d'élevage (extensif, intensif), troupeau recevant une ration de concentré ou non, cohabitation bovins-caprins et si l'agneau était attaché à la mère ou non.

L'ensemble des données recueillies a été saisi dans un fichier Microsoft Excel. Le test du Khi deux, éventuellement avec la correction de Yates, voire le test exact de Fisher, ont été utilisés, selon leurs indications, en retenant un seuil de signification pour le risque α de 0,05 pour étudier l'association des facteurs connus pour être associés à la prévalence de la parasitose étudiée.

Les intervalles de confiance des pourcentages ont été calculés pour une probabilité de 95 %. $p \pm 2\sigma / \sigma = \sqrt{p.q/n}$.

5.5. Matériel de laboratoire:

Matériel utilisé pour la coloration de Ziehl-Neelson modifiée par Henriksen et Pohlenz et Ritchie.

- Les lames
- Bacs à coloration.
- Pincettes
- Minuterie.
- Microscope optique.
- Eau de robinet.

- Verre à pied conique.
- Centrifugeuse.

Réactifs:

- Méthanol pur.
- Solution forte de Fuschine phéniquée: 20 gramme de fuchsine dans 200 ml de méthanol absolu.
- Acide sulfurique à 2%, préparé au laboratoire:
- Composition:
 - 196 ml d'eau distillée.
 - 4ml d'acide sulfurique concentré.
- Vert de malachite à 5%, préparé comme suit:
 - Poudre de vert de malachite.....5 grammes.
 - Eau distillée100ml.
- Ether.
- Eau formolée.

Autres matériels:

- Glacière pour l'acheminement des prélèvements vers le laboratoire à (4°C).
- Pots en plastique propres pour les prélèvements des matières fécales.
- Etiquettes autocollantes pour écrire les renseignements.
- gants.

5.5.1. Méthode :

5.5.1.1. Protocole de prélèvement:

Les prélèvements de matières fécales ont été effectués dès leur émission spontanément, ou après excitation de l'orifice anal, dans des récipients propres,

hermétiquement fermés et étiquetés, sur les agneaux dont l'âge varie de 1 à 6 mois diarrhéiques ou non, brebis et béliers de chaque troupeau.

Les prélèvements ont été acheminés vers le laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale de l'université de Blida-1 à 4°C jusqu'à leur analyse parasitologique.

Chaque prélèvement a été identifié par un étiquette de la boîte et une fiche de renseignements qui contient:

- Nom du propriétaire.
- Age de l'animal.
- Consistance de la matière fécale diarrhéique ou non.

Notre définition du cas est la suivante: tout prélèvement est considéré comme positif, lorsque un oocyste ainsi que ses constituants internes sont visualisés (corps résiduel, 4 sporozoïtes). Il est dit négatif, lorsqu'aucun oocyste n'est visualisé. La technique de Ziehl –Neelsen, modifiée a été utilisée pour la coloration des cryptosporidies. L'unité épidémiologique utilisée dans notre étude est le troupeau et l'agneau.

5.5.1.2. Technique de laboratoire utilisée:

La technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée [138] a été pratiquée après un enrichissement préalable par la méthode de Ritchie pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* sp. Devant l'absence de méthode d'estimation quantitative de la présence de *Cryptosporidium* sp. l'intensité de l'infestation de chaque animal a été évaluée par une méthode semi-quantitative [139]:

Degré d'infestation faible (+1), nombre moyen d'oocystes par champ de 1 à 4 oocystes.

Degré d'infestation moyenne (+2), nombre moyen d'oocystes par champ de 5 à 10 oocystes.

Degré d'infestation forte (+3), nombre moyen d'oocystes par champ supérieur à 10.

Le degré d'infestation moyenne des agneaux d'un troupeau a été estimé en calculant la valeur du quotient de la somme des valeurs des degrés des agneaux infestés par le nombre de prélèvements effectués.

5.5.1.2.1. Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley

Mode opératoire:

- Déposer quelques grammes des selles dans un verre à pied conique à l'aide d'un agitateur en verre.
- Verser dans le verre à pied un volume d'eau formolée à 10 %, 2 à 3 fois supérieur à celui des selles.
- Agiter à l'aide d'un agitateur en verre jusqu'à l'obtention d'une dilution homogène.
- Laisser décanter quelques minutes (1 à 2 minutes), pour éliminer les gros débris fécaux.
- A l'aide d'une pipette pasteur aspirer une partie du surnageant et verser dans un tube conique en verre équivalent aux 2/3 du volume total à émulsionner.
- Ajouter un volume d'éther correspondant au 1/3 du volume total à émulsionner.
- Boucher le tube avec un bouchon en caoutchouc, tout en prenant soin de laisser un espace vide pour le liquide d'environ 1 cm, pour permettre l'émulsion ;
- Agité le tube vigoureusement pendant une minute.
- Peser les tubes pour équilibrer avant la centrifugation.
- Centrifuger à 2500 tours /minutes pendant 5 minutes, après centrifugation, le contenu du tube se répartit en 4 couches qui sont de haut en bas:
 - Une couche étherée chargée en graisses.
 - Une couche épaisse sous forme d'anneau constituée de gros débris.
 - Une couche aqueuse.
 - Un culot dans lequel se sont concentrés les éléments parasitaires.
- Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.

Lecture:

Prélever une goutte du culot à l'aide d'une pipette pasteur (après homogénéisation), la déposer sur une lame, mélanger avec une goutte de lugol, couvrir d'une lamelle et examiner à l'objectif x10 puis x40 pour la recherche , de *Cryptosporidium* sp et ou éventuellement de kystes de protozoaires.

5.5.1.2.2. Technique de Ziehl-Neelsen modifiée (Henriksen et Pohlenz1981)

.Mode opératoire:

- Fixer à l'air les prélèvements ou les concentrés au méthanol pendant 3 mn
- Immerger la lame dans la solution de Fuchsine phéniquée et colorer pendant 60 mn.
- Rincer la lame sous un jet d'eau.
- Décolorer dans l'acide sulfurique à 1% pendant 10 à 15 secondes.
- Rincer sous un jet d'eau.
- Contre colorer avec le vert de malachite 5% pendant 30 seconde.
- Rincer sous un jet d'eau.
- Sécher à l'air.
- Détecter la présence des oocystes en examinant la lame avec l'objectif 40 au microscope optique, confirmer leur présence avec l'objectif 100.



Figure 5.2 : Observation de l'oocyste avec microscope optique.

5.6. Résultat des prélèvements et analyse coprologique :

5.6.1. Description de l'échantillon

Le nombre total des troupeaux sélectionnés par tirage au sort et pouvant participer à l'étude a été de 42 ; les vingt élevages manquants ont dû être remplacés par d'autres proposés par les vétérinaires de la région d'étude.

Sur un total de 1 358 prélèvements, 1 050 provenaient d'agneaux et 308 d'animaux adultes (250 brebis et 58 béliers).

La figure 5.3 montre les trois catégories distinguées des troupeaux selon le nombre d'agneaux

Moins de 15 agneaux,

Entre 16 et 20 agneaux,

Entre 21 et 50 agneaux.

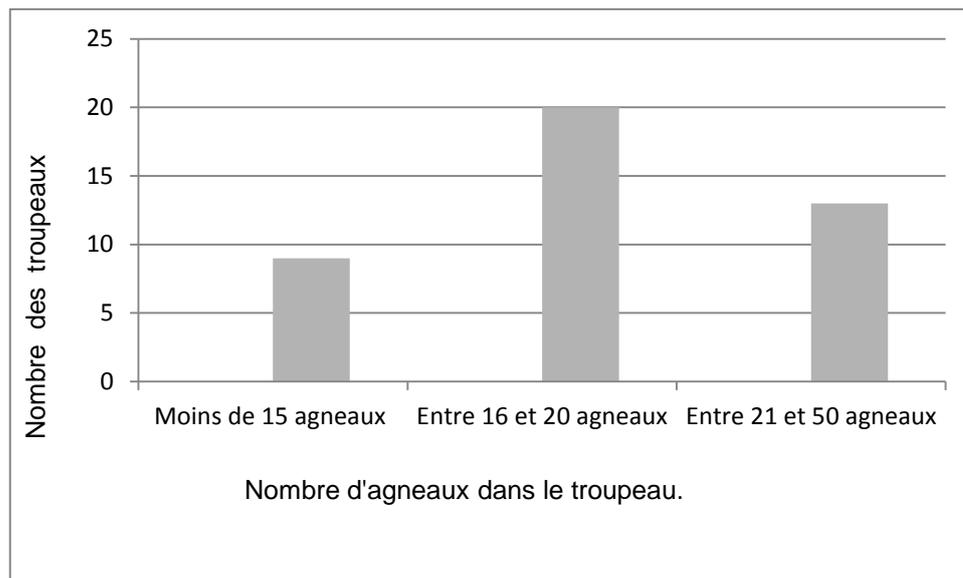


Figure 5.3 : Distribution des troupeaux selon le nombre d'agneaux

5.6.2 Résultats d'ensemble

La cryptosporidiose a été isolée dans 52 élevages sur 62, soit une prévalence troupeau de 84 % [IC95 % 75 % - 93 %] et une prévalence individuelle globale 12,4 %

Le tirage au sort n'a pas pu porter sur l'ensemble des 62 troupeaux, car 20 provenait d'une liste de convenance.

La prévalence de l'infestation a différencié selon la catégorie d'animaux ; elle était de 13,5 % chez les agneaux, 10 % chez les brebis et 3,4 % chez les béliers ($p = 0,03$; tableau 5.3), et la prévalence individuelle globale de 12,4 %..

Tableau 5.3 : Prévalence de *Cryptosporidium* sp. sur un échantillon d'ovins de la région d'Aïn Oussera (2014-2016)

Animaux	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	%
Brebis	250	25	10
Béliers	58	2	3,4
Agneaux	1050	142	13,5
Total	1358	169	12,4

$p = 0,03$.

Le degré d'infestation moyenne des agneaux des troupeaux varie de $< +0,1$ jusqu'à $> +0,5$ en fonction du nombre de prélèvements positifs des agneaux et des degrés de positivité individuels.

La figure 5.4 représente les trois catégories des troupeaux infestés, avec leurs degrés d'infestations moyennes sur un total de 1 050 prélèvements d'agneaux

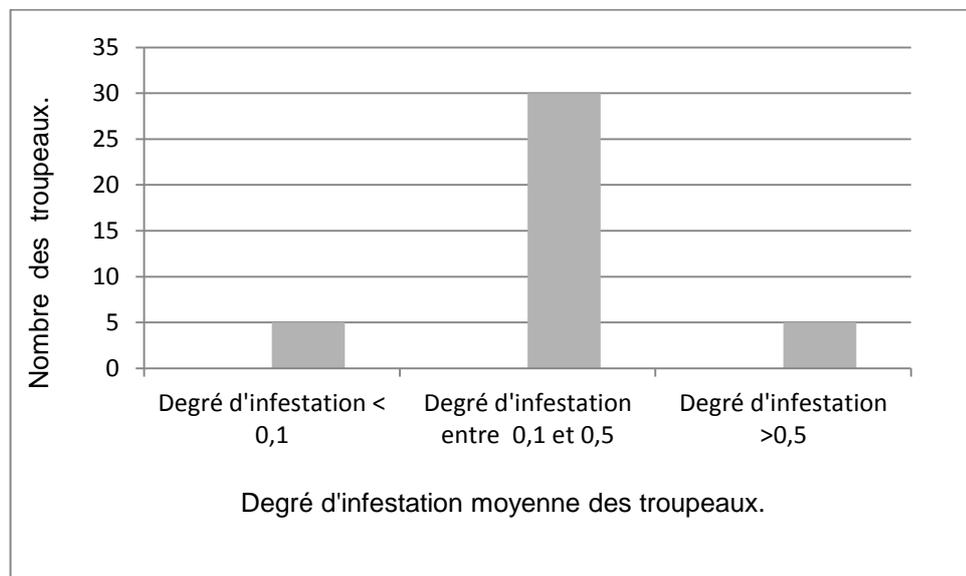


Figure 5.4 : Distribution du degré d'infestation moyenne des troupeaux selon les prélèvements des agneaux.

Sur un total de 40 troupeaux infestés (1 050 prélèvements d'agneaux), trois degrés de moyenne d'infestation des troupeaux infestés ont été distingués.

Degré d'infestation moyenne $< +0,1$: 5 troupeaux.

Degré d'infestation moyenne entre (+0,1 et +0,5) : 30 troupeaux.

Degré d'infestation moyenne >+0,5 : 5 troupeaux.

A. Infestation selon l'état clinique des agneaux

Cryptosporidium sp. a été trouvé aussi bien chez des agneaux diarrhéiques que chez des non diarrhéiques, mais dans des proportions différentes.

Sur les 340 prélèvements provenant d'agneaux diarrhéiques, 120 (35,3 %) étaient positifs tandis que sur les 710 prélèvements non diarrhéiques, 22 (3,09 %) étaient positifs ($p = 0$; tableau 5.4).

Tableau 5.4 : Prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les agneaux (n = 1 050) en fonction de leur statut clinique (région d'Ain Oussera, 2014-2016)

Agneaux	Résultat de recherche d'oocystes	
	Total	Positif (%)
Diarrhéiques	340	120 (35,3)
Non diarrhéiques	710	22 (3,09)
Total	1 050	142 (13,5)

$p = 0$

B. Fréquence de l'infestation selon l'âge.

Cryptosporidium sp. a été détecté dans tous les groupes d'âges, mais à des pourcentages différents ($p = 0$; tableau 5.5). A la première semaine de vie (10 %) des agneaux étaient infestés par *Cryptosporidium* sp. Les agneaux âgés de 2 semaines ont montré le plus fort taux d'atteinte par le parasite (26 %). L'infestation était moins importante pour les agneaux des classes 1 à 3 mois et 3 à 6 mois.

Tableau 5.5 : Pourcentage de prélèvements des matières fécales positifs en fonction de l'âge des agneaux

Age	Nb. de prélèvements	Positifs	Prévalence (%)
< 1 semaine	145	15	10
2 semaines	270	70	26

3 semaines	260	27	10
4 semaines	190	17	9
1 à 3 mois	130	10	7
3 à 6 mois	55	3	5
Total	1 050	142	13,5

$p = 0$

C. Degré d'infestation selon l'âge.

Le tableau 5.6 montre la distribution du nombre d'échantillons positifs selon leur degré d'infestation et en fonction de l'âge des agneaux jusqu'à quatre semaines.

Le pourcentage plus élevé d'agneaux âgés de deux semaines à résultat positif (26 %) est associé à des degrés d'infestation significativement plus élevés (2 et 3) que pour les agneaux des autres tranches d'âge ($p = 0,03$; tableau 5.6).

Tableau 5.6 : Distribution des agneaux selon leur degré d'infestation des matières fécales par *Cryptosporidium* sp. en fonction de l'âge jusqu'à quatre semaines ($n = 865$)

Age	Nombre de prélèvements		Degré d'infestation			Total des prélèvements
	Négatifs (%)	Positifs (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	
1 semaine	130 (90)	15 (12)	13 (9)	1 (0,7)	1 (0,7)	145
2 semaines	200 (70)	70 (26)	35 (13)	25 (9)	10 (4)	270
3 semaines	233 (90)	27 (10)	20 (7)	4 (2)	3 (1)	260
4 semaines	173 (91)	17 (9)	13 (7)	2 (1)	2 (1)	190
Total	736 (85)	129 (15)	81 (9)	32 (4)	16 (2)	865

$p=0,03^{**}$

Pour les agneaux d'un mois maximum, les pourcentages les plus bas de résultats positifs sont ceux des agneaux de 4 semaines, en prenant cette ligne comme référence, le rapport des pourcentages de positifs pour chaque tranche d'âge au pourcentage correspondant pour cette catégorie d'âge est nettement plus élevé pour les agneaux de deux semaines, pour les degrés d'infestation 2 et 3 (tableau 5.7).

Tableau 5.7 : Comparaison des pourcentages de résultats positifs du tableau 4 des agneaux de 1 à 3 semaines par leur rapport aux résultats correspondants des agneaux de 4 semaines

Age	Rapport selon le degré d'infestation			Total
	D1	D2	D3	
1 semaine	1,3	0,6	0,6	1,3
2 semaines	2	9	4	3
3 semaines	1	2	1	1,1
4 semaines	1	1	1	1

D. Chez les brebis, par rapport à la mise-bas.

Le tableau 5.8 montre la prévalence de la cryptosporidiose chez les brebis avant et après agnelage. Aucune différence statistique n'a été trouvée entre l'état physiologique de la brebis et le taux d'infestation ($p = 0,29$; tableau 5.8).

Tableau 5.8 : Pourcentage de prélèvements des matières fécales positifs par *Cryptospridium* sp chez la brebis avant et après mise bas

Avant agnellage				Après agnellage			
Semaines	Nombre de prélèvements	Cas positifs	Prévalence %	Semaines	Nombre de prélèvements	Cas positifs	Prévalence %
3	30	3	10	1	20	7	35
2	65	8	12	2	75	2	2
1	30	4	13	3	30	1	3
Total	125	15	12	Total	125	10	8

$p = 0,29$

5.6.2.5. Association avec différents facteurs

Le tableau 5.9 indique de façon comparée la fréquence de différents facteurs, classiquement décrits comme associés à la cryptosporidiose, dans un échantillon de 62 troupeaux.

Tableau 5.9 : Fréquence des troupeaux positifs à *Cryptosporidium* sp. en fonction de différents facteurs (n = 62 troupeaux)

Facteurs associés à la maladie		Total des troupeaux	Nombre de troupeaux positifs	Nombre de troupeaux négatifs	% des troupeaux positifs	p
Taille du troupeau	<100	24	16	8	(67)	0,01*
	>100	38	36	2	(95)	
Cohabitation avec bovins-caprins	Oui	48	45	3	(94)	0,0001**
	Non	14	7	7	(50)	
Troupeau recevant une ration de concentrée	Oui	44	40	4	(91)	0,05**
	Non	18	12	6	(67)	
Période d'agnelage	[Sept-Janv]	31	30	1	(97)	0,005
	Non	31	22	9	(71)	
Agneau attaché à la mère	Oui	33	28	5	(85)	0,9*
	Non	29	24	5	(83)	
Type d'élevage	Extensif	28	20	8	(71)	0,04*
	Intensif	34	32	2	(94)	
Hygiène dans l'étable	Oui	22	15	7	(68)	0,03*
	Non	40	37	3	(92)	

* Correction de Yates. ** Test exact de Fisher

L'analyse statistique de facteurs classiquement associés à la maladie (tableau 5.9) a montré que, dans notre échantillon, l'infestation cryptosporidienne était associée à des troupeaux de 100 à 500 têtes, en cohabitation avec d'autres

espèces animales (bovins ou caprins), à élevage intensif, en période d'agnelage (septembre jusqu'à janvier), et dans des étables en mauvaises conditions hygiéniques. Les deux autres facteurs (concentré et attache à la mère) n'ont pas montré d'association à l'infestation cryptosporidienne dans cet échantillon ($p > 0,05$).

5.7 Discussion de la représentativité des résultats.

Avant d'aborder la discussion de l'enquête proprement dite, nous allons évaluer la précision et la représentativité des résultats:

L'échantillonnage a été fait sur 62 troupeaux parmi 650 dans la région d'Ain Oussera, avec une précision relative souhaitée 50 %. La prévalence troupeau prise comme hypothèse de départ était 78 % et la prévalence trouvée était de l'ordre de 84 %, ce qui veut dire que la taille de l'échantillon que nous avons tiré au sort était plus importante qu'il ne fallait pas, en conséquence le coût de l'enquête a été plus important qu'il ne nécessitait.

Quarante-deux troupeaux tirés au sort sur les 62 ont participé à l'enquête, soit un taux de participation de 68 %, en raison soit du manque d'informations complètes sur les éleveurs (adresses, et lieu d'implantation de leurs élevages...) soit du refus de participation de certains des éleveurs tirés au hasard, ce qui nous a obligés à utiliser une liste complémentaire d'éleveurs proposée par les vétérinaires de la région d'étude. Ce défaut d'échantillonnage peut être à l'origine d'un biais, mais les catégories d'élevages et du fonctionnement sont relativement homogènes dans cette commune, ce qui en limite l'impact éventuel. Le risque de variabilité des résultats suite à l'existence de différentes catégories d'élevage (traditionnels, moderne), ou fonctionnement d'élevage, serait plus grand, si nous avions travaillé à l'échelle de la wilaya ou à l'échelle nationale, c'est la raison pour laquelle nous avons choisi l'échelle communale. Cette approche nous a permis d'inférer nos résultats sur l'ensemble des élevages des ovins de la commune, même si le tirage au sort n'a pas été complètement respecté

Il n'était pas possible d'effectuer un tirage au sort des animaux (agneaux diarrhéiques ou non) au sein de chaque troupeau, car il aurait fallu connaître le

nombre d'agneau, isoler les agneaux diarrhéiques par rapport aux non diarrhéiques, marquer ceux âgés de 1 à 6 mois, ce qui aurait demandé beaucoup de temps dans chaque troupeau, aurait dérangé l'éleveur en compromettant son activité et l'aurait conduit à refuser de participer à l'enquête. C'est pour cette raison que nous avons opté pour une méthode d'échantillonnage empirique en prenant tous les agneaux diarrhéiques ou non diarrhéiques.

5.8 Discussion des résultats des prélèvements :

La prévalence troupeau de *Cryptosporidium* sp. était de 84 % [IC95 % 75 % - 93 %], ce qui est similaire à la prévalence de 84 % enregistrée en Espagne par Causapé et al [140] et très éloignée de celle de 3 % relevée en Iran par Nouri et al [141]. La prévalence au niveau individuel dans l'échantillon était de 12,4 %, proche de celle rapportée en Espagne (15 %) Matos-Fernandez et al [142], mais moins élevée que celle enregistrée aux Etats-Unis d'Amérique (85 %) Xiao et al [143]. Ceci peut être expliqué par la différence de climat, la conduite d'élevage pratiquée et le choix de la population étudiée. Ces résultats montrent que *Cryptosporidium* sp. est largement répandu dans les élevages étudiés.

La prévalence de l'infestation chez les agneaux de l'échantillon était de 13,5 %, inférieure à celle notée en Turquie (46,5 %) Bullent et al [144] , la prévalence chez les brebis, était de 10 %, plus élevée que celle observée chez les béliers, 3,4 % ; ces derniers sont des animaux ayant une immunité spécifique acquise, ce qui explique le fait que l'infestation cryptosporidienne soit asymptomatique chez les animaux âgés Fayer et al [145] et c'est d'ailleurs pourquoi, il faut les diagnostiquer précocement pour limiter l'infestation dans le troupeau.

Les cryptosporidies ont été plus fréquemment trouvées chez les agneaux diarrhéiques que non diarrhéique (35,3 % vs 3,09 % respectivement), âgés essentiellement de deux semaines (26 %) dont le degré d'infestation était plus élevé (2 et 3) que celui des autres catégories d'âge ; ce taux était moins élevé chez les agneaux entre un et trois mois 7 % avec un degré d'infestation égal à 1, ce qui en accord avec d'autres observations Ortega-Mora et Wright [83] qui

soulignaient que l'infestation cryptosporidienne des agneaux décroît avec l'âge des agneaux.

Le taux d'infestation était moins élevé dans les troupeaux comptant moins de 100 têtes (67 %) par rapport aux grands troupeaux dont la taille est supérieure à 100 (95 %), ce qui rejoint l'étude de Delafosse et al [132] qui ont montré qu'une densité animale trop élevée favorise la contamination massive de l'environnement ; d'ailleurs, l'accumulation des agneaux dans l'étable (plus de 2 agneaux / m carré) contribue à la contamination de l'environnement [140].

Le taux d'infestation était plus élevé (94 %) dans les élevages mixtes (bovins et caprins) que dans les élevages ovins seuls (50 %). Certains auteurs suggèrent que les élevages mixtes présentent un risque supplémentaire par passage de l'infection entre veaux, agneaux et chevreaux [Angus et al., 1990-169], alors que d'autres ont montré que la cohabitation ne représente pas un facteur de risque et n'influence pas la valeur de l'infestation cryptosporidienne [146].

Dans notre échantillon, nous n'avons pas trouvé de différence entre les troupeaux qui reçoivent une ration de concentrée ou non (91 % vs 67 %, respectivement.), ou selon que les agneaux sont attachés à la mère ou éloignés des brebis (85 vs 83 % respectivement), car ces derniers sont probablement infectés juste après la naissance [140]. La fréquence du parasite ne semble pas être liée à l'état de gestation de la brebis, 16 % chez les brebis gestantes vs 11,33 % chez les brebis après le part ; Naciri M.[118] a remarqué un pic d'excrétion oocystale chez la brebis au moment de l'agnelage entre une semaine avant et une semaine après l'agnelage.

Cependant, l'infestation dans les troupeaux a été plus souvent détectée durant la période d'agnelage (97 % vs 71 % respectivement), ce qui est en accord avec les données de la littérature [147] qui signalent que l'excrétion des oocystes augmente chez les brebis durant l'agnelage ; ceci pourrait être lié soit au portage des brebis soit à une contamination massive des locaux par les agneaux appartenant à la cohorte précédente. L'intensité de l'infestation par *Cryptosporidium* sp. était significativement élevée dans les élevages intensifs (94 %), où sont

regroupés 30 à 100 têtes dans un petit bâtiment peu hygiénique, contrairement aux élevages extensifs (71 %), où les animaux pâturent dans les grands parcours ce qui diminue la pression de l'infestation ; elle était plus élevée dans les élevages ne respectant pas les mesures d'hygiène que dans ceux présentant des conditions sanitaires satisfaisantes (92 % vs 68 %) ce qui rejoint d'autres observations [60] selon lesquelles l'hygiène joue un rôle important dans le taux de contamination du milieu dans lequel vit l'animal.

5.9. Conclusion

Au terme de cette enquête, nous pouvons affirmer que la cryptosporidiose ovine existe amplement dans les élevages de la commune d'Ain Oussera avec une prévalence troupeau de 84 % [IC95 % 75 % - 93 %], ce qui expose les agneaux au risque de diarrhée due à cette maladie. Nos résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs. Les animaux adultes et jeunes jouent un rôle important dans la contamination de l'environnement (sols, litières, murs, matériels d'élevages). Compte tenu de l'absence de traitement spécifique, il est recommandé, d'améliorer les conditions d'hygiène des élevages.

Les facteurs associés à la maladie sont nombreux, mais les plus incriminés sont l'hygiène des étables, la taille du troupeau, la période d'agnelage et le type d'élevage. En complément à l'étude que nous venons de conduire, d'autres travaux peuvent être envisagés pour avoir une meilleure connaissance de l'évolution de la maladie afin d'établir de façon plus précise l'impact de cette maladie dans les élevages.

5.10. Enquête de prévalence sur *Giardia* sp, *Eimeria* sp et *Cryptosporidium* sp chez les agneaux de 1 à 6 mois seul ou en association.

5.10.1 Introduction :

La diarrhée de l'agneau est un problème très fréquent dans les élevages ovins, et peut être une cause de mortalité très importante, cependant les causes de la diarrhée sont nombreuses et varient selon l'âge des agneaux, elles peuvent être des bactéries, virales ou parasitaires, parmi les parasites les plus fréquemment incriminés dans cette gastroentérite *Giardia* sp, *Eimeria* sp et *Cryptosporidium* sp.

Les animaux infestés par *Cryptosporidium* sp constituent une source de contamination pour l'homme, d'où l'importance sanitaire de cette protozoose, les animaux au pâturage en seraient responsables par la contamination des cours d'eau [53].

Les coccidioses ovines (genre *Eimeria*) sont des protozoonoses affectant l'intestin grêle essentiellement et provoquant une diarrhée profuse pouvant entraîner une issue fatale. Très souvent l'infection ne se manifeste par aucun symptôme et seul l'examen des matières fécales peut révéler la présence de l'agent causal. Parmi les espèces dénombrées chez les ovins : *Eimeria* ovinoidalis et *Eimeria* crandallis chez l'agneau [105].

Le *Giardia* est un protozoaire flagellé, ubiquiste, dont les kystes ingérés avec l'eau polluée parviennent au niveau l'intestin grêle ou il provoque une entérite qui se manifeste par syndrome diarrhéique, avec un état de malabsorption qui peut être grave. Ce parasite peut infecter de nombreuses espèces animales et l'homme.

L'impact des protozoaires (*Cryptosporidium* sp, *Giardia* sp et *Eimeria* sp) dans l'apparition des gastro-entérites chez les agneaux de 1 à 6 mois est très important, ce qui nous a paru nécessaire de le considérer comme objectif dans notre travail, surtout si on note la rareté des travaux menés dans ce sens impliquant ces agents seuls ou associés dans les diarrhées des agneaux et leurs prévalences dans la région d'Ain Oussera.

5.10.2. Matériel et méthodes :

Durant la période (janvier 2014 et décembre 2016), un total de 1050 agneaux sont examinés (soit 340 diarrhéiques et 710 non diarrhéiques), issus de 62 élevages. (Voir chapitre précédent).

5.10.3. Techniques de laboratoire utilisées :

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

5.10.4. Analyses statistiques :

Le test du Khi deux, a été utilisé, selon leur indication, en retenant un seuil de signification pour le risque α de 0,05 pour étudier la prévalence d'association de ces trois protozoaires seul, ou associés en fonction de l'âge des agneaux et en présence de diarrhée ou non.

5.10.5. Résultats :

Tableau 5.10 : Prévalence des protozoaires seul ou en association

Parasites et leurs associations	Nbr de prélèvements positifs	Prévalence %
<i>Cryptosporidium</i> sp	122 (mono-infestation)	122/147= 83
<i>Giardia</i> sp.	13 (mono-infestation)	13/147= 9
<i>Eimeria</i> sp.	12 (mono-infestation)	12/147= 8
<i>Cryptosporidium</i> sp.+ <i>Giardia</i> sp.	10	10/147= 7
<i>Cryptosporidium</i> sp + <i>Eimeria</i> sp.	06	6/147= 4
<i>Eimeria</i> sp. + <i>Giardia</i> sp.	08	8/147= 5
<i>Eimeria</i> sp.+ <i>Giardia</i> sp.+ <i>Cryptosporidium</i> sp.	04	4/147= 3

Le tableau 5.10 montre que sur 1050 prélèvements analysés, les Cryptosporidies classent en tête avec 122 prélèvements positifs, soit (83 %), où le parasite était le seul agent trouvé, 10 prélèvements où il était associé à *Giardia* sp soit (7 %), 06 où il était associé aux *Eimeria* sp soit (4 %), enfin 04 cas où il était retrouvé associé aux 02 autres protozoaires soit 3 %.

Giardia sp vient en deuxième position, avec 13 prélèvements où on le retrouve seul soit (9 %), 10 prélèvements où il était associé aux cryptosporidies soit (7 %), 08 prélèvements où il était associé au *Eimeria* sp soit (5 %) et 04 prélèvements où on le retrouve avec les 02 autres agents soit (3 %). Enfin *Eimeria* sp qui étaient retrouvés seules dans 12 prélèvements soit (8 %), 06 prélèvements où on les isole avec les cryptosporidies soit (4 %), 8 prélèvements où ils étaient détectés avec les giardias soit (5 %) et enfin 04 prélèvements où ils étaient retrouvés avec les 02 autres parasites soit (3 %).

Tableau 5.11 : Prévalence de l'infestation de : *Cryptosporidium* sp, *Giardia* sp, et *Eimeria* sp en fonction de l'âge des agneaux.

Age	Nb de prélèvements	Nbr. de prélèvements positifs (%)		
		<i>Cryptosporidium</i> sp	<i>Giardia</i> sp	<i>Eimeria</i> sp
< 1 semaine	145	15 (10)	0	0
2 semaines	270	70 (26)	0	0
3 semaines	260	27 (10)	3 (1)	0
4 semaines	190	17 (9)	12 (6)	08 (4)
1 à 3 mois	130	10 (7)	15 (11)	15 (11)
3 à 6 mois	55	3 (5)	5 (9)	7 (13)
Total	1 050	142 (13,5)	35 (3,3)	30 (2,85)

P=0

Sur 145 prélèvements effectués inférieurs à une semaine d'âge ,15 étaient positifs au *cryptosporidium* sp seule soit (10 %), 00 pour *Giardia* sp et *Eimeria* sp.

A l'Age de 2 semaines, sur 270 prélèvements ,70 s'étaient révélés positifs aux cryptosporidies soit (26 %), aucune infestation n'a été révélée pour *Giardia* sp et *Eimeria* sp

A l'âge de 3 semaines, sur 260 prélèvements effectués, 27 étaient positifs aux cryptosporidies soit (10 %), 03 aux *Giardia* sp et 00 pour *Eimeria* sp

A l'âge de 4 semaines, sur 190 prélèvements, 17 étaient positifs à la cryptosporidies soit (9 %), 12 étaient positifs aux *Giardia* sp soit (6 %) et 08 étaient positifs aux *Eimeria* sp 4 %.

Entre 1 à 3 mois et sur 130 prélèvements effectués 10 étaient positifs aux cryptosporidies soit (7 %) ,15 étaient positifs au *Giardia* sp soit (11%), et 15 aux *Eimeria* sp soit (11 %).

Entre 3 à 6 mois, sur 55 prélèvements effectués 3 étaient positifs aux cryptosporidies soit (5 %), 5 aux *Giardia* sp soit (9 %), et 07 contenaient *Eimeria* sp soit (13%).

Tableau 5.12 : Prévalence des 03 protozoaires et leur association en fonction des selles diarrhéiques et non diarrhéiques.

Nbr de prélèvements	Nbr des S D	Nbr des S N D	Nb d'association dans les S D	%	Nb d'association dans les S N D	%
1050	340	710	123	36	24	3

Le tableau 5.12 montre que les éléments parasitaires ont été retrouvés aussi bien chez les agneaux diarrhéiques et non diarrhéiques seul ou associé, cependant leur prévalence est plus importante chez les agneaux diarrhéiques par rapport à ceux ne présentant pas de diarrhée. En effet, sur 340 prélèvements diarrhéiques, on a retrouvé des associations dans 123 cas soit (36 %) et sur 710 selles non diarrhéiques, l'association des 03 parasites a été retrouvée dans 24 cas soit (3 %)

5.10.6 Discussion :

Cryptosporidium sp, *Eimeria* sp, et *Giardia* sp. sont des protozoaires intestinaux pathogènes identifiés chez les petits ruminants diarrhéiques et non diarrhéiques [143]. L'examen parasitologique a révélé que 147 (14%) des 1050 agneaux examinés étaient infestés par un ou plus agents parasites. Ceci est en accord avec des études précédentes dans des fermes aléatoirement choisis avec signalisation des foyers de diarrhée chez les ruminants [148]. Ces résultats démontrent que *Cryptosporidium* sp, *Eimeria* sp, *Giardia* sp sont largement répandu dans les troupeaux ovins dans la région d'étude, et doivent être considérées comme des principaux agents dans l'étiologie de la diarrhée chez les agneaux.

La prévalence de l'infestation chez les agneaux de l'échantillon était de 13,5 %, inférieure à celle notée en Turquie (46,5 %) [144].

Les cryptosporidies ont été plus fréquemment isolées chez les agneaux, âgés essentiellement de deux semaines (26 %); ce taux était moins élevé chez les agneaux entre un et trois mois 7 %, ce qui est en accord avec d'autres observations [83] qui soulignaient que l'infestation cryptosporidienne des agneaux décroît avec l'âge des agneaux.

Notre prévalence de *Giardia* sp était trouvée 3.3%, ce qui correspond à celle observée en Italie par Giangaspero et al qui est de (3%) [148]. Cependant, ils ne rejoignent pas dans l'ensemble ceux retrouvés dans d'autres pays dont Canada avec 57% [149] et l'Espagne 33 % [150].

L'âge des animaux joue un rôle primordial, en effet, *giardia* sp se retrouve généralement chez les agneaux après 15 jours d'âge avec une grande prévalence à partir de la 4^{ème} semaine, elle marque un pic de prévalence entre 1 et 3 mois 11,53 %, contrairement aux cryptosporidies, qu'elles sont des agents pathogènes importants pour les agneaux de moins d'un mois, ceci rejoint les travaux de Causapé et al [140] qui considèrent que *Giardia* est surtout rencontré chez les agneaux âgés de 22 à 90 jours.

La prévalence de l'Eimérose était (2,85 %), ce qui s'éloigne des résultats observés en Turquie par Nalan 19,69 % [151], *Eimeria* sp était retrouvée dans les

fèces à partir de la quatrième semaine avec une prévalence de 4,21% et au-delà du premier mois la prévalence d'infestation augmente significativement avec l'âge des agneaux atteignant son pic entre 3 et 6 mois 13 %, selon Nalan et al [151], la prévalence de l'oocyste d'*Eimeria* sp était significativement plus élevée chez les agneaux âgés entre 31 jours et 60 jours que ceux âgés de 16 à 30 jours.

Les cryptosporidies sont plus fréquemment rencontrées par rapport aux *Giardias* et *Eimeria*, 83 %, 9 % et 8 % respectivement.

La prévalence d'association *Cryptosporidium* sp *giardia* sp et *Cryptosporidium* sp *Eimeria* sp est relativement faible 7% et 4 % respectivement, Castroharmida et al [152] rapportent que les infestations mixtes par *Cryptosporidium* sp et *Giardia* sp étaient uniquement 2%, cependant d'autres travaux n'ont rapporté aucune association entre ces 02 parasites [153].

En plus l'association *Cryptosporidium* sp-*Giardia* sp –*Eimeria* sp est 3%, les coccidies ayant tendance à infecter des agneaux plus âgés, l'association de 3 agents est possible aussi bien dans les selles diarrhéiques que dans les selles non diarrhéiques, ce qui montre ces parasites peuvent indifféremment agir quand ils sont associés soit provoquer la diarrhée, soit être à l'origine d'infestation asymptomatique et qui ne se manifeste que par des pertes de poids et des retards de croissance. Les Giardiose et l'Eimérose sont connues pour être responsables de diarrhée chez l'agneau à partir d'un mois d'âge [154]. Les chances de concomitance entre les trois parasites étant relativement faibles, ces derniers ayant tendance à atteindre des catégories d'âges différentes ce qui explique le nombre relativement faible d'association entre eux.

5.10.7 Conclusion :

Les cryptosporidies marquent la prévalence la plus élevée suivies de *Giardia* sp et *Eimeria* sp à des taux différents, les cryptosporidies sont retrouvés pendant les deux premières semaines de vie, alors que *Giardia* sp et *Eimeria* sp infestent les agneaux les plus âgés, d'où apparaît l'importance de l'âge comme facteur prédisposant à l'infestation.

5.11 : Enquête de prévalence sur les 4 principaux agents pathogènes *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux.

5.11.1 : Introduction :

Parmi les maladies néonatales, les entérites diarrhéiques sont les plus fréquentes, et représentent une des préoccupations des éleveurs. Elles sont dues à différents agents pathogènes, bactéries, virus et parasites intestinaux. Des co-infections provoquées par l'association de deux de ces agents sont souvent signalées [155].

En effet, lorsqu'un syndrome de diarrhée néonatale survient, il est difficile de situer le rôle étiologique de chacun des germes, en particulier celui de *Cryptosporidium* sp, *Escherichia coli* K99, Rotavirus et Coronavirus, en raison de l'action de ces germes qui peuvent être isolés ou en associations. De plus, des études épidémiologiques ont montré que la diversité du degré d'association entre ces agents est souvent fatale lorsque les infections sont combinées, en particulier entre les bactéries et *Cryptosporidium* sp [156] et entre les virus et le *Cryptosporidium* sp [157] cela constitue un problème majeur pour la santé des agneaux atteints, et malgré ça, on ne retrouve pas des travaux sur les agents responsables des diarrhées chez les agneaux en Algérie. Devant cet état, une enquête parue nécessaire pour répondre aux objectifs suivants :

- 1-une enquête par questionnaire destiné aux vétérinaires praticiens dont le but est de recueillir le maximum de données nécessaires sur cette gastro-entérite.
- 2-En outre déterminer la prévalence de 4 principaux agents pathogènes: *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus, responsables des diarrhées chez les agneaux selon l'état clinique et l'âge des agneaux dans certains troupeaux du centre d'Algérie.

5.11.2. Matériel et méthodes :

5.11.2.1. Matériel :

5.11.2.1.1 L'enquête (questionnaire):

Nous avons envisagé une enquête qui s'est étalée d'octobre 2013 octobre 2014 reposant sur le principe d'un questionnaire auprès des vétérinaires praticiens dont le but est de recueillir le maximum de données nécessaires sur cette gastroentérite. (Annexe : B)

5.11.2.1.2 Modalité du recueil des données :

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire constitué de 15 questions, tirées à 200 exemplaires à travers la région du centre et distribué comme suite :

- ✓ Aux vétérinaires praticiens de proximité par nous-mêmes.
- ✓ Aux vétérinaires des différentes régions de centre par:
 - Le biais des distributeurs de produits vétérinaires
 - Les étudiants du département des sciences vétérinaires, lors de leur stage pratique.
- ✓ Lors des réunions des vétérinaires.

5.11.2.1.3 Données collectées:

Les informations obtenues du questionnaire ont été reçues durant la période comprise entre octobre 2013 et octobre 2014, ce questionnaire est composé de 14 questions réparties en 05 rubriques:

- ✓ Les principales infections néonatales des agneaux.
- ✓ La fréquence de diarrhée en fonction de l'âge et la saison.
- ✓ L'hygiène et le type de bergeries où les diarrhées sont fréquentes.
- ✓ Le recours au laboratoire pour diagnostiquer la pathologie.
- ✓ Le traitement réalisé face à cette pathologie.

Le questionnaire a été testé auprès de 10 vétérinaires permettant ainsi la vérification de la compréhension et l'utilité des questions.

5.11.2.1.4 .Traitement statistique des données:

L'ensemble des données recueillies a été saisi et stocké dans un fichier Microsoft Excel. Le test de Khi deux a été utilisé au seuil de signification $\alpha = 5 \%$.

5.11.2.2 L'enquête proprement dite :

L'objectif de l'enquête est de déterminer la prévalence de 4 agents principaux pathogènes responsables de diarrhée : *cryptosporidium* sp, E-coli, rotavirus, et coronavirus selon l'état clinique et l'âge des agneaux.

5.11.2.1 Animaux :

L'étude a été réalisée entre Janvier 2014 et Décembre 2016. Les prélèvements de fèces ont concerné 366 agneaux âgés de moins de 30 jours (126 diarrhéiques et 240 non diarrhéiques) par prélèvement rectal dans des cuves en plastique. Les agneaux ont été répartis sur 30 élevages de type extensif dans les régions de Laghouate, Djelfa, Médéa. Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire de biotechnologie liée à la reproduction animale à l'Université Blida 1.

5.11.3 Méthodes

Méthode Elisa: recherche directe d'antigènes dans les matières fécales. Le principe de test ELISA direct est de détecter l'antigène dans les fèces des agneaux, les cupules qui comptent la microplaque sont sensibilisées alternativement par des anticorps spécifiques contre les rotavirus dans la première ligne (A) suivie par une ligne de contrôle négative sensibilisée par des anticorps non spécifiques, vient après anticorps anti-coronavirus dans la troisième ligne (C) puis contrôle négative dans la ligne (D). La ligne (E) est sensibilisée par des anticorps dirigés contre le facteur d'attachement d E.Coli F5 (k99) suivi par une ligne de contrôle négative et enfin, la ligne (G) est sensibilisée par des anticorps contre *Cryptosporidium* sp également suivie par une ligne de contrôle négative.

Chaque échantillon à tester a été incubé dans les puits des quatre valences, le changement de couleur en bleu après l'addition de révélateur (substrat TMB) de réaction Immuno-enzymatique indique la présence de l'antigène.

L'intensité de cette réaction est déterminée après la mesure de la densité optique (DO). La composition du kit ELISA ainsi que les étapes de la technique est décrites et illustrées en annexe :C.

5.11.3.1 Analyses statistiques:

Les agneaux ont été regroupés en fonction de statut cliniques (diarrhéiques ou non diarrhéiques) et l'âge comme suit : inférieure à 15 jours et supérieure à 15 jours. Les fréquences des cryptosporidies ont été comparées par le test de chi² au seuil de significativité de 5 %.

5.11.4 Résultats du questionnaire:

Nous avons récupéré 126 questionnaires parmi les 200 précédemment distribués ,08 questionnaires ont été ensuite éliminés en raison des réponses incomplètes, le nombre final des questionnaires traités est de 118 soit un taux de (59%).

Les résultats ont été mis dans des tableaux comportant le nombre et le pourcentage des réponses, que nous avons joints en annexe: D.

Le traitement des données du questionnaire est rapporté par question:

-1.Endroit de l'exercice :

Les 118 questionnaires ont été récupérés à partir de 10 wilayas se trouvant dans la région centre soit un taux de (80%).

Les wilayas sont : Médéa, Bouira, Tipaza, Alger, M'sila, Ain Defla, Boumerdas, El Djelfa représentées dans le tableau suivant (Tableau 5.13).

Tableau 5.13 : Différentes Wilayas à partir desquels nous avons obtenu des réponses.

Région	Centre
Wilayas	Médéa Bouira Tipaza Alger M'sila Ain Defla Boumerdas El Djelfa

-2 Ordre de fréquence des pathologies néonatales de l'agneau:

D'après les vétérinaires interrogés, les pathologies qui affectent les agneaux sont diverses, les plus importantes sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 5.14: Fréquence des pathologies néonatales de l'agneau selon les vétérinaires.

Fréquence de l'infection néonatale de l'agneau	Nombre de réponses	Pourcentage
Diarrhée néonatale	41	31,35
Infection respiratoire	39	29,66
Omphalite	19	12,71
Polyarthrite	12	6,77
Autres	7	2,54

Nous avons constaté que les pathologies néonatales les plus fréquemment rencontrées sur le terrain sont la diarrhée néonatale avec un taux de (31,35%), vient ensuite les infections respiratoires avec un taux de (29,66%), Concernant les omphalites et les arthrites elles présentent respectivement un taux de (12,71%) et (6,77%). D'autres vétérinaires soit (2,54%) ont donné d'autres réponses à cette question à savoir: l'entérotoxémie, l'hypothermie, la septicémie et la colibacillose. (Figure 5.5).

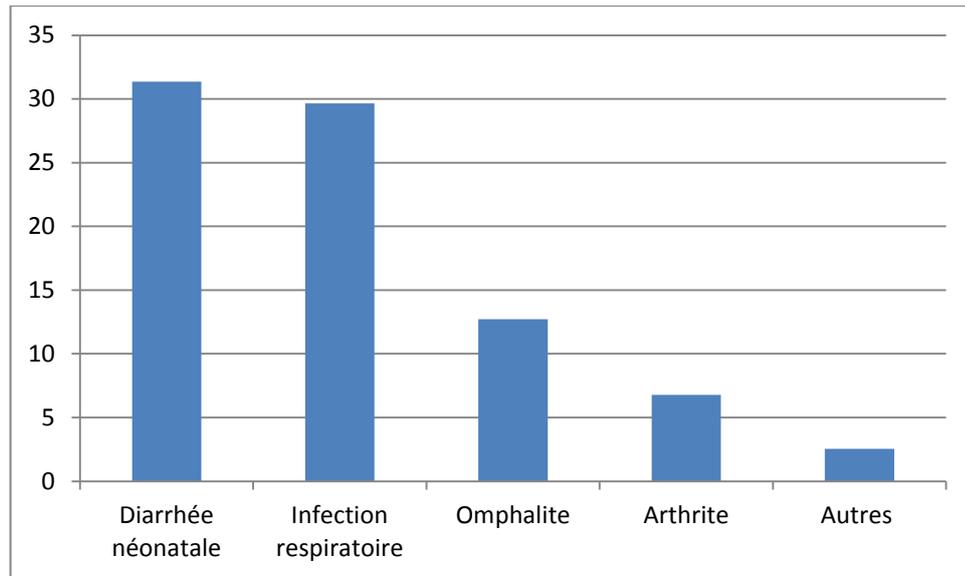


Figure 5.5 : Fréquence des pathologies néonatales des agneaux rencontrées sur le terrain.

- 3. Fréquence des diarrhées néonatales de l'agneau :

Les résultats de cette question sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 5.15 : Fréquence des diarrhées néonatales sur le terrain.

Fréquence de diarrhée néonatale sur le terrain	Nombre de réponses	Pourcentage
Fréquente	65	55,08
Peu fréquente	30	25,42
Sporadique	23	19,49

Nous avons enregistré que plus de la moitié des vétérinaires interrogés, soit 55,08% considèrent que les diarrhées néonatales sont fréquentes sur le terrain, alors que 25,42% d'entre eux pensent qu'elles sont peu fréquentes. Par ailleurs, 19,49% des vétérinaires trouvent que les diarrhées sont sporadiques. (Figure 5.6.)

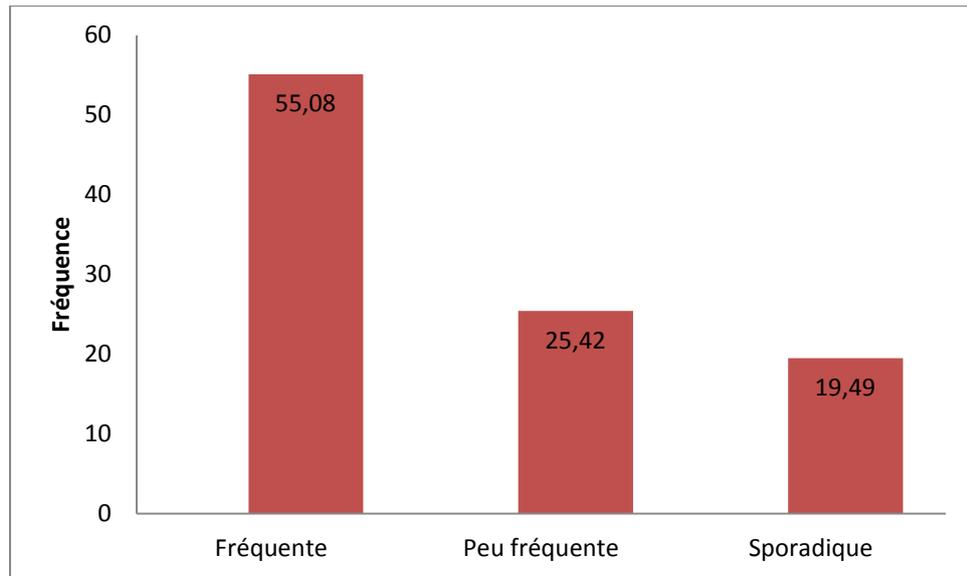


Figure 5.6:Fréquence des diarrhées néonatales sur le terrain.

6. Fréquence des diarrhées néonatales en fonction de l'âge :

Les résultats que nous avons trouvés sont motionnés dans le tableau suivant :

Tableau 5.16 : Fréquence des diarrhées néonatales selon l'âge de l'agneau.

Fréquence de diarrhée en fonction de l'âge	Nombre de réponses	Pourcentage
1à7 jours	34	28,81
7à15jours	50	42,37
15à30jours	12	10,16
Autres	22	18,64

Nous avons trouvé que (42,37%) des vétérinaires rapportent que la diarrhée est plus fréquente durant la deuxième semaine, de vie, alors que (28,81%) signalent la diarrhée pendant la première semaine, et (10,16%) des vétérinaires ont mentionné que la diarrhée touche les agneaux au cours de la troisième semaine. Cependant, (18,64%) des vétérinaires ont rapporté que la diarrhée peut s'étendre de 1à 6mois. (Figure 5.7).

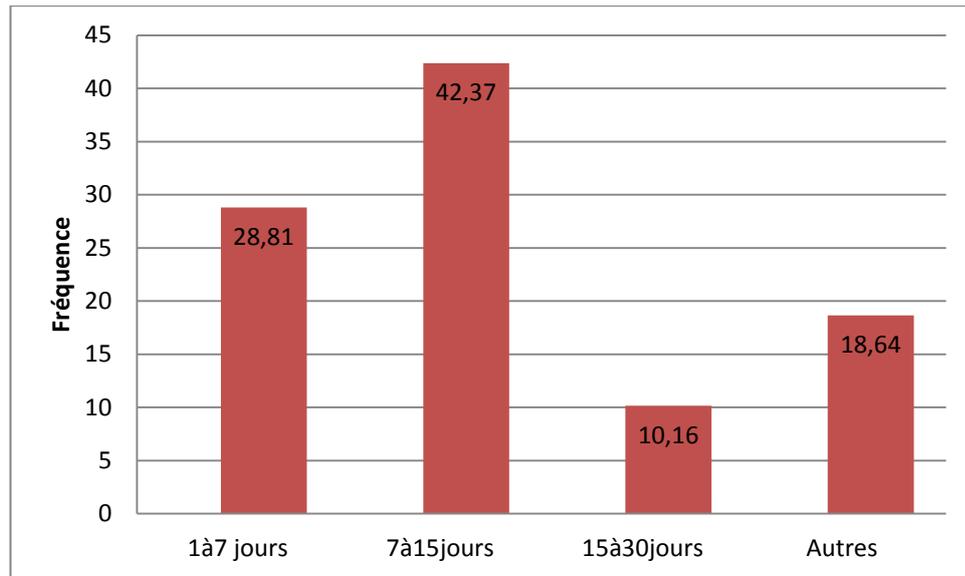


Figure 5.7: Fréquence des diarrhées néonatales enregistrée en fonction de l'âge.

-5. Fréquence des diarrhées néonatales en fonction de la saison :

Les résultats que nous avons obtenus sont enregistrés dans le tableau suivant :

Tableau 5.17 : Fréquence des diarrhées selon la saison.

Fréquence de diarrhée en fonction de saison	Nombre de réponses	Pourcentage
Hiver	25	21,18
Printemps	16	13,55
Eté	4	3,38
Automne	14	11,86
Hiver+printemps	23	19,46
Hiver+automne	14	11,86
Eté+automne	12	10,16
Printemps+automne	8	6,77
Eté+hiver	2	1,69

Nous constatons que les vétérinaires ont différents avis concernant la saison durant laquelle apparaissent les diarrhées figure: 5.8.

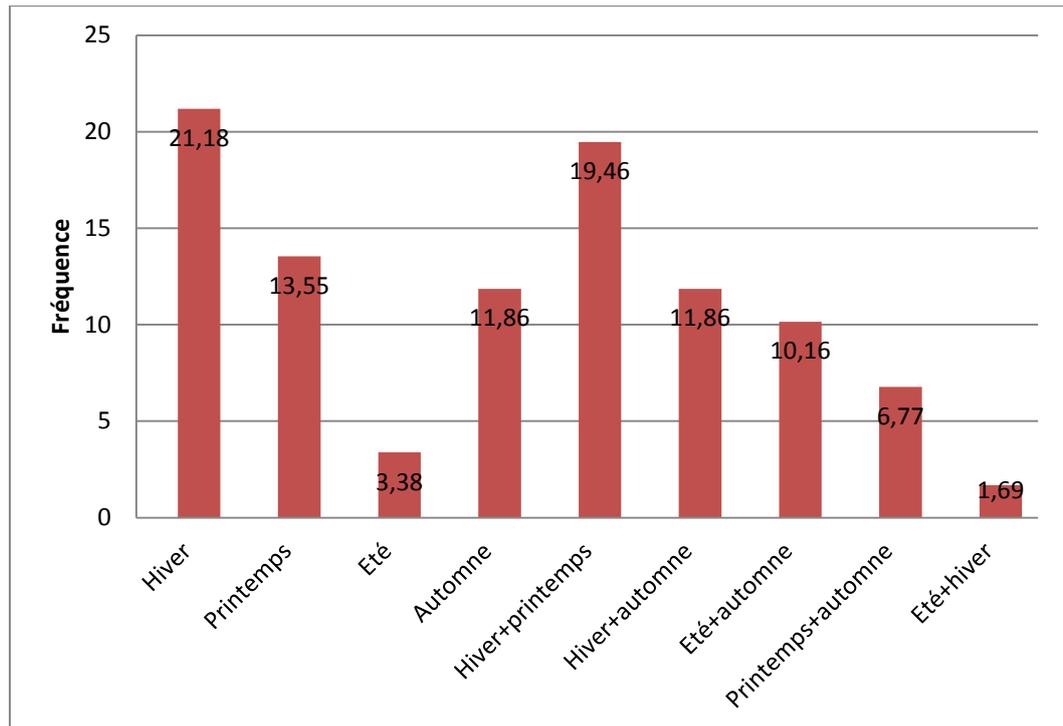


Figure 5.8 : Fréquence des diarrhées néonatales en fonction de la saison.

-6.Fréquence de déshydratation constatée lorsque l'agneau est mort :

Les agneaux morts par diarrhées souffrent de déshydratation, cependant nous avons trouvé les résultats suivants :

Tableau 5.18.Fréquence de déshydratation lorsque l'agneau est mort.

La déshydratation	Nombre de réponses	Pourcentage
Légère	8	6,77
Moyenne	26	22,05
Marquée	84	71,18

Nous avons noté que (71,18%) des vétérinaires interrogés ont signalé une déshydratation marquée lors de la mort de l'agneau et (22,03%) ont rapporté une déshydratation moyenne alors que (6,77%) ont trouvé que la mort de l'agneau survient avec une déshydratation légère. (Figure: 5.9).

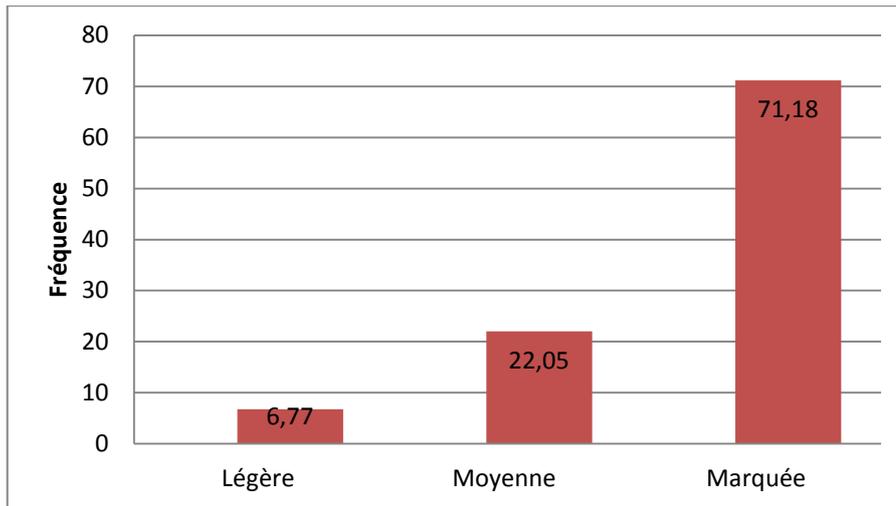


Figure 5.9 : Fréquence de déshydratation lors la mort de l'agneau.

-7.Hygiène des bergeries:

Les vétérinaires interrogés ont constaté une relation entre la présence des diarrhées et l'hygiène des bergeries. Cependant, (66,94%) ont signalé une mauvaise hygiène des bergeries lors de l'apparition de diarrhée alors que (33,05%) ont signalé une hygiène moyenne (Figure 5.10).

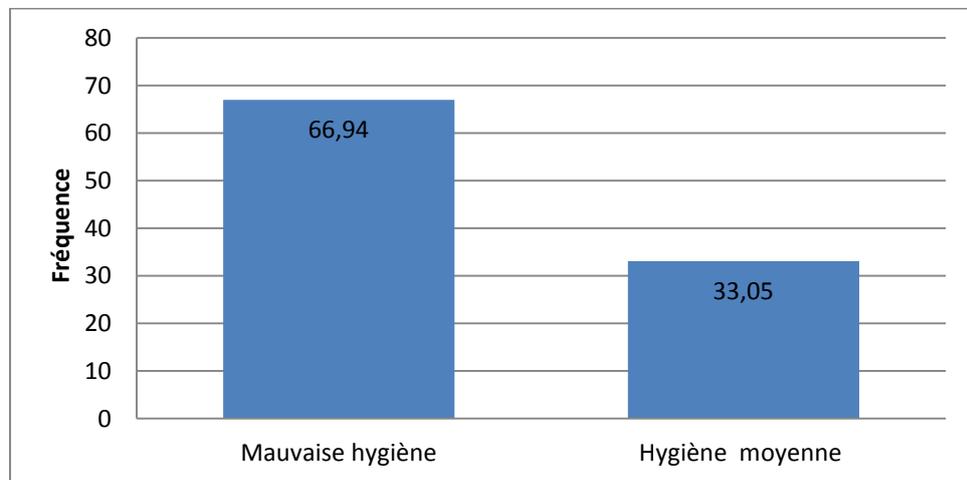


Figure 5.10 : Fréquence des réponses concernant l'hygiène des bergeries.

-8.Fréquence des diarrhées par rapport au type d'élevage.

Les diarrhées sont fréquentes dans les élevages extensifs avec un taux de 61,86%. Cependant, 37,28% des vétérinaires ont signalé les diarrhées dans les élevages intensifs. (Figure 5.11).

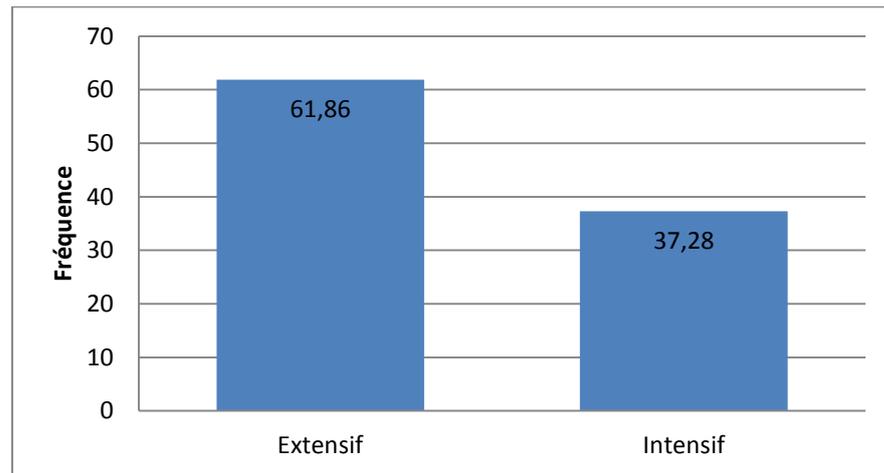


Figure 5.11 : Fréquence des diarrhées selon le type d'élevage.

-9.Impact de la vaccination sur l'apparition des diarrhées:

Nous avons constaté que peu de vétérinaires (5,08%) ont signalé que cette pathologie survient chez les agneaux issus de brebis vaccinées contre l'entérotoxémie. Par contre, (94,91%) des vétérinaires considèrent que les diarrhées sont en relation avec la non vaccination contre l'entérotoxémie. (Figure 5.12).

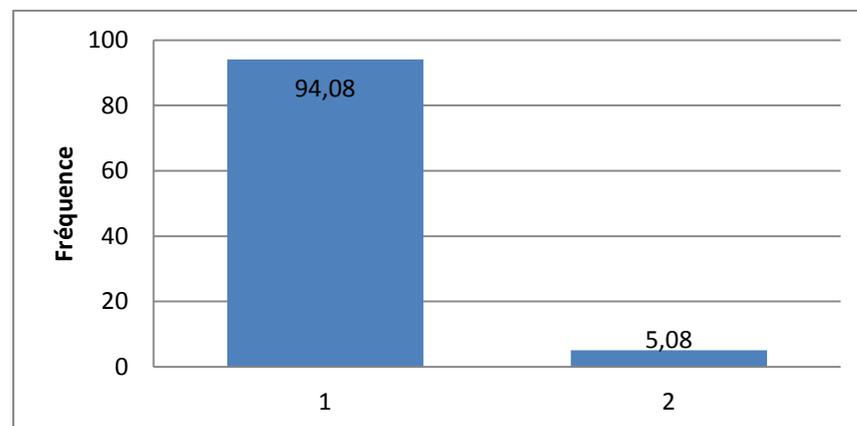


Figure 5.12 : Fréquence des diarrhées des agneaux issus des brebis vaccinées contre l'entérotoxémie ou non.

-10.Effet de l'alimentation concentrée sur l'apparition des diarrhées:

Selon les réponses des vétérinaires concernant la supplémentation du troupeau par un aliment concentré. Ces derniers ont plusieurs avis (Figure 5.13). (Tableau 5.19).

Les vétérinaires interrogés ont rapporté aussi que la supplémentation du troupeau se fait selon la disponibilité et le coût de l'aliment sur le marché.

Tableau 5.19: Fréquence de supplémentation du troupeau.

Aliment concentré	Nombre de réponses	Pourcentage
Son+maïs	35	29,66
Maïs seul	26	22,03
Son seul	22	18,64
Orge seul	16	13,55
Son+orge	12	10,16
Son+orge+maïs	7	5,93

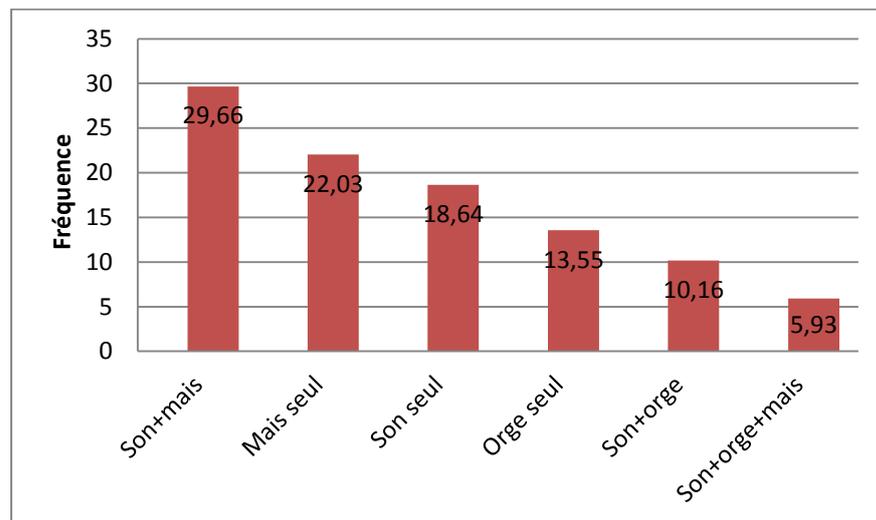


Figure 5.13 : Fréquence de supplémentation du troupeau.

-11. Recours au diagnostic du laboratoire :

Le recours au laboratoire est limité, car (10%) des vétérinaires seulement le pratiquent. Ainsi 90% n'utilisent jamais les analyses des laboratoires pour le diagnostic et cela est due à plusieurs raisons:

- L'éloignement du laboratoire.
- Le délai du résultat.
- Le manque de temps.
- Les procédés coûteux.

Le pourcentage du recours au laboratoire par les vétérinaires est représenté dans la figure.5.14.

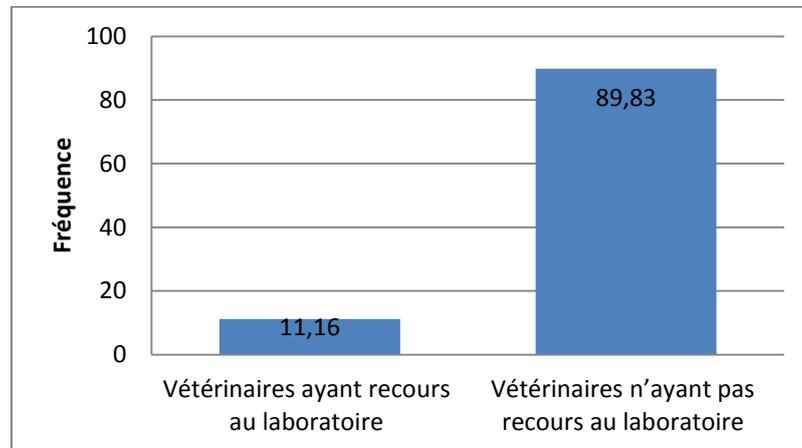


Figure 5.14:Fréquence de recours au laboratoire par les vétérinaires.

-12.Le traitement préconisé lors des diarrhées :

D'après les vétérinaires interrogés, plus de la moitié (53,38%) utilisent les réhydratants et les sulfamides comme traitement chez les agneaux diarrhéiques. Ensuite, (31,35%) combinent les réhydratants, les sulfamides et les antibiotiques. Par contre (15,25%) utilisent les réhydratants et les antibiotiques. (Figure 5.15).

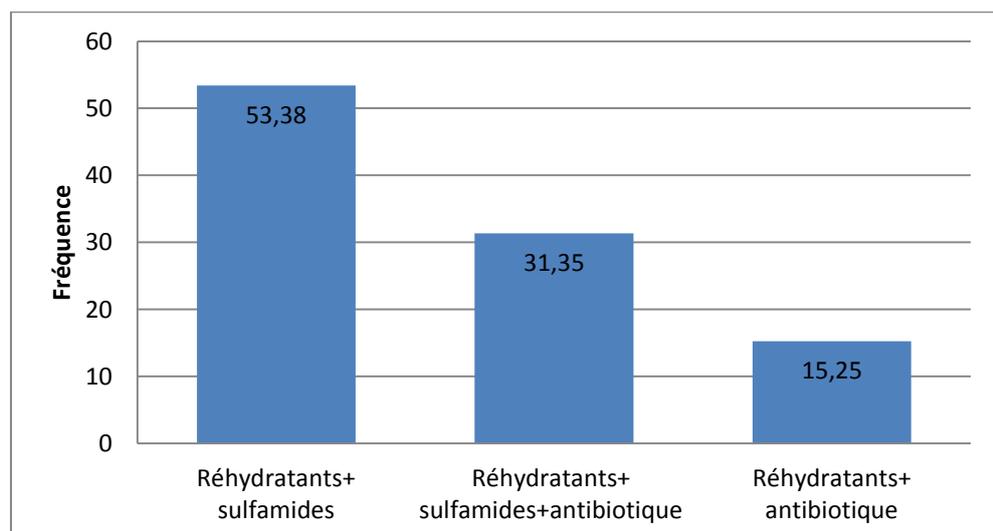


Figure 5.15 : Traitements préconisés par les vétérinaires.

-13. Prévention de cette pathologie :

Tous les vétérinaires sont d'accord pour dire que la prévention de cette pathologie se base sur la désinfection périodique des étables, séparation des animaux malades, et une bonne alimentation équilibrée. Il faut également s'assurer que les agneaux reçoivent suffisamment de colostrum, ainsi que la vaccination des cheptels contre l'entérotoxémie.

5.11.5 Discussion du questionnaire:

Le questionnaire que nous avons préparé a touché 80% de la région du centre de pays.(Médéa, Bouira, Tipaza ,Alger, Msila, Ain defla, Boumerdas, El-djelfa).

D'après les réponses obtenues, nous avons constaté que les diarrhées néonatales sont fréquentes (31,35%) suivies par les infections respiratoires 29,66% ce qui est en accord avec l'étude de Ebdelhadi [158] qui a trouvé que les diarrhées néonatales et les infections respiratoires sont de (10,08%) et (9,46%) respectivement.

Ces diarrhées touchent plus les agneaux âgés de 2 semaines (42,37 %), ce qui correspond à ce qui a été rapporté par Ortiga et al [83] et Tzipori et al [159] qui ont montré que cette pathologie est beaucoup plus fréquente durant les deux premières semaines de vie.

Les diarrhées néonatales surviennent tout au long de l'année, malgré le fait que les réponses que nous avons reçues montrent que ces dernières sont plus fréquentes pendant l'hiver et le printemps soit respectivement (21,18%) (13,55%), ceci rejoint l'étude d'Alaa-Eddine Gatti au Maroc [160] où (79%) des cas ont été diagnostiqués pendant la saison humide. Certains auteurs notent un effet de saison, il y a plus de cas en hiver, pour d'autres, l'hiver est une période où le froid et le manque d'alimentation altèrent les résistances des animaux, il y aurait alors d'avantage de mortalité [118].

La majorité des vétérinaires enquêtés (71,18%) ont lié la mort des agneaux à la déshydratation marquée. Jean et al [161] ont signalé qu'il n'est pas facile de

traiter un agneau très déshydraté et abattu, malgré le fait que les traitements, même sophistiqués et dispendieux les résultats restent souvent décevants.

La plupart des vétérinaires (66,94%) ont remarqué que les cas de diarrhées sont fréquents dans les mauvaises bergeries. Cette situation peut s'expliquer par le niveau d'hygiène qui est faible. HarpsJ.A et al [60] ont constaté que l'hygiène joue un rôle important dans le taux de contamination du milieu dans lequel vit l'animal.

Quand une épizootie est déclarée dans une exploitation, les symptômes et les lésions ne peuvent fournir avec les critères épidémiologiques, qu'une suspicion de l'implication des germes ou des virus dans les diarrhées néonatales [161].

Le recours aux analyses des laboratoires apparaît donc comme indispensable pour porter un diagnostic de certitude. Cependant, d'après, les résultats que nous avons reçus, presque tous les vétérinaires (94,91%) n'utilisent jamais les techniques de laboratoires. Cette situation peut s'expliquer par plusieurs raisons: Les laboratoires centraux de chaque région sont très loins par rapport aux vétérinaires praticiens qui occupent les cabinets vétérinaires privés, ce qui les décourage. En plus, le délai des résultats et les procédés couteux empêchent l'éleveur à demander les analyses de laboratoires.

Les vétérinaires que nous avons interrogés ont rapporté que la diarrhée est fréquente chez les troupeaux recevant une alimentation faite essentiellement du son, orge, maïs, ou d'un mélange de ces derniers, cependant le mélange son+maïs prédomine avec 29,66%. Notons que les éleveurs fournissent l'aliment concentré et cela dans les conditions climatiques défavorables, surtout pendant l'année sèche ce qui prédispose les agneaux aux diarrhées.

Cette constatation va dans le même sens que celle de Izquierdo et al [162] qui rapportent que dans les conditions climatiques défavorables, le cheptel reçoit un supplément pendant la période d'agnelage de l'automne-hiver, et produisent vraisemblablement un lait plus riche dans cette saison. En outre Radostits et al [92] constatent que lorsqu'une grande quantité de lait concentré est ingérée, la capacité digestive de l'abomasum de l'agneau est excédée et la coagulation du lait est altérée, le lait partiellement digéré procède le long de l'intestin grêle, ayant pour résultat la concentration élevée des aliments, particulièrement le lactose

dans la lumière intestinale retirant l'eau dans l'espace interstitiel favorisant le début de la diarrhée.

D'après les vétérinaires enquêtés, nous avons marqué que (94,91%) pensent que les agneaux issus de brebis non vaccinées contre l'entérotoxémie sont plus touchés par la diarrhée néonatale, alors que 5,08% ne les considèrent pas.

Dans une étude faite dans le laboratoire de physiologie animale au département de médecine vétérinaire à la faculté universitaire de Notre.Dame de la Paix à Namur (Belgique) sur l'appréciation des conséquences de la vaccination de la brebis contre l'entérotoxémie sur l'immunité colostrale chez l'agneau, rapporte que la vaccination augmente de manière significative le taux d'anticorps antitoxines clostridiennes α et ϵ dans le sang et dans le colostrum des brebis vaccinés. De plus, les agneaux issus de brebis vaccinées ont un taux d'anticorps supérieur à ceux issus du lot témoin (non vacciné), les résultats de cette étude ne permettent pas de vérifier si la vaccination est efficace sur le plan clinique, par contre, elles soulignent l'importance du « nursing » du nouveau-né, ce qui contribue à limiter les pathologies néonatales [163].

Le traitement des diarrhée comporte un traitement général symptomatique, qui consiste en une réhydratation des animaux soit par la voie orale ou intraveineuse, et un traitement spécifique selon l'agent causal qui peut être un antibiotique, un anti-infectieux ou un antiparasitaire [164].Cependant, d'après notre questionnaire (53,38%) des vétérinaires utilisent un réhydratant et sulfamide, mais le traitement spécifique reste absent vu que le recours au laboratoire pour l'identification microbiologique de l'agent causal fait défaut.

La prophylaxie générale des diarrhées des nouveaux nés est basée tout d'abord sur des mesures hygiéniques. Ces mesures ont pour but de diminuer l'incidence globale des facteurs de risque dans l'élevage, et ainsi diminuer la contagion surtout pendant la période de mise bas. Il faut ainsi vérifier la bonne prise du colostrum par les agneaux, ils doivent absorber le colostrum dans l'heure de naissance, puis deux à trois fois sur la journée [165]. Afin d'améliorer l'efficacité

de ces mesures générales, l'association d'une prophylaxie médicale est nécessaire, elle se base essentiellement sur la vaccination. Les vaccins ciblent les agents pathogènes de nature bactérienne : Colibacilles, Clostridies, Salmonelles [164].

5.11.6 Résultat de l'enquête

D'après le tableau 5.20, on constate que *Cryptosporidium* sp est le germe le plus fréquemment rencontré en comparaison avec les autres agents. En effet, sur les 366 prélèvements de fèces d'agneaux analysés, 69 ont fourni un résultat positif soit 18 % aux cryptosporidies suivi par E-coli K99 qui est identifié chez 45 agneaux soit 12 %, vient par la suite les Rotavirus avec 36 agneaux positifs soit 9%, et enfin coronavirus avec 20 agneaux positifs soit 5%.

Tableau 5.20: Prévalence des 4 principaux agents pathogènes dans les fèces d'agneaux.

Agents pathogènes recherchés	Nombre de prélèvements positifs	Résultats %
<i>Cryptosporidium</i> sp	69	18
Colibacille K99+	45	12
Rotavirus	36	9
Coronavirus	20	5

P<0.0001 entre les 4 agents : (Cry et E-coli NS)-(Cry et Rot NS) (Cry et Coron NS).

Le Tableau 5.21 montre que la fréquence des différents agents est beaucoup plus importante à l'état isolé qu'en association, en effet on retrouve : Les cryptosporidies qui viennent en tête avec 48 cas seules, 7 cas associés au rotavirus, 9 avec le colibacille K99+(F5+), 5 avec le coronavirus, suivies du E-coli qui est retrouvé seul dans 36 cas, 9 cas avec les cryptosporidies. Ensuite, vient le rotavirus qui est retrouvé seul dans 29 prélèvements, et 7 fois associé au cryptosporidies.

Enfin arrive coronavirus qui est isolé seul dans 15 cas, 5 fois associé au cryptosporidies.

Tableau 5.21: Prévalence des 4 principaux agents entéropathènes et leurs associations

Nature des isollements	Nombre de cas positif
<i>Cryptosporidium</i> sp	48
Colibacille F5 (K99+)	36
Rotavirus	29
Coronavirus	15
<i>Cryptosporidium</i> sp- Colibacille F5 (K99+)	9
<i>Cryptosporidium</i> sp-Rotavirus	7
<i>Cryptosporidium</i> sp-Coronavirus	5

Le tableau 5.22 montre que les 4 agents sont isolés dans les deux catégories d'âges inférieur à 15 jours et supérieur à 15 jours. En effet sur 210 prélèvements effectués sur des agneaux inférieurs à 15 jours, 24 étaient positifs aux cryptosporidies soit 11%, 33 aux colibacilles K99+ soit 15%, 36 au rotavirus, et 20 au coronavirus 17%, ces résultats montrent une prévalence élevée de rotavirus suivi de colibacille.

Sur 156 échantillons appartenant à des agneaux supérieur à 15 jours d'âge, 45 étaient positifs aux cryptosporidies soit 28%, 9 au colibacille K99+ soit 7%, 0 au rotavirus et 0 au coronavirus. Ces résultats montrent une diminution de taux du colibacille K99+ à cet âge et un taux élevé de cryptosporidies.

Tableau: 5.22 Fréquence d'isolement des 4 principaux agents pathogènes en fonction de l'âge.

Age	Nombre Total des Pré	Différents agents pathogènes							
		<i>Cryptosporidium</i> sp		E.coli F5 (K99+)		Rotavirus		Coronavirus	
		Positifs	%	Positifs	%	Positifs	%	Positifs	%
< 15 jours	210	24	11	33	15	36	17	20	9
> 15 jours	156	45	28	12	7	0	0	0	0
Total	366	69		45		36		20	

P<0,05

Le tableau 5.23 montre que la présence des 4 agents est relevée aussi bien chez les agneaux diarrhéiques, que chez ceux n'exprimant pas ce signe.

En effet les cryptosporidies sont rencontrées chez 50 agneaux diarrhéiques soit 39 %, contre 19 agneaux non diarrhéiques soit 7 %. Le colibacille K99+ est retrouvé chez 29 agneaux diarrhéiques soit 23 % et sur 16 agneaux non diarrhéiques soit 6 %. Le rotavirus a été isolé chez 27 agneaux diarrhéiques soit 21 % contre 9 agneaux non diarrhéiques soit 3 % ; enfin le coronavirus a été retrouvé chez 15 agneaux diarrhéiques soit 11 % contre 5 agneaux non diarrhéiques soit 2 %.

Tableau 5.23: Répartition des résultats selon le statut clinique des agneaux

Agent entéropathogènes	Résultats				Valeur P
	Agneaux diarrhéiques	%	Agneaux non diarrhéiques	%	
<i>Cryptospridium sp</i>	50	39	19	7	0 S
<i>E. coli</i> K99	29	23	16	6	0,43NS
<i>Rotavirus</i>	27	21	9	3	0,004 S
Coronavirus	15	11	5	2	0 S

p>0,05

5.11.7 Discussion

Notre résultat montre l'existence de tous les germes recherchés qui sont à l'origine de diarrhée : *Cryptospridium sp* 18 %, E-coli 12 %, Rotavirus 9 % et coronavirus 5 % .Ce travail est probablement le premier rapport documenté concernant la prévalence des entéropathogènes chez les agneaux dans différentes régions d'Algérie.

Cryptospridium sp :

Cryptospridium sp était l'agent le plus fréquemment détecté 18 %, suggérant qu'il était la cause la plus fréquente de diarrhée et l'un des agents les plus pathogènes, la prévalence élevée de l'infestation à *Cryptospridium sp* révélée par la présente étude est probablement la première preuve que *Cryptospridium sp.* est un agent causal de la diarrhée chez les agneaux de 0 à 1 mois en Algérie, ce qui est proche de l'étude d'Andres et al [166].

Dans cette étude, le taux d'infestation à *Cryptosporidium* sp détecté (18 %) était inférieur à 54,41% à Jammu [167], mais supérieur à 10,24% en Iran [168].

La prévalence de la cryptosporidiose chez les agneaux diarrhéiques 39 % vs 7 % chez les agneaux non diarrhéiques ($P < 0,0001$), ce qui correspond à l'étude de Irshad et al [167], (54,41 %) des cryptosporidies étaient trouvés chez les agneaux diarrhéiques vs (34,61 %), chez les agneaux non diarrhéiques, ainsi dans l'étude de Panousis et al [169], (55,07 %) des oocystes de *Cryptosporidium* sp étaient excrétés par les agneaux diarrhéiques contre 15,18% chez les agneaux non diarrhéiques.

Cryptosporidium sp a été isolé dans 23 fermes sur 30 ce qui donne une prévalence troupeau de 67,66% loin de 84% trouvé par Causapé et al [140], de 3% en Iran [141], 8% en Italie [170], cependant, notre résultat était proche de 54,1% dans le nord-ouest Espagne [171].

E-coli :

La colibacillose néonatale prend un aspect très contagieux chez les agneaux, et de façon plus importante que chez les veaux [172]. Nos résultats montrent qu'E-coli était trouvé chez 12 %, situant entre 19,2 %, et 9,42 % trouvé par Fernando et al [173] et Malik et al [174] respectivement, mais loin de 26 % trouvé chez les agneaux diarrhéiques en Espagne par [87]. E-coli joue un rôle prédominant au cours de la première semaine de vie [175], la diarrhée la plus sévère était enregistrée chez les agneaux de moins de trois jours touchés par E.coli. King et al [176] a remarqué que la colibacillose concerne aussi les jeunes animaux, avec une gravité extrême lorsqu'elle affecte des agneaux âgés de moins de 48 heures, et était observée chez les agneaux qui ont reçu une quantité insuffisante (ou tardive) de colostrum, notamment chez les agneaux de brebis primipares, en plus Irhan et al, signalent que 25 % des agneaux étaient atteints durant la première semaine par la colibacillose [177].

La prévalence des agneaux diarrhéiques atteints par E-coli était 23 %, supérieure à 12,5 % rapporté par Bhat et al [178] et inférieure à 26,6 % rapporté par Wani et al [179] respectivement.

Rotavirus :

Les agneaux sont sensibles aux différents sérotypes de rotavirus pendant leur première semaine de vie [176]. C'est la cause des véritables épizooties de diarrhées observées en saison d'agnelage.

L'entérite de l'agneau associée à Rotavirus a fait l'objet de nombreuses études, selon Wray et al [180] la fréquence d'infection varie entre 3,1 % et 38 %, la fréquence que nous avons enregistrée était (9 %) s'éloigne de 25% en Inde [181] ,elle était plus élevée que 5,3 % trouvé en Turquie [177], et 2,1% en Espagne [87], elle marque 17 % dans les premières 15 jours, le taux de rotavirus égale 0% à partir de la 2eme quinzaine de vie , ce qui s'oppose avec les résultats de Kaminjolo et al [182], l'antigène du rotavirus n'a pas été détecté chez les agneaux <15 jours, l'insuffisance quantitative et qualitative du colostrum peut être incriminée, d'autant plus que les naissances doubles sont fréquentes chez la brebis [183], selon Chasey et al [184] une bonne immunité lactogénique transférée aux agneaux dans une population où les mères ont des titres d'anticorps sériques élevés, probablement dérivées d'infections asymptomatiques transitoires, aurait pu entraîner une réduction de l'infection à rotavirus chez les agneaux de 1 à 15 jours. Il a été montré que les agneaux sont sensibles à la diarrhée induite par le rotavirus pendant une période plus courte que les veaux, ce qui pourrait contribuer à rendre l'immunité lacto-génique plus efficace. En outre, la prévalence de l'infection diminue avec l'âge et cela peut être due à l'immunité acquise [185].

Dans la présente étude, la prévalence du rotavirus chez les agneaux diarrhéiques était 21 % vs 9 % chez les non diarrhéiques, ce qui a été le cas de Kaminjolo et al[182] qui ont détecté le virus chez 60% des agneaux diarrhéiques, alors que d'autres études ont rapporté une faible prévalence de rétrovirus associés à la diarrhée 12,3 % [186].

Coronavirus :

La prévalence de Coronavirus chez les agneaux âgés de 1 à 15 jours était de 9 %, ce qui est inférieur à 21,4 % déclaré par Irhan et al[177], en outre une étude sur les petits ruminants en Espagne n'a pas détecté de coronavirus chez les

nouveau-nés diarrhéiques [87], selon Ozmen et al[187], il a été rapporté que le coronavirus peut jouer un rôle seul ou associé dans l'étiologie de la diarrhée néonatales des agneaux.

Nous avons trouvé que les agneaux non diarrhéiques mais positifs au coronavirus représentent un taux de 2 % vs 11 % chez les agneaux diarrhéiques, ce que nous laisse penser que certains prélèvements sont effectués sur les animaux en incubation, ou ayant fait une infection larvée. Il est en effet démontré expérimentalement que l'identification du virus en quantité décelable par des techniques sensibles (microscopie électronique, immunofluorescence, test ELISA) précède l'apparition de l'entérite et se poursuit plusieurs jours après la disparition des symptômes [188].

Association :

les études épidémiologiques ont montré que les infections mixtes peuvent être fatales, notamment entre les bactéries et les cryptosporidies [189] et entre les virus et les cryptosporidies [190], ce qui est en accord avec notre résultat, 9 associations entre les Cryptosporidies et E-coli ,Bien qu'en règle générale le colibacille K99+(F5+) agit pendant les premiers jours de la vie alors que les cryptosporidies n'apparaissent que pendant la deuxième semaine, même si le contact avec l'agneau se fait dès la naissance.

Nous avons trouvé 7 associations entre cryptosporidies et rotavirus, selon la majorité des chercheurs, les plus grandes associations sont retrouvées entre le rotavirus et la cryptosporidie [191] et cela est dû à leur tendance à affecter les mêmes tranches d'âges, et leurs résistances dans le milieu extérieur où ils sont pratiquement ubiquistes [192].

Le coronavirus, se place en troisième (5 associations entre cryptosporidies et coronavirus), il touche les agneaux durant la deuxième semaine de vie, et il semble avoir un pouvoir pathogène très important. Il peut aussi agir en association avec les autres germes [193].

5.11.8 Conclusions :

Cette étude semble être la première preuve de la présence des quatre agents pathogènes impliqués dans les diarrhées des agneaux en Algérie, leurs fréquence rejoint dans l'ensemble ce qui a été trouvé dans d'autres pays. D'autres études paraissent nécessaires pour mieux élucider le pouvoir pathogène de ces germes et leurs conditions d'apparition.

5.12. Enquête sur la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immuno-enzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et recherche des éventuelles lésions du à *Cryptosporidium* sp sur des agneaux trouvés mort au moment du prélèvement.

5.12.1. Introduction :

La mise en évidence des oocystes de cryptosporidies dans les matières fécales s'appuie sur des techniques de coloration, la détection de l'infestation cryptosporidienne nécessite habituellement l'observation de l'oocyste, la taille de ce dernier est tellement minime qu'il peut être facilement confondu avec d'autres substances, pour cela plusieurs modifications sont apportées à la coloration de ZN afin d'améliorer la détection *Cryptosporidium* sp dans un échantillon fécal [194]

La coloration de Ziehl-Neelsen Modifiée souvent considérée comme la technique de référence, peut s'accompagner d'un certain faux positif (levures, spores de champignons ou de bactéries, globules gras) bien que la taille des éléments « pseudo-cryptosporidiens » permette théoriquement d'éviter la confusion [195].

L'utilisation des méthodes conventionnelles telles que la concentration de flottation et ZN peut être insatisfaisante pour mettre en évidence la présence des *Cryptosporidium* sp .qui n'est généralement pas observé au cours de l'examen direct en l'absence de colorants particuliers, cependant le test ELISA est utilisé en tant test standard dans les laboratoires cliniques [196].

En Algérie, peu d'études ont évalué des techniques utilisées pour la détection de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins, pour cela le présent travail a pour

but de comparer deux méthodes de détection de *Cryptosporidium* sp. Ziehl-Neelsen modifiée (ZN) et la technique immuno-enzymatique(ELISA) chez les agneaux, ainsi, la recherche des éventuelles lésions intestinales causées par ce parasite chez des agneaux trouvés morts au moment du prélèvement.

5.12.2. Matériel et méthodes

5.12.2.1. Matériel

-Région d'étude : l'étude a été réalisée dans un élevage privé dans la région d'El Azizia (Médéa).

-Collecte des prélèvements : le travail s'est déroulé entre janvier et décembre 2016, dans une ferme privée, les fèces ont été prélevées sur des agneaux âgés de 1 à 30 jours, un total de 390 agneaux acheminés vers le laboratoire de la biotechnologie lié à la reproduction de l'université de Blida 1.

-Kit ELISA : Un kit direct commercial d'ELISA (Bio-x diagnostic, Belgique) a été utilisé pour la détection de l'antigène de *Cryptospridium* sp.

-L'histopathologie :

Les prélèvements de différentes parties de l'intestin (intestin grêle, gros intestin) ont été collectés et ont été fixés par le formol à 10%, %, puis acheminés vers le laboratoire d'histopathologie au niveau de l'université de Yahia Fares. Médéa.

5.12.2.2. Méthodes

5.12.2.2.1. Comparaison des deux Méthodes :

-Recherche des oocystes de *Cryptospridium* sp. : (Voir chapitre précédent).

-Kit ELISA :Un kit direct commercial d'ELISA (Bio-x diagnostic, Belgique) a été utilisé pour la détection de l'antigène de *Cryptospridium* sp. dans les échantillons fécaux. Tous les échantillons ont été examinés selon les instructions du fabricant. La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 450 nm en utilisant le lecteur de micro-plate. La densité optique nette de chaque échantillon a été calculée en soustrayant la valeur de chaque échantillon-bien de la commande négative correspondante.

5.12.2.2. Etude histopathologique des intestins :

Au niveau du labo Les tissus traités à la paraffine, sectionnés en coupes de 4 µm et colorés avec l'hématoxyline, puis l'observation et l'interprétation microscopie. La lecture se fait au microscope optique, au grossissement x400 pour observer le parasite et les lésions associées.

Les analyses statistiques :

Le test de khi-deux et coefficient kappa ont été utilisé pour mesurer la concordance entre la technique de coloration de ZN et l'ELISA. Le test de khi-deux est significatif quand $p < 0.05$ et le coefficient kappa est significatif lorsque la valeur de kappa est proche de 1.

5.12.3. Résultats de comparaison entre deux techniques

Les oocystes de *Cryptosporidium* sp. sont détectés dans 40 prélèvements par les deux méthodes et 305 prélèvements sont négatifs par les deux méthodes. Aussi, 40 prélèvements est considéré comme faux négatif par Ziehl-Neelsen modifié, il est positif par ELISA; 5 prélèvements sont considérés comme faux positifs par Ziehl-Neelsen modifié, avec ces résultats la sensibilité de Ziehl-Neelsen modifié est de (50 %), la spécificité de (98,39 %), la valeur prédictive positive de (88,89 %) et la valeur prédictive négative de (88,41 %).

Tableau 5.24: Comparaison entre ELISA et ZN pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp.

Ziehl-Neelsen modifiée	ELISA		
	Positive	Négative	Total
Positive	40 VP	5 FP	45 (11,53 %)
Négative	40 FN	305 VN	345
Total	80 (20,51 %)	310	390

$\chi^2 = 145,68$ * $P < 0,05$ ** Test Kappa = 0,577

*Différence significative entre les deux tests, ** proche de +1 signifie une concordance absolu.

5.12.4. Résultats de l'étude histopathologique

Les lésions observées sont au niveau de l'intestin grêle, ce sont l'iléum et le jéjunum qui présentent les lésions les plus sévères, il s'agit principalement d'atrophie villositaire, disparition des microvillosités, hypertrophie des cryptes glandulaires, nécrose et infiltration de la lamina propria par des cellules inflammatoires. Au niveau du gros intestin, les cryptosporidies ne sont pas observées que ce soit sur l'épithélium de surface ou dans l'épithélium cryptique.

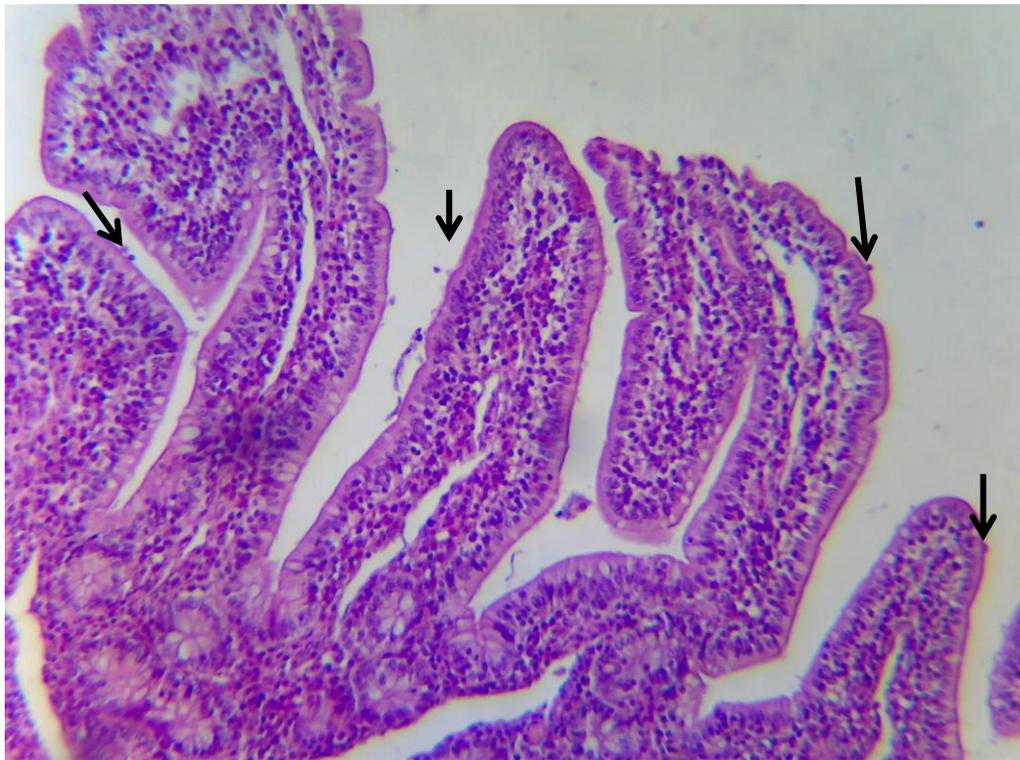


Figure originale 5.16 : Oocyste de *cryptosporidium* sp attachés à la surface épithéliale après coloration par H&E d'une section de l'iléon d'un agneau, grossissementsx400.

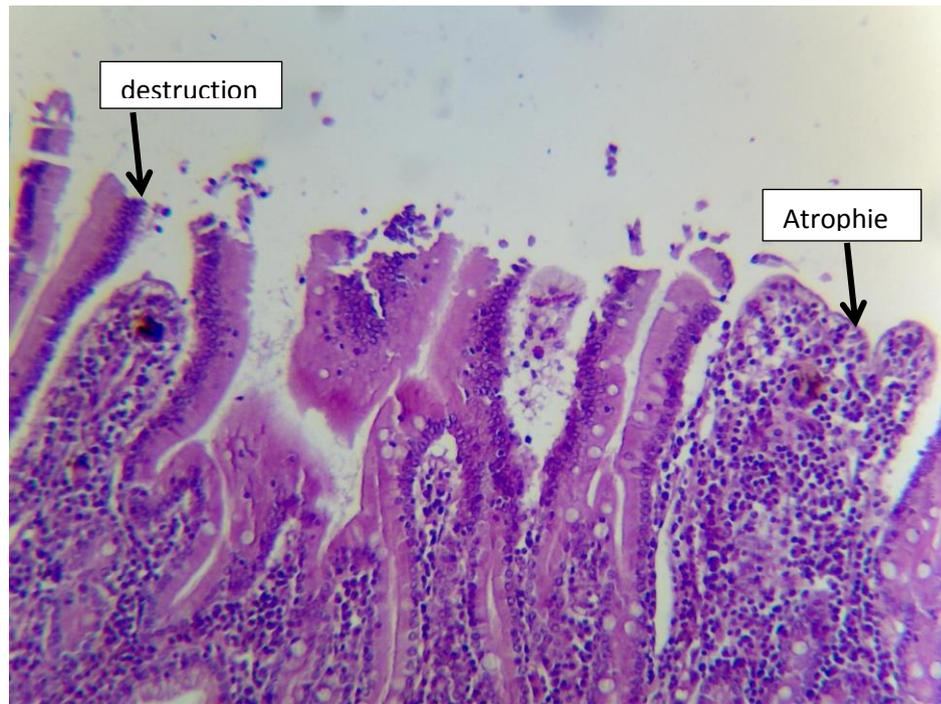


Figure originale. 5.17 : Atrophie, destruction des villosités, , après coloration par H&E d`une section de jéjunum d`un agneau, grossissementsx400

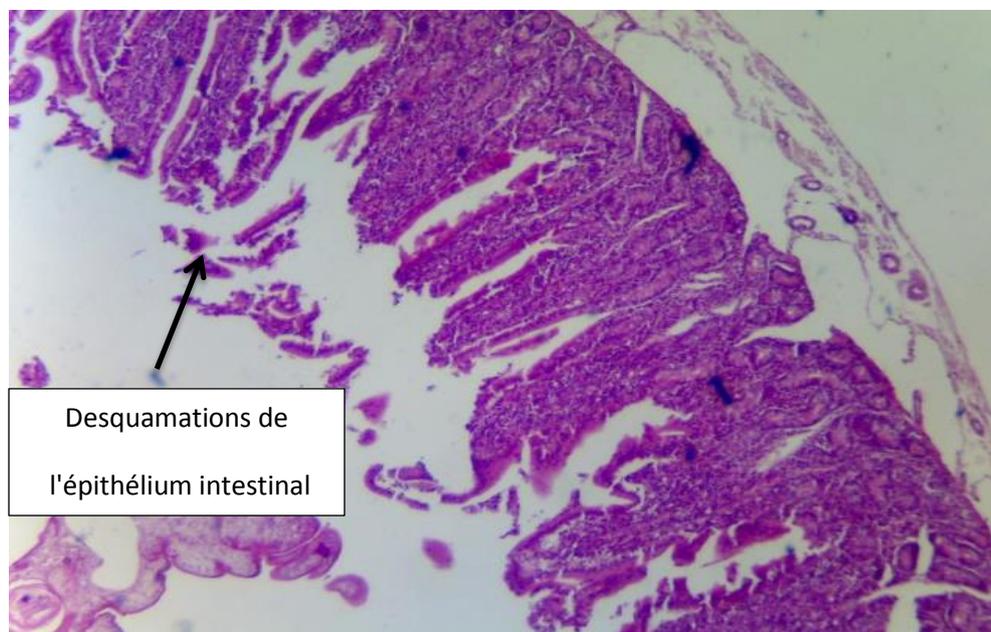


Figure originale 5.18 : infiltration proliférative par des lymphocytes et des macrophages desquamations de l`épithélium intestinale, après coloration par H&E d`une section de jéjunum d`un agneau, grossissementsx400.

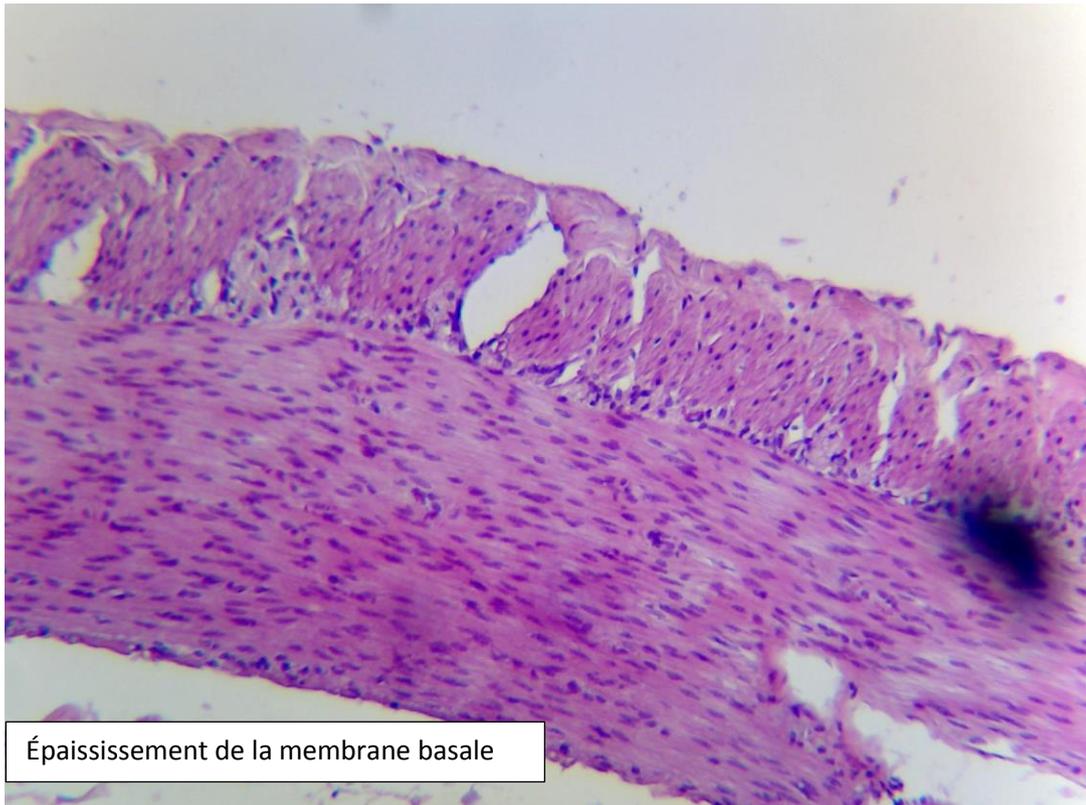


Figure originale 5.19 : Atrophie, destruction des villosités + épaississement de la membrane basale, après coloration par H&E d'une section de l'iléon d'un agneau, grossissementsx400.

5.12.5. Discussion

Dans le présent travail, le diagnostic de *Cryptosporidium* sp. est basé sur la détection des oocystes dans les échantillons fécaux des agneaux dont la tranche d'âge est compris entre 1 à 30 jours par la méthode de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (ZN) et la technique immuno-enzymatique (ELISA). Nos résultats montrent une prévalence de (20,51 %, vs 11,53 %) en utilisant la technique ELISA et la coloration de ZN respectivement, ces résultats sont à peu près proches de ceux rapportés par Sharma et al [197] (19,40% vs 13,40%) en utilisant la technique ELISA et la coloration de ZN respectivement, mais sont loin de celui trouvé par Xioa et al (78,3 %) en utilisant ELISA chez les agneaux âgés entre 2 et 3 semaines [82].

Nos observations sont semblables à celles de Katanika et al et Marks et al qui ont remarqué que la technique de ZN a une sensibilité faible pour la détection de *Cryptosporidium sp.* par rapport la technique ELISA [198] [199], cela peut être probablement dû au fait du non-respect des étapes de concentration au moment du traitement des échantillons fécaux. Elle est également moins sensible lors des excréctions oocystales minimales, d'ailleurs la consistance de la matière fécale joue un rôle important dans la détection des oocystes ce qui est en accord avec Fusya [200] qui mentionne que la prévalence de la cryptosporidiose diminue lorsque la matière fécale est solide formant des particules compactes liées aux oocystes.

Cozon et al [201], ont constaté que la méthode de ZN colore seulement 3 - 13% des oocystes, d'ailleurs Garcia et al [202] ont suggéré que cette technique est au moins dix fois moins sensible que la technique ELISA.

Dans cette étude, la sensibilité et la spécificité de la méthode microscopique ont été testées par rapport à la technique d'Elisa, la méthode microscopique s'est montrée moins efficace pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium sp.* Le test de khi-deux montre qu'il y a une différence significative entre les deux méthodes $P < 0,05$ et le test de Kappa = 0,577 montre une concordance moyenne entre les deux techniques, ce qui n'est pas en accord avec les travaux de Hassan et al [203] qui rapportent que la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée peut diagnostiquer des oocystes de *Cryptosporidium sp.* plus que la technique ELISA. D'autres études ont montré que la capacité d'ELISA à identifier *Cryptosporidium sp.* est réduite dans les échantillons avec de bas nombres des oocystes [204] [205].

La technique de ZN a montré une spécificité et une sensibilité dans la détection des oocystes (98,38 % et 50 %, respectivement). La valeur prédictive positive du ZN est de 88,88 % tandis que la valeur prédictive négative est de 88,41 %

Weber et al, Arrowood et Sterling [196] [206] ont mentionné que la méthode de ZN a une spécificité de seulement 52%. Il est probable que les faux-négatifs et les faux-positifs aient été présents, ce qui rejoint d'autres travaux qui ont trouvé

que la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée était moins spécifique et moins sensible dans la détection des oocystes de *Cryptosporidium sp.*[207][208].

Des défauts de sensibilité, par l'absence de coloration de certains oocystes, ont été également signalés en particulier avec la coloration de Ziehl-Neelsen, en outre, la sensibilité de la technique Elisa pourrait être en rapport avec l'aptitude de l'ELISA à détecter des fragments d'oocystes ce que ne permet pas la technique de coloration [209].

Dans une étude de comparaison entre les techniques de diagnostic de *Cryptosporidium sp.* faite en Afrique du Sud par Omoruyi et al [210] à savoir : la coloration de ZN, l'ELISA et la PCR, les résultats ont montré des pourcentages différents 13 (37.1%; ZN), 26 (74.3%; ELISA) et 23 (65.7%; PCR), respectivement. Ces résultats coïncident avec les notre où la coloration de ZN a montré une efficacité moindre.

La sélection, cible les sujets morts depuis peu de temps. Les animaux morts depuis plus de 6 heures sont rejetés, en raison de l'autolyse cellulaire qui gêne la lecture.

L'observation au microscope optique, nous a permis de préciser les modifications provoquées par le développement parasitaire dans les tissus intestinaux, ce sont l'ilium et le jéjunum qui présentent les lésions les plus sévères [117], ce qui correspond aux lésions qu'on a trouvé et qui s'installe surtout à la portion terminale du jéjunum, ce qui est en accord avec les observations du [114].

On note une atrophie des villosités qui sont abrasées et qui fusionnent plus ou moins entre elle [191], l'épithélium villositaire apparaît fortement modifié, il passe d'un type prismatique haut à un type prismatique bas, voire cuboïde, ce qui témoigne du remplacement des entérocytes atteints par des jeunes entérocytes immatures, les microvillosités sont irrégulières, courtes et éparses sur beaucoup de cellules toutefois, celle qui sont adjacentes au parasites sont fréquemment allongées.

Une hyperplasie des cryptes ou glande de Lieberkuhn est associée à l'atrophie villositaires [121], une infiltration inflammatoire de la lamina propria .les populations cellulaires mobilisées sont constituées de monocytes et de

macrophages, de lymphocytes et de granulocytes éosinophiles .en outre, certains macrophages affluent dans la lumière intestinales.

Au niveau du gros intestin, les cryptosporidies ne sont pas observées que ce soit sur l'épithélium de surface ou dans l'épithélium cryptique .ce qui concorde les travaux de [52] qui ont montré que, la muqueuse du gros intestin n'est pas sévèrement affectée.

5.12.6. Conclusion

La technique d'Elisa a un potentiel spécifique pour le diagnostic de *cryptosporidium* sp en raison de sa grande sensibilité et spécificité et sa facilité d'utilisation comparée à la technique de coloration. D'autres études peuvent être envisagées en utilisant des techniques moléculaires pour mieux connaître l'évolution de la maladie, afin d'établir plus l'impact de cette pathologie sur les troupeaux ovins.

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce travail, nous avons voulu déterminer la prévalence de *Cryptosporidium* sp. chez les ovins et la relation avec certains facteurs, et une éventuelle association avec *Giardia* sp et *Eimeria* sp chez les agneaux de 1 à 6 mois, en plus la prévalence des 4 principaux agents pathogènes *Cryptosporidium* sp, E-coli, Rotavirus, Coronavirus responsables de la diarrhée en fonction du statut clinique et l'âge des agneaux, et enfin, la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. dans les fèces des agneaux par deux méthodes: Immunoenzymatique (ELISA) et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Notre étude a été menée dans différentes régions du centre d'Algérie. Nous avons obtenu les résultats suivants:

Sur les 62 troupeaux étudiés, quarante troupeaux ont fourni un résultat positif au dépistage de *Cryptosporidium* sp. soit une prévalence troupeau de 84 % [IC₉₅ % 75 % - 93 %], et une prévalence individuelle globale de 12,4 %.

Plusieurs facteurs qui prédisposent à l'apparition de l'infestation cryptosporidienne sont liés essentiellement à l'hygiène et l'immunité passive des agneaux nouveaux nés d'une part et l'intervention des trois types d'entéropathogènes (virale, bactérienne et parasitaire) d'autre part.

Les cryptosporidies marquent la prévalence la plus élevée suivies de *Giardia* et *Eimeria* à des taux différents, les cryptosporidies sont isolés pendant les deux premières semaines de vie, alors que *Giardia* et *Eimeria* infestent les agneaux les plus âgés, d'où apparait l'importance de l'âge comme facteur prédisposant à l'infestation.

Le test ELISA direct nous a confirmé qu'E.Coli F5, *Rotavirus*, et *C. spp* sont les principaux agents entéropathogènes impliqués dans la diarrhée des agneaux moins d'un mois d'âge, ils, sont plus retrouvés isolés qu'associés à des prévalences différentes, leurs prévalence a été plus importante chez les agneaux diarrhéiques, *Rotavirus* et E-coli sont plus fréquemment détectés chez les agneaux pendant la première quinzaine de vie, pour *cryptosporidium* sp, il a été détecté surtout durant

la deuxième quinzaine de vie .En outre aucune infection n'a été détectée pour rotavirus et coronavirus, dans cette période

La méthode microscopique s'est montrée moins efficace pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium* sp. le test de khi-deux montre qu'il y a une différence significative entre les deux méthodes $P < 0,05$ et le test de Kappa = 0,577 montre une concordance moyenne entre les deux techniques.

Enfin, d'autres études peuvent être envisagées en utilisant des techniques moléculaires pour mieux connaître l'évolution de la cryptosporidiose , afin d'établir plus l'impact de cette pathologie sur les troupeaux ovins, en identifiant des espèces et sous espèces de *Cryptosporidium* sp parasitant les agneaux provenant de différentes régions de l'Algérie, et faire des recommandations pour limiter la survenue de cette parasitoses opportuniste.

RECOMMANDATIONS

A l'issu de notre étude et suite aux résultats que nous avons obtenu, nous apportons les recommandations suivantes pour réduire le risque de la cryptosporidiose et les autres agents pathogènes pour améliorer le bien-être et la résistance des agneaux aux diarrhées néonatales:

- Désinfecter le cordon ombilical dès la naissance et faire attention à l'hygiène de la litière, en évitant les espaces trop confinés avec l'emploi d'asséchants
- Assurer que les agneaux reçoivent un colostrum de qualité et quantité suffisante après la naissance, l'apport colostrale doit être suivie d'une alimentation équilibrée de qualité.
- Les brebis gestantes doivent recevoir une bonne alimentation équilibrée, notamment en fin de gestation et pendent la période d'allaitement.
- Vacciner les brebis en période pré-agnelage, et mettre en œuvre un plan de prophylaxie à la fois sanitaire et médicale adapté.
- Faire des enquêtes épidémiologiques avec plusieurs enquêteurs à travers des zones des productions pour réaliser des cartes épidémiologiques sur les zones les plus touchées par cette entité pathologique.

- Rapprocher les laboratoires des zones de productions, notamment les laboratoires de biologie moléculaire afin de connaitre les espèces des agents pathogènes qui circulent dans les troupeaux ovins de différentes régions de l'Algérie.
- Enfin sur le plan pratique, une sensibilisation des éleveurs quant à l'importance de cette entité pathologique est nécessaire.

ANNEXE : A

LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

C :	<i>Cryptosporidium</i> .
C°	Degré Celsius.
E.coli :	<i>Escherichia coli</i> .
E.coli K99 :	<i>Escherichia coli</i> de type K99.
ELISA:	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.
Ig :	Immunoglobuline.
IL :	Interleukine.
IL2	Interleukine2.
IL4	Interleukine 4.
Nbr :	Nombre.
N.S.D :	Nombre des selles diarrhéiques.
N.S.N.D	Nombre des selles non diarrhéiques.
S.D	Selle diarrhéiques.
S.D+	Selles diarrhéiques positive
S.N.D+	Selles non diarrhéiques positive.
P	Probabilité.
<	Inférieur.
>	Supérieur.
CMH1	COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE 1.
CMH2	COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE 2.

ANNEXE: B
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA -1
Département des sciences vétérinaires

Ce questionnaire s'inscrit dans le cadre de la préparation d'une thèse de doctorat sur les diarrhées néonatales des agneaux.

Par : Dr Dahmani Hichem

1-Vous exercez dans la wilaya de :

2-Parmi les pathologies néonatales de l'agneau; classez par ordre de fréquence de 0 à 5 (de la moins fréquente a la plus fréquente).

Affection respiratoire	<input type="checkbox"/>	Arthrite	<input type="checkbox"/>
Diarrhées néonatales	<input type="checkbox"/>	Omphalite	<input type="checkbox"/>

Autre.....

3-Selon vos constatations sur les agneaux de 1 à 60 jours : les diarrhées sont :

Fréquentes	<input type="checkbox"/>	peu fréquentes	<input type="checkbox"/>
Sporadiques	<input type="checkbox"/>		

Autre.....

4-Les diarrhées néonatales sont plus fréquentes chez les agneaux âgés de :

1 à 7 jours	<input type="checkbox"/>	7 à 15 jours	<input type="checkbox"/>
15 à 30 jours	<input type="checkbox"/>		

Autre.....

6-Durant quelle saison constatez-vous que la diarrhée néonatale est élevée :

Eté	<input type="checkbox"/>	Hiver	<input type="checkbox"/>
Printemps	<input type="checkbox"/>	Automne	<input type="checkbox"/>

7-La mort de l'agneau est constatée lorsque la déshydratation est :

Légère	<input type="checkbox"/>	Moyenne	<input type="checkbox"/>
Marquée	<input type="checkbox"/>		

8-Hygiènes des bergeries (zriba):

Propre

Moyenne

Mauvaise

9- Type d'élevage :

Intensif

Extensif

10-Cette pathologie survient le plus souvent chez les agneaux issus de :

Brebis vaccinées

Brebis non déparasitées

Brebis non vaccinées

Brebis déparasitées

11-Le troupeau reçoit un concentré : Oui

Non

Son

Mais

Orge

Mélange de.....

Autre.....

12-Durant votre carrière avez-vous recours régulièrement au diagnostic de laboratoire :

Fréquemment

quelque fois

Rarement

Jamais

13- Le traitement que vous préconisez le plus souvent est :

Réhydratant

Antibiotiques

Sulfamides

Autre.....

14-De quelle façon peut-on prévenir cette pathologie :

..... ;
.....

ANNEXE:C

Les étapes de la technique de teste ELISA :



1-Préparation des prélèvements



2-Pré-dilution avec l'eau



3-Dilution avec solution tampon (Buffer solution) 0,5 ml d'échantillon + 0,5 ml de diluent.



4-Remplissage des échantillons dilués dans des Eppendorf.



5-Remplissages des cupules de microplaque par les échantillons fécaux dilués.



6-Couvrir la plaque et incuber dans 21+-3C° pendant 1h.



7-Lavage avec laveur.



8-Ajouter les conjugués.



9-couvrir la plaque et incuber dans $21\pm 3^{\circ}$ pendant 60 minutes.



10-laver la plaque 3 fois avec la Solution de lavage.



11-Ajouter le substrat.



12-Ajouter la solution d'arrêt



13-lecture dans spectrophotomètre à DO450-640.



14- Les cas positifs.

ANNEXE : D

TRAITEMENT DES DONNEES DU QUESTIONNAIRE

Question n° 1 : Vous exercez dans la wilaya de :

Les réponses obtenues sont présentées dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Différentes Wilayas à partir desquels nous avons obtenu des réponses.

Région	Centre
Wilayas	Médéa Bouira Tipaza Alger M'sila Ain Defla Boumerdas El Djelfa

Question n°2 : classez par ordre de fréquence les pathologies néonatales de l'agneau :

Tableau 1.2 : Fréquence des pathologies néonatales de l'agneau sur le terrain.

Fréquence de l'infection néonatale de l'agneau	Nombre de réponses	pourcentage
Diarrhée néonatale	41	34,74
Infection respiratoire	39	33,05
Omphalite	19	16,10
Polyarthrite	12	10,16
Autres	7	5,93

Question n°3 : Les diarrhées chez les agneaux de 1 à 60 jours sont :

Tableau 1.3 : Fréquence de diarrhées néonatales sur terrain.

Fréquence de diarrhée néonatale au terrain	Nombre de réponses	pourcentage
Fréquente	65	55,08
Peu fréquente	30	25,42
Sporadique	23	19,49

Question n°4 : Les diarrhées néonatales sont plus fréquentes chez les agneaux âgés de :

Tableau 1.4 : Fréquence des diarrhées selon l'âge de l'agneau.

Fréquence de diarrhée en fonction de l'âge	Nombre de réponses	pourcentage
1à7 jours	34	28,81
7à15jours	50	42,37
15à30jours	12	10,16
Autres	22	18,64

Question n°5 : Durant quelle saison constatez-vous que la diarrhée néonatale est élevée :

Tableau 1.5 : Fréquence des diarrhées selon la saison.

Fréquence de diarrhée en fonction de saison	Nombre de réponses	pourcentage
Hiver	25	21,18
Printemps	16	13,55
Eté	4	3,38
Automne	14	11,86
Hiver+printemps	23	19,46
Hiver+automne	14	11,86
Eté+automne	12	10,16
Printemps+automne	8	6,77
Eté+hiver	2	1,69

Question n° 6 : La mort de l'agneau est constatée lorsque la déshydratation est :

Tableau 1.6. Fréquence de déshydratation lorsque l'agneau est mort.

La déshydratation	Nombre de réponses	pourcentage
Légère	8	6,77
Moyenne	26	22,05
Marquée	84	71,18

Question n° 7 : Hygiène des bergeries :

Tableau 1.7 : Fréquence des diarrhées selon l'hygiène des bergeries.

Hygiène des bergeries	Nombre de réponses	pourcentage
Propre	0	0
Mauvaise	79	66,94
Moyenne	39	33,05

Question n° 8 : Type d'élevage :

Tableau 1.8. Fréquence des diarrhées selon le type d'élevage.

type d'élevage	Nombre de réponses	pourcentage
Extensif	73	61,86
Intensif	45	37,28

Question n° 9 : Cette pathologie survient le plus souvent chez les agneaux issus:

Tableau 1.9 : Fréquence des diarrhées selon les agneaux issus de brebis vaccinée contre l'entérotoxémie ou non.

Les agneaux issus	Nombre de réponses	Pourcentage
Brebis vaccinée contre l'entérotoxémie	6	5,08
Brebis non vaccinée contre l'entérotoxémie	112	94,91

Question n° 10 : Le troupeau reçoit un concentré :

Tableau 1.10 : Fréquence des diarrhées selon que le troupeau reçoit un concentré.

Le troupeau reçoit un concentré	Nombre de réponses	pourcentage
son+mais	35	29,66%
mais seul	26	22,03%
son seul	22	18,64%
orge seul	16	13,55%

son+orge	12	10,16%
son+orge+mais	7	5,93%

Question n° 11 : avez-vous régulièrement recours au diagnostic de laboratoire :

Tableau 1.11 : Répartition des réponses selon que le vétérinaire fait le recours au laboratoire ou non.

Recours au laboratoire	Nombre de réponses	pourcentage
Fréquemment	12	10,16
Jamais	106	89,83
Quelque fois	0	0
Rarement	0	0

Question n° 12 : Le traitement que vous préconisez le plus souvent est :

Tableau 1.12 : Répartition des réponses selon que le vétérinaire préconise le traitement.

Le traitement	Nombre de réponses	pourcentage
Réhydratant+sulfamide	63	53,38
Réhydratant+sulfamide+antibiotique	37	31,35
Réhydratant+antibiotique	18	15,25

REFERENCES

1. Ministère de l'agriculture et du développement rural, «L'agriculture dans l'économie nationale, rapport général», MADR, Alger. (2005).
2. Plan d'Action et Stratégie Nationale sur la Biodiversité, Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture, Rapport de synthèse (tome IX). FEM/PNUD : projet ALG/ 97/G31 (2003).
3. Daix M., «Principales maladies néonatales des agneaux. Filière Ovine et Caprine » N°19. (2007).
4. Thompson R.C.A., Olson M.E., Zhu G., Enomoto S., Abrahamsen M.S., Hijjawi N.S., «Cryptosporidium and Cryptosporidiosis. Advances in Parasitology, » (2005). 59, 77–158
5. Daignault A., Bourassa R., Moreau J., » Diarrhée infectieuse chez l'agneau. » (2009).
6. Fayer R., Ungar B. L.P.,(1986).«*Cryptosporidium spp.* And cryptosporidiosis » . Microbiol. Rev. 50, 4: 458-483.
7. Akam A., Khelef D., Kaidi D., Abdulhussain Maria S, Şuteu E, Cozma V, «Epidémiologie de la cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie». Sci. Parasitol.,2002, 2, 22-27.
8. Khelef D., Saïb M.Z., Akam A., Kaidi R., Chirila V., Cozma V., Adjou K.T, «Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les bovins en Algérie ». Rev. Méd.vét., 2007, 158 (5), 260-264.
9. Ouchene N.,Ouchene-Khelifi N.A.,Khelifi M.,Zeroual F.,Bitam I.,Benakhla A.,Kaidi R.,Abu-Median A. «Prevalence and Molecular Characterization of Cryptosporidium in Dairy Cattle from Farms in Algeria». Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 2016, 22 (5), 703-707.
10. Tyzzer, E.E., «A sporozoan found in the peptic gland of the common mouse» Proc Soc Exp Biol Med, (1907), 5, 12.
11. Tyzzer, E.E., «An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris*» (ge.et sp.nov.) of the gastric gland of the common mouse.J Med Res, (1910), 23, 487.509.
12. Ripert, C., Guyot, K., «Cryptosporidiose. In Epidémiologie des maladies parasitaires» Vol. 3, pp, (2003) ,269.297. Edition Médicales Internationales.
13. Pohlenz, J., Bemrick, W.J., Moon, H.W., Cheville, N.F., «Bovine cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and of the host.parasite relationship» Vet pathol,(1978),15, 417.427.
14. Panciera, R.J., W., T.R., «Cryptosporidial infection in a calf». Vet Pathol ,(1971),8, 479.
15. Nime, F.A., Burke, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A., Yardley, J.H.«Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology» ,(1976), 70, 592.598.
16. Barker IK.,Carbonell P.L. «*Cryptosporidium agni* sp. n. from lambs, and *Cryptosporidium bovis* sp. n. from a calf, with observations on the oocyst». Parasitol. Res. (1974), 44 (4), 289–298.
17. Barr, S.C.jamrosz ,G.F. ; hornbuckle W.E. ; bowman D.D. ; fayer R. «Use of paromomycin for treatment of cryptosporidiosis in a cat». Journal of the American Veterinary Medical Association, (1994), 205 (12). 1742.1743.

18. Bedouet. J. «Diarrhées néonatales : souvent une association de malfaiteurs». La Revue de l'Éleveur Laitier, (1995), n° 19. 36.
19. Blewett, D.A. «Quantitative techniques in *Cryptosporidium* research. In: Cryptosporidiosis. Proceedings of the First International Workshop. Editors»: Angus K.W. and Blewett D.A., Edinburgh, UK, (1989), 84.95.
20. Meisel, J.L., Perera, D.R., Meligro, C., Rubin, C.E., «Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immune suppressed patient. Gastroenterology», (1976), 70, 1156.1160
21. Levine, N.D., «Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium*» (Protozoa, Apicomplexa). Journal of Protozoology, (1984), 31 (1).94.98.
22. Naciri, M. ; Iacroy S. ; Laurent F. «La cryptosporidiose des ruminants» (1ère partie). L'Action Veterinaire, (2000), n° 1536. 17.23.
23. Azzam. Bouчек. Z. «premiers cas de *Cryptosporidiose* humaine rapportés en Algérie. Bulletin Société de pathologie exotique.», (1992), Tome 85, n 2, PP.170.
24. Taxonomicon 2008. www.taxonomy.nl/taxonomicon Templeton, T.J., Iyer, L.M., Anantharaman, V., Enomoto, S., Abrahamte, J.E., Subramanian, G.M., Hoffman, S.L., Abrahamsen, M.S., Aravind, L., a«Comparative analysis of apicomplexa and genomic diversity in eukaryotes.» Genome Res, (2004),14, 1686.1695.
25. Barta, J.R., Thompson, R.C., «What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. Trends Parasitol ,(2006), 22, 463.468.
26. Xiao, L., R. Fayer, U. Ryan, and S. J. Upton. «Cryptosporidium taxonomy: recent advances and implications for public health». Clin Microbiol Rev ,(2004), 17:72.97
27. Chalmers, R.M., Katzer, F. Looking for Cryptosporidium: the application of advances in detection and diagnosis. Trends Parasitol.(2013).29, 237–251.
28. Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R., Blagburn, B.L. «*Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle», Bostaurus. J Eukaryot Microbiol ,(2000), 47, 91.95.
29. Current, W.L., Reese, N.C., «A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. » J Protozool ,(1986), 1933, 98.108.
30. Fayer, R., Santin, M., Xiao, L., *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (Bostaurus). J ,(2005), 2 91, 624.629.
31. Fayer, R., Trout, J.M., Xiao, L., Morgan, U.M., Lai, A.A., Dubey, J.P., «*Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs». J Parasitol ,(2001), 87, 1415.1422.
32. Ryan, U.M., Xiao, L., Read, C., Sulaiman, I.M., Monis, P., Lal, A.A., Fayer, R., Pavlasek, I., «A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek», 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. J Parasitol ,(2003), 89, 809.813.
33. Ryan, U.M., Power, M., Xiao, L., «*Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from the Red Kangaroo (Macropus rufus). J Eukaryot Microbiol , (2008), 55, 22.26.
34. Iseki, M. «*Cryptosporidium felis* sp. n. (Protozoa: Eimeriorina) from the domestic cat.» Jpn. J. Parasitol. , (1979), 28, 285 .307.
35. Jirku, M., Valigurova, A., Koudela, B., Krizek, J., Modry, D., Slapeta, J., «New species of *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa) from amphibian host: morphology, biology and phylogeny». Folia Parasitol (Praha) ,(2008), 55, 81.94.

36. Morgan. Ryan, U. M., A. Fall, L. A. Ward, N. Hijawi, I. Sulaiman, R. Fayer, R. C. Thompson, M. Olson, A. Lal, and L. Xiao. «*Cryptosporidium hominis* n. sp». (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) from *Homo sapiens*. J Eukaryot Microbiol ,(2002),49:433.440.
37. Power, M., Ryan, U., (2008),«*Cryptosporidium macropodum* n.sp (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) from eastern grey kangaroos *Macropus giganteus*». J Parasitol,1.
38. Alvarez. Pellitero, P., Quiroga, M.I., Sitja.Bobadilla, A., Redondo, M.J., Palenzuela, O., Padros, F., Vazquez, S., Nieto, J.M., 2004. «*Cryptosporidium scophthalmi* n. sp. (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) from cultured turbot *Scophthalmus maximus*. Light and electron microscope description and histopathological study». Dis Aquat Organ,(2004), 62, 133.145.
39. Hoover, D.M., Hoerr, F.J., Carlton, W.W., Hinsman, E.J., Ferguson, H.W., «Enteric cryptosporidiosis in a nasotang, *Nasulitatus Bloch Schneider*. J. Fish » ,Dis ,(1981), 4, 425.428.
40. Tyzzer, E.E.,«*Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse», Arch Protisten kd (1912) 26.
41. Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M., «*Cryptosporidium ryanae* n. Sp. (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) in cattle (*Bostaurus*)». Vet Parasitol. ,(2008).
42. Koudela, B., Modry, D., Vitovec, J., «Infectivity of *Cryptosporidium muris* isolated from cattle», Vet Parasitol ,(1988), 76, 181.188.
43. Levine, N.D., «Some corrections of coccidian (Apicomplexa: *Protozoa*) nomenclature» J Parasitol, (1980), 66, 830.834.
44. Ryan, U.M., Monis, P., Enemark, H.L., Sulaiman, I., Samarasinghe, B., Read, C., Buddle, R., Robertson, I., Zhou, L., Thompson, R.C., Xiao, L., «*Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) in pigs» (*Sus scrofa*). J Parasitol ,(2004), 90, 769. 773.
45. Alvarez-Pellitero, P., Sitja. Bobadilla, A., «*Cryptosporidium molnari* n. sp.(Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) infecting two marine fish species», *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. Int J Parasitol ,(2002), 32, 1007.1021.
46. Vetterling, J.M., Jervis, H.R., Merrill, T.G., Sprinz, H., «*Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus». J Protozool, (1971), 18, 243. 247.
47. Slavin, D., «*Cryptosporidium meleagridis*». J Comp Pathol. , (1955), 65, 262.266.
48. Tzipori, s., Griffiths, J.K., «natural history and biology of *cryptosporidium parvum*. Advances in parasitology », (1998), 40,151.85.
49. Chartier, C. ; mallereau M.P. ; lenfant D., «Efficacité du lactate d'halofuginone dans la prévention de la cryptosporidiose chez le Chevreau nouveau.né», Revue de Médecine Vétérinaire, (1999), 150 (4). 341.348.
50. Benbow, J.W.; bernberg E.L.; korda A. ; mead J.R. «Synthesis and evaluation of dinitroanilines for treatment of cryptosporidiosis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy» ,(1998), 42 (2).339.343.
51. Chermette, R. ; boufassa.ouzrout S. Cryptosporidiose : «une maladie animale et humaine cosmopolite», Série technique n° 5, 2ème édition. Edité par l'Office International des Epizooties, Paris, (1988), 127 pages, 527 références
52. Argenzio, R.A., liacos J.A., levy M.L., meuten D.J., lenne J.G.,powell D.W.«Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired

- glucose. Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology*, (1990), 98 (5). 1129.1140.
53. Pergent, P.B. «Lutte contre les cryptosporidioses : approche thérapeutique – application chez le Veau», Th. Méd. Vét. : Alfort : ,(1988) , 39.
 54. Petry, F., harris J.R. «Ultrastructure, fractionation and biochemic alanalysis of *Cryptosporidium parvum* sporozoïtes», *International Journal for Parasitology*, (1999), 29 (8). 1249.1260.
 55. Euzéby, J., «Caractères généraux des Apicomplexa. In : Protozoologie médicale comparée», volume II. Edité par la Fondation Marcel Mérieux, Lyon, (1987), 84.100.
 56. Laboratoire hoechst roussel vet (document) ., «Halocur, l'innovation dans la prévention de la diarrhée à *Cryptosporidium parvum*», Hoechst Roussel Vets. A, 102 route de Noisy 93 230 Romainville Cedex. Document édité en, (janvier 2000).
 57. Muriel Naciri INRA «station de pathologie avarie et de parasitologie», 37380 Nouzilly (1992) ,5 (5) ,319.327 .
 58. O'donoghue, P.J., «*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals». *International Journal for Parasitology*, (1995), 25 (2). 139. 195.
 59. Brasseur, P., «Waterborne *cryptosporidiosis*: a major environmental risk». *J. Euk. Microbiol.*, (1997), 44 (6). 67S. 68S.
 60. Harp, J.A.; Goff J.P., «Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves», *Journal of Dairy Science*, (1998), 81 (1).289.294.
 61. Peeters, J. ; villacorta I., «*Cryptosporidium*. In: Guidelines on techniques in coccidiosis research», Editors : Eckert J. , Braun R. , Shirley M.W. , Couder P. , Biotechnology COST 89/820, Report EUR 16 602 EN, European Commission, Brussels, (1995). 202.240.
 62. Freire.Santos F., Oteiza.Lopez A.M., Vergara.Castiblanco C.A., Ares.Mazas E., «Study of the combined influence of environmental factors on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water evaluated by fluorogenic vital dyes and excystation techniques». *Veterinary Parasitology*, (2000), 89. 253.259.
 63. Robertson, L.J.,CampbellA.T.,Smith H.V. «survival of *cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures Appl». *Environ microbial*, ,(1992),58,11, 3494. 3500.
 64. Dworkin, M.S.; Goldman D.P.; Wells T.G. ; Kobayashi J.M. ; Herwaldt B.L., «Cryptosporidiosis In Washington State , An Outbreak associated with well water», *The Journal of Infectious Diseases*, (1996), 174. 1372.1376.
 65. Morin Raphael, (2002). «Lutte contre l'infection à *cryptosporidium parvum* : application à la cryptosporidiose bovine» .
 66. Deng, M.Q et Cliver D.O. «*Cryptosporidium parvum* studies with dairy products » *Int J Foud Microbiol* ,46 ,2,(1999),113-121.
 67. Chartier, C., «La cryptosporidiose des petits ruminants, Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine», (2002a), 118.12
 68. Paoliti, A., «données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à l'homme». ENV de Toulouse (2002).
 69. «Office internationales des Epizooties », (2008), d'organisation mondiale de la santé animale,. Archive de la publication annuelles (santé animale mondiale).
 70. Castro,Hermida., J.A., Delafosse A., Pors I., Ares.Mazas E., Chartier C., «*Giardia Duodenalis* And *Cryptosporidium Parvum* Infections In Adult Goats And Their Implications For Neonatal Kids», *Veterinary record*,(2005), 157.

71. Richard, L.G., Siefker C, Boyl C, R et Gentez E.G., «the prevalence of *Cryptosporidium* sp and *Giardia* sp in feaca samples from free-rannig whail-tailed deer *Odocoileus Virginianus* in the southeastern united states», *J.vet diagn invest*, 11, (1991), 65-72.
72. Chartier, C., *La cryptosporidiose du Chevreau. Réussir la Chèvre*, (2000), n° 236. 31.32.
73. Afssa., 2002 «rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp».
74. Chartier, C., «La coccidiose des petits ruminants, Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine», (2002b) , 112.117.
75. Euzéby, J. «cryptosporidiose, protozoologie médicale comparée», volume II .fondation Marcel Mérieux, Lyon (1987) b.307.324.
76. De Graaf, D.C., Vanopden bosch, E., Ortega. Mora, L.M., Abbassi, H., Peeters, J.E., «A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals» .*Int J Parasitol* 29,(1999), 1269.1287.
77. appréciation des conséquences de la vaccination de la brebis contre l'entérotoxémie sur l'immunité humorale chez l'agneau». Laboratoire de Physiologie Animale, Département de médecine vétérinaire Facultés Universitaires Notre. Dame de la Paix à Namur (Belgique) (2007).
78. Levieux, D., «Transmission de l'immunité colostrale chez le veau». *Bull. technique. C.R.Z.V.Theix. I.N.R.A*, 1980 (41) 39.47. «Les gastroentérites diarrhéiques des veaux», compte de rendu de la journée d'information du (26 février 1982).
79. Moore, D.A., Atwill E.R., Kirk J.H., Brahmbhatt D., Alonso L.H., Hou L., Singer M.D., Miller T.D., «Prophylactic Use Of Decoquinat For Infections With *Cryptosporidium Parvum* In Experimentally Challenged Neonatal calve», *Journal of the American Veterinary Medical Association*, (2003), 223, 839.845.
80. Sagodira, S., Buzoni-Gatel D., lochmann S., Naciri M., Bout D., «Protection of kids against *C. parvum* infection after immunization of dams with CP15-DNA, Vaccine», (1999), 17, 2346-2355.
81. Summary of notifiable diseases in united states, *MMWR: Morb Mortal WKLY rep*, (1999), 47 (53).
82. Xiao L, Herd RP, Rings DM. «Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluencence assays». *Vet Parasitol*, (1993), 47:17.23.
83. Ortega. Mora LM, Wright SE. «Age. related resistance in ovine cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response». *Infect Immun* ,(1994), 62:5003.9.
84. Xiao L, Herd RP, Mc Clure KE. «Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs». *J Parasitol*, (1994), 80:55-9.
85. Bukhari Z, Smith HV. «*Cryptosporidium parvum*: oocyst excretion and viability patterns in experimentally infected lambs». *Epidemiol Infect* (1997); 119:105-8.
86. Blewett DA, Wright SE, Casemore DP, Booth NZ, Jones CE., «Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs». *Wat Sci Tech*, (1993), 27:61.4.
87. Munoz-Fernandez M, Alvarez M, Lanza I, Carmenes P. «Role of enteric pathogens in the aethiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain». *Epidemiol Infect* ,(1996); 117:203.11.

88. Chartier, C., «Epidémiologie et contrôle de la cryptosporidiose chez le Veau», Société Française de Buiatrie, Paris, (20, 21 et 22 octobre 1999),181.190.
89. Molina J.M., Rodriguez.Ponce E., Ferrer O., Gutierrez A.C., Hernandez S., «Biopathological Data Of Goat Kids With Cryptosporidiosis», The Veterinary Record, (1994), 135 (3), 67.68.
90. Xiao L. «Giardia infection in farm animals», Parasitol Today ,(1994),10:436.8.
91. Blanco, J, Cid D, Blanco JE, Ruiz. Santa. Quiteria JA, de la Fuente R. «Serogroups, toxins and antibiotic resistance of Escherichia coli strains isolated from diarrhoeic lambs in Spain». Vet Microbiol ,(1996),49:209.17.
92. Radostis, O., Gay C., Blood D., Hinchcliff K., «Cryptosporidiosis», Veterinary Medicine 9 Th Ed. (2000), 1310.1313.
93. Maes.P : "Etiologie des diarrhées néonatales chez le veau et transfert colostrale, Enquête dans la Creuse". Thèse pour le doctorat vét. ENV-Alfort 2010.
94. Poncelet JL. «Les colibacilloses ovines. Journées nationales des GTV»30 mai-1er juin 2001:281-282.
95. Wani S.A., Bhat M.A, Samanta I., Ishaq S.M., Ashrafi M.A., Buchh A.S.« Epidemiology of diarrhoea caused by rotavirus and Escherichia coli in lambs in Kashmir valley, India». Small Ruminant Research 52 (2004) 145–153.
96. Martella V., Decaro N., Buonavoglia C., « Enteric viral infections in lambs or kids». (2015).08.006.
97. Steele A.D., Geyer A., Gerdes G.H. «Rotavirus infections. In. Coetzer J.A.W., Tustin R.C. (eds), Infectious diseases of Livestock», Oxford University Press, Southern Africa, (2004). 1256-1264.
98. Williamson L. (2002). «Young Ruminant Diarrhea».
99. Cark. M.A., "Bovine coronavirus". Brit. Vet. J.(1993), 149, 51-70.
100. Fichou E. "Enquête de terrain sur l'étiologie microbienne de diarrhées néonatales de veaux et sur la sensibilité aux anti-infectieux des colibacilles isolés" Thèse Méd. Vét., Nantes, (2003), n°92, 104p.
101. Alzieu, J.P., Chauvin, A. « Le rôle de l'eau dans l'infestation par Cryptosporidium sp et Giardia sp. Journées Nationales,» GTV(2004) . Tours : 703-708.
102. Mc Allister M. M. « Protozoosis of the calf.«Giardia, Cryptosporidium, Eimeria, Sarcocystis, Neospora. World Buiatrics», Congress, Nice. Proceedings .(2006).pp 337-345.
103. Chermette R. « Protozooses digestives et anguillulose des bovins». Journée technique GTV Bourgogne .Proceedings. (2003).11-20.
104. Pitel, P.H., Legoupil, V., Graftiaux, F., Gargala, G., Ballet, J.J., Favennec, L. « Diarrhées parasitaires des bovins - Giardiose : une cause émergente d'entérite néonatale en France». Le Point Vétérinaire (Août-Sept.2003); 238: 12-13.

105. Gregory M. W., Catchpole J. «Ovine coccidiosis: the pathology of *Eimeria crandallis* infection». *Int J Parasitol.* (1990).20:849-860.
106. Kusiluka L., Kambarage D. Diseases of small ruminants in sub-saharan Africa. *Vetaid.*(1996). p 110.
107. Riggs, M.W., Stone, A.L., Yount, P.A., Langer, R.C., Arrowood, M.J., Bentley, D.L., «Protective monoclonal antibody defines a circum sporozoite. like glycoprotein exoantigen of *Cryptosporidium parvum* sporozoites and merozoites», *J Immunol* ,(1997),158, 1787.1795.
108. Barnes, D.A., Bonnin, A., Huang, J.X., Gousset, L., Wu, J., Gut, J., Doyle, P., Dubremetz, J.F., Ward, H., Petersen, C., «A novel multi. domain mucin. like glycoprotein of *Cryptosporidium parvum* mediates invasion», *Mol Biochem Parasitol* ,(1998),96, 93.110.
109. Spano, F., Putignani, L., Guida, S., Crisanti, A., «*Cryptosporidium parvum*: PCR-RFLP analysis of the TRAP.C1 (thrombospondin. related adhesive protein of *Cryptosporidium*.1) gene discriminates between two alleles differentially associated with parasite isolates of animal and human origin», *Exp Parasitol* ,(1998),90, 195.198.
110. Okhuysen, P.C., Rich, S.M., Chappell, C.L., Grimes, K.A., Widmer, G., Feng, X., Tzipori, S., «Infectivity of a *Cryptosporidium parvum* isolate of cervine origin for healthy adults and interferon.γ knockout mice». *J Infect Dis* ,(2002),185, 1320.1325.
111. Steele, M.I., Kuhls, T.L., Nida, K., Meka, C.S., Halabi, I.M., Mosier, D.A., Elliott, W., Crawford, D.L., Greenfield, R.A., «A *Cryptosporidium parvum* genomic region encoding hemolytic activity». *Infect Immun* ,(1995), 63, 3840.3845.
112. Mc Cole, D. F., L. Eckmann, F. Laurent, and M. F. Kagnoff., «Intestinal epithelial cell apoptosis following *Cryptosporidium parvum* infection», *Infect Immun* 68: ,(2000),1710.1713.
113. Jody.L.Gooking, ShilaK. Nordone, and Robert A. Argenzio. «Host responses to *cryptosporidium* infection». *J vet interne; med.*(2002),16:12.21.
114. Koudela B, Jiri V., «Experimental cryptosporidiosis in kids». *Vet Parasitol* ,(1997), 71:273-81.
115. Chartier C., Mallereau. Pellet m.p., Mancassola r., Nussbaum D., «Détection des ookystes de *Cryptosporidium* dans les fèces de caprins : comparaison entre un test d'agglutination au latex et trois autres techniques conventionnelles», *Veterinary research*, (2002), 33 (2), 169.177.
116. Angus, k.W. «*Cryptosporidiosis* in ruminants. In: *Cryptosporidiosis* in man and animals». Editors: Dubey J.P., Speer C.A. and Fayer R., CRC Press Boca Raton, Florida, USA, (1990), 83.103.

117. Heine J. ; Pohlenz J.F.L. ; Moon H.W. ; Woode G.N. «Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species». The Journal of Infectious Diseases, (1984), 150 (5).768.775.
118. Naciri M., Mancassola R., Reperant J.M., Canivez O., Quinque B., Yvore P.« Treatment Of Experimental Ovine Cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrums», Veterinary Parasitology, (1994), 53, 173.190.
119. Boulday, s., «La cryptosporidiose bovine. Analyse du marché en France, résultats épidémiologiques, approche du positionnement du lactate d'halofuginone», Th. Méd. Vét. : Nantes : ,(2000) , 9.
120. Naciri, M. ; Lacroix S. ; Laurent F., «La cryptosporidiose (des ruminants diagnostics, moyens de lutte et risques pour l'Homme)», (2ème partie) ; L'Action Vétérinaire, (2001), n° 1543. 11.18.
121. Naciri M., Yvore P., «Efficacité du lactate d'halofuginone dans le traitement de la cryptosporidiose chez l'agneau», Recueil de médecine vétérinaire, (1989), 165, 823.826.
122. Schelcher, F., «Gastroentérites néonatales du Veau». IV session de pathologie bovine, UCAAB, Paris, (2 et 3 février 1999).
123. Naciri M. ; Lacroix S. ; Laurent F., «La cryptosporidiose des ruminants» (2ème partie) : diagnostic, moyens de lutte et risques pour l'Homme. L'Action Vétérinaire, (2001), n° 1543.11.18.
124. Wright A.K., Giger R., Arnold T.M., Janzen E.D. «An episode of diarrhea in calves of a well.managed dairy herd»,Canadian Veterinary Journal, (1995), 36.36.38.
125. Silva M.B. O., Lima J.D., Viera L.S., Vitor R.W.A.,«Experimental Cryptosporidiosis by *Cryptosporidium parvum* in dairy goat kids». Rev. Med. Vét., (1999), 150, 10.
126. Naciri, M., Yvoré, P., Leieux, D., « cryptosporidiose expérimentale du chevreau. Influence de la prise du colostrum» Les colloques de l'INRA, no.28, Niort, France. INRA, Paris, PP, (Octobre 1984),465.471.
127. Boukhari Z., Smith H.V. « *Cryptosporidium parvum*, oocyst excretion and viability patterns in experimentally infected lambs ». Epidemiol. Infect.1997, 119, 105–108.
128. Angus K.W., Appleyard W.T., Menzies J.D., Campbell I.,Sherwood D. «An outbreak of diarrhoea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs». Vet Rec, (1982);110:129-30.
129. Shaapan R., Khalil F., Nadia M «Cryptosporidiosis and Toxoplasmosis in native quails of Egypt». Res. J. Vet. Sci.(2011), 4, 30-36.

130. Bhat S.A., Juyal P.D., Singla L.D. « Prevalence of cryptosporidiosis in neonatal buffalo calves in Ludhiana district of Punjab, India. Asian J. Anim. Vet. Adv.(2012), 7 (6), 512-520.
131. Bencherif S. « L'élevage pastoral et la céréaliculture dans la steppe algérienne, Évolution et possibilités de développement». Thèse doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Agro.ParisTech.(2011), 294 p.
132. Maldonado-Camargo S., Atwill E.R., Saltijeral-Oaxaca J.A. Herrera-Alonso L.C.«Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Fresian dairy calves in central Mexico». Preventive Vet Med, (1998), 36(2), 95-107.
133. Delafosse A., Castro-Hermida J.A ., Baudry C., Ares-Mazas., Chartier C. «Herd-level risk factors for Cryptosporidium infection in dairy-goat kids in western France». Pre. Vet. Med., (2006), 77, 109–121.
134. Carte géographique. http://satellites.pro/carte_de_Ain_Oussera.
135. Directions des Service Agricoles .wilaya de Djelfa, commune d'Ain Oussera (2014).
136. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénet J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. (2001). «Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures».
137. Pilar-Izquierdo M, Ortega-Mora L.M, Pereira-Bueno J, Rojo-Vazquez F.A., Participacion de *Cryptosporidium parvum* en brotes de diarrea en corderos en al NO de Castilla y Leon. Acta Paras Port (1993), 1, 223.
138. Henriksen S.A., Polhenz J.F.L., «Staining of Cryptosporidiosis by a modified Ziehl. Neelson technique». Acta. Vet. Scand., (1981), 22: 594.6.
139. Henriksen S.A., Krogh H.V.-Bovine cryptosporidiosis in Denmark. Prevalence, age distribution and seasonal variation. Nord.Vet. Med., 1985, 37, 34-41.
140. A.C. Causapé, J. Qu' ilez, C. Sánchez-Acedo,E. del Cacho, F. López-Bernad., «Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain)» Veterinary Parasitology 104 ,(2002), 287–298.
141. Nouri M, Ahdfavi S. «Effect of nomada shepherds and their sheep on the incidence of cryptosporidiosis in anadjacent town». J Infect (1993), 26:105-6.
142. Matos-Fernandez MJ, Pereira-Bueno J, Ortega-MoraLM, Pilar-Izquierdo M, Ferre I, Rojo-Vazquez FA. «Prevalencia de la infeccion por *Cryptosporidium parvum* en corderos, cabritos y terneros en la provincia de Leo» Ân. Acta Paras Port, (1993) ,1:211.

143. Xiao L., Herd R.P., Ring D.M. «Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assays», *Vet. Parasitol.*, (1993), 47: 17-23.
144. Bullent U, Huseyin V, «cryptosporidiosis in diarrhoeic lambs on a sheep farm». *parazitoloji dergisi* 28 ,1:(2004)15-17.
145. 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(1):49-56.
146. Romero-Salas D., Godoy-Salinas O., García-Vázquez Z., Montiel Palacios F., Chavarría-Martínez B. «Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and associated risk factors in female calves in the central region of Veracruz, Mexico». *Trop. Subtropical. Agro-eco.*, (2012), 15 (2), S89–94.
147. Ortega-Mora, L.M., Requejo-Fernandez J.A., 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, 1261–1268.
148. Giangaspero A., Paoletti B., Iorio R., Traversa D. «Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* from sheep in central Italy». *Parasitol Res* (2005), 96, 32–37.
149. Olson ME, Thorlakson CL, Deselliers L, Morck DW, McAllister TA. «*Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals». *Vet Parasitol* ,(1997), 68:375-8.
150. Diaz V., Campos M., Lozano J., Manas I., Gonzalez J. «Aspects of animal giardiasis in Granada province (Southern Spain) » *Vet Parasitol* (1996), 64, 171–176.
151. Nalan O, Pinar T, Yaşar G, Serdar D, and Suleyman K. «Parasitic protozoans (eimeria, giardia, and cryptosporidium) in lambs with diarrhoea in the van province (turkey)». *Bull Vet Inst Pulawy*.(2009). 53, 47-51.
152. Castro-Hermida J.A., González-Warleta M., Mezo M. «Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (NW Spain) ». *Small Rumin Res* (2007), 72, 96–100.
153. Holley H.P.Jr., Dover. C., «Letter to the editor concerning the association between *Cryptosporidium* and *Giardia*». *N Engl J Med* (1985), 313, 1019-1020.
154. Mee J. Managing the calf at calving time. 41^{ème} Annual Conference Proceedings of the AABP. (2008) Sep 25;46–53.
155. Daix M. «Principales maladies néonatales des agneaux. Filière Ovine et Caprine» N°19. (2007).

156. V. Martella, N. Decaro, C. Buonavoglia «Enteric viral infections in lambs or kids». *Vet. Microbiol.* (2015).08.006.
157. Chatzopoulos D.C., athanasiou L.V., spyrou V., fthenakis G.C., billinis C.«Rotavirus infection in domestic animals». *J. Hell. Vet. Med. Soc.*,(2013),64,145–160.
158. Ebdelhadi Fatima Zohra .,«Etude de mortalité néonatales des agneaux au niveau de la région de la Tiaret»; mémoire de magistère,(2007).
159. Tzipori, S, Angus KW, Campbell I, Clerihew LW.,«Diarrhea due to *Cryptosporidium* infection in artificially reared lambs», *J Clin Microbiol* ,(1981),14:100.5.
160. Alaa.-Eddine Gatti., «la cryptosporidiose : diagnostic parasitologique, infection naturelles chez onze espèces animales et chez l’homme et étude des effets de l’immunodéficience et de l’immun stimulation expérimentales chez le lapereau», Thèse pour l’obtention du Doctorat de troisième cycle, option parasitologie, (19 juin 1992).
161. Jean .M., Richard. B ., Annie.,«la Diarrhée chez l’agneau, un sujet à éviter»,*Symposium Ovin* ,(2009).
162. Izquierdo, M., Gonz´alez, J., Roa, I., Gonz´alez, A., Hern´andez, F.I.,Garc´ıa, S., «An´alisis de los componentes grasos y proteicos de la leche de oveja merina en condici3n essemi extensivas: resulta dos preliminares.» In: *Actas de las XXVIII Jornadas Cient´ıficas de la Sociedad Espanola de Ovino tencia y Caprino tencia*, Badajoz, pp. ,(2003),102–105.
163. Laboratoire de Physiologie Animale, D3partement de m3decine v3t3rinaire Facult3s Universitaires Notre.Dame de la Paix 3 Namur (Belgique) (2008).
164. Emilie. Briot ., «Maladies De L’appareil Digestif Des Caprins»,(2009).Th3se Pour Le Doctorat V3t3rinaire Pr3sent3e Et Soutenue Publiquement Devant La Facult3 De M3decine De Creteil .
165. Marzo .Gelle. «3tude de la composition de colostrum et de lait de brebis et de leurs effet sur la croissance des agneaux» (2007).
166. Andres S., Jimenez A., Sanchez J., Alonso J.M., Gomeza L., Lopez F., Rey J«Evaluation of some etiological factors predisposing to diarrhoea in lambs in “La Serena” (Southwest Spain) ». *Small Rumin Res.*, (2007), 70,272-275.
167. Irshad A., Anish Y.A., Katoch R.,Godara R .,Taniya S.,Nisar N.A.«Prevalence and analysis of associated risk factors *Cryptosporidium* infection in lambs in Jammu district ». *J Parasit.*(2013).10.1007/s12639-013-0353-y.

168. Mohammad K., Orkideh K. «The prevalence of *Cryptosporidium* spp. in lambs and goat kids in Kurdistan, Iran. Veterinary World» EISSN.,(2013),2231-0916.
169. Panousis N., Diakou A., Giadinis N., Papadopoulos E., Karatzias H., Haralampidis S «Prevalence of *Cryptosporidium* infection in sheep flocks with a history of lambs' diarrhoea» Revue Méd. Vét., (2008), **159**, 10, 528-531.
170. Rossanigo EG, Gialletti L, Grelloni V, « Floroni A, Rivero VB. Diagnosi di criptosporidiosi in alcuni allevamenti dell'Italia Centrale. Riv Zoot Vet ,(1987),15:9-15.
171. Pablo Díaz J., Joaquín Q., Alberto P., Esther N., Ana P.C., Gonzalo F., Rosario P., Ceferino L., Pablo D., Patrocínio M: *Cryptosporidium* species and subtype analysis in diarrhoeic pre-weaned lambs and goat kids from north-western Spain. Parasitol Res.(2015),114:4099–4105.
172. Pritchard G.C., Marshall J.A., Giles M., Chalmers R.M., Marshall R.N. «*Cryptosporidium parvum* infection in orphan lambs on a farm open to the public.Vet.Rec.(2007),161:11–14.»
173. Fernando H.M., Beatriz E.C.G., Roxane M.F.P., Waldir P.E., Sylvia C.L., Juan M., Ghizlane D., Azucena M., Miguel B., Jorge B., Jacinta S.P.« Lambs are an important source of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in southern Brazil». Vet-Microb.(2016),196.72–77.
174. Malik J.« Les entérites à *E. coli* K99 chez le veau et l'agneau nouveaux nés: Etude épidémiologique. Third cycle thesis. I. A. V., Hassan II, Rabat, Marocco», (1983).
175. Lucchelli A., Lance S.E., Bartlett P.B., Miller G.Y., Saif L.J.« Prevalence of bovine group A rotavirus shedding among dairy calves in Ohio». Am. J. Vet. Res.(1992),53,169–174.
176. King T.J, Angus K.W. «Neonatal diseases in Diseases of sheep», 2nd ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications.(1991),12-19.
177. Erhan G, Ahmet Ü., Hidayet M.E.« Enteric Pathogens in the Aetiology of Diarrhoea in Neonatal Lambs». (2010), (5): 717-722.
178. Bhat M.A., Nishikawa Y., Wani S.A.« Prevalence and virulence gene profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *Escherichia coli* from diarrhoeic and healthy lambs in India». Small Ruminant Research.(2008),75.65–70.
179. Wani S.A., Bhat M.A., Samanta I., Nishikawa Y., Buchh A.S.« Isolation And Characterization Of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (Stec) And

Enteropathogenic Escherichia Coli (Epec) From Calves And Lambs With Diarrhoea In India».The Society For Applied Microbiology, Letters In Applied Microbiology.(2003), 37, 121–126.

180. Wray C., Dawson M., Afshar A., Locas M. «Experimental E Coli And Rotavirus Infection In Lambs». Res Vet Sci.(1981).
181. Wani S.A., Bhat M.A., Samanta I., Ishaq S.M., Ashrafi M.A., Buchh A.S.«Epidemiology Of Diarrhoea Caused By Rotavirus And Escherichia Coli In Lambs In Kashmir Valley, India». Small Ruminant Research.(2004a) ,52.145–153.
182. Kaminjolo J. S., Adesiyun A.A.«Rotavirus Infection In Calves, Pigi.F.Ts, Lambs And Goat Kids In Trinidad». Br. Vet.J.(1994).150, 293.
183. Fassi-Fehri Mm, Johnson Dw, Taoudi A, Berrada J.«Epidemiology Of Diarrhoea Caused By Escherichia Coli And Rotavirus In Calves And Lambs In Morocco.»Ann Rech Vet.(1988),19,59-64.
184. Chasey D., Banks J.«The Commonest Rotaviruses From Neonatal Lamb Diarrhoea In England And Wales Have Atypical Electropherotypes». Vet Rec. (1984a), 115: 326-7. 37.
185. Zu Sx., Fang G.D., Fayer R., Guerrant R.L.«Cryptosporidiosis: Pathogenesis And Immunology». Parasitology.(1992),8:24–27.
186. Khafagi M.H., Mahmoud M.A., Habashi A.R.«Prevalence of Rotavirus Infections In Small Ruminants». Global Veterinaria.(2010),4(5),539-543.
187. Ozmen O., Yukari B.A., Haligur M., Sahinduran S.« Observations and immunohisto-chemical detection of coronavirus: cryptosporidium parvum and giardia intestinalis in neonatal diarrhoea in lambs and kids». Schweiz. Arch. Tierheilkd.(2006),148,357–364.
188. Acres Sd., Laing C.J., Saunders J.R., Radostits O.M. «Acute Undifferentiated Neonatal Diarrhea In Beef Calves, Occurrence And Distribution Of Infectious Agents.» Can J Comp Med.(1975),39:116-132.
189. Vanopdenbosch E., Wellemans G., Dekegel X., Strobbe R.«Neonatal Calf Diarrhoea»: A Complexe Etiology., Vi Dierg Tijdschr,(1979),48, 512-26.
190. Robert B., Collard A., Coppe P., Ginter A., Antoine H. «Epidémiologie de la cryptosporidiose bovine dans une ferme belge; essai de prévention a l'aide de colostrum».,Ann. Méd. Vét.,(1991),135,441-6.

191. Bourguin H. «La place de la cryptosporidiose, dans les maladies néonatales du veau du Corrèze». Bull. Gtv 2 B., (1996), 518, 19-41.
192. Schelcher F. «Gastro-Entérites Néonatales Du Veau. Iv Session de pathologie bovine», Ucaab, Paris, (2 Et 3 Février 1999).
193. Tartera. P., Naciri M., Chermette R. «Quand Suspecter La Cryptosporidiose ?» La semaine vétérinaire, 971, Pp 40-42, (Avril 2000B).
194. Connelly, J.T., S.R. Nugen, W. Borejsza-Wysocki, R.A. Durst, R.A. Montagna and A.J. Baeumner, Human pathogenic *Cryptosporidium* species bioanalytica detection method with single oocyst detection capability. Anal. Bioanalytical Chem. (2008).391: 487-495.
195. Casemore D.P. Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis, J. Clin. Pathol. (1991).44 - 445-451.
196. Weber, R., R.T. Bryan, H.S. Bishop, S.P. Wahlquist, J.J. Sullivan and D.D. Juranek, 1991. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stools specimens: Evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. J. Clin. Microbiol.(1991).29: 1323-1327.
197. Sharma, S.P., and M. Busang. *Cryptosporidium* Infection in Sheep and Goats in Southern Botswana and Its Public Health Significance. Global Journal of Animal Scientific Research. (2015).3(2): 329- 336.
198. Katanik, M.T., S.K. Schneider, J.E. Rosenblatt, G.S. Hall and G.W. Procop. Evaluation of ColorPAC Giardia/Cryptosporidium rapid assay and Pro SpecT Giardia/Cryptosporidium microplate assay for detection of Giardia and Cryptosporidium in fecal specimens. J. Clin. Microbiol.(2001).39: 4523-4525
199. Marks, S.L., T.E. Hansen and A.C. Melli. Comparison of direct immune fluorescence, modified acid-fast staining and enzyme-immuno assay techniques for detection of *Cryptosporidium* spp. in naturally exposed kittens. Journal of American Veterinary Medical Association. (2004).225: 1549-1553.
200. Fusya Yvonne Goma. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infections in cattle, sheep and goats in Zambia; university of Zambia school of veterinary medicine department of clinical studies.(2005).
201. Cozon, G., Cannella. I., Biron. F., Piens. M.-A., Jeannin, M. and Revillard, J. P. 1992 *Cryptosporidium parvum* sporozoite staining by propidium iodide. Int. J. Parasitol. (1992).22: 385-389.

202. Giarcia, I.S., Brewer, T.C. and Bruckner, D.A. 1987. Fluorescence detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. J. Clin. Microbiol. (1987). 25: 119-121.
203. Hassan, S.I., H. Sabry, N.M. Amer, M.A. Shalaby, N.A. Mohamed and H. Gaballah, 2002. Incidence of cryptosporidiosis in immune deficient cancer patients in Egypt. J. Egypt. Soc. Parasitol., 32: 33-46.
204. Johnson, S.P., M.M. Ballard, M.J. Beach, L. Causer and P.P. Wilkins, Evaluation of three commercial assays for detection of Giardia and Cryptosporidium organisms in fecal specimens. J. Clin. Microbiol. (2003). 41: 623-626.
205. Mirhashemi, M.E., A. Zintl, T. Grant, F.E. Lucy, G. Mulcahy and T. De Waal, Comparison of diagnostic techniques for the detection of Cryptosporidium oocysts in animal samples. Exp. Parasitol. (2015). 151-152: 14-20.
206. Arrowood, M.J. and Sterling, C.R., Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. J. Clin. Microbiol. (1989). 27: 1490-1495.
207. Clark, D.P., New insights into human cryptosporidiosis. Clin. Microbiol. Rev. (1999). 12: 554-563.
208. Morgan, U.M., L. Pallant, B.W. Dwyer, D.A. Forbes, G. Rich and R.C. Thompson, Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: Clinical trial. J. Clin. Microbiol. (1998). 36: 995-998.
209. Fayer R., Cryptosporidiosis: current strategies to meet a widespread problem, in: Proceedings of the VIth Int. Coccidiosis Conf., Guelph, Ontario, Canada, (1993). 95-101.
210. Omoruyi, B.E., U.U. Nwodo, C.S. Udem and F.O. Okonkwo. Comparative diagnostic techniques for *Cryptosporidium* infection. Molecules, (2014). 19: 2674-2683.