



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab -Blida 1-



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

Thème

**La recherche de *Cryptosporidium sp*
dans la matière fécale de chien**

Présenté par :

- **BELKACEMI DOUNIAZED.**
- **SELLAMI TOUFIK.**

Devant le jury :

Président :	DJOUDI.M	M.A.A	ISV Blida
Examineur :	MSALA.A	M.A.A	ISV Blida
Promotrice :	OUAKLI.N	M.A.A	ISV Blida

Année universitaire: 2017/2018

Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons de prime abord à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force, la volonté et la patience pour la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions ensuite notre promotrice Dr OUAKLI Nadia de nous avoir aidé, suivi et guidé tout au long de notre travail par ses précieux conseils et ses orientations souvent avec patience et beaucoup de gentillesse.

Nos vifs remerciements vont également aux honorables membres du jury Dr DJOUDI Mustapha et Dr MSALA Amine pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner, de juger notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

À tout le personnel du laboratoire de recherche et de biochimie médicale pour leur collaboration et disponibilité.

À tous les professeurs du département des sciences vétérinaires de l'université SAAD DAHLEB de Blida et tous ceux et celles qui nous ont apporté, de près ou de loin, l'aide indispensable à la réalisation de ce travail aussi modeste soit-il.

Nous tenons enfin à remercier nos familles et à nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements nous ont donné le souffle nécessaire pour surmonter tous les obstacles et achever ce mémoire.

Merci !

Dédicace

A l'homme de ma vie... «DADA »...mon ange gardien, mon exemple éternel, mon soutien moral, source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, tes bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A ma très chère honorable MIMICHA : la source de tendresse, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager, de prier et surtout de presser sur moi...Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours pour vous mes chères parents pour tous vos sacrifices. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon âme sœur SONYA, en souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les plus agréables moments, pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent.

A ma chère FOUFOU, pour ton ambiance et tes grands efforts.

A mon anti-stress, ma fille et ma chère petite sœur NOUSSA, qui est présente dans tous mes moments d'examens par ses belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie et de réussite.

A la mémoire de ma fille et ma chère sœur ROZZA, la prunelle de mes yeux, que dieu l'ait en sa sainte miséricorde.

A toi NOUNI, malgré la distance, tu es toujours dans mon cœur.

A ma deuxième maman DENAYNATI, je te remercie pour ton affection si sincère et tes encouragements.

A ma grande famille, sans exception.

Un remerciement particulier et sincère à Dr BENNEFISSA Anissa pour tous ses soutiens et ses efforts fournis.

A mon binôme Toufik et sa famille SELLAMI.

A toute la promo 2018 en particulier mes ami(e)s : Karima, Bisma, Souad, Yasmin, Zolla, Hadjer, Rahma, Djihad, Abderrahmen, Mehdi, au groupe 03 ; pour tous les moments passés et à venir, que l'amitié qui nous lie reste toujours aussi forte.

BELKACEMI Douniazed.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

A ma très chère mère pour tout son amour et son dévouement, à mon père qui a toujours été là pour moi et qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

A mes chers frères et sœurs pour leurs encouragements indéfectibles.

A mon binôme « BELKACEMI Douniazed » et à toute sa famille.

Et à tous mes amis.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

SELLAMI Toufik.

Résumé

Un total de 29 prélèvements de matière fécale d'origine canine a été analysé par la technique de concentration suivie de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée dans le but de rechercher le *Cryptosporidium sp.* Chaque échantillon a été identifié macroscopiquement pour déterminer la consistance. Le parasite a été retrouvé dans des échantillons diarrhéiques avec un taux de 75% et dans des échantillons non diarrhéiques par un taux de 17,6%. L'examen microscopique a relevé 12 cas positifs soit un taux de 41,3%. L'âge semble jouer un rôle important dans la cryptosporidiose. En effet, *Cryptosporidium sp* a été isolé dans toutes les tranches d'âge. Les femelles sont plus touchées que les males avec des taux respectivement de 71,4% et 31,8%.

Mots clés : *Cryptosporidium sp*, espèce canine, coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Abstract

A total of 29 samples of faecal material were analyzed by the concentration technique followed by modified Ziehl-Neelsen staining. Each sample was identified macroscopically to determine consistency. The parasite was found in diarrheal samples with a rate of 75% and in non-diarrheal samples with a rate of 17.6%. Microscopic examination found 12 positive cases i.e. a rate of 41.3%. Age seems to play an important role in cryptosporidiosis. Indeed, *Cryptosporidium sp* has been isolated in all age groups. Females are more affected than males with rates of 71.4% and 31.8% respectively.

Key words: *Cryptosporidium sp*, canine species, coloring of Ziehl-Neelsen modified.

ملخص

تم تحليل مجموعة 29 عينة البراز بواسطة تقنية التركيز متنوعة بتقنية زيال نيلسن المعدلة. تم تحديد كل عينة بشكل ظاهري لتحديد الاتساق. تم العثور على الطفيل في العينات الإسهالية مع 75 % و 17.6 % للعينات غير الإسهالية. وجد الفحص المجهرى 12 حالة إيجابية، بمعدل 41.3 %. يبدو أن العمر يلعب دوراً هاماً في الكريبتوسبورديوسيس. وقد تم عزل الكريبتوسبورديوم في جميع الفئات العمرية. الإناث أكثر تأثراً من الذكور بمعدلات 71.4% و 31.8% على التوالي.

الطفيليات وجدت بنسبة 75% في الفضلات الرخوة وبنسبة 17,6% في الفضلات غير الرخوة.

الكلمات الدالة: الكريبتوسبورديوم، سلالة الكلاب، زيال نيلسن مغيرة.

Sommaire

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1	1
GENERALITES SUR LE CRYPTOSPORIDIUM	1
I-HISTORIQUE.....	3
II-TAXONOMIE.....	3
III-BIOLOGIE (CYCLE BIOLOGIQUE).....	5
CHAPITRE 2	7
LA CRYPROSPORIDIOSE CHEZ LE CHIEN	7
I-EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE	8
II-EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE	8
1- SOURCE DE PARASITE	8
2- RESISTANCE DU PARASITE	8
3- RECEPTIVITE, SENSIBILITE ET MODES DE TRANSMISSION.....	9
4- FACTEURS DE RISQUE.....	9
A-FACTEURS LIES A L'ANIMAL.....	9
B-CONDITIONS D'ELEVAGE	10
CHAPITRE 3	12
ETUDE CLINIQUE.....	12
I-PATHOLOGIE.....	13
1-SYMPTOMES ET LESIONS.....	13
2-POUVOIR PATHOGENE	14
II-DIAGNOSTIC.....	14
1-DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUE.....	14
2-DIAGNOSTIC DE LABORATOIR (COPROSCOPIE)	15
A-LES TECHNIQUES DE CONCENTRATION.....	15
B-LES TECHNIQUES DE COLORATION	15
C-LE MARQUAGE IMMUNOLOGIQUE.....	16

D-LE MARQUAGE MOLECULAIRE	17
E-LA COMPARAISON DE CES TECHNIQUES	17
III-METHODE DE LUTTE.....	18
1-TRAITEMENT	18
2-PROPHYLAXIE.....	19
PARTIE EXPÉRIMENTALE	20
I.OBJECTIF	21
1. ZONE D’ETUDE	21
2. POPULATION ETUDIEE	22
II. MATERIELS ET METHODES.....	23
1. MATERIEL (VOIR L’ANNEXE).....	23
2. RECOLTE DE PRELEVEMENT	23
3. METHODE.....	23
3- A. LA TECHNIQUE UTILISEE	23
3-B. REACTIFS UTILISES (VOIR L’ANNEXE).....	23
4. MODE OPERATOIRE	23
4- A. CONFECTION D’UN FROTTIS FECAL	23
4- B. FIXATION ET COLORATION DE FROTTIS	24
III. RESULTAT ET DISCUSSION.....	28
1. RESULTAT	28
2. DISCUSSION :.....	31
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	33
CONCLUSION	34
RECOMMANDATIONS	35
ANNEXES	36
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....	43

LISTES DES FIGURES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

- Figure 1** : Cycle évolutif de *Cryptosporidium spp* dans l'intestin grêle, démontrant les étapes intracellulaires et extracellulaires connues.....6
- Figure 2** : Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin parasité par *Cryptosporidium parvu*.....13
- Figure 3** : Frottis fécal coloré par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée. Les ookystes de *Cryptosporidium spp* mesurent entre 4.2 et 5.4 µm. Les sporozoïtes peuvent être visibles dans certains ookystes et ils sont disposés en périphérie.....15
- Figure 4** : Oocystes de *Cryptosporidium spp* (petits éléments verts) et kystes de *Giardia* (éléments verts de taille moyenne) observés en immunofluorescence après concentration des oocystes (concentration à l'acétate d'éthyle) (X400).....16

PARTIE EXPERIMENTALE

- Figure 1** : carte géographique de la wilaya de Bouira.....21
- Figure 2** : technique d'observation au microscope.....27
- Figure 3** : distribution des échantillons analysés.....28
- Figure 4** : distribution des échantillons positifs selon le sexe.....29
- Figure 5** : distribution des échantillons selon la consistance.....29
- Figure 6** : distribution des échantillons selon l'âge.....30
- Figure 7** : distribution des échantillons selon la saison.....30

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Cryptosporidium spp*.....4

Tableau 2 : Comparaison des méthodes d'identification des ookystes de *C.parvum*.....18

PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau 1 : distribution des échantillons.....28

Tableau 2 : distribution des échantillons selon le sexe.....28

Tableau 3 : distribution des échantillons selon la consistance.....29

Tableau 4 : distribution des échantillons selon l'âge.....30

Tableau 5 : distribution des échantillons selon la saison.....30

ANNEXE

Tableau 1 : Matériels et les réactifs utilisés dans notre travail expérimental.....37

Tableau 2 : Identification des prélèvements et résultat d'analyse.....40

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : promiscuité avec des volailles.....	22
Photo 2 : promiscuité avec des ovins.....	22
Photo 3 : chien de ferme.....	22
Photo 4 : étalement de frottis.....	25
Photo 5 : séchage à l'air.....	25
Photo 6 : fixation au méthanol pendant 5 mn.....	25
Photo 7 : colorer dans la fuschine phéniquée pendant 1 h.....	25
Photo 8 : rincer à l'eau.....	25
Photo 9 : différencier avec l'acide Sulfurique à 2% pendant 1 h.....	25
Photo 10 : rincer à l'eau.....	26
Photo 11 : contre colorer au vert de Malachite à 5% pendant 1 h.....	26
Photo 12 : rincer à l'eau.....	26
Photo 13 : sécher à l'air.....	26
Photo 14 : observation microscopique à immersion.....	26
Photo 15 : <i>oocyste de Cryptosporidium sp</i>	27

LISTE DES ABREVIATIONS

PCR : Polymérase Chaîne Réaction

OPG : Oocystes par gamme

J : Jours

AFSSA : Association française de la sécurité et santé animale

OIE : Office international des épizooties

M : Male

F : Femelle

ARN : Acide Ribonucléique

PO : Per os

C. parvum : *Cryptosporidium parvum*

C. canis : *Cryptosporidium canis*

C. felis : *Cryptosporidium felis*

Ov : Ovin

Bv : Bovin

ENVA : École nationale vétérinaire d'Alfort

Introduction

La cryptosporidiose chez le chien à *Cryptosporidium sp.* est une protozoose intestinale le plus souvent asymptomatique mais qui peut se manifester cliniquement par des troubles digestifs, généralement de la diarrhée, affectant plus particulièrement des chiens jeunes et/ou immunodéprimés. En outre, des infections intercurrentes chez des animaux immunodéprimés telles que la parvovirose ou l'isosporeose intestinale, majorent l'intensité de l'expression clinique (Tyzzer 1910, Denholm et al 2001).

Elle est généralement due à l'infection des animaux par l'espèce *Cryptosporidium canis*. Elle semble affecter principalement des chiens jeunes, de moins d'un an, et n'occasionne que rarement des signes cliniques, peu spécifiques (diarrhée aigue ou chronique, amaigrissement).

C. canis a été identifié chez deux chiots âgés de 8 et 9 semaines, excréteurs d'ookystes (Mac Reynolds et al 1999, Denholm et al 2001) Il n'y a pas de prédispositions sexuelles, ni d'effet race. Les collectivités canines ne sont pas plus touchées que les chiens vivants seuls chez des particuliers. Il existerait une influence saisonnière d'après HAMNES et al (2007) : l'hiver serait plus propice au développement des cryptosporidies. Enfin, il semble que la cryptosporidiose affecte préférentiellement les chiens au statut immunitaire déficient.

Les chiots sont plus fréquemment infectés en dessous de six mois d'âge ce qui est cohérent avec les travaux en infection expérimentale : on constate en effet une diminution de l'excrétion avec l'augmentation de l'âge, et s'il n'existe pas d'étude sur l'évolution de l'infection avec le développement de l'immunité chez le chien, il est tentant d'appliquer dans cette espèce les observations faites chez les ruminants, à savoir l'acquisition d'une résistance à l'infection avec l'apparition de l'immunité. (Milstein et Goldsmith 1995, O'Donoghue 1995, Lindsay et Zajac 2004).

Notons que la cryptosporidiose chez l'espèce canine n'a pas fait l'objet à notre connaissance, d'étude en Algérie. Il nous a apparu opportun d'entreprendre une telle investigation pour un double objectif :

- Rechercher les cryptosporidies dans les fèces de chien.
- Evaluer l'impact des cryptosporidies sur les sujets atteints.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LE CRYPTOSPORIDIUM

I-HISTORIQUE

Le parasite a été observé pour la première fois dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire *Mus musculus* en 1907 par Tyzzer, qui lui donna le nom de *Cryptosporidium muris*. Ce même chercheur observa à nouveau ce protozoaire dans le petit intestin de la souris en 1912, mais comme il était plus petit que le premier, il le considéra comme une espèce différente et le nomma *C. parvum*. Plusieurs années s'écoulèrent avant que Slavin (1955) décrive une nouvelle infection le *C. meleagridis* dans le système digestif de la dinde (*Meleagris gallopavo*). Puis, c'est dans les années 70 que plusieurs rapports d'études vétérinaires montrent un lien entre *Cryptosporidium spp* et des cas de diarrhée chronique chez le bétail.

La première infection due à *Cryptosporidium spp* chez l'homme est diagnostiquée en 1976 chez un enfant immunocompétent de trois ans, mais atteint d'une entérocélite aigue. En 1982, quelques personnes en bonne santé auprès de bétail sont infectées par des entéroparasites du genre *Cryptosporidium*. Depuis ce temps, l'infection est associée a des signes cliniques pouvant être sévères, autant chez les personnes immunodéficientes que chez les personnes saines.

L'épidémie la plus connue est celle de 1993 à Milwaukee (Etats-Unis d'Amérique). Elle aurait touché plus de 400 000 personnes ayant bu de l'eau de robinet contaminée. La source d'approvisionnement en eau potable de la ville de Milwaukee aurait été contaminée par l'eau de ruissellement ayant transporté des ookystes de *Cryptosporidium spp* excrétés par le bétail paissant près des rivières du bassin versant du lac Michigan. D'autres sources potentielles de contamination ont été identifiées, telles que les eaux usées municipales et les abattoirs situés près de ces rivières. D'ailleurs, les personnes travaillant avec des animaux, principalement le bétail, sont plus sujet à se faire parasiter par *Cryptosporidium spp*

II-TAXONOMIE

Depuis la découverte de ce protozoaire en 1907 par Ernest E. Tyzzer dans l'intestin grêle de souris (*Mus musculus*), de multiples espèces de cryptosporidies ont été mises en évidence et la dénomination de ces espèces a été l'objet de nombreuses modifications.

Dans le cadre de notre étude, nous nous intéresserons particulièrement à *Cryptosporidium canis*, une espèce de cryptosporidie mise en évidence dans l'intestin grêle du chien.

La position systématique de *Cryptosporidium spp* au sein des protozoaires est décrite au tableau suivant (tableau 1) :

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Cryptosporidium spp.*

(www.taxonomy.nl/taxonomicom)

Classification	Nom	Caractéristique biologique
Empire	Eukaryota	- Cellules possédant un noyau avec une enveloppe nucléaire.
Règne	Protozoa	- Eucaryote unicellulaire.
Embranchement	Apicomplexa	- Présence d'un complexe apical (rôle dans la pénétration du parasite au sein de la cellule hôte) chez les formes invasives.
Classe	Coccidea	- Oocystes contenant des sporozoïtes infectieux résultant de la sporogonie.
Sous-classe	Coccidiasina	- Cycle biologique comprenant des stades de schizogonie, gamétogonie et sporogonie.
Ordre	Eucoccidiorida	- Etape de schizogonie, aussi appelée mérogonie, toujours présente.
Sous-ordre	Eimeriorina	- Développement indépendant des micros et Macrogamètes.
Famille	Cryptosporidiidae	- Oocystes contenant 4 sporozoïtes nus (pas de sporocystes contrairement aux Eimeriidae). - Cycle biologique monoxène (un seul hôte). - Développement intracellulaire extracytoplasmique. - Développement sous la bordure en brosse des cellules épithéliales colonisées.
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	- Absence de sporocyste. L'oocyste renferme 4 sporozoïtes nus.

III-BIOLOGIE (CYCLE BIOLOGIQUE)

Le cycle de développement de *Cryptosporidium sp* chez le chien reste à ce jour inconnu. Contrairement à l'Homme chez qui des infections respiratoires, oculaires, pancréatiques ou hépatiques ont été décrites, aucune infection extra-intestinale chez le chien n'a été rapportée à ce jour.

L'hôte se contamine par voie oro-fécale : eau ou aliment contaminés, léchage de zones souillées contenant des ookystes.

Au sein du tractus digestif, les 4 sporozoïtes se libèrent de l'ookyste sous l'action de la bile. Les étapes suivantes sont toutes intracellulaires dans une vacuole parasitophore au sein de la bordure en brosse et séparées du cytoplasme par un organe qui joue un rôle dans la nutrition du parasite.

Les sporozoïtes infectent les cellules intestinales, se transforment en trophozoïtes puis, par multiplication asexuée en schizontes de type I. Ces schizontes éclatent et libèrent alors 8 mérozoïtes de type I qui colonisent à leur tour d'autres cellules intestinales et se transforment en schizontes de type II. En éclatant, ils libèrent à leur tour 4 mérozoïtes de type II qui peuvent être l'objet d'une reproduction asexuée. Ces mérozoïtes de type II pénètrent dans les cellules intestinales et sont à l'origine des formes de la reproduction sexuée : un microgamétocyte donnant des microgamètes non flagellés et un macrogamétocyte à l'origine d'un macrogamète. La fécondation du macrogamète par un microgamète forme les ookystes, dont la particularité est leur sporulation endogène. Suivant l'épaisseur de la paroi, deux types d'ookystes sont distingués. Les ookystes à paroi fine sont auto-infectants tandis que les ookystes à paroi épaisse sont excrétés dans les fèces. Ces derniers sont donc directement infectants.

La période entre la contamination et l'excrétion des formes infectantes, c'est-à-dire des ookystes, appelée période pré-patente dure entre 2 et 14 jours, mais elle n'a pas encore été étudiée chez le chien. La période correspondant à la durée de l'excrétion des ookystes, appelée période patente, est comprise chez le chien entre 3 et 33 jours pour *Cryptosporidium parvum*. (Augustin-Bitchl et al 1984, Kirkpatrick et Dubey 1987, Lloyd et Smith 1997).

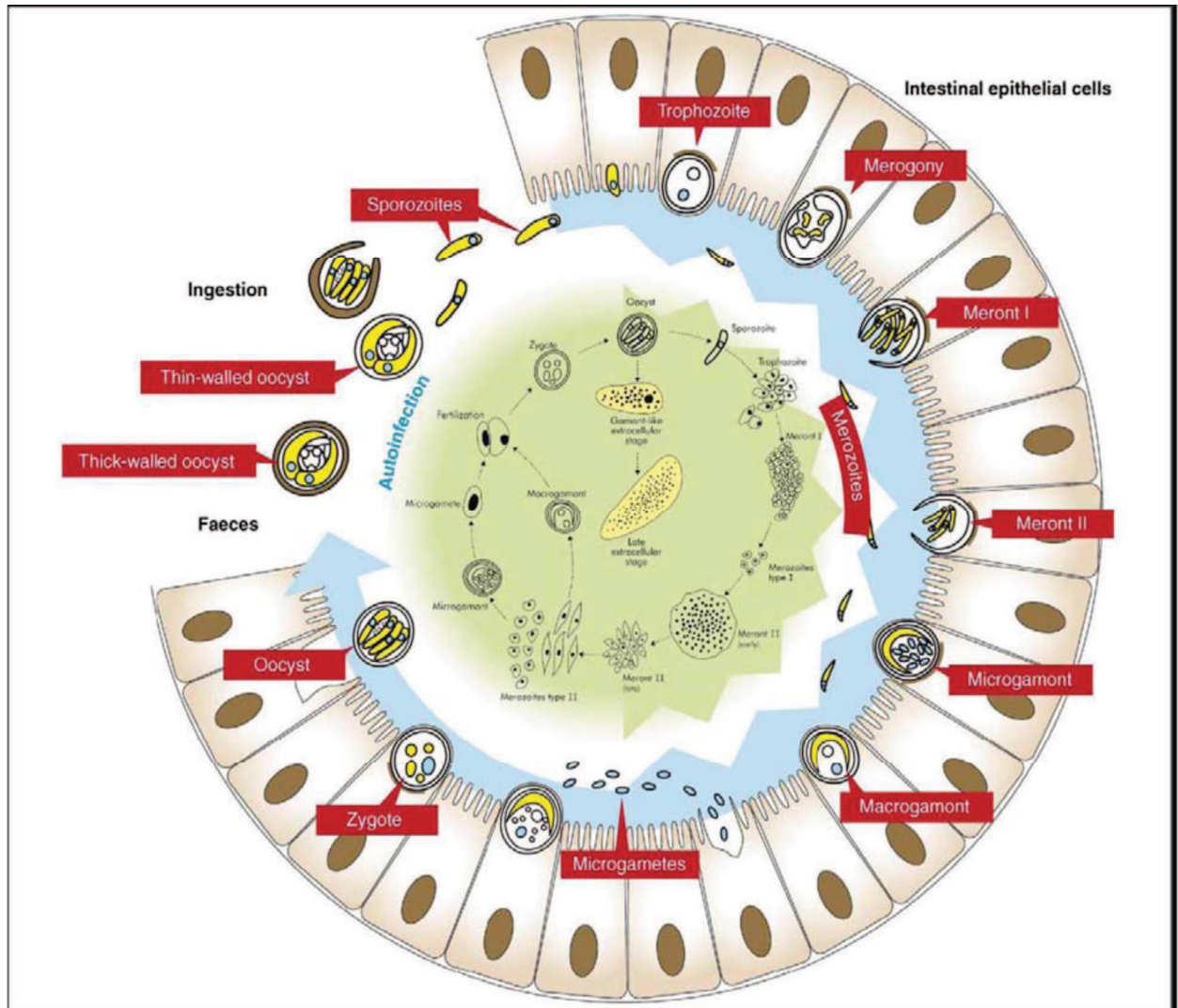


Figure 1 : Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp dans l'intestin grêle, démontrant les étapes intracellulaires et extracellulaires connues (d'après Hijawi et al 2004, Barta et Thompson 2006).

CHAPITRE 2

LA CRYPROSPORIDIOSE CHEZ LE CHIEN

I-EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

La cryptosporidiose animale est présente sur les six continents, aussi bien dans des zones tropicales que tempérées (O'Donghue 1995).

La prévalence de la maladie représente le nombre d'animaux infectés par le genre *Cryptosporidium spp* à un moment donné et dans une population donnée. Cependant, la plupart des études menées sur le sujet visent à déterminer la prévalence d'excrétion, c'est-à-dire le nombre d'animaux excréteur des oocystes indépendamment de leur statut clinique à un moment donné.

La détermination de la prévalence d'excrétion chez les espèces domestiques a fait l'objet d'un grand nombre d'études.

Chez le chien, la prévalence d'excrétion varie en fonction des études entre 0 et 11%, elle est estimée à 10% en France (Rapport AFSSA 2002, Bourdais-Massenet 2008).

Les études de prévalence étant difficiles à mener, il n'existe pas ou peu de données pour les espèces sauvages.

II-EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

1- SOURCE DE PARASITE

Les sources d'ookystes sont les animaux excréteurs, qu'ils aient présentés ou non des symptômes. La contamination des chiots en bas-âge est due au léchage des mamelles, flancs ou périnée de la mère excrétrice, mais aussi par l'environnement, eau et alimentation (Barr 1997, Derouin et al 2002).

La période patente de *C. parvum* chez le chien dure entre 3 et 33 jours, les ookystes excrétés provoquant alors la contamination de l'environnement. Aucune durée spécifique à *C. canis* n'est connue à l'heure actuelle. (Kirkpatrick et Dubey 1987, Lloyd et Smith 1997).

2- RESISTANCE DU PARASITE

Les oocystes possèdent des propriétés biologiques leur conférant une grande résistance dans le milieu extérieur, ils sont extrêmement résistants et peuvent rester viables et infectieux dans l'environnement, jusqu'à plusieurs mois dans l'eau, les matières fécales et l'eau de mer pour une température comprise entre 0°C et 30°C. En effet, il a été montré qu'ils peuvent survivre plusieurs mois dans des conditions favorables d'humidité et de chaleur. (Derouin et al 2002).

Des variations de température naturelles et de nombreux désinfectants classiques (crésyl, dérivés iodés, hypochlorite...) n'inhibent pas leur pouvoir infectant.

Seuls l'ammoniac à 5%, le formaldéhyde à 10% ainsi que les températures élevées (1 minute à 72°C ou 5 minutes à 64°C) peuvent les détruire (Barr 1997, Derouin et *al* 2002, Lindsay et Zajac 2004).

3- RECEPTIVITE, SENSIBILITE ET MODES DE TRANSMISSION

La cryptosporidiose infecte un très grand nombre d'espèces animales aussi bien domestiques que sauvages.

La majorité des cas décrits intéresse des chiens jeunes, âgés de moins d'un an.

Des cryptosporidioses ont cependant été décrites chez des animaux âgés, dont les examens paracliniques ont permis de conclure à une immunodépression. Les animaux, immunodéprimés et atteints d'une affection intercurrente présentent des symptômes exacerbés.

La transmission du parasite se fait essentiellement par voie oro-fécale, via l'ingestion d'oocystes directement émis dans les fèces de l'hôte précédent.

Ce parasite ne se multiplie pas dans l'environnement et l'infection résulte d'une exposition directe, c'est-à-dire d'animal à animal, de l'homme à l'homme, ou indirecte; par le biais de la nourriture, de l'eau, l'air contaminé, mais également du personnel s'occupant des animaux, des locaux ou du matériel utilisé... (Fayer et *al* 2000).

4- FACTEURS DE RISQUE

A-FACTEURS LIES A L'ANIMAL

L'AGE

La plupart des protozoaires parasites digestifs infectent majoritairement les jeunes animaux, tels que les chiots; les animaux plus âgés sont pour la plupart immunisés et développent rarement des signes cliniques, à l'exception des animaux âgés, atteints d'une maladie chronique, ou immunodéprimés et des femelles pendant leur gestation ou leur lactation. Les animaux âgés peuvent néanmoins constituer une source d'éléments infectants.

Chez le chien, la majorité des cas décrits de cryptosporidiose concerne des animaux de moins d'un an. (Paraud et Chartier 2012).

LE STATUT IMMUNITAIRE

Comme chez l'Homme, le statut immunitaire de l'animal joue un rôle dans l'installation de l'infection. Celle-ci sera facilitée chez un individu présentant une immunodéficience, qu'elle soit naturelle ou acquise. Ainsi des infections sévères ont été décrites chez des animaux immunodéprimés tels que des chats, des chiens, des chevaux et des singes. (O'Donoghue 1995).

Le statut immunitaire influencerait la sévérité mais aussi la distribution de l'infection. (Fayer et Ungar 1986).

Les critères de sensibilité de l'hôte jouent un rôle dans l'apparition de la cryptosporidiose mais peuvent également être à l'origine d'une augmentation des taux de mortalité dus à la maladie. (Chartier et Paraud 2010).

B-CONDITIONS D'ELEVAGE

La gestion de l'élevage dans son ensemble peut être à l'origine d'une augmentation de la prévalence de la cryptosporidiose.

De nombreuses études ont pu mettre en évidence différents facteurs de risque tel que l'environnement, l'alimentation, le stress d'un sevrage trop précoce, les transports ...etc. (www.esccap.fr).

L'ENVIRONNEMENT

Les chiens vivant en collectivité (élevage, chenils, refuges pour animaux) présentent un plus grand risque d'infection par ce protozoaire.

L'environnement du chien influence le risque d'être contaminé par le protozoaire. En effet, les chiens habitant un refuge ont un risque de contamination plus élevé, car le stress affaiblit leur système immunitaire. Ils ont également plus de contacts avec d'autres chiens et la possibilité de se réinfecter. En Corée, une étude effectuée sur 257 chiens établit une prévalence de *Cryptosporidium spp* atteignant 9,7%, les plus atteints étant les chiens de compagnie (13,8%), suivis par les chiens de garde (10,1%) puis par les chiens de ferme (6,1%). Cependant, en Espagne, il n'existerait pas de différence statistiquement significative de la prévalence de *Cryptosporidium spp* chez les chiens errants et les chiens de compagnie.

Une mauvaise hygiène ou une surpopulation augmente encore ce risque. (www.esccap.fr).

L'ALIMENTATION

Les habitudes alimentaires pourraient également être des facteurs de risque ; en effet les chiens qui chassent des rongeurs ou qui sont nourris avec de la viande, des abats ou des viscères crus sont plus fréquemment infestés par ce parasite. (www.esccap.fr).

LOCALISATION ET DEPLACEMENTS

La plupart des protozooses digestives sont largement répandues en Europe et les voyages ne présentent pas un facteur de risque plus important que les déplacements proches. (www.esccap.fr).

CHAPITRE 3

ETUDE CLINIQUE

I-PATHOLOGIE

1-SYMPTOMES ET LESIONS

La cryptosporidiose est le plus souvent asymptomatique et donc sous-estimée.

Lorsqu'elle est exprimée cliniquement par l'animal, les symptômes sont frustes. Elle peut engendrer une diarrhée de l'intestin grêle (fréquence normale des défécations mais dont le volume est augmenté) chronique ou intermittente, accompagnée d'un amaigrissement et dans les cas sévères une dysorexie chronique. Des vomissements ont été rapportés chez un chiot atteint d'une forme gastro-intestinale de cryptosporidiose. (Sisk et *al* 1984, Greene et *al* 1990, Barr 1997, Denholm et *al* 2001, Miller et *al* 2003, Lindsay et Zajac 2004).

Enfin une adénomégalie des nœuds lymphatiques mésentériques est rarement décrite.

L'examen histo-pathologique des intestins présente des lésions de nécrose et d'inflammation modérée, un élargissement des cryptes et une fusion des villosités. Ces lésions intéressent l'intestin grêle, sans distinction entre ses différentes portions, duodénum, jéjunum ou iléon. Dans la forme gastro-intestinale décrite par Miller et *al* (2003), l'estomac ne présente pas de lésions histologiques. (Wilson et *al* 1983, Willard et Bouley 1999).

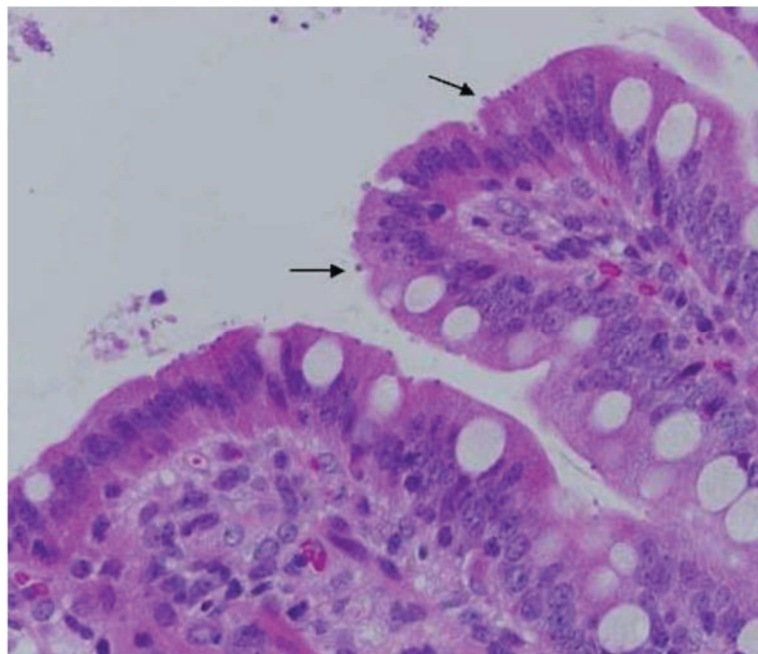


Figure 2 : Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin parasité par *Cryptosporidium parvum* (Source : NARO).

2-POUVOIR PATHOGENE

Tzipori et Ward (2002) ont décrit le pouvoir pathogène de *C. parvum*. Les cryptosporidies colonisent la bordure en brosse de l'intestin grêle, provoquant une diminution de surface d'épithélium mature, à l'origine d'un raccourcissement et de la fusion des villosités. Cela entraîne une diminution de l'absorption des fluides, des électrolytes et des nutriments. Néanmoins, les mécanismes précis par lesquels *Cryptosporidium* provoque une malabsorption, une diarrhée et un amaigrissement ne sont pas encore parfaitement élucidés.

Les mécanismes par lesquels *C. canis* engendre des symptômes chez le chien sont à l'heure actuelle inconnus. La dose infectante minimale chez le chien est aussi inconnue. Par contre chez l'homme, des infections expérimentales ont montré qu'entre 1 et 10 ookystes de *C. parvum* peuvent engendrer une cryptosporidiose.

En conclusion, les symptômes de la cryptosporidiose chez le chien sont inexistantes ou frustes quand ils sont présents. Les lésions occasionnées par cette infection entraînent des diarrhées chroniques ou intermittentes ainsi qu'un amaigrissement dont l'étiologie nécessite le recours aux examens complémentaires. (Okhuysen et al 1999).

II-DIAGNOSTIC

1-DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUE

Peu d'éléments épidémiologiques permettent de suspecter une cryptosporidiose. Les symptômes sont frustes et le plus souvent inexistantes.

Lors de diarrhée chronique, d'abattement, et d'amaigrissement, un examen coprologique peut être effectué pour rechercher d'éventuelles cryptosporidies.

Néanmoins, de nombreux chiens restent asymptomatiques et la recherche de cryptosporidies peut s'inscrire dans le cadre d'un dépistage systématique si l'animal appartient à des personnes dont le profil immunitaire est altéré par des affections immunodépressives. (Okhuysen et al 1999).

2-DIAGNOSTIC DE LABORATOIR (COPROSCOPIE)

A-LES TECHNIQUES DE CONCENTRATION

METHODE DE SEDIMENTATION

Ce sont des méthodes particulièrement intéressantes pour la recherche des éléments lourds, elles s'effectuent par une dilution fécale dans un liquide de densité inférieure à celle de ces éléments parasites, qui se concentrent par décantation. (Kamoun et Fredjville 2002).

METHODE DE FLOTTATION

C'est une méthode utilisée pour la recherche des éléments parasites légers, qui s'effectue par dilution fécale dans un liquide à densité supérieure à celui de ces derniers (les éléments parasites) qui se concentrent à la surface. Parmi lesquelles, on peut distinguer la technique de flottation dans une solution saturée. (Kamoun et Fredjville 2002).

B-LES TECHNIQUES DE COLORATION

Les techniques de coloration utilisées pour les ookystes de *Cryptosporidium spp* sont basées sur les propriétés de coloration alcool-acido-résistante de leur membrane. Ces techniques comprennent la technique de Ziehl-Nielsen modifiée (la plus utilisée), et la technique Kinyoun. La coloration est couramment utilisée dans les techniques de diagnostic puisqu'elle permet plus facilement de repérer les parasites, de reconnaître leur morphologie et de compter les ookystes. (Baillargeon 2004).

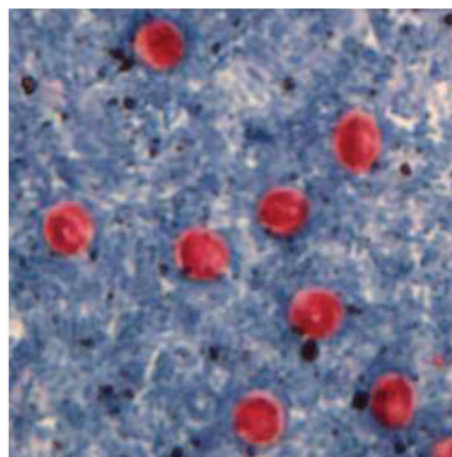


Figure 3 : Frottis fécal coloré par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée. Les ookystes de *Cryptosporidium spp* mesurent entre 4.2 et 5.4 μm . Les sporozoïtes peuvent être visibles dans certains ookystes et ils sont disposés en périphérie, chez l'espèce canine (Source : Internet «dpd.cdc.gov», Image provenant de l'Oregon State Public Health Laboratory).

C-LE MARQUAGE IMMUNOLOGIQUE

Différents tests ont été commercialisés à l'attention des vétérinaires afin de diagnostiquer une cryptosporidiose.

Ils reposent sur des méthodes d'immunofluorescence direct ou de méthode ELISA.

Ces tests développés pour détecter *Cryptosporidium parvum* dans des échantillons de selles, permettent aussi de mettre en évidence les autres espèces de Cryptosporidies et notamment *C. canis* ou *Cryptosporidium felis* (Graczyk et al 1996, Mtambo et al 1992, Kim et al 1998).

Il est cependant nécessaire en cas de positivité du test ELISA d'effectuer un examen coprologique conventionnel car les tests ELISA créent de nombreux faux-positifs. En effet, ce test crée de nombreux faux positifs pour des échantillons de selles, dépourvus de Giardia ou cryptosporidies, mais contenant des ookystes de coccidies. (Johnston et al 2003, Cirak et Bauer 2004).

Néanmoins, l'avènement des techniques moléculaires tels que la PCR a permis d'obtenir une meilleure sensibilité des tests diagnostiques en comparaison avec les tests ELISA ou IFA, et ces nouveaux tests PCR-RFLP permettent de faire la distinction entre différentes espèces de *Cryptosporidium* : *C. felis*, *C. canis*, *C. hominis* ou *C. parvum*. (Lindegard et al 2003).

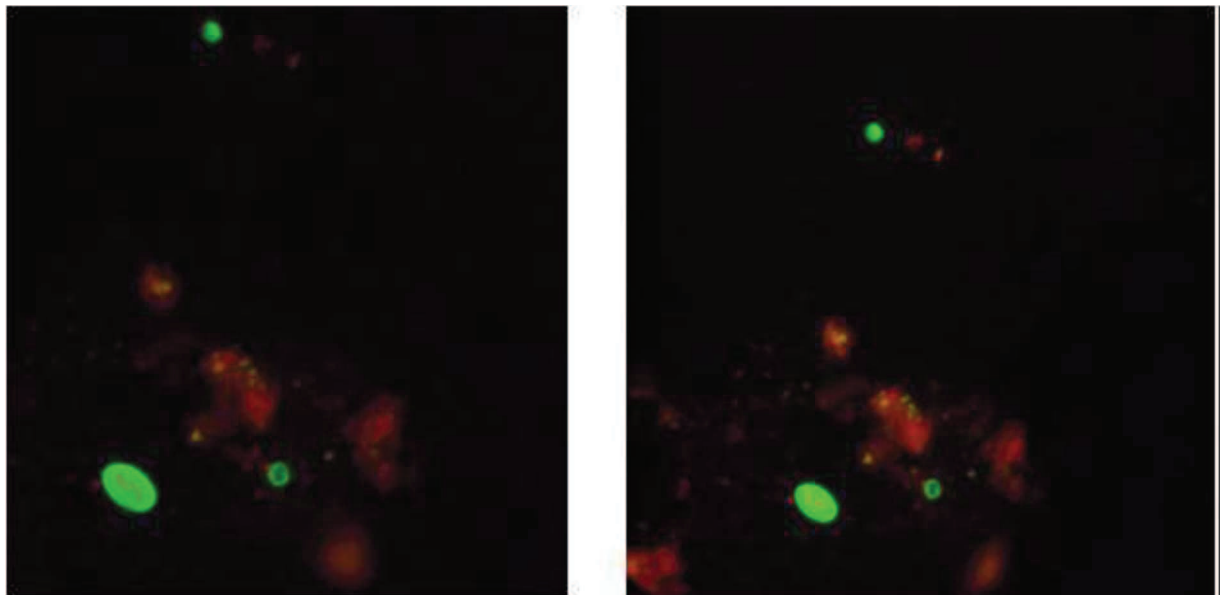


Figure 4 : Oocystes de *Cryptosporidium* spp (petits éléments verts) et kystes de Giardia (éléments verts de taille moyenne) observés en immunofluorescence après concentration des oocystes (concentration à l'acétate d'éthyle) (X400). (Anses Laboratoire de Niort).

D-LE MARQUAGE MOLECULAIRE

Le diagnostic moléculaire par l'utilisation de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) est la technique la plus efficace et cela, autant pour les études cliniques que pour les études environnementales. Cette technique, mise au point par Dr Kerry Mullis, se base sur l'amplification d'un fragment spécifique d'ADN. L'ADN amplifié peut ensuite être visualisé sur gel d'agarose et étudié par différentes techniques telles que l'hybridation, l'analyse des RFLP ou encore le séquençage direct. (Voet 1998, Kaushik et al 2008).

L'amplification exponentielle du locus choisi permet à la PCR de détecter des séquences cibles présentes en nombres extrêmement faibles dans un échantillon. Cela en fait une méthode très sensible. Cependant, une étude menée par Webster et collaborateurs (1996) montre qu'un seuil minimal de 1 600 ookystes par gramme de matières fécales doit être atteint pour que la PCR détecte le protozoaire. De plus, l'extraction d'ADN et son amplification sont plus ardues lorsque les échantillons proviennent de matières fécales et de l'environnement. Les échantillons provenant de matières fécales et de l'environnement contiennent des substances inhibitrices de la « Taq polymérase ». En effet, une faible concentration de bile, de bilirubine et des polysaccharides complexes en provenance des matières fécales peuvent inhiber l'activité de la « Taq polymérase » et donc la PCR. (Widjojoatmodjo et al 1992, Monteiro et al 1997).

La technique de séparation immunomagnétique (IMS) couplant des billes magnétiques à un anticorps, permet de se débarrasser des impuretés qu'elles soient biologiques, particulières ou chimiques. (Webster et al 1996, Baillargeon 2004).

Il existe plusieurs variantes de techniques moléculaires conduisant à une grande variété d'applications. Les techniques suivantes ont été utilisées pour le dépistage de *Cryptosporidium spp*

E-LA COMPARAISON DE CES TECHNIQUES

A l'exception de la PCR, technique trop lourde, toutes ces méthodes sont indiquées dans la recherche des ookystes de cryptosporidies dans les fèces des animaux et des humains diarrhéiques. Les techniques de flottation et de coloration unissent ou combinent le faible coût et la simplicité à une sensibilité suffisante pour ce type de recherche. (Tartera 2000).

Tableau 2 : Comparaison des méthodes d'identification des ookystes de *C. parvum*.
(Naciri et al 1999).

Méthode	Simplicité	Coût	Temps	Sensibilité	Fiable
ZIEHL-NELSEN	+++	+	++	++	+++
HEINE	+++	+	++	++	+++
Flottation	++++	+	+	+++	+++
ELISA	+	+++	+++	+++	+++
Immunofluorescence	+	+++	+++	+++	+++

Codification : + : moyen, ++ : bon, +++ : très bon, ++++ : excellent.

Les marquages immunologiques et la PCR autorisent la mise en évidence des porteurs asymptomatiques car leurs sensibilités est très bonne, mais de par sa simplicité et son faible coût, l'immunofluorescence semble être la technique de référence pour ce type de recherche. (Tartera 2000).

III-METHODE DE LUTTE

1-TRAITEMENT

Plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante. (Blagburn et Soave 1997).

La paromomycine (165mg/kg PO 5j) et le nitazoxanide (25mg/kg PO 28j) ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la cryptosporidiose chez des chats, faisant disparaître l'excrétion d'ookystes et la diarrhée associée. Ces traitements ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires et peuvent être à l'origine d'insuffisance rénale aiguë, si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcères par exemple. (Barr et al 1994, Gookin et al 1999,2001).

Le lactate d'halofuginone est utilisé uniquement chez les bovins. Actif sur les formes libres de *C. parvum*, il est administré dans les 24 à 48 heures suivant la naissance du veau et dans les 24 heures suivant l'apparition de la diarrhée. Cette molécule n'est pas utilisée chez les carnivores domestiques.

La clindamycine utilisée à la posologie de 15mg/kg PO toutes les 8 heures pendant 6 jours a été utilisée chez un Pointer de 5 ans, sans parvenir à endiguer l'excrétion d'ookystes.

La paromomycine a été utilisée chez un petit nombre de chiens atteints de cryptosporidiose. Son administration enraye l'excrétion d'ookystes en 5 jours. (Greene et *al* 1990, Barr et *al* 1994).

Finalement, seule la paromomycine, disponible en France pour le traitement des cryptosporidioses humaines, semble avoir un intérêt dans le traitement de la cryptosporidiose chez le chien. En dépit de son efficacité, l'administration de cet antibiotique aminoside nécessite une certaine prudence en raison de son utilisation hors-AMM et des risques de résistance que son utilisation chez nos animaux de compagnie pourrait provoquer.

2-PROPHYLAXIE

Aucune mesure préventive n'est recommandée de manière spécifique. Il reste cependant à appliquer des mesures de précaution, inhérentes à de bonnes pratiques d'élevages :

- Retrait immédiat des déjections.
- Isolement des animaux malades.
- Traitement et utilisation d'un lazaret pour les animaux malades et en particulier ceux présentant un syndrome diarrhéique.
- Nettoyage et désinfection des équipements et locaux contaminés.
- Élimination correcte des cadavres animaux.

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

I.OBJECTIF

Notre étude a été réalisée dans quelques régions de la daïra de Lakhdaria durant le printemps sur des chiens de ferme dont le but est de connaître l'incidence de la cryptosporidiose chez cette espèce et d'évaluer la prévalence de la maladie.

1. ZONE D'ETUDE

Les prélèvements ont été réalisés sur 29 chiens vivants dans des fermes, dont les élevages sont à vocation ovins, bovins et volailles. Les fermes sont situées dans des régions différentes de la daïra de Lakhdaria (WILAYA DE BOUIRA). (Figure 1)



Figure 1 : carte géographique de la wilaya de Bouira. (www.carte-algerie.com/plan-28807-wilaya-de-bouira.htm).

2. POPULATION ETUDIEE

La population cible est constituée de 29 chiens des 2 sexes, dont l'âge varie de 20 jours à 72 mois, de race berger allemand, rottweiler, commune, pitbull, non déparasités. Ils sont nourris à base des déchets de cuisine et des carcasses des volailles morts.



Photo 01 : promiscuité avec des volailles.



Photo 02 : promiscuité avec des ovins.

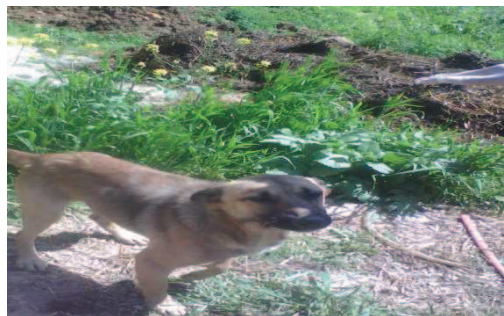


Photo 03 : chien de ferme.

(Photo personnelle, 2018)

II. MATERIELS ET METHODES

1. MATERIEL (VOIR L'ANNEXE)

2. RECOLTE DE PRELEVEMENT

Des échantillons fécaux de 29 chiens ont été récoltés dans le printemps et l'hiver dont 8 en hiver et 21 en printemps. Les échantillons ont été effectués directement dans le rectum, conservés dans des boîtes propres et hermétiquement fermées, portant des étiquettes avec les renseignements d'identification de chien.

La fiche de renseignement est établie pour chaque chien et comportant toutes les informations notamment l'âge, le sexe, la race, la date du prélèvement, la promiscuité avec d'autres espèces et la consistance des fèces (voir annexe).

Il est recommandé de les conserver au frais à (+4C°) et à l'abri de l'air pour éviter l'excystation prématurée des ookystes et réduire la multiplication bactérienne ou fongique pouvant gêner le traitement ultérieur. Les prélèvements ne doivent pas être congelés.

3. METHODE

3- A. LA TECHNIQUE UTILISEE

La technique utilisée pour la mise en évidence du *Cryptosporidium sp*, la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970) suivie par la coloration de ZIEHL- NEELSON modifiée par HENREKSEN et POHLENZ. C'est une technique de référence, qui est sensible, spécifique et donne des résultats fiables.

La technique de concentration a pour but de réunir dans un faible volume des parasites dispersés dans une masse de selle.

3-B. REACTIFS UTILISES (VOIR L'ANNEXE)

4. MODE OPERATOIRE

4- A. CONFECTION D'UN FROTTIS FECAL

- Le frottis doit être mince et adhérent à la lame.
- Étaler sur une lame préalablement numérotée et parfaitement dégraissée de façon à obtenir un frottis mince.
- Laisser sécher à l'air.

4- B. FIXATION ET COLORATION DE FROTTIS

- Avec un agitateur en verre, délayer progressivement 5 g de selles dans 2 à 3 fois leur volume avec le formol à 10%.
- Laisser sédimenter quelques minutes jusqu'à l'obtention d'un surnageant dépourvu de débris.
- Verser le surnageant dans 2 tubes coniques de 15 ml.
- Ajouter de l'éther : le 1/3 du volume décanté.
- Laisser environ 1 cm de l'ouverture du tube qui permet l'émulsion de matières fécales pendant l'agitation.
- Fermer le tube et agiter énergétiquement de façon à obtenir un liquide homogène.
- Centrifuger 5 mn à 2500 tours/mn.
- Après centrifugation : 4 couches :
 - Couche d'éther de couleur jaune.
 - Anneau constitué de gros débris.
 - Couche aqueuse.
 - Culot (les éléments parasitaires).
- Jeter énergétiquement le surnageant constitué par 3 couches.
- A l'aide d'une pipette Pasteur mélanger le culot.
- Etaler le frottis à l'aide d'une lame.
- Fixer au méthanol pendant 5 mn.
- Colorer les lames dans la fuchsine phéniquée pendant 1 h.
- Rincer à l'eau de robinet.
- Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant quelques secondes (80s).
- Rincer à l'eau de robinet.
- Contre colorer avec du vert de malachite pendant 10 mn.
- Rincer à l'eau de robinet.
- Laisser sécher et observer au microscope (X40 et X100 en utilisant l'huile à immersion).



Photo 04 : étalement de frottis.



Photo 05 : séchage à l'air.

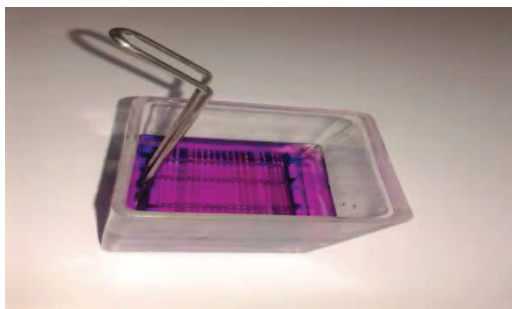


Photo 06 : fixation au méthanol pendant

5mn



Photo 07 : colorer dans la fuchsin

phéniquée pendant 1 h

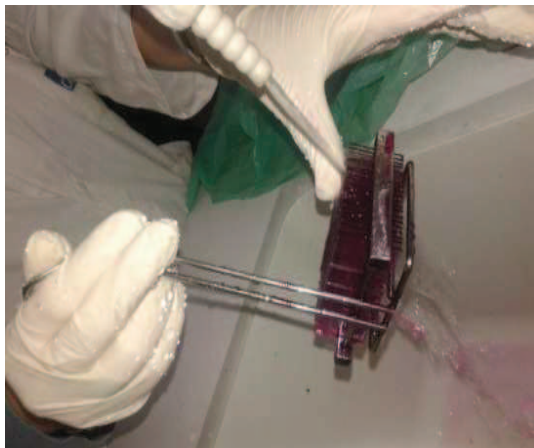


Photo 08 : rincer à l'eau



Photo 09 : différencier avec l'acide

Sulfurique à 2% pendant 1 h



Photo10 : rincer à l'eau.



Photo 11 : contre colorer au vert de Malachite à 5% pendant 10 mn



Photo12 : rincer à l'eau

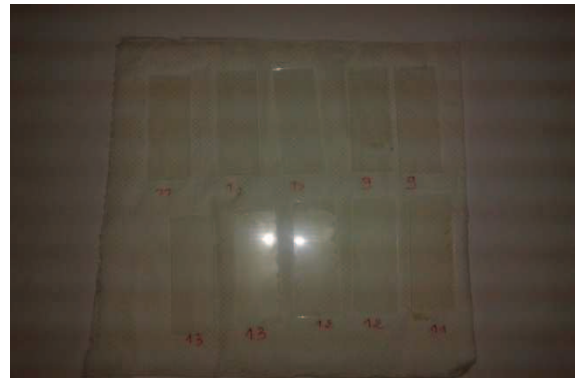


photo13 : sécher à l'air



Photo 14 : observation microscopique à immersion

LECTURE :

La lecture se fait au microscope optique à l'objectif G x 40 puis G x 100, avec huile à immersion à l'objectif en mettant au point sur le coin supérieur gauche, puis en déplaçant la lame régulièrement d'avant en arrière ou de haut en bas afin d'examiner la lame dans son entier d'une façon systématique.

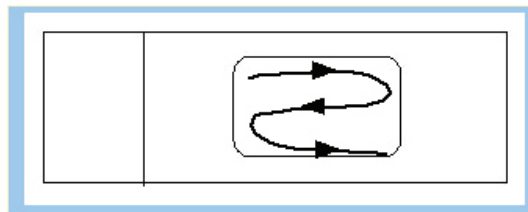


Figure 02 : technique d'observation au microscope.

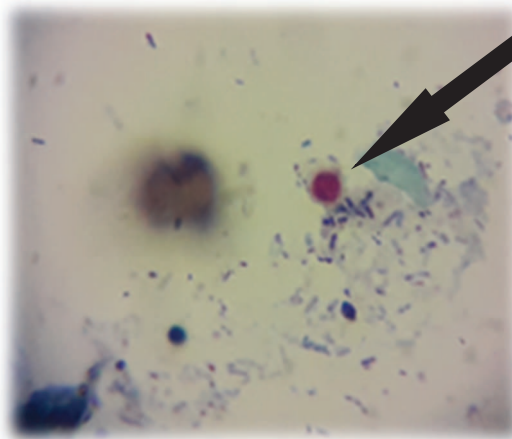


Photo 15 : oocyste de *Cryptosporidium sp* (photo personnelle).

III. RESULTAT ET DISCUSSION

1. RESULTAT

Tableau 1 : distribution des échantillons :

Espèce	Prélèvement	Contact avec autre espèces	Positifs	Fréquence
Canine	29	Bovins, ovins, volailles	12	41.3%

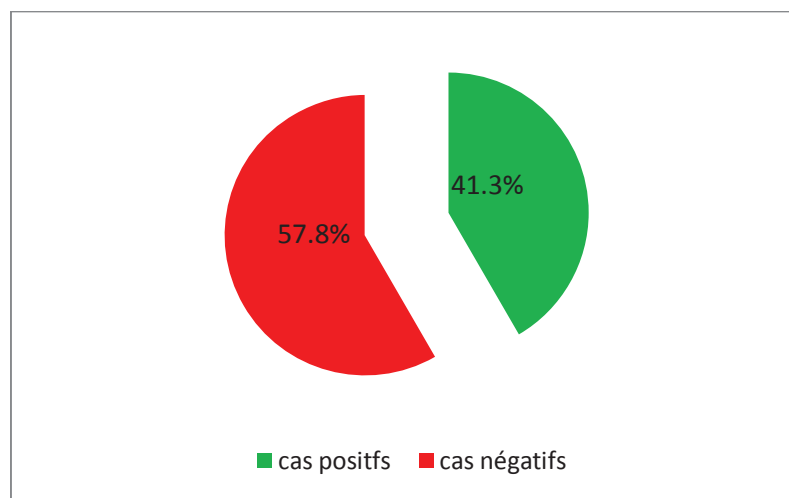


Figure 03 : distribution des échantillons analysés.

Sur les 29 échantillons prélevés, *Cryptosporidium sp* a été trouvé dans 12 échantillons, soit un taux de 41.3%.

Tableau 2 : distribution des échantillons selon le sexe :

Sexe	Nombre	Cas positifs	Fréquence
Male	22	7	31.8%
Femelle	7	5	71.4%

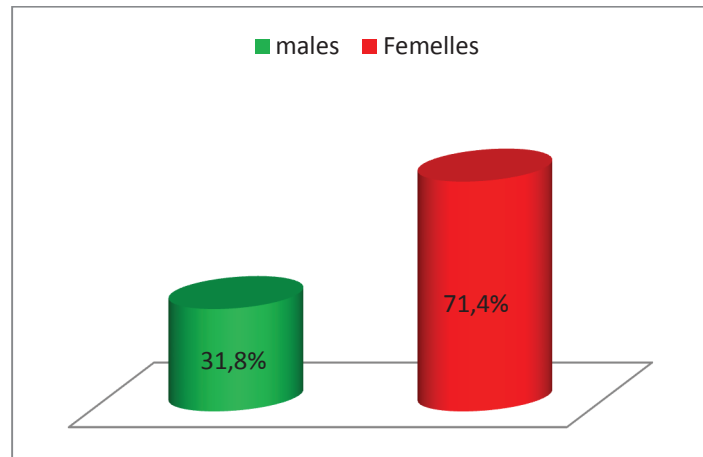


Figure04 : distribution des échantillons positifs selon le sexe.

Il semble que les femelles sont plus touchées que les males avec des taux de 71.4% et 31.8% respectivement.

Tableau 3 : distribution des échantillons selon la consistance :

Consistance	Prélèvements	Cas positifs	Fréquence
Diarrhéique	12	9	75%
Non diarrhéique	17	3	17.6%

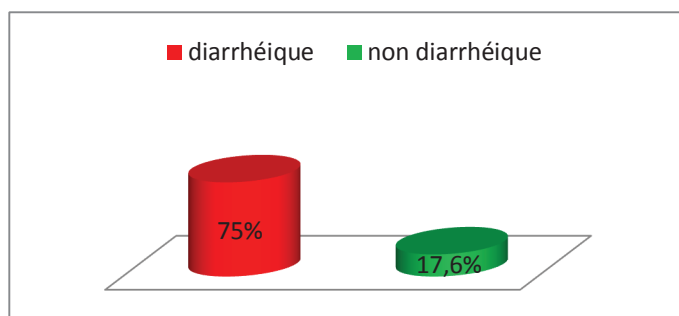


FIGURE 05 : distribution des échantillons selon la consistance.

Les échantillons diarrhéiques sont plus souvent infestés que les échantillons non diarrhéiques avec des taux respectivement 75% et 17.6%.

Tableau 4 : distribution des échantillons selon l'âge :

Age	Cas positifs	Fréquence
20 jours – 6 mois	2	66.6%
6 – 12 mois	2	33.3%
1 – 6 ans	8	40%

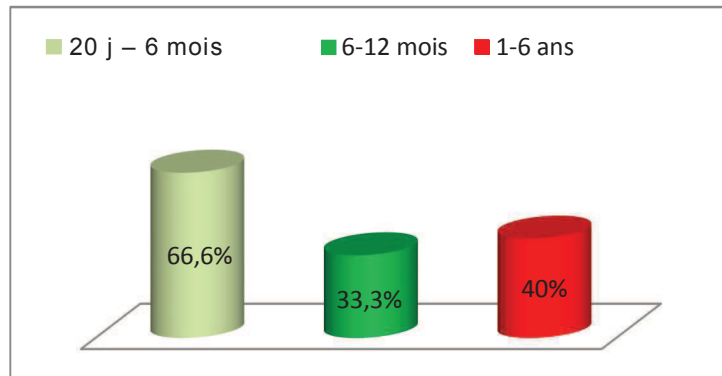


Figure 06 : distribution des échantillons selon l'âge.

La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 20 jours – 6 mois avec un taux de 66.6%. Puis, les chiens appartenant à la tranche d'âge 1- 6 ans avec un taux de 40%. Par contre les chiens appartenant à la tranche d'âge 6- 12 mois sont moins sensibles avec un taux de 33.3%.

Tableau 5 : distribution des échantillons selon la saison :

Saison	Cas positifs	Fréquence
Hiver	4	50%
Printemps	8	38%

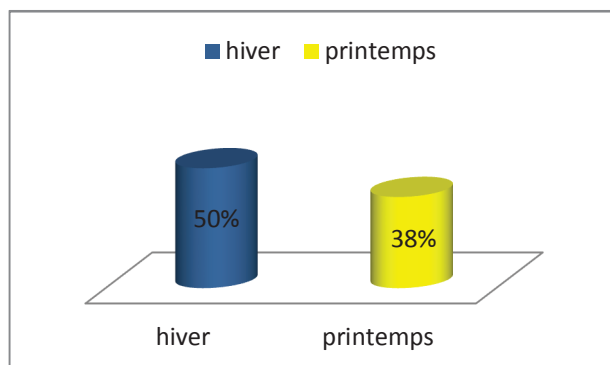


Figure 07 : distribution des échantillons selon la saison.

Il semble que les chiens sont plus touchés en hiver qu'en printemps avec des taux de 50% et 38% respectivement.

2. DISCUSSION :

Des études sur la cryptosporidiose chez le chien et la mise en évidence du parasite dans les matières fécales du chien sont rares en Algérie.

Selon Giangasper et al (2006), la promiscuité des élevages des ruminants, le mode d'élevage pratiqué, les eaux de ruissellement ainsi que la nature géologique des sols pouvant contribuer à contaminer l'environnement des élevages. Ces derniers sont des sources potentielles de *Cryptosporidium sp* auquel est sensible le chien. (Farrington M et al,1995).

Pour cela, nous avons réalisé cette étude qui consiste à la recherche du *Cryptosporidium sp* dans les matières fécales des chiens vivant dans les fermes appartenant aux élevages de bovins, ovins et volailles et attirer l'attention sur le danger du *Cryptosporidium sp* comme agent entéropathogène chez le chien et transmissible à l'homme.

À l'issue de notre étude, il ressort que le parasite a été identifié dans plusieurs fermes. En effet, sur les 29 échantillons prélevés et analysés après coloration de Ziehl- Neelsen modifiée, le *Cryptosporidium sp* a été trouvé dans 12 échantillons fécaux, soit un taux de 41,3%. Nos résultats sont élevés par rapport à ceux rapportés par Philipin G (QUEBEC, 2005) ; Rinadi et al (Italie, 2008) ; Dubna et al (République Tchèque, 2007) ; Ab et al (Japan, 2008) ; Juett et al (Kentucky, 1996), Causapé et al (Espagne, 1996) avec des taux variés entre 4,2 et 17%. En Corée une étude effectuée en 1998 sur des chiens de fermes enregistré un taux de 6,1%. (Tyzzer 1910, 1912, Ungar et al 1990, Xiao et al 1993, Webster et al 1996, Willard et Bouley, 1999, Tzipori et Ward 2002).

À l'opposé, en 2007 Thomaz et al, lors d'une étude sur 9 chiens au Brésil, ont trouvé une prévalence de *Cryptosporidium sp* égale à 100%. Nos résultats sont supérieurs aux premiers et inférieurs à ce dernier.

Nos résultats soulignent que les femelles sont plus infectées que les males avec des taux 71.4% et 31.8% respectivement ce qui n'a pas été montré dans les travaux effectués par Hammes et al (2007) ; Mundim et al (2007) tout en expliquant que la prévalence ne varie pas avec le sexe de

l'animal. Cependant, on ne peut pas considérer que le sexe est un facteur qui influence la réceptivité et la sensibilité au *Cryptosporidium sp.* (Giangaspero et al 2006).

À l'issu de notre étude, nous constatons que les échantillons diarrhéiques sont plus infectés que les échantillons non diarrhéiques avec des taux 75% et 17.6% respectivement. Selon, Causapé et al en 1996 expliquent que la prévalence du parasite est plus élevée chez les chiens diarrhéiques avec un taux de 30% par rapport aux chiens non diarrhéiques avec un taux de 4.2%. (Ungar et al 1990).

Concernant nos résultats, la présence de parasite n'est pas reliée à la consistance des fèces, nous pouvons expliquer cela à l'état hygiénique des fermes, l'alimentation, la cohabitation avec d'autres espèces.

Durant notre étude, les chiens de plus d'un an sont plus touchés que les chiens de moins d'un an avec des taux de 40% et 33.33% respectivement. Ces taux sont bien plus grands que les résultats de Lallo et Bandan (2007) qui ont enregistré un taux de 5.5% pour les chiens âgés de moins d'un an et 9.3% pour les chiens de plus d'un an (Webser 1993). L'âge pourrait jouer un rôle dans l'apparition de la maladie. Selon Day (2007), la production des anticorps commence à l'âge de 5 à 6 semaines, et l'animal n'est immunocompétent que vers l'âge de 3 mois, totalement protégés vers un an. (Wilson et al 1983).

Le regroupement de tous les facteurs liés à l'espèce canine (l'âge, statut immunitaire) et les facteurs liés au l'environnement (état hygiénique, promiscuité avec d'autre espèce, mode d'élevage...) conditionne la propagation et le développement de la maladie

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Les résultats obtenus nous ont permis de préciser l'incidence et la fréquence de la maladie chez le chien et d'enregistrer quelques données épidémiologiques chez ce dernier.

À l'issue de notre enquête, on souligne la présence du *Cryptosporidium sp* dans 12 échantillons considérés positifs sur un total de 29 échantillons avec un taux de 41.3%, qui reste un taux important sachant que la cryptosporidiose est une zoonose pouvant être mortelle chez les individus immunodéprimés.

L'infection à *Cryptosporidium sp* est souvent asymptomatique. Son importance ne réside pas dans son caractère infectieux, mais surtout la possibilité de contamination de l'Homme, facilitée par la promiscuité entre les deux espèces.

Les chiens âgés de moins de 6 mois sont plus exposés au risque de contamination par *Cryptosporidium sp*. Toutefois, le nombre des échantillons étudiés (29) reste assez faible pour faire une recherche statistiquement significative.

Alors, il est préférable de faire une recherche sur une population canine plus grande pour gagner la crédibilité de la statistique.

RECOMMANDATIONS

La mise en œuvre d'un système de prophylaxie basé sur la désinfection de milieu extérieure pour réduire les sources d'infection devient nécessaire pour lutter contre la propagation de la maladie, pour cela, il est recommandé de :

- Séparer des espèces car une espèce différente peut être source pour les chiens.
- Hygiène générale stricte pour limiter l'ingestion de kystes qui seraient retrouvés dans le milieu.
- Lorsqu'un cas est diagnostiqué, isoler l'animal et décontaminer à la vapeur sous pression son environnement.
- Lavage des mains lors de manipulation d'un chien

ANNEXES

Tableau 1 : Matériels et les réactifs utilisés dans notre travail expérimental sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Matériels	Réactifs
Récipients secs stériles.	Formol à 10%.
Verre à pied et bicher.	Fuchsine phéniquée.
Bacs de coloration.	Vert de malachite à 5%.
Tubes coniques et portoirs.	Méthanol.
Pipette Pasteur.	Acide sulfurique a 2%.
Lames et lamelles/ porte lame.	Huile à immersion.
Gants.	Ether.
Minuterie.	
Agitateur.	
Centrifugeuse.	
Microscope optique.	



Récipients secs stériles



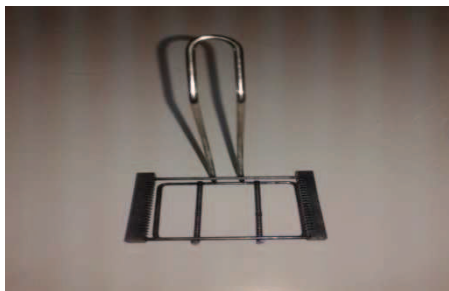
Bac pour coloration



Verre à pied



Lames et lamelles



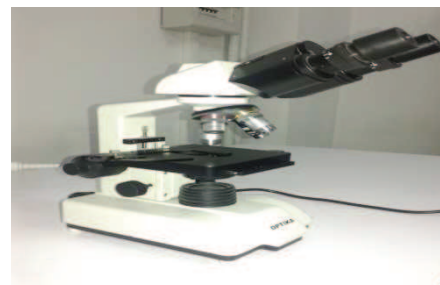
Porte lame



Centrifugeuse



Pipette graduée



Microscope optique



Méthanol



Acide sulfurique à 2%



Vert de malachite



Formol 10%



Huile à immersion

Tableau 2 : Identification des prélèvements et résultat d'analyse :

	Age	Sexe	Race	Consistance	Saison	Résultats	Promiscuité avec d'autres espèces
N° :1	60 mois	M	Commune	D	Hiver	+	Volailles
N° :2	48 mois	F	Commune	D	Hiver	+	Bovins, ovins
N° :3	11 mois	M	Commune	D	Hiver	+	Volailles
N° :4	24 mois	M	Commune	ND	Hiver	+	Volailles
N° :5	09 mois	M	Boxer	ND	Hiver	-	Bovins, ovins
N° :6	40 mois	M	Berger allemand	ND	Hiver	-	Bovins
N° :7	30 mois	M	Commune	D	Hiver	-	Ovins
N° :8	48 mois	M	Commune	ND	Hiver	-	Ovins
N° :9	24	M	Boxer	ND	Printemps	+	Bovin

	mois						
N° :10	18 mois	F	Berger allemand	D	Printemps	+	Bovins, ovins
N° :11	40 mois	M	Commune	ND	Printemps	+	Bovins
N° :12	09 mois	F	Commune	D	Printemps	+	Volailles
N° :13	05 mois	F	Berger allemand	D	Printemps	+	Volailles
N° :14	24 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Ovins, bovins
N° :15	05 mois	F	Berger allemand	D	Printemps	+	Ovins
N° :16	36 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Ovins
N° :17	12 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Bovins
N° :18	60 mois	M	Commune	D	Printemps	+	Ovins
N° :19	48 mois	M	Boxer	ND	Printemps	-	Volailles

N° :20	20 jours	M	Pitbull	ND	Printemps	-	Bovins
N° :21	24 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Ovins
N° :22	11 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Ovins
N° :23	60 mois	F	Commune	D	Printemps	+	Ovins, bovins
N° :24	36 mois	M	Rottweiler	D	Printemps	-	Volailles
N° :25	17 mois	F	Berger allemand	D	Printemps	-	Bovins, ovins
N° :26	24 mois	M	Berger allemand	ND	Printemps	-	Bovin
N° :27	30 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Volailles
N° :28	48 mois	M	Commune	ND	Printemps	-	Volailles
N° :29	07 mois	F	Commune	ND	Printemps	-	Volailles

D : diarrhérique ND : non diarrhérique M : male F : femelle.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

- 1- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2002). Rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp* », -185p.
- 2- Baillargeon, J., 2004, Étude sur la contamination du colostrum bovin par des ookystes de *Cryptosporidium parvum*. Mémoire de maîtrise. Université de Montréal.
- 3- BARR S.C., GUILFORD W.G., JAMROSZ G.F. et al. (1994) Paromomycin for the treatment of *Cryptosporidium* in dogs and cats. *J.Vet.Int.Med.*, 8 : 177.
- 4- BARR S.C., JAMROSZ G.F., HORNBUCKLE W.E., BOWMAN D.D., FAYER R. (1994) Use of paromomycin or treatment of cryptosporidiosis in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 205 :1742-1743.
- 5- BARR F. (1997) Cryptosporidiosis. *J. Small Anim. Pract.*, 38 (7) : 319-320.
- 6- BARTA R.J. and ANDREW THOMPSON R.C. (2006) What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in parasitology*, 22(10) : 463-468.
- 7- BLAGBURN B.L. et SOAVE R. (1997) Prophylaxis and chemotherapy : human and animal. In : *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*, 1st Ed. CRC press, 111-128.
- 8- Casemore, D.P., Armstrong, M., Sands, R.L., 1985. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J. Clin. Pathol.* 38, 1337-1341.
- 9- CAUSAPE A.C., QUILEZ J., SANCHEZ-ACEDO C., DEL CACHO E. (1996) Prevalence of intestinal parasites, including *Cryptosporidium parvum*, in dogs in Zaragoza city, Spain. *Vet. Parasitol.*, 67 : 161-167.
- 10- Chalmers RM, Giles M (2010) Zoonotic cryptosporidiosis in the UK-challenge for control. *J Appl Microbiol* 109:1487-1497.
- 11- CIRAK V.Y. et BAUER C. (2004) Comparison of conventional coproscopical methods and commercial coproantigen ELISA kits for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dogs and cats. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.*, 117 : 410-413.
- 12- Current, W. L., Reese, N. C., Ernst, J. V., Bailey, W. S., Heyman, M. B., Weinstein, W. M., 1983, *Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: studies of an outbreak and experimental transmission*. *The New England Journal of Medicine* 308, 1252-1257.
- 13- DENHOLM KM, HAITJEMA H, GWYNNE BJ, MORGAN UM et IRWIN PJ (2001) Concurrent *Cryptosporidium* and parvovirus in a puppy. *Aust. Vet. J.* , 79 : 98-101.

- 14-** DEROUIN F., ELIASZEWICZ M., POUILLOT R., ROZE S. (2002) Rapport sur les «Infections protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp.* » AFSSA [<http://www.afssa.fr/Documents/EAUX-Ra-Crypto.pdf>] (consulté le 13 novembre 2007)
- 15-** FARRINGTON M.; LLOYD S.; WINTERS S.; SMITH J.; RUBENSTEIN D.: patterns of *Cryptosporidium* antigen and oocyst excretion in calves studied by reverse passive haemagglutination and light microscopy. *Veterinary Parasitology*, 1995, 60:7-16.
- 16-** FAYER R, UNGAR BL (1986). *Cryptosporidium spp* and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.*, 50 (4), 458-483.
- 17-** FAYER R, MORGAN U, UPTON SJ (2000). Epidemiology of *Cryptosporidium* : transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, 30, 1305-1322.
- 18-** Fayer, R., Xiao, L., 2007. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. second ed. CRC Press, Boca Raton.
- 19-** Feng Y, Ortega Y, He G, Das P, Xu M, Zhang X, Fayer R, Gatei W, Cama V, Xiao L (2007) Wide geographic distribution of *Cryptosporidium parvum* and deer like genotype in bovines. *Vet Parasitol* 144:1-9.
- 20-** FUKUSHIMA K., HELMAN R.G. (1984) Cryptosporidiosis in a pup with distemper. *Vet. Pathol.*, 21 : 247-248.
- 21-** Geurden, T., Berkvens, D., Martens, C., Casaert, S., Vercruyse, J., Claerebout, E., 2007. Molecular epidemiology with subtype analysis of *Cryptosporidium* in calves in Belgium. *Parasitology*. 134, 1981-1987.
- 22-** GIANGASPERO A., IORIO R., PAOLETTI B., TRAVERSA (D), CAPELLI G (2006) Molecular evidence for *Cryptosporidium* infection in dogs in central Italy. *Parasitol. Res.*, 99:297-299.
- 23-** GOOKIN J.L., LEVY M.G., LAW J.M., PAPICH J.M., POORE M.F., BREITSCHWERDT E.B. (2001) Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *Am. J. Vet. Res.*, 62 : 1690-1697.
- 24-**GOOKIN J.L., RIVIERE J.E., GILGER B.C., PAPICH M.G.(1999) Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *J. Am.Vet.Med.Assoc.*, 215 : 1806, 1821-1823.
- 25-**GRACZYK T.K., CRANFIELD M.R., FAYER R.(1996) Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescent antibody (FA) test kits for detection of *Cryptosporidium* oocysts of species other than *C. parvum*. *Am.J.Trop. Med.Hyg.*, 54 : 274-279.
- 26-** GREENE CE, JACOB GJ, PRICKETT D. (1990) Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*,197 : 365-367.

- 27-** GREENE CE, JACOB GJ, PRICKETT D. (1990) Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*,197 : 365-367.
- 28-** HIJJAWI N.S., MELONI B.P., NG'ANZO M., RYAN U.M., OLSON M.E., COX P.T. et al. (2004) Complete development of *Cryptosporidium parvum* in host cell-free culture. *Int. J. Parasitol.* 34 : 769–777
- 29-** JOHNSTON S.P., BALLARD M.M., BEACH M.J., CAUSER L., WILKINS P.P. (2003) Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 41(2) : 623-626
- 30-** KAMOUN .P et FREDJVILLE.S, (2002) : Guide de laboratoire. 4eme edition Flammarion, 1438 P
- 31-** Kaushik, K., Khurana, S., Wanchu, A., Malla, N., 2008, Evaluation of staining techniques, antigen detection and nested PCR for the diagnosis of cryptosporidiosis in HIV seropositive and seronegative patients. *Acta Tropica* 107, 1-7.
- 32-** KIM J.T., WEE S.H., LEE C.G. (1998) Detection of *Cryptosporidium* oocysts in canine fecal samples by immunofluorescence assay. *Korean J. Parasitol.*, 36 : 147-149.
- 33-** KIRKPATRICK C.E., DUBEY J.P.(1987) Enteric coccidial infections. *Isospora*, *Sarcocystis*, *Cryptosporidium*, *Besnoitia*, and *Hammondia*. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 17(6) : 1405-1420.
- 34-** LINDEGARD G., NYDAM D.V., WADE S.E., et al. (2003) A novel multiplex polymerase chain reaction approach for detection of four human infective *Cryptosporidium* isolates : *Cryptosporidium parvum*, types H and C, *Cryptosporidium canis*, and *Cryptosporidium felis* in fecal and soil samples. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 15 : 262-267.
- 35-** LINDSAY D.S., ZAJAC A.M. (2004) *Cryptosporidium* infections in cats and dogs. *Compend.Cont.Educ.Pract.Vet.*, 26(11) : 864-874.
- 36-** Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E., Kazmierczak, J. J., Addiss, D. G., Fox, K. R., Rose, J. B., Davis, J. P., 1994, A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *The New England Journal of Medicine* 331, 161-167.
- 37-** MILLER D.L., LIGGETT A., RADZ.A., BRANCH L.O. (2003) Gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. *Vet. Parasitol.*, 115 : 199-204.
- 38-** Monteiro, L., Bonnemaïson, D., Vekris, A., Petry, K. G., Bonnet, J., Vidal, R., Cabrita, J., Megraud, F., 1997, Complex polysaccharides as PCR inhibitors in feces: *Helicobacter pylori* model. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 4: 995-998.

- 39-** MTAMBO M.M., NASH A.S., BLEWETT D.A., WRIGHT S. (1992) Comparison of staining and concentration techniques for detection of *Cryptosporidium* oocysts in cat faecal specimens. *Vet. Parasitol.*, 45 : 49-57.
- 40-** NACIRI M.; LEFAY M.P MANCASSOLA R.; POIRIER P., CHERMETTE R : role of *cryptosporidium parvum* in neonatal diarrhea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary Parasitology*, (1999), 85.245-257.
- 41-** Nime, F. A., burek J. D., Page D., Holsher M. A., Yardley J. H., 1976, Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology* 70, 4: 592-598.
- 42-** O'DONOGHUE PJ (1995). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. *Int. J. Parasitol.*, 25, 139-195.
- 43-** OKHUYSEN PC, CHAPPELL CL, CRABB JH, STERLING C.R., DUPONT H.L. (1999) Virulence of three distinct *C. parvum* isolates for healthy adults. *J. Infect. Dis.*, 180 : 1275-1281.
- 44-** SCORZA A.V., BREWER M.M., LAPPIN M.R.(2003) Polymerase chain reaction for the detection of *Cryptosporidium spp.* in cat faeces. *J. Parasitol.*, 89 : 423-426.
- 45-** SISK D.B., GOSSER H.S., STYER E.L., BRANCH L.O. (1984) Intestinal cryptosporidiosis in two pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184(7) : 835-836.
- 46-** Slavin, D., 1955, *Cryptosporidium meleagridis sp. nov.* *Journal of Comparative Pathology* 65, 3: 262–266.
- 47-** Smith, H.V., Caccio, S.M., Cook, N., Nichols, R. A., Tait, A., 2007. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet. Parasitol.* 149, 29-40.
- 48-** TARTERA M.: Quand suspecter la cryptosporidiose ? *La semaine veterinaire*, 2000, 971. 40-42
- 49-** TURNWALD G.H., BARTA O., TAYLOR W., KREEGER J., COLEMAN S.U., POURCIAU S.S. (1988) Cryptosporidiosis associated with immunosuppression attributable to distemper in a pup. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 192 : 79-81.
- 50-** Tyzzer, E. E., 1907, A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 5, 12-13.
- 51-** Tyzzer, E. E., 1912, *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Archiv für Protistenkunde* 2, 6: 394- 412.
- 52-** TYZZER E.E: An extracellular *Coccidium*, *Cryptosporidium muris* of the gastric glands of the common mouse. *F.Med.Res.*, (1910) 23, 487-509.

- 53-** TYZZER E.E: *Cryptosporidium parvum* (sp.nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch .prostistenkd., 26:394-516. (1912).
- 54-** TZIPORI S, WARD H. (2002) cryptosporidiosis: biology,pathogenesis and disease. *Microbes infect*, 4: 1047-1058.
- 55-** TZIPORI S, WARD H. (2002) Cryptosporidiosis : biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect.*, 4 : 1047-1058.
- 56-** UNGAR B.L.P et al., *Cryptosporidium* infection in immunodeficient hosts. *Infect.immun.*,(1990), 58(4), 961-969.
- 57-** Voet, D., Voet, J. G., 1998, Biochimie. De Boeck, Paris.
- 58-** Weber, R., Bryan, R. T., Bishop, H. S., Wahlquist, S. P., Sullivan, J. J., Juranek, D. D., 1992, Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens: evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. *Journal of Clinical Biology* 27, 7: 1323-1327.
- 59-** Webster, K. A., Smith, H. V., Giles, M., Dawson, L., Robertson, L. J., 1996, Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in faeces: Comparison of conventional coproscopical methods and the polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology* 61, 1-2: 5-13.
- 60-** Widjojoatmodjo, M. N., Fluit, A. C., Torensma, R., Verdonk, G. P., Verhoef, J., 1992, The magnetic immuno polymerase chain reaction assay for direct detection of salmonellae in fecal sample. *Journal of Clinical Microbiology* 30, 12: 3195-3199.
- 61-** WILLARD M.D., BOULEY D. (1999) Cryptosporidiosis, coccidiosis, and total colonic mucosal collapse in an immunosuppressed puppy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 35 : 405-409.
- 62-** WILSON R.B., HOLSCHER M.A., LYLE S.J. (1983) Cryptosporidiosis in a pup *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 183 : 1005-1006.
- 63-** WEBSTER K.A; SMITH H.V.; GILES M.; DAWSON L.; ROBERTSON L.J.: Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in faeces: comparison of conventional corposcopical methods and the polymerase chain reaction *Veterinary Parasitology*, 1996, 61.5-13.
- 64-** WEBSTER K.A: Molecular methods for the detection and classification of *Crypstosporidium* *Parasitology Today*. 1993, 9(7). 263-268.
- 65-** WILLARD M.D., BOULEY D. 1999cryptosporidiosis, and totalcolonic mucosal collapse in an immunosuppressed puppy. *J. Am. Hosp.Assoc.*, 35:405-409.
- 66-** WILSON R.B, HOLSCHER M.A., LYLE S.J (1983) cryptosporidiosis in a pup *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 183: 1005-1006.
- 67-** XIAO L. et al.: concurrent infections of Giardia and *Cryptosporidium* on two Ohio farms with Calf diarrhea. *Vet. Paras itol.*,1993,51,41-48.

