

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1

Institut des Sciences Vétérinaires



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

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

au niveau de Ruisseau des singes (Chrea) et Zoo du jardin d'essai (El Hamma)

Présenté par

BENALI SOUAD

RAHAL MOHAMMED AMINE

Devant le jury :

Président :	DJOUDI.M	M.A.A	ISV Blida
Examineur :	ZIAM.H	M.C.A	ISV Blida
Promoteur :	OUAKLI.N	M.A.A	ISV Blida

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice Dr Ouakli Nadia, son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail, à nos familles et à nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier tout le personnel de Zoo du Jardin d'essai d'El Hamma ainsi que celui du parc de Chrea.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

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

Ma petite sœur et mes chers frères pour ces encouragements indéfectibles.

Mon binôme « RAHAL MOHAMMED AMINE » et à toute sa famille.

Et à tous mes copines.

Tous mes amis d'ISV.

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

BENALI SOUAD

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'étude à :

Mes chers et respectueux parents en récompense de leurs sacrifices et leur clairvoyance qui m'a servi et me servirait tout au long de ma vie.

Mes chères sœurs

Ma binôme « BENALI SOUAD » et à toute sa famille.

Tous mes amis avec lesquels j'ai passé cinq années inoubliables.

Tous les enseignants d'ISV qui ont participé à ma formation durant mes cinqans, sans les nommer, car la liste est longue et le risque est grand d'en oublier un

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

RAHAL MOHAMMED AMINE

Résumé

La cryptosporidiose est une zoonose intestinale cosmopolite déjà connue en médecine vétérinaire mais qui a émergé en pathologie humaine depuis l'apparition de SIDA aux années 80. Cette zoonose opportuniste se caractérise par une symptomatologie clinique atypique qui varie selon le statut immunitaire du patient infecté, par un diagnostic biologique faisant appel à des méthodes spécifiques en coprologie et par l'absence jusqu'à nos jours de traitement efficace. Durant notre étude, nous nous sommes intéressées à la recherche de *Cryptosporidium sp* dans les matières fécales de singe dans la région d'Alger « El Hamma » et de Blida « Chrea ». Sur un total de 60 échantillons fécaux analysés par la technique de concentration suivie par la coloration de Ziehl Nelson modifiée, l'examen a révélé 5 échantillons positifs avec un taux de 8%.

Mots clés : *Cryptosporidium sp*, matière fécale, singe, Alger « El Hamma », Blida « Chrea », coloration de Ziehl Nelson modifié

Abstract

The cryptosporidiosis is a cosmopolitan intestinal zoonotic already known in veterinary but who emerged in human pathology since the appearance of AIDS in the 80s. This opportunist zoonosis is characterized by an atypical clinical symptomatology which varies according to the immunizing status of the infected patient, by a biological diagnosis appeal in specific methods there coprologie and by the absence until our days of effective treatment. During our study, we were interested in search of *Cryptosporidium* sp in the feces of monkey in the region of Algiers "El Hamma" and Blida "chrea" .total of 60 faecal samples analyzed by the technique of concentration followed by the tint of modified Ziehl Nelson, The examination revealed 5 positive samples with a 8 % rate.

Keywords: *Cryptosporidium* sp, feces, monkey, Algiers "El Hamma", Blida "chrea", tint of Modified Ziehl Nelson

ملخص

الكريبتوسبورديديوز هو طفيليات معوية ذات انتشار عالمي معروف في علم الطب البيطري وأيضاً ظهر في الباثولوجيا البشرية منذ ظهور اول حالة ايدز في الثمانينات. هذا الطفلي الانتهازي يتسم باعراض غير نوعية التي تتغير على حسب الحالة المناعية للمصاب بواسطة التشخيص البيولوجي داعيا الطرق المحددة التي تتمثل في عينات الفضلات وغياب العلاج الفعال .

اثناء دراستنا، قمنا بالتخصص في البحث عن الكريبتوسبورديديوز في براز القرد بمنطقة الجزائر العاصمة " الحامة " و البلدية على ما مجموعه 60 عينة تحليل فضلات بأسلوب يتمثل في تقنية التركيز يتعبه (التلوين) المعدلة زيال نالسن, كشف فحص عن 5 عينات إيجابية بنسبة 8% .

الكلمات الدالة : الكريبتوسبورديديوز، فضلات، القرد، الجزائر " الحامة " ، البلدية ، صبغة زيال نالسن.

Liste des photos

Photo 1 : Image au microscope électronique de trophozoïtes de *Cryptosporidium* localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc.

Photo 2: Image au microscope électronique d'un trophozoïtes en cours de mérogonie ou méronite immature.

Photo 3: Image au microscope électronique d'un méronite immature contenant des mérozoïtes.

Photo 4: Image au microscope électronique d'un macrogamonte.

Photo 5 : Image au microscope électronique d'un microgamonte.

Photo 6: Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoïtes matures.

Photo 7 : Observation de *cryptosporidium* sous microscope.

Photo 8 : Singe maguot.

Photo 9 : Laisser sédimenté.

Photo 10 : Versement de surnageant.

Photo 11 : l'ajout de l'éther.

Photo 12 : Placement des Tubes dans la centrifugeuse.

Photo 13 : Fixation au méthanol.

Photo 14 : Coloration dans la Fuschine.

Photo 15 : différencie dans acide sulfurique et contre coloré dans le vert de malachite

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes espèces de cryptosporidies.

Tableau 2 : Position taxonomique.

Tableau 3 : comparaison de la prévalence de la cryptosporidiose en France en fonction du type d'élevage.

Tableau 4 : Prévalence d'excrétion en fonction du statut clinique chez des veaux.

Tableau 5 : Distribution des échantillons analysés en fonction de la consistance.

Tableau 6 : Des échantillons analysés en fonction des cas positifs et négatifs.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle biologique de *Cryptosporidium parvum* d'après Ward et Cevallos (98).

Figure 2 : Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de *C. parvum* (Source : JENKINS *et al.*, 2010).

Figure 3 : Arrière-train souillé d'un chevreau atteint de cryptosporidiose (Source : GHECHAM sur le site internet VETOFOCUS).

Figure 4 : coloration d'oocystes de *Cryptosporidium* à l'auramine-rhodamine (Source : CENTRE FOR DESEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC)).

Figure 5 : coloration d'oocystes de *Cryptosporidium* à la fuschine (Source : MEYUS sur le site internet VETOFOCUS).

Figure 6 : Image d'oocystes de *Cryptosporidium* (en haut à gauche) révélés par des anticorps immunofluorescents (Source : CDC).

Figure 7 : Jardin botanique d'El Hamma.

Figure 8 : Ruisseau des singes (El Hamdania).

Figure 9 : Distribution des échantillons analysés en fonction de la consistance.

Figure 10 : Distribution des échantillons analysés en fonction des cas positifs et négatifs.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Dédicaces

Résumé

Abstract

Liste des photos

Liste des tableaux

LISTE DES FIGURES

Introduction.....	1
1. Généralités sur la cryptosporidiose :.....	3
1.1. HISTORIQUE :.....	3
1.1. TAXONOMIE :.....	5
1.1.1. Position taxonomique :.....	5
1.2. CYCLE EVOLUTIF :.....	6
1.2.1. Caractéristiques :.....	6
1.2.2. Déroulement du cycle :.....	7
1.2.2.1. Excystation :.....	7
1.2.2.2. Mérogonie :.....	8
1.2.2.3. Gamétogonie :.....	9
1.2.2.4. Sporogonie ou sporulation :.....	11
1.2.2.5. Survie dans le milieu extérieur :.....	11
1.3. Particularité du cycle de cryptosporidium :.....	12
1.4. Position dans la cellule-hôte :.....	12
1.5. Propriétés de l’ocyste :.....	13
1.5.1. Structure :.....	13
1.5.2. Résistance des oocystes :.....	14
1.5.2.1. Résistance dans l’environnement :.....	14
1.5.2.1.1. Résistance dans l’eau :.....	14
1.5.2.1.2. Résistance hors de l’eau :.....	15
1.5.2.2. Résistance aux procédés de désinfection :.....	16

1.5.3.	Transport mécanique dans le sol et par les hôtes :.....	16
1.1.	La répartition géographique et prévalence :.....	18
1.2.	Source de parasite :.....	19
1.2.1.	Les jeunes animaux du troupeau :	19
1.2.2.	Les mères :.....	19
1.2.3.	Animaux sauvages, rongeurs... :.....	20
1.2.4.	Eau :.....	20
1.3.	Mode de transmission :.....	20
1.4.	Critères de sensibilité de l'hôte :.....	21
1.4.1.	Espèce :.....	21
1.4.2.	Race :.....	21
1.4.3.	Age :.....	21
1.4.4.	Etat immunitaire :.....	21
1.5.	Les facteurs de risque :.....	22
1.5.1.	Saison :.....	22
1.5.2.	La densité animale :.....	22
1.5.3.	La conduite d'élevage :.....	22
1.5.4.	Le rôle de l'épandage du fumier :	23
2.	PHYSIOPATHOLOGIE :.....	23
3.	REPONSE IMMUNITAIRE A L'INFECTION :.....	23
4.	SIGNES CLINIQUES :.....	25
.	Signes cliniques chez les Ruminants :.....	25
5.	Lésions :.....	28
6.	PREVALENCE :.....	28
6.1.	Variation en fonction de l'âge :	28
6.2.	Variation en fonction du type d'élevage :.....	29
6.3.	Variation en fonction du statut clinique :.....	29
6.4.	Variation en fonction du pays :	30
7.	DIAGNOSTIC :.....	30
7.1.	Diagnostic épidémiologique et clinique :	30
7.2.	Diagnostic différentiel :	31
7.3.	Diagnostic de laboratoire :.....	31
7.3.1.	Microscopie conventionnelle :.....	31
7.3.2.	Méthodes de concentration :.....	31

7.3.3.	Méthode de coloration :.....	31
7.3.4.	Méthodes d'immunomarquage :	33
7.3.5.	Cytométrie de flux :.....	34
8.	OBJECTIF :.....	35
8.1.	ZONE D'ETUDE :.....	35
8.2.	Population étudiée :.....	35
9.	MATERIEL ET METHODES :.....	36
9.1.1.	MATERIEL :.....	36
9.1.2.	Réactifs utilisés :.....	36
9.2.	METHODES :.....	36
9.2.1.	Récolte des prélèvements :.....	36
9.2.2.	Technique de coloration :.....	36
9.2.3.	Mode opératoire :.....	37
10.	Lecture :.....	38
10.1.	Résultat Et Discussion :.....	38
10.1.1.	Résultats :.....	38
10.1.2.	Discussion :.....	41
	CONCLUSION	44
	RECOMANDATIONS.....	45
	Références bibliographiques :.....	46

Introduction

Les organismes du genre *Cryptosporidium* Tzar 1907 (Apicomplexa) sont des protozoaires entéroparasites ayant la capacité de parasiter un grand nombre de vertébrés appartenant aux classes des poissons, reptiles, oiseaux et mammifères, dont l'homme (O'Donoghue, 1995, Lindsay et al, 2000). Ces parasites ont été détectés lors d'infections naturelles chez 170 espèces vertébrées, et cela dans plus de 50 pays différents situés en zones tropicales tout comme en zones tempérées (O'Donoghue, 1995). Parmi les principales espèces du genre *Cryptosporidium*, on compte *C. parvum* (Tyzzer, 1912), *C. hominis* (Morgan-Ryan et al, 2002), *C. baileyi* (Current et al, 1986), *C. canis* (Fayer et al, 2001), *C. felis* (Iseki, 1979), *C. meleagridis* (Slavin, 1955), et *C. muris* (Tyzzer, 1907).

C. parvum, une espèce commune et peu spécifique a longtemps été considérée comme l'unique espèce responsable de la cryptosporidiose chez l'homme et chez les autres mammifères (Fayer et Xiao, 2008). On sait aujourd'hui qu'il existe plusieurs espèces différentes voire génotypes pouvant engendrer la pathologie chez l'homme. La cryptosporidiose cause principalement des problèmes diarrhéiques pouvant entraîner la mort chez des hôtes généralement immunodéficients.

Le parasite a une forme sphérique à elliptique et sa taille varie de 2 à 6 μm de diamètre ce qui est relativement petit par rapport aux autres coccidies (72). Il occupe une position dans la cellule épithéliale très particulière, en zone apicale, jamais en profondeur.

La position qu'occupe le genre *Cryptosporidium* dans la cellule est absolument unique (97) : le parasite est en **position intracellulaire mais extra cytoplasmique**.

La forme du parasite responsable de sa transmission, l'oocyste, se trouve dans les selles et dans l'environnement. L'oocyste possède une paroi épaisse, qui explique sa survie prolongée dans l'environnement et sa résistance aux produits de désinfection usuels, dont l'eau de Javel.

L'infection s'observe toute l'année, mais plus fréquemment pendant les mois chauds et humides.

La transmission chez les animaux peut se faire de manière directe, c'est-à-dire d'animal à animal, ou de manière indirecte par le biais de la nourriture, de l'eau, mais également du personnel s'occupant des animaux, des locaux ou du matériel utilisé... (FAYER *et al*, 2000).

La dose infectante serait très faible pour les jeunes ruminants en raison de leur sensibilité à l'infection par *Cryptosporidium* (FAYER, 2004).

La cryptosporidiose se manifeste par une diarrhée non sanguinolente, liquide ou mucoïde, parfois accompagnée de vomissements, d'anorexie, de douleurs abdominales, de fatigue et de fièvre, l'infection peut aussi être asymptomatique.

Des tests sur les selles doivent être faits et le parasite doit être trouvé dans les selles pour confirmer la maladie.

Toutes ces considérations ont motivé notre travail. Nous nous sommes donc intéressés aux moyens de rechercher les Cryptosporidies dans la matière fécale des singes.

Les objectifs de notre travail sont :

- Détecter la cryptosporidiose chez les singes par la recherche des cryptosporidies dans ces matières fécales.

1. Généralités sur la cryptosporidiose :

1.1. HISTORIQUE :

Le genre *Cryptosporidium* est décrit pour la première fois en 1907 par Tyzzer qui observe ce protozoaire parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*). Le parasite est considéré comme un nouveau genre de Sporozoaire et le genre *Cryptosporidium* qui signifie «sporocyste caché » est établi. L'espèce découverte est nommée *Cryptosporidium muris*. Cinq ans plus tard, Tyzzer découvre chez la souris également, une autre espèce du genre morphologiquement identique mais plus petite et localisée à l'intestin grêle : il s'agit de *Cryptosporidium parvum* (25).

En 1955, Slavin découvre l'importance pathogénique du genre : *Cryptosporidium meleagridis* est associé à une maladie clinique provoquant diarrhée et faible mortalité chez la dinde. Vingt ans plus tard, on retrouve le genre *Cryptosporidium* dans l'intestin de veaux diarrhéiques ce qui confirme le rôle pathogène potentiel du parasite. On considère aujourd'hui que l'espèce en cause était *Cryptosporidium parvum*.

En 1976, *Cryptosporidium sp* est mis en évidence chez deux patients humains présentant une diarrhée sévère. Un an plus tard, une nouvelle espèce est établie chez un serpent (9) : *Cryptosporidium serpentis*.

D'autres cas de cryptosporidiose humaine sont ensuite décrits essentiellement chez des patients immunodéprimés (immunodépression congénitale ou thérapie immunosuppressive). L'intérêt médical s'accroît quand la maladie touche des individus immunocompétents en contact étroit avec des veaux malades ainsi que des patients infectés par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) et ayant développé un SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) chez lesquels elle prend un caractère chronique et souvent mortel. Depuis la cryptosporidiose est reconnue comme une cause primaire, fréquente et grave de diarrhée chez de nombreux mammifères dont l'homme. Elle entre dans le domaine de la santé publique dans les années 90 quand plusieurs foyers causés par la consommation d'eau contaminée sont recensés (**Tableau 1**).

Tableau 1 : différentes espèces de cryptosporidies et leur date de découverte (11)

Espèces	Dates de découverte (1^{ère} publication)
<i>C. muris</i>	1910
<i>C. parvum</i>	1912
<i>C. meleagridis</i>	1955
<i>C. wrairi</i>	1971
<i>C. felis</i>	1979
<i>C. serpentis</i>	1980
<i>C. nasorum</i>	1981
<i>C. baileyi</i>	1986
<i>C. varanii</i>	1995
<i>C. saurophilum</i>	1998
<i>C. andersoni</i>	2000
<i>C. canis</i>	2001
<i>C. molnari</i>	2002
<i>C. hominis</i>	2002
<i>C. galli</i>	2003

1.1. TAXONOMIE :

1.1.1. Position taxonomique :

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

Depuis, une vingtaine d'espèces ont été découvertes mais certaines, incomplètement décrites, ne sont pas considérées comme valides aujourd'hui.

La taxonomie du genre n'est toujours ni complètement établie ni acceptée par l'ensemble des chercheurs.

La taxonomie des protozoaires en général est délicate car elle repose sur des critères parfois subjectifs, quand il n'y a pas de différences morphologiques visibles, ce sont les différences de distribution géographique, ce qu'est une espèce(39).

La taxonomie se doit d'évoluer et de prendre en compte à la fois des critères classiques morphologiques et biologiques et des critères plus récents moléculaires et génétiques (Tableau 2).

Tableau 2 : Position taxonomique (24,37)

Règne	Protiste	Eucaryote unicellulaire
Phylum	Protozoaire	Protiste a affinité animale, hétérotrophe
Embranchement	Apicomplexa (Sporozoa)	Parasite obligatoire, intracellulaire, complexe apical à certains stades (organe de pénétration dans la cellule hôte)
Classe	Coccidea	Reproduction sexuée et asexuée, formation d’oocystes
Ordre	Eimeriida	Macro et micro-gamontes se développent indépendamment, zygote non mobile
Famille	Cryptosporidiidae	Oocystes à 4 sporozoites nus, cycle monoxène
Genre	Cryptospridium	Le seul genre important

1.2. CYCLE EVOLUTIF :

1.2.1.Caractéristiques :

Toutes les espèces de *Cryptospridium* sont des parasites intracellulaires obligatoires (FAYER, 2004).

Le cycle du parasite est un cycle monoxène, ainsi toutes les étapes du développement interviennent chez un hôte unique (25).

Le cycle se déroule dans les cellules épithéliales de l’intestin ou du tractus gastro-intestinal plus généralement, cependant des localisations erratiques sont possibles comme l’arbre respiratoire, la vésicule biliaire, le foie ou le pancréas (11).

La période pré-patente, c’est-à-dire la durée s’écoulant entre le moment de l’ingestion des oocystes et leur excrétion, est comprise entre 3 et 5 jours mais elle peut durer de 2 à 14 jours

(25,11). La période patente, correspondant à la durée totale d'excrétion des oocystes, est comprise entre quelques jours et quelques mois. Cette grande variabilité est fonction de l'immunocompétence de l'hôte et de l'espèce de *Cryptosporidium* incriminée (25).

L'oocyste est le seul stade parasite retrouvé dans l'environnement. Après son ingestion par l'hôte, le cycle se déroule en différentes étapes (**Figure1**).

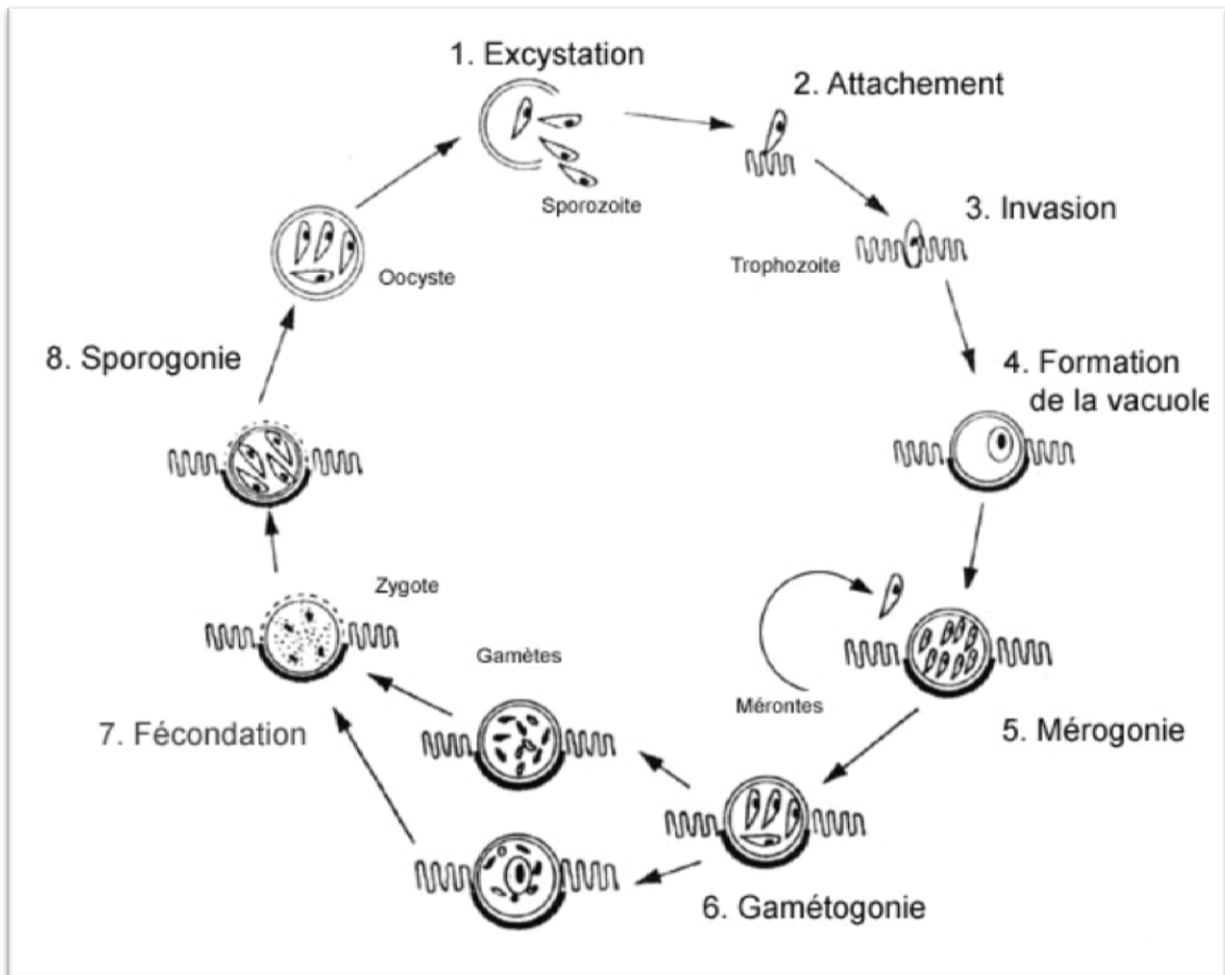


Figure 1 : Cycle biologique de *Cryptosporidium parvum* d'après Ward et Cevallos (39)

1.2.2. Déroulement du cycle :

1.2.2.1. Excystation :

L'oocyste à paroi épaisse est ingéré par l'hôte et subit une excystation dans l'iléon. Sous l'effet des conditions du milieu (température, présence de dioxyde de carbone, enzymes, sels biliaires, conditions réductrices), la paroi de l'oocyste est altérée et se fend libérant ainsi 4 sporozoïtes nus.

Les sporozoïtes s'attachent à la membrane apicale de la cellule épithéliale de la bordure en brosse et forment un trophozoïte (**Photo 1**) en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui lui confère une position intracellulaire mais extra cytoplasmique. Le trophozoïte ainsi formé possède d'organelles d'attachement avec le cytoplasme de la cellule-hôte participant notamment à sa nutrition (25,6).

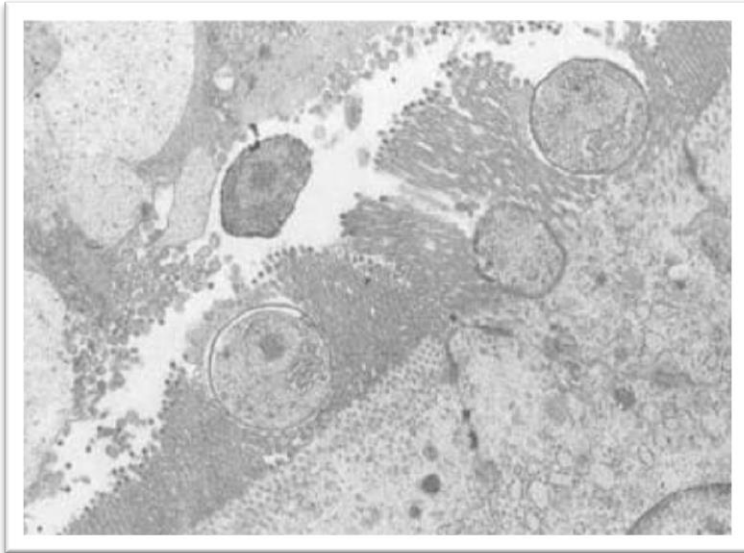


Photo 1 : Image au microscope électronique de trophozoïtes de *Cryptosporidium* localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc (24).

1.2.2.2. Mérogonie :

La première génération de reproduction asexuée transforme le trophozoïtes en mérontes ou schizontes de type **1** contenant chacun 6 ou 8 mérozoïtes arrangés parallèlement les uns aux autres (**Photo 2 et 3**). Une fois matures, les mérozoïtes sont libérés de la vacuole parasitophore et deux devenir sont alors possibles : soit les mérozoïtes envahissent les cellules épithéliales voisines formant ainsi des mérontes ou schizontes de types **2** contenant 4 mérozoïtes (2^{ème} génération de la reproduction asexuée), soit ils peuvent initier un cycle auto-infectieux réformant des mérontes de type **1** (25,6). Cette rétro-infection permet d'allonger la période d'excrétion, d'augmenter le nombre d'oocystes excrétés mais également la pathogénicité et ce même si un petit nombre d'oocystes a été ingéré initialement.

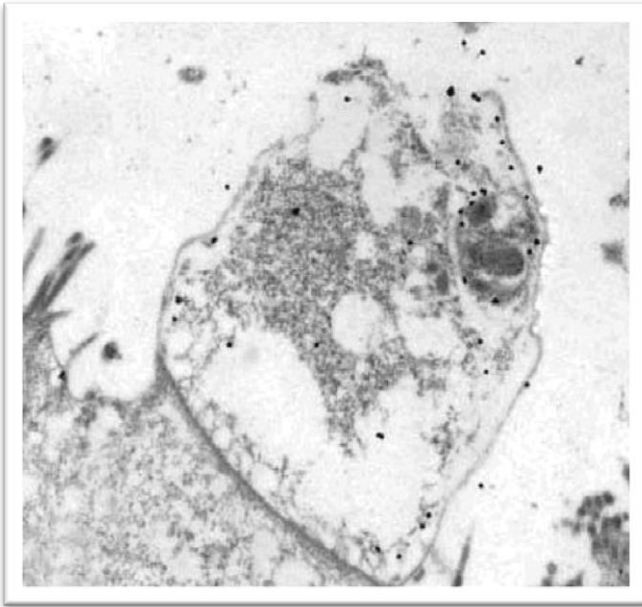


Photo 2: Image au microscope électronique d'un trophozoïte en cours de mérogonie ou méronite immature (Anonyme 2).

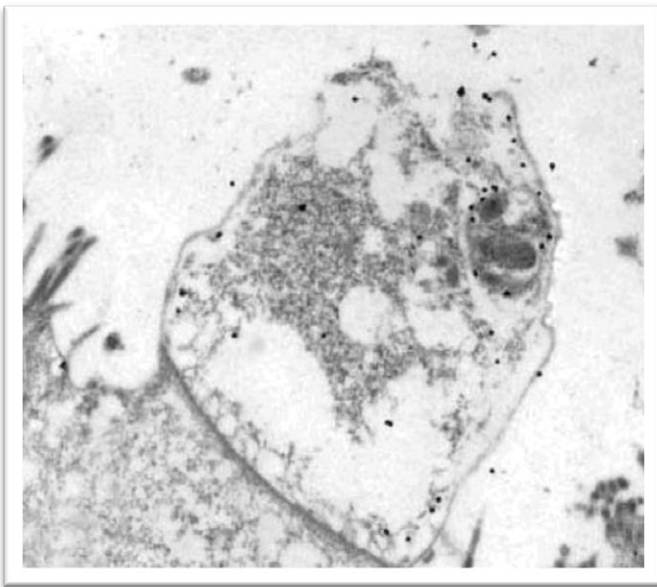


Photo 3: Image au microscope électronique d'un méronite immature contenant des mérozoïtes (Anonyme2).

1.2.2.3. Gamétogonie :

Les mérozoïtes de 2^{ème} génération vont ensuite initier le cycle sexuel du parasite. Ils sont libérés puis envahissent de nouvelles cellules épithéliales se différenciant en microgamontes mâles ou en macrogamontes femelles (**Photo 4 et 5**).

Le microgamonte mâle produit jusqu'à 16 microgamontes qui, une fois à maturité, sont libérés dans la lumière de l'iléon. Ceux-ci s'attachent et pénètrent dans la vacuole parasitophore pour féconder le macrogamète et former un zygote (6,25).

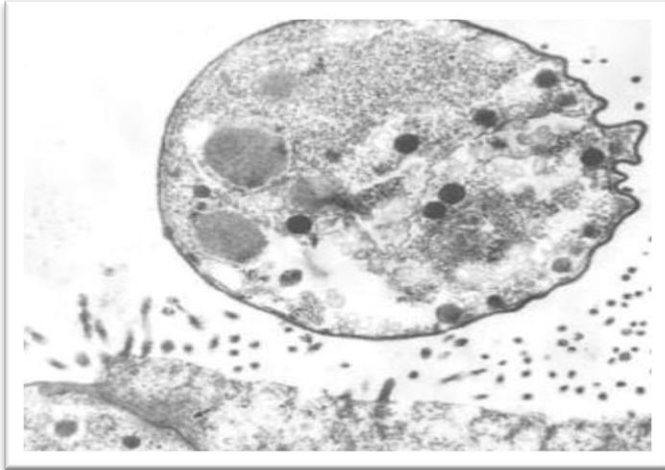


Photo 4: Image au microscope électronique d'un macrogamonte (Anonyme 2).

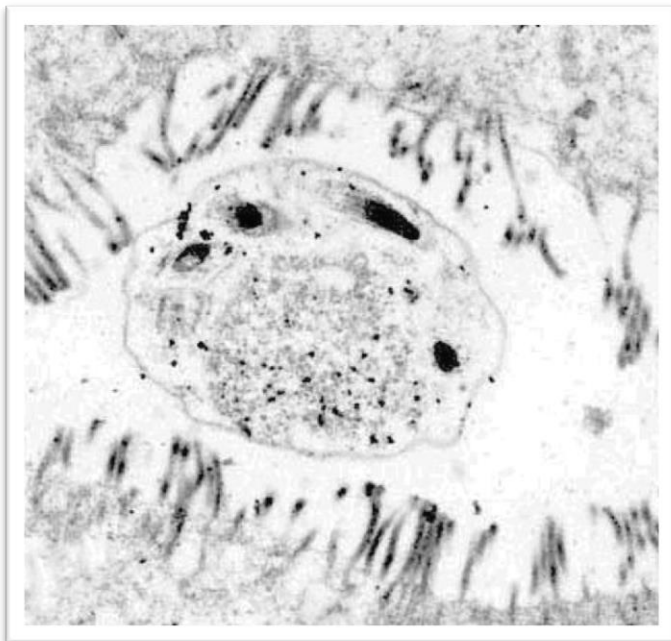


Photo 5 : Image au microscope électronique d'un microgamonte (Anonyme 3).

1.2.2.4. Sporogonie ou sporulation :

Une fois formé, le zygote subit une phase de sporulation (par méiose) aboutissant à la formation d'un oocyste sporulé et directement infectant contenant 4 sporozoites (**Photo 6**). Il existe 2 sortes d'oocystes en fonction de l'épaisseur de leur paroi : les oocystes à paroi épaisse excrétés dans les fèces et retrouvés dans l'environnement et les oocystes à paroi fine libérant les sporozoites dans la lumière intestinale à l'origine d'une réinfection de l'hôte. Les oocystes à paroi épaisse disséminés dans le milieu extérieur sont prêts à infecter un nouvel hôte (25 ,6).

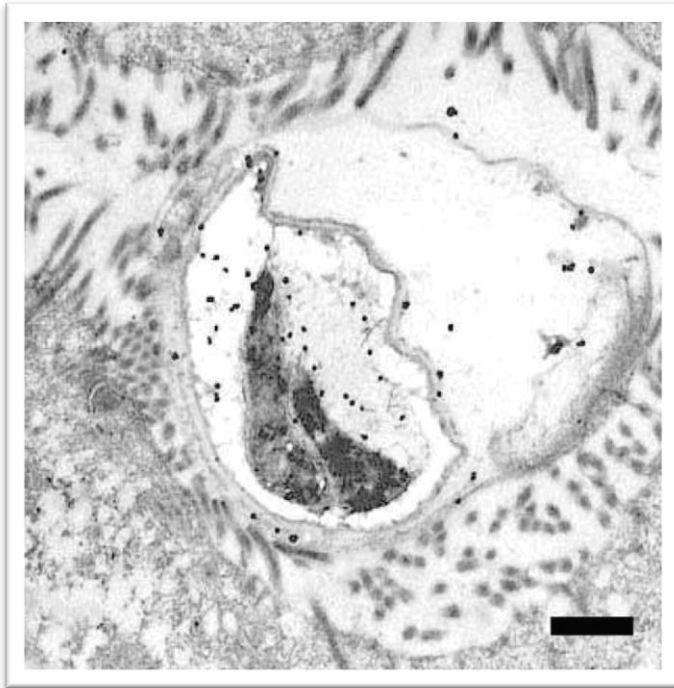


Photo 6: Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoites matures (43).

1.2.2.5. Survie dans le milieu extérieur :

Dans le milieu extérieur, les oocystes excrétés déjà sporulés sont directement infectants. Ils bénéficient d'une grande résistance et survivent facilement sur de nombreux supports pendant plusieurs mois.

Les oocystes de *Cryptosporidium parvum* résistent pendant 6 mois à une température de 20°C et conservent leur potentiel infectant. Une augmentation de la température altère leur viabilité : à 30°C, ils ne résistent que pendant 3 mois. Portés à une température de 71.7°C pendant 5 secondes, ils sont tués (12).

A -20°C, quelques oocystes sont encore infectants au-delà de 8 heures mais aucun ne survit au-delà de 24 heures.

Des oocystes gelés et conservés à -10°C pendant une semaine sont toujours infectants. Ils peuvent donc survivre dans l'eau même à basse température mais pas dans les chauffe-eaux des habitations (12).

La dessiccation permet de tuer les oocystes : 100% des oocystes sont inactivés au bout de 4 heures. Capable d'infester un grand nombre d'espèces différentes et de se reproduire rapidement, *Cryptosporidium* possède donc une forte aptitude à se disséminer.

1.3. Particularité du cycle de *cryptosporidium* :

Semblable par certains points aux autres entérococcidies des mammifères, *Cryptosporidium* possède des particularités qui font de lui un genre unique (6).

La présence d'**auto-infestation** à partir du recyclage des mérozoites de type 1 et des oocystes à paroi fine peut conduire à des maladies chroniques avec réinfestation continue en dehors de tout contact avec des oocystes exogènes. Cette particularité a des conséquences graves car elle allonge considérablement la période d'excrétion et l'intensité des symptômes qui peuvent durer plusieurs mois et conduire à la mort (6).

La faible période prépatente et les modalités d'auto-infestation permettent une colonisation très rapide de tout le tractus digestif. L'infestation s'étend ainsi très souvent depuis l'iléon au duodénum et au gros intestin. Chez les individus immunodéprimés, l'estomac, les canaux biliaires et pancréatiques et le tractus respiratoire peuvent également être infestés(6).

1.4. Position dans la cellule-hôte :

Le genre *Cryptosporidium* occupe une place tout à fait unique dans la cellule puisque le parasite est en position intracellulaire mais extra-cytoplasmique (25).

Lors du contact du parasite avec la cellule-hôte, des enzymes (notamment des rhoptries et des micronèmes) sont libérées entraînant l'englobement du parasite par des microvillosités de la membrane apicale de l'hôte et ainsi la formation de la membrane de la vacuole parasitophore(25).

Cependant *Cryptospridium* n'est qu'en partie entouré de cette membrane et prélève une majorité de ses nutriments grâce à l'organe de nutrition. Celui-ci a une origine double puisqu'il dérive à la fois du parasite et de l'hôte (25).

L'organe de nutrition est situé à la base de chaque vacuole parasitophore, sa membrane basale est plissée permettant une augmentation de sa surface et donc des échanges entre la cellule-hôte et le parasite (25).

La localisation très protégée de *Cryptospridium* au sein de la cellule-hôte peut expliquer les échecs de traitement contre le parasite. L'organe de nutrition pourrait notamment bloquer l'entrée de molécules dans le parasite protégeant celui-ci de l'action de molécules à activité intracellulaire (25).

1.5. Propriétés de l'oocyste :

Les oocystes à paroi épaisse sont les seuls stades de développement de *Cryptospridium* retrouvés dans l'environnement et à l'origine de l'infection de nouveaux hôtes en raison notamment de leur grande résistance (19).

1.5.1. Structure :

L'oocyste est de forme variable, ovoïde à elliptique, et mesure entre 4.5 et 7.9 Um de long pour 4.2 à 6.5 Um de large (25).

La paroi de l'oocyste est constituée de 4 couches (**Figure 2**).

- La couche externe, le glycocalyx, est principalement composée de sucres. Cette structure apparaît dense aux électrons en microscopie électronique. Elle confère les caractères d'immunogénicité ainsi que d'attachement du parasite à la cellule-hôte. Les préparations pour l'étude microscopique des oocystes peuvent provoquer des altérations de glycocalyx ;

- La deuxième couche, majoritairement composée de lipides complexes, laisse passer les électrons en microscopie électronique. Elle serait à l'origine de la faiblesse de la paroi de l'oocyste ;

- la troisième couche est une fine couche apparaissant dense aux électrons. Elle abrite les principales protéines structurales de la paroi de l'oocyste, à l'origine de sa force et de sa flexibilité ;

- la couche interne est composée d'hydrates de carbone et de polysaccharides de structure (14).

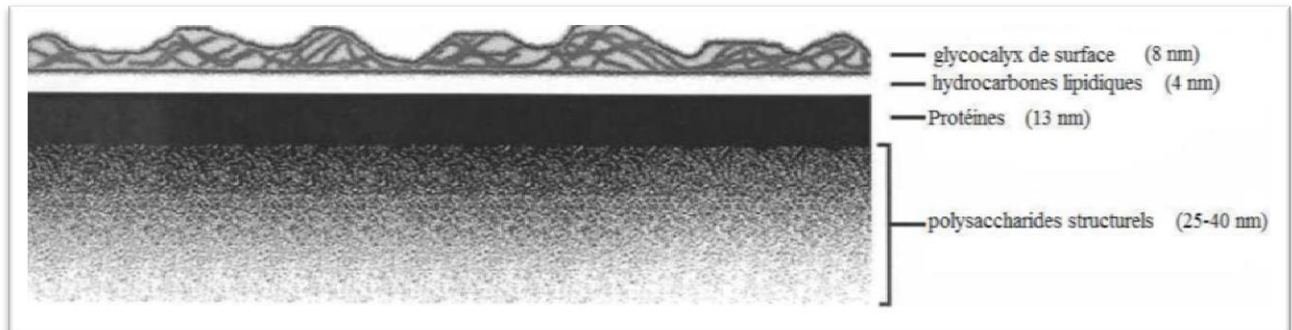


Figure2 : Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de *C. parvum* (14).

1.5.2. Résistance des oocystes :

1.5.2.1. Résistance dans l'environnement :

Les oocystes de *Cryptosporidium parvum* sont très résistants dans le milieu extérieur, que ce soit dans l'eau, le sol ou bien les matières fécales. Ils peuvent demeurer infectieux pendant une longue période sans pour autant être capables de se multiplier. Leur survie dans les différents substrats explique toute la difficulté du traitement et de la désinfection de ceux-ci (21).

1.5.2.1.1. Résistance dans l'eau :

Les oocystes peuvent rester viable et infectieux pendant plusieurs mois dans l'eau à des températures comprises entre 0 et 30°C et jusqu'à un an dans de l'eau de mer (1). Ainsi pour des températures de 0, 5, 10, 15 et 20°C, les oocystes demeurent infectieux pendant 6 mois, ce chiffre passant à 3 mois pour des températures de 25 et 30°C et à 1 semaine pour une température de 35°C (11). A des températures inférieures à 15°C, le niveau d'infectiosité des oocystes peut être maintenu sur une période de 24 semaines au moins et parfois sur plus d'une année. Cependant les oocystes sont très sensibles à une exposition à de hautes températures sur un temps court : des oocystes maintenus à 64.2°C pendant 5 minutes perdent leur infectiosité vis-à-vis de souris tandis qu'une exposition à 60°C pendant 45 secondes ou à 75°C pendant 20 secondes induit une perte d'infectiosité des oocystes sur des cultures cellulaires HCT-8.

L'exposition à des températures très basses ou la congélation conduit à une inactivation partielle des oocystes : 67% des oocystes sont inactivés après 21 heures passées à -22°C. Cependant à -10°C pendant 7 jours ils demeurent viables (16).

L'effet de la salinité de l'eau sur la survie des oocystes a également été étudié. La viabilité de ceux-ci est plus importante pour des salinités et des temps d'exposition faibles mais même dans des conditions extrêmes (salinité de 35% à 18°C pendant 40 jours) les oocystes peuvent demeurer infectieux. Le maintien des oocystes dans les conditions particulières de températures et de salinité a fourni des résultats similaires : à 10°C pendant 12 semaines avec des salinités de 1, 2 et 3% à 20°C avec une salinité de 1% pendant 12 semaines, de 2% pendant 4 semaines et de 3% pendant 2 semaines, les oocystes de *C parvum* restaient viables et infectieux pour des souris (11).

D'autres paramètres peuvent également avoir une influence sur la résistance des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans l'eau. La qualité de bactéries hétérotrophes, c'est-à-dire les bactéries tirant leur source de carbone de la matière organique, influence la survie des oocystes qui apparaît meilleure dans les eaux filtrées que dans les non filtrées. La présence de la bactérie *Serratiamarcescens* à activité chitinolytique serait quant à elle associée à la dégradation des oocystes. Enfin, l'ingestion des oocystes par des êtres vivants peut avoir une influence sur leur pouvoir infectieux (11).

1.5.2.1.2. Résistance hors de l'eau :

La résistance des oocystes dans le sol et les matières fécales dépend de nombreux facteurs.

La température a été identifiée comme le facteur critique affectant la survie des oocystes. Une étude sur l'exposition de trois types de sol à une température de -10°C pendant un à neuf cycles de « gel-dégel » conduisait à une inactivation de 99% des oocystes au bout de 50 jours et cela même en l'absence de cycle « gel-dégel » (11,16).

Le type de sol influence la survie des oocystes, avec une préférence pour les terres grasses limoneuses par rapport aux terres grasses argileuses ou sablonneuses (30,14). Les différences observées entre ces trois types de sols s'expliqueraient par leurs PH spécifiques. En effet, il a été montré que le nombre d'oocystes était plus faible dans les sols à PH neutre ou basique que dans ceux à PH acide (11,16).

En revanche, l'humidité des sols ne semble pas être un paramètre influençant la survie des oocystes à l'exception des sols argileux qui peuvent être sensibles à la sécheresse (16).

Les oocystes sont très sensibles à la dessiccation : selon des études différentes seuls 3% restaient viables après 2h et seulement 5% après 4h à température ambiante (16).

En ce qui concerne les matières fécales, la survie des oocystes dépendrait de trois paramètres :

- La température : des températures élevées et des phases de gel et de dégel alternées réduisent la viabilité des oocystes ;

- Le temps : l'obscurité tend à diminuer la viabilité ;

- La concentration en ammoniacale : des concentrations élevées peuvent entraîner une inactivation des oocystes (1).

Le compostage permettrait également de réduire la viabilité des oocystes (1).

Les paramètres ci-dessus permettent d'altérer la viabilité d'un grand nombre d'oocystes, cependant dans la plupart des cas un nombre faible, mais suffisant, d'oocystes infectieux reste présent dans l'environnement.

1.5.2.2. Résistance aux procédés de désinfection :

Les oocystes de *C. parvum* sont remarquablement résistants aux désinfectants utilisés couramment (composés alcalins ou contenant des aldéhydes, ammoniacaux, du chlore ou de l'alcool) (25).

L'utilisation du chlore à des concentrations usuelles pour le traitement des équipements d'eau des piscines n'a que peu d'impact sur la viabilité des oocystes (11,16).

De la même manière, l'aluminium utilisé pour la floculation dans le traitement primaire de l'eau ne permet pas de réduire la viabilité des oocystes (11).

1.5.3. Transport mécanique dans le sol et par les hôtes :

La contamination du sol et des eaux de surface par les oocystes de *Cryptosporidium parvum* peut aboutir à une contamination des eaux de boisson ainsi que des eaux à usage récréatif (10).

Des études ont montrés que les oocystes étaient capables de migrer dans différents types de sol, notamment sous l'effet des irrigations. Ils migrent pendant plusieurs semaines voire plus de 70 jours dans certains cas. Leur concentration diminue avec la profondeur du sol : la plupart des oocystes sont ainsi retrouvés dans les 2cm de la couche supérieure du sol, quelques-uns sont encore présents à 30cm de profondeur et à 70cm de profondeur aucun oocystes n'était détecté (10).

1. EPIDEMIOLOGIE

1.1. La répartition géographique et prévalence :

La cryptosporidiose animale est présente sur les six continents, aussi bien dans des zones tropicales que tempérées (25).

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 excréant des oocystes indépendamment de leur statut clinique à un moment donné (25).

La détermination de la prévalence d'excrétion chez les espèces domestiques a fait l'objet d'un grand nombre d'étude (25).

Chez les bovins, des variations de la prévalence d'excrétion sont observées selon les différentes classes d'âge des animaux. Les études s'accordent sur le fait que la prévalence décroît avec l'âge (7, 28). Selon l'étude de SANTIN, elle est maximale chez les veaux non sevrés (45.8%) puis elle diminue chez les veaux sevrés (18.5%) et chez les génisses (2.2%). La prévalence d'excrétion est aussi fonction du type de race : elle est plus élevée pour les veaux allaitants que pour les veaux laitiers (22).

L'âge des animaux présente également une grande influence sur la prévalence d'excrétion chez les petits ruminants. Ainsi, chez les animaux non sevrés et non-diarrhéiques, elle varie de 2 à 85% pour les agneaux et de 5 à 30% pour les chevreaux. La plus forte prévalence (76%) est rapportée pour des agneaux âgés de 8 à 14 jours. La prévalence chez les adultes, bien que moindre, est comprise entre 2.1 et 5.3% selon des études menées en Espagne et en Chine sur des brebis, et entre 7.7 et 9% selon une étude sur des chèvres en Espagne (26).

La cryptosporidiose aviaire, à tropisme intestinal et respiratoire, a vu sa prévalence passer de 1 à 6% en 14 ans en Géorgie. Une trachéite à *C. baileyia* a été mise en évidence dans pas moins de 41% des élevages de poulets au nord de la Géorgie (7,4) rapportent des taux d'infection de 34% chez les poulets et de 44% chez les dindes en Algérie, l'espèce incriminée étant majoritairement *C. meleagridis*.

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

1.2. Source de parasite :

Les sources potentielles sont multiples et pas toutes connues d'où la difficulté de lutter contre le parasite mais **la principale source est constituée par les matières fécales disséminées dans le milieu extérieur** (5).

1.2.1. Les jeunes animaux du troupeau :

La principale source est représentée par les fèces des autres animaux de l'élevage : en premier lieu, les nouveau-nés (veaux, chevreaux ou agneaux), l'excrétion d'oocyste dans les premières semaines de vie est considérable et le milieu est très vite 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 plus facilement dans les troupeaux où la densité animale est élevée et où les contacts entre animaux sont nombreux. A la fin de la saison de vêlage, la contamination du milieu est très importante (5).

1.2.2. Les mères :

La plupart des bovins adultes excrètent des oocystes de *Cryptosporidium*. Cependant, aucune différence dans l'excrétion n'est observée chez les adultes, qu'il s'agisse d'un élevage présentant des problèmes de cryptosporidiose ou non. Ainsi leur rôle dans la contamination des autres animaux n'est pas clairement établi. Il semblerait également que l'excrétion n'augmente pas autour du vêlage (7). Dans une étude, des veaux séparés de leurs mères dès la naissance et placés dans des enclos désinfectés ont excrété des oocystes dès l'âge de 3 jours, suggérant la possibilité d'une infection *in utero* (11).

Chez les adultes, l'infection à *Cryptosporidium anderson* est la plus fréquente (28).

Chez les ovins et les caprins, en revanche, l'excrétion augmente de manière significative autour de la parturition, passant à 20-440 opg (*oocystes par gramme de fèces*) chez la brebis et à 80 opg chez la chèvre (26).

1.2.3. Animaux sauvages, rongeurs... :

On ne connaît pas très bien le rôle joué par la faune sauvage (rongeurs, cervidés) dans la contamination des autres animaux. Elle est sans doute minime face à l'importante source que représentent les fèces des ruminants, jeunes ou adultes, dans la contamination d'un élevage pas exemple (12).

Etant donné que l'espèce *C. parvum* qui infecte le bétail est très largement répandue et ne présente pas une grande spécificité d'hôte, tous les animaux porteurs de ce parasite peuvent théoriquement être à l'origine d'une contamination d'un élevage. De tels cas ne sont pas décrits car il est impossible de connaître la source exacte d'une contamination : le parasite impliqué chez les deux espèces est en général identique (12).

1.2.4. Eau :

De très nombreux cas sont décrits chez l'homme de cryptosporidiose d'origine hydrique. Ces cas concernant un grand nombre de personnes et la contamination de l'eau et due à une erreur dans le traitement de l'eau de robinet ou à un déversement accidentel de déchets animaux ou d'eaux d'égouts dans le circuit d'eau potable. On peut très bien imaginer qu'une telle eau alimentant un élevage puisse conduire à la contamination d'animaux mais on ne connaît pas l'importance de cette voie de contamination (20).

1.3. Mode de transmission :

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.

La contamination par voie aérienne est anecdotique et concerne principalement les oiseaux.

La transmission chez les animaux peut se faire de manière directe. C'est-à-dire d'animal à animal, ou de manière par le biais de la nourriture, de l'eau, mais également du personnel s'occupant des animaux, des locaux ou du matériel utilisé... (10).

La dose infectante serait très faible pour les jeunes ruminants en raison de leur sensibilité à l'infection par *Cryptosporidium* (11).

1.4. Critères de sensibilité de l'hôte :

1.4.1.Espèce :

La cryptosporidiose se rencontre chez de nombreux animaux domestiques et sauvages (rongeurs, cervidés...). Tous les ruminants peuvent héberger et excréter des oocystes. Parmi les ruminants qui représentent le plus grand groupe d'espèce concernées par la cryptosporidiose, le **chevreau est le plus sensible** à l'infection par *C. parvum* (13).

1.4.2.Race :

La race ne semble pas être un facteur de prédisposition à l'infection. En revanche, le mode de stabulation, de maternité ou la densité de l'élevage qui varie en fonction des races sont des facteurs de risque (13).

1.4.3.Age :

La cryptosporidiose est essentiellement une maladie du **nouveau-né**. La plupart des cas cliniques se produisent entre l'âge de 5 et 15 jours chez les veaux. Chez les adultes, la maladie est généralement asymptomatique (13).

1.4.4.Etat immunitaire :

Comme chez l'homme, le parasite s'installe plus facilement chez l'animal sur un terrain immunodéprimé. Chez le cheval, le premier cas de cryptosporidiose a été décrit chez un poulain immunodéprimé. Chez le chat, les symptômes apparaissent lors de coïnfection avec le FeLV (virus leucémogène félin) qui induit des immunodépressions. Au moment de l'agnelage, le niveau d'excrétion d'oocystes augmente chez les brebis (13). La pression d'infection augmente dans le milieu ambiant au moment où les agneaux sont vulnérables. Chez les bovins, il n'y a pas d'augmentation de l'excrétion autour de la mise-bas (13).

1.5. Les facteurs de risque :

1.5.1.Saison :

L'effet saison observé pourrait être due à un regroupement des animaux pendant ces périodes et donc à une contamination de l'environnement plus importante. Ainsi de manière générale, le pic d'incidence de la cryptosporidiose est observé lors du pic d'incidence des naissances (26).

1.5.2.La densité animale :

Une forte densité animale facilite les contacts entre les individus et ainsi transmission du parasite. Cette situation peut se retrouver dans des élevages avec une mauvaise conception des bâtiments, qui, associée à une hygiène défailante des locaux et à un renouvellement de l'air insuffisant, facilite la contamination des animaux (26).

1.5.3.La conduite d'élevage :

La gestion de l'élevage dans son ensemble peut être à l'origine d'une augmentation de la prévalence de la cryptosporidiose (35).

De nombreuses études ont pu mettre en évidence différents facteurs de risque tels que la présence de nurseries dans l'élevage, le stress d'un sevrage trop précoce, les transports etc.

La mise en place d'une prophylaxie chez les mères contre les diarrhées néonatales est associée à une augmentation de la prévalence d'excrétion du parasite. Ceci pourrait être due au fait que de telles prophylaxies sont souvent mises en place dans les élevages présentant une forte incidence de diarrhée chez les veaux, cependant ces mesures prophylactiques s'avèrent inefficaces contre les cas de cryptosporidiose (35).

Chez les animaux logés sur un sol en béton, la prévalence d'excrétion des oocystes est plus faible. En effet, ce type de sol facilite son nettoyage régulier par rapport aux sols de type sable, terre ou graviers. De la même manière, l'utilisation de savon ou de détergent pour le nettoyage des ustensiles ayant servis à nourrir les animaux est associée à une diminution du risque d'excrétion des oocystes (35).

En contradiction avec certains auteurs, l'étude de TROTZ-WILLIAMS a montré que la prévalence de l'infection est plus importante dans les élevages où les animaux sont nourris avec un lactoreplaceur. C'est-à-dire dans les élevages à fort effectifs.

1.5.4. Le rôle de l'épandage du fumier :

L'épandage de fumier ou de lisier dans le but d'enrichir ou de fertiliser les sols conduit à un recyclage des micro-organismes que peuvent persister pendant de longues périodes aussi bien sur les végétaux que dans les couches supérieures du sol(19).

En ce qui concerne *Cryptosporidium*, la survie des oocystes après l'épandage peut être à l'origine de la contamination d'animaux qui pâturent sur ces terres ou qui consomment de l'ensilage d'herbe contaminée (19).

2. PHYSIOPATHOLOGIE :

Les cryptosporidies sont des protozoaires appartenant aux coccidies qui se multiplient dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle de l'hôte vertébré. Les oocystes infectants sont rejetés dans la lumière intestinale et éliminés avec les selles. Un très petit nombre d'oocystes (p. ex, <100) suffit à provoquer la maladie, augmentant le risque de transmission interhumaine. Après l'ingestion par un autre vertébré, l'oocyste libère des sporozoïtes qui deviennent des trophozoïtes dans les cellules épithéliales intestinales, se répliquent puis produisent des oocystes qui sont libérés dans la lumière de l'intestin pour terminer le cycle. Les oocystes à paroi fine sont directement impliqués dans l'auto-infection (17). Les oocystes sont résistants à des conditions hostiles, dont le chlore à des niveaux habituellement utilisés dans les systèmes publics de traitement des eaux et dans les piscines, malgré le respect des niveaux de chlore résiduel recommandés (17)

3. REPONSE IMMUNITAIRE A L'INFECTION :

La réponse immunitaire innée constitue un ensemble de mécanismes (barrières physiques, phagocytose, réaction inflammatoire) mis en place immédiatement lors de l'infection, elle est non spécifique de l'agent pathogène rencontré (25).

Chez les souris, l'acquisition d'une flore intestinale mature serait associée à une résistance au parasite. Elle stimulerait des mécanismes non spécifiques tels qu'une possible production d'interféron gamma indépendamment de la voie des lymphocytes T (25).

Chez le veau, la flore intestinale présente après la naissance entre en compétition avec les sporozoites dans l'attachement aux cellules épithéliales intestinales. De plus, chez les bovins infectés par *Cryptosporidium parvum*, des quantités importantes de défensine B entérique, un peptide antimicrobien, ont été mises en évidence. Cependant ces mécanismes s'avèrent insuffisants pour neutraliser l'infection (38).

La **réponse immunitaire acquise**, spécifique de l'agent pathogène, est plus tardive mais durable dans le temps. Elle est également à l'origine de la mémoire immunitaire. Elle comprend la réponse humorale et la réponse cellulaire.

La **réponse humorale** fait intervenir les anticorps, ou immunoglobulines, produits par les lymphocytes B.

Des anticorps spécifiques IgA, IgM et IgG ont été détectés dans le sérum de veaux, agneaux, souris et poulets infectés par le parasite (25).

La présence d'anticorps circulants a été décrite chez des veaux n'excrétant plus d'oocystes de *C. parvum*. Ces anticorps sont capables de se lier à des antigènes de taille très variable, par exemple l'antigène p23 présent sur les sporozoites, et sont excrétés dans la lumière intestinale. Ces antigènes présentent un intérêt majeur en thérapeutique : ils induisent la production d'anticorps neutralisants fournissant ainsi une possible protection contre la maladie (38).

Ces anticorps excrétés dans la lumière de l'intestin peuvent se retrouver dans les fèces des veaux, une partie semble provenir du transfert passif d'anticorps depuis le colostrum. Une étude a montré que les différentes classes d'anticorps ne sont pas excrétées dans les fèces au même moment après l'infection : les IgG1 sont détectées à partir de 5^{ème} jour après l'infection tandis qu'il faut attendre le 7^{ème} jour pour voir apparaître les IgG2 (38). Selon O'DONOGHUE(1995), l'augmentation des taux d'anticorps fécaux serait corrélée à la diminution du nombre d'oocystes excrétés chez les veaux et les agneaux infectés.

Ces informations suggèrent que les anticorps sont capable de neutraliser les formes libres du parasite cependant ils seraient inefficaces sur les stades intracellulaires et leur courte durée de vie limiterait leur efficacité (25).

La **réponse cellulaire** met en jeu les lymphocytes T, cytotoxiques et auxiliaires, et les cellules NK.

Des études ont montré que la réponse immunitaire acquise se met en place dans l'intestin avant même le début des signes cliniques. Des lymphocytes T CD4+ et CD8+ ainsi que des cytokines (IL-10) ont été observés dans les villosités, la lamina propria et les plaques de Peyer de l'iléon peu après l'infection. Cependant, à 3 jours post-inoculation, la présence de l'IL-10 et l'absence de l'interféron gamma provoquent une inhibition de la réponse Th1 et donc un développement de l'infection et de la diarrhée (38). La guérison de l'animal est associée à la production d'anticorps et à une réponse Th1 (par la production d'interféron gamma) dans la muqueuse intestinale (38). Selon certaines études, les lymphocytes CD4+ auraient un rôle dans la durée de l'infection tandis que l'interféron gamma limiterait la sévérité de celle-ci (25).

Chez les veaux guéris, le nombre de lymphocytes T CD4+ et CD8+ retrouvés dans l'iléon est encore élevé par rapport à des veaux naïfs (38).

4. SIGNES CLINIQUES :

. Signes cliniques chez les Ruminants :

Comme vu précédemment, la cryptosporidiose concerne principalement les jeunes animaux non sevrés. Chez les adultes, l'infection est généralement asymptomatique (35).

Chez le veau, la cryptosporidiose se manifeste par de la diarrhée d'aspect variable (muqueuse jaune pâle à aqueuse profuse) associée à de la dépression, de l'anorexie et des douleurs abdominales (35). Les animaux malades peuvent également présenter du ténesme et être pyrétiques (33). La diarrhée est à l'origine d'une déshydratation ; une faiblesse et une perte de poids peuvent également être observées (25).

Les symptômes peuvent durer de 4 à 14 jours et sont d'une sévérité variable (THOMPSON *et al.*, 2008). La diarrhée apparaît généralement 3 à 5 jours après l'inoculation du parasite (8). Les veaux sont sensibles à l'infection dès leur naissance et peuvent commencer à excréter des oocystes à l'âge de 2 jours (33).

Les taux de morbidité dans les élevages varient très fortement et généralement la mortalité est faible (SMITH, 2008).

La maladie évolue vers une guérison spontanée des animaux, plus rarement vers la mort (13).

ADJOU rapporte des associations fréquentes du parasite avec *Giardia* chez des veaux diarrhéiques issus d'élevages laitiers et allaitants situés autour d'Alger. Cependant, *Cryptosporidium* et *Giardia* peuvent être également à l'origine d'un portage asymptomatique chez ces animaux.

Chez les petits ruminants, l'infection s'installe chez les animaux âgés de 5 à 20 jours (26).

Les animaux atteints présentent de la diarrhée (de consistance molle à liquide, jaunâtre, associée à une excrétion élevée d'oocystes, de l'apathie, des douleurs abdominales et de l'anorexie entraînant une perte de poids et un retard de croissance. La diarrhée dure de 3 à 5 jours voire parfois deux semaines dans les cas plus sévères (7).

L'excrétion d'oocystes atteint ses maximum 5 à 6 jours post-inoculation puis diminue rapidement entre 10 et 15 jours (7). La quantité d'oocystes excrétés est corrélée à la sévérité de la diarrhée chez le chevreau, mais ce n'est pas le cas chez l'agneau. En revanche, une étude a montré que la probabilité d'observer de la diarrhée était plus élevée chez des agneaux excréant des oocystes que chez ceux qui n'en excrétaient pas (26).

Chez le chevreau, la morbidité peut atteindre 80 à 100% et la mortalité peut dépasser 50% (26).



Figure3 : Arrière-train souillé d'un chevreau atteint de cryptosporidiose (Anonyme 5)

. Signes cliniques chez les Reptiles :

A la différence des Mammifères et des Oiseaux, l'infection chez les Reptiles est à l'origine de gastrites chroniques chez les adultes. L'excrétion des oocystes est intermittente et peut durer de quelques mois à plus de 2 ans chez certains serpents (25).

Les animaux atteints présentent entre autres de l'anorexie, une perte de poids progressive et des régurgitations post-prandiales.

Chez les lézards, la plupart des cas de cryptosporidiose sont des infections gastriques subcliniques bien que de l'anorexie, une perte de poids et de la léthargie ait été rapportées chez un caméléon(25).

Enfin, le tableau clinique chez la tortue comporte des régurgitations, une gastrite et un dépérissement progressif de l'animal (25).

5. Lésions :

Les lésions macroscopiques décrites lors de cryptosporidiose ne sont pas pathognomoniques.

Une distension gazeuse ou liquidienne des intestins est observée, associée à une congestion de la muqueuse, une entérite et une colite dans certains cas (25).

Sur le plan histologique, les principales lésions rencontrées sont une atrophie modérée à sévère des villosités, une hyperplasie des cryptes et la présence de plages de nécrose focales (25). La lamina propria est infiltrée par des cellules mononucléaires et des granulocytes neutrophiles (7).

Dans la plupart des cas, les formes du parasite sont détectées uniquement dans l'intestin grêle. Cependant, il arrive parfois que le parasite soit mis en évidence dans des localisations inhabituelles, comme par exemple le tractus digestif et ses glandes annexes mais aussi l'utérus, le tractus respiratoire, le cœur ou les conjonctives (25).

6. PREVALENCE :

On s'intéressera essentiellement aux ruminants à cause de la très large diffusion de ce parasite dans ce groupe d'espèce et de leur proximité avec l'homme.

La prévalence représente le pourcentage d'animaux infectés par *Cryptosporidium parvum* dans une population donnée à un instant donné (27).

Cette estimation peut varier en fonction de la population de départ, de son âge, de ses conditions de vie, des techniques de détection des individus atteints ou bien encore du lieu de l'étude. Il est donc difficile de donner un chiffre brut pour évaluer la prévalence de la maladie chez les ruminants. Plutôt que de prévalence de la maladie, il vaut mieux parler de prévalence d'excrétion car la plupart des études se basent sur la mesure du nombre d'animaux excréteurs indépendamment de leur statut clinique et non pas sur le nombre d'animaux malades. Cette prévalence d'excrétion varie de 10 à 90% (35).

6.1. Variation en fonction de l'âge :

Il s'agit du facteur le plus important : la cryptosporidiose est une maladie du jeune.

6.2. Variation en fonction du type d'élevage :

Chez les bovins, on observe des différences de prévalence en fonction des conditions d'élevage des veaux (**Tableau 3**).

Tableau 3 : comparaison de la prévalence de la cryptosporidiose en France en fonction du type d'élevage(36)

	Age	Conditions	Prévalence
Elevage Allaitant	4 à 10 jours	En contact avec leurs mères, nourris par la mère, pas de diarrhée ou diarrhée depuis moins de 24 heures, bon état général au jour de l'inclusion	50 % à J0 86 % à J7 28 % à J14
Elevage Laitier	8 à 15 jours	En box individuels, permettant un contact nez à nez, nourris au lait artificiel, pas de diarrhée ou diarrhée depuis moins de 24 heures, bon état général au jour de l'inclusion	16.8 % à J0 52 % à J7 32 % à J14

6.3. Variation en fonction du statut clinique :

Le nombre d'individus infectés par *Cryptosporidium parvum* est plus élevé au sein d'une population diarrhéique. Comme le montre le tableau suivant, la prévalence d'excrétion est plus élevée chez des animaux ayant des symptômes cliniques de diarrhée (**Tableau 4**).

Tableau4 : Prévalence d'excrétion en fonction du statut clinique chez des veaux (36)

ORIGINE	CLINIQUE	PREVALENCE
Veaux laitiers	5.2% ont des signes de diarrhée	17.9%
Mélange de veaux d'origine laitière et bouchère	90.5% présentent de la diarrhée (la moitié depuis plus de 24 heures et avec signes de déshydratation)	43.4%

6.4. Variation en fonction du pays :

Selon les pays l'estimation de la prévalence est variable ; ainsi, 39% des veaux sont contaminés en Hollande, 44% en Allemagne, 82,7% en Espagne (18). En France, on trouve des veaux excréant le parasite dans toutes les régions d'élevages (36). Aux Etats-Unis, une grande proportion des troupeaux laitiers est infectée (7) et 10 à 60 % des veaux excrètent *Cryptosporidium parvum*. En Californie (5). On note des prévalences beaucoup plus basses que celles des oocystes à la dessiccation et la faible pluviosité de la région permettent d'expliquer ces résultats.

7. DIAGNOSTIC :

L'examen parasitologique des selles a permis l'identification des oocystes de *Cryptosporidium* chez tous les patients, tandis que la biopsie duodénale a été utilisée chez un seul patient et elle a révélée la présence de cryptosporidies au niveau de la bordure en brosse.

7.1. Diagnostic épidémiologique et clinique :

Les signes cliniques et les critères épidémiologiques permettent de suspecter mais pas de confirmer la cryptosporidiose.

Les critères de suspicion sont l'apparition d'une diarrhée chez des animaux âgés de 5 à 21 jours, dont la prévalence augmente à mesure que la saison des mises-bas avance, et résistante aux

traitements habituellement utilisés. Dans les élevages de type mixte, la sévérité de l'infection apparaît plus élevée chez les agneaux (26).

7.2. Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel chez l'animal est rendu difficile par les symptômes peu spécifiques et par la présence simultanée dans les classes d'âge concernées d'autres agents comme les rotavirus, coronavirus, Escherichia coli entérotoxigènes ou Salmonella sp. C'est une étape **difficile mais indispensable** à la mise en place de tout traitement(26).

7.3. Diagnostic de laboratoire :

Les techniques de laboratoire permettent de mettre en évidence le parasite dans les fèces ou dans d'autres types de prélèvement supposés contaminés (26).

7.3.1. Microscopie conventionnelle :

L'observation directe de l'échantillon au microscope est réalisable cependant des techniques de concentration et de coloration facilitent celle-ci. En effet, l'échantillon peut contenir un faible nombre d'oocystes, qu'il sera alors utile de concentrer, et la coloration permet de différencier les oocystes d'autres composants de l'échantillon (25).

7.3.2. Méthodes de concentration :

La concentration de l'échantillon est une étape préalable indispensable lorsqu'une faible concentration d'oocystes est présente (37).

La première étape consiste à suspendre les fèces par l'addition d'eau et à retirer les particules les plus grosses à l'aide d'un tamis ou d'une gaze. Une centrifugation de l'échantillon permet ensuite de séparer de surnageant contenant les particules les plus petites et légères (37).

7.3.3. Méthode de coloration :

Avant toute coloration, il est recommandé de fixer l'échantillon à l'aide d'un fixateur de type formol à 10% ou de SAF (sodium Acétate- aceticacid- Formaldehyde) (25). De nombreuses techniques de coloration sont disponibles.

Les colorations au bleu de méthylène-safranine, Kinyoum, Ziehl-Neelsen et à la carbol-fuchsine-DMSO (**Figure4**) font apparaître les oocystes de *Cryptosporidium* en rouge tandis que le fond et les autres particules de l'échantillon ne sont pas colorés (10).

Des fluorochromes, tels que l'auramine-rhodamine (**Figure 5**) et l'auraminecarbol-fuchsine, peuvent également être utilisés, ils sont très sensibles mais demeurent coûteux (13, 25).

Il existe également des colorations dites (négatives), comme le vert de malachite, la merbromine ou la migrosine, qui colorent le fond, les bactéries et les levures mais pas les oocystes. Cependant ces techniques sont chronophages et nécessitent un manipulateur expérimenté (10).

Dans de nombreux laboratoires, la technique de choix reste la coloration acidophile utilisant par exemple la fuchsine basique (25).

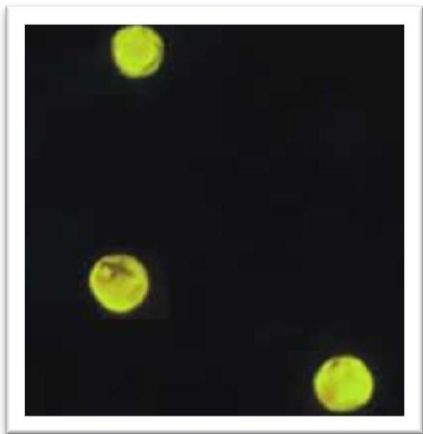


Figure 4 : coloration d'oocystes de *Cryptosporidium* à l'auramine-rhodamine (Anonyme 4).

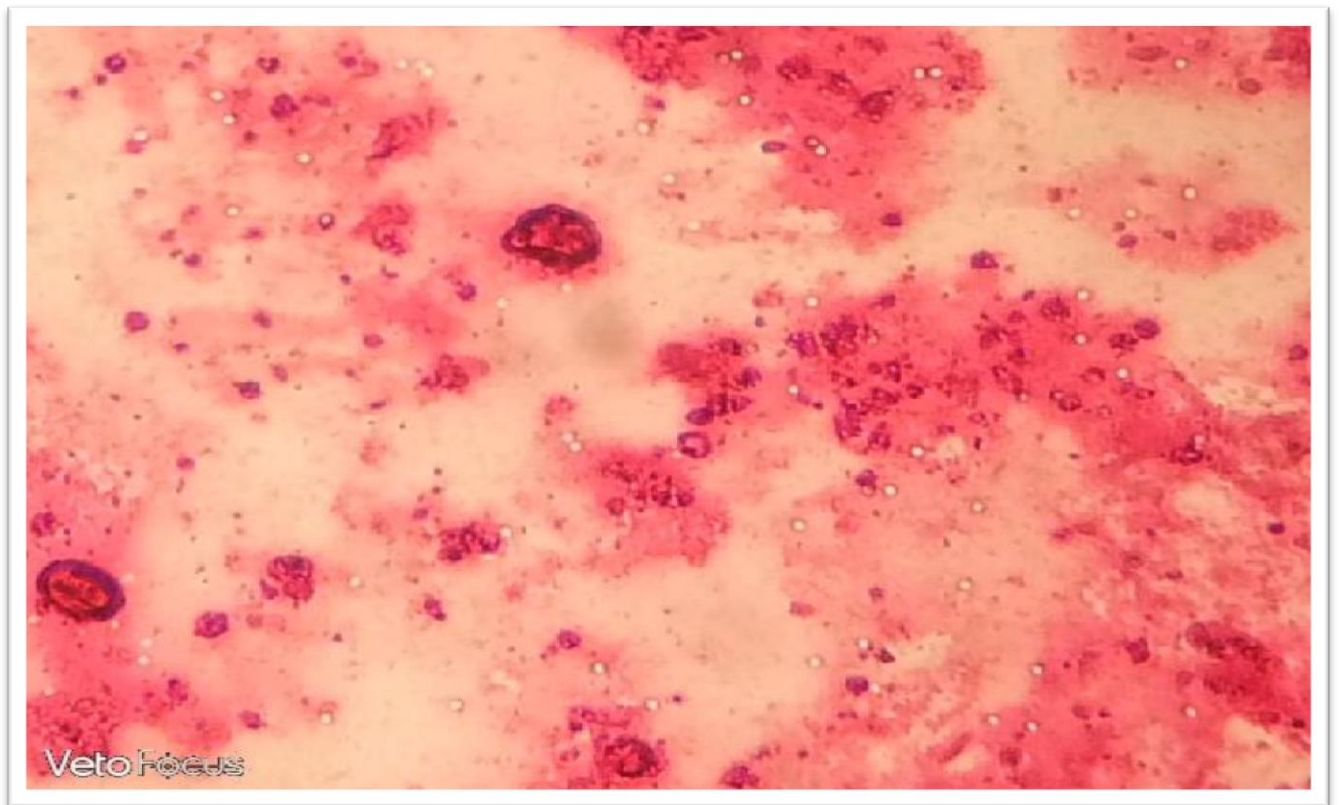


Figure 5 : coloration d'oocystes de *Cryptosporidium* à la fuschine (Anonyme 5).

7.3.4.Méthodes d'immunomarquage :

Les techniques d'immunomarquage permettent la mise en évidence des oocystes dans l'échantillon grâce à deux réactions immunologiques de type antigène-anticorps. En effet, un antigène de surface de l'oocyste est reconnu spécifiquement par un anticorps dit primaire, lui-même reconnu spécifiquement par un anticorps secondaire portant un marqueur. Ceci permet une amplification du signal mais également une détection du parasite présent en faible quantité(10).

Ces techniques incluent entre autres l'utilisation d'anticorps polyclonaux fluorescents, l'immunofluorescence basée sur des anticorps monoclonaux (**Figure 6**). Les ELISAs (Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssays), la RPH (Reverse Passive Haemahhlutination), l'immunosérologie basée sur la détection par immunofluorescence ou ELISA, et l'immunochromatographie en phase solide (10).



Figure 6 : Image d'oocystes de *Cryptosporidium* (en haut à gauche) révélés par des anticorps immunofluorescents (Anonyme 5).

7.3.5.Cytométrie de flux :

La Cytométrie de flux se définit comme l'étude précise de cellules isolées entrainées par un flux liquide. L'analyse de signaux optiques ou physiques émis par les particules coupant le faisceau lumineux d'un laser permet une caractérisation individuelle, qualitative de celles-ci.

Dans le cas de la détection des oocystes de *Cryptosporidium*, le marquage de ceux-ci avec des anticorps fluorescents est effectué préalablement au passage dans le cytomètre de flux. La combinaison de ces deux méthodes permet la détection de faibles quantités d'oocystes, cependant les seuils de sensibilité et les taux de récupération des oocystes varient selon les études (15).

Les techniques de cytométrie de flux et de tri cellulaire auraient une meilleure sensibilité que les techniques de microscopie conventionnelle (25).

8. OBJECTIF :

Notre étude a été réalisée dans la wilaya d'Alger et la wilaya de Blida durant l'automne et le printemps sur des singes vivant en liberté dans les montagnes de la Chrea au sein de la wilaya de Blida et en captivité dans la wilaya d'Alger dont le but est de connaître l'incidence de la cryptosporidiose chez cette espèce et d'évaluer la prévalence de cette pathologie, les échantillons ont été traités au niveau de Laboratoire Biotechnologie de la Reproduction Animal (LBRA).

8.1. ZONE D'ETUDE :

La wilaya d'Alger Zoo du jardin d'essai (El Hamma) et la wilaya de Blida Ruisseau des singes (Chrea) ont été concernées par notre étude. (Fig7 et 8)



Figure 7 :

Zoo du jardin d'essai (El Hamma)



Figure 8 :

Ruisseau des singes (chrea)

8.2. Population étudiée :

La population cible est constituée de 60 singes de race MAGUOT. De différents âges des deux sexes, et non parasités. Ils sont nourris avec une alimentation à base de légumes et de déchets de cuisine.

9. MATERIEL ET METHODES :

9.1.1.MATERIEL :

Agitateur en verre-Tubes coniques-pipette pasteur-lamelles-porte lames-bacs pour coloration-minuterie-Gants-centrifugeuse

9.1.2.Réactifs utilisés :

- Fushine phéniquée
- Vert de malachite
- Ether-Acide sulfurique à 2%
- Méthanol-huile à immersion

9.2. METHODES :

9.2.1.Récolte des prélèvements :

Des échantillons fécaux de **60** singes ont été récoltés au hasard à partir du sol et conservés dans des boites propres et hermétiquement fermées. **(Photo 8)**

Il est recommandé de les conserver au frais (+4°C) et à l'abri de l'air afin d'éviter l'excystation prématurée des oocystes et de réduire les multiplications bactériennes ou fongiques pouvant en gêner le traitement ultérieur. Ces prélèvements ne doivent pas être congelés

9.2.2.Technique de coloration :

La technique utilisée pour la recherche des oocystes du *Cryptosporidium sp*, est la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridney (1970) suivie de la technique de coloration de **Ziehl Neelson modifiée par Henriksen et Polhenz**. La technique de concentration a pour but de réunir dans un faible volume ; des parasites dispersés dans une masse de selle. La technique de Ziehl Neelson modifiée est une technique de référence, qui est sensible, spécifique, et donne des résultats fiables.

9.2.3.Mode opératoire :

1-Avec un agitateur en verre, délayer progressivement 5g de selles dans 2 a 3 fois leur volume avec le formol à 10%.

2-Laisser sédimenter quelques minutes jusqu'à l'obtention d'un surnageant dépourvu de débris(**Photo 9**).

3-Verser le surnageant dans 2 tubes coniques de 15ml chance de trouver des parasites(**Photo 10**).

4-Ajouter de l'éther : le 1/3 du volume décanté(**Photo 11**).

5-Laisser environ 1cm de l'ouverture du tube qui permet l'émulsion de matières fécales pendant l'agitation.

6-Fermer le tube et agiter énergiquement de façon à obtenir un liquide homogène.

7-Centrifuger 5mn à 2500 trs/mn(**Photo 12**).

8-Après centrifugation : apparition de 4 couches.

9-Jeter énergiquement le surnageant constitué par 3 couches.

10-A l'aide d'une pipette pasteur mélanger le culot.

11-Etaler le frottis a l'aide d'une lame.

12-Fixer au méthanol pendant 5 mn (**Photo 13**).

13-Colorer les lames dans la Fuschine phéniquée pendant 1 heure(**Photo 14**).

14-Rincer à l'eau de robinet.

15-Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant quelques secondes (80s)(**Photo 15**).

16-Rincer à l'eau de robinet.

17-Contre colorer avec du vert de malachite pendant 10 mn(**Photo 15**).

18-Rincer à l'eau de robinet.

19-Placement des lamelles dans la porte lame.

20-Laisser sécher et observer au microscope (x40 et x100) en utilisant l'huile d'immersion.

10. Lecture :

La lecture se fait au microscope optique à l'objectif G x 40 puis G x 100 ,avec de l'huile à immersion (G x 100) en mettant au point sur le point 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.

10.1. Résultat Et Discussion :

10.1.1. Résultats :

Tableau 5 : Distribution des échantillons analysés en fonction de la consistance

Nombre d'espèce	Consistance	
	Non diarrhéique	Diarrhéique
60	52	08
	87%	13%

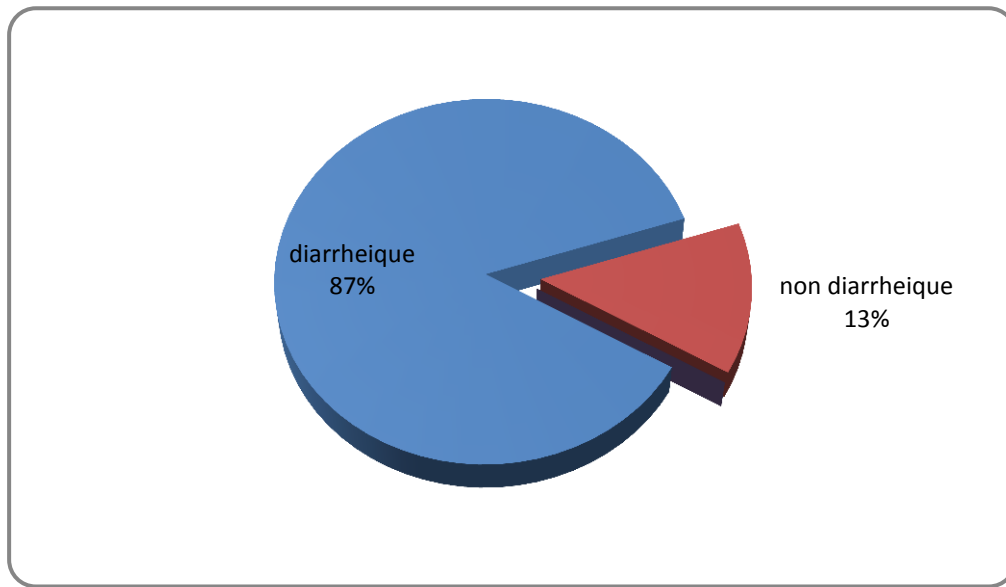


Figure 9 : Distribution des échantillons analysés en fonction de la consistance

Sur les **60** singes prélevés, 52 prélèvements (87%) de nature non diarrhéique et 8 prélèvements (13%) de nature diarrhéique.

Tableau 6 : Distribution des échantillons analysés en fonction des cas positifs et négatifs.

Nombre de prélèvements	Cas positifs	Cas négatifs
60	5	55
	8%	92%

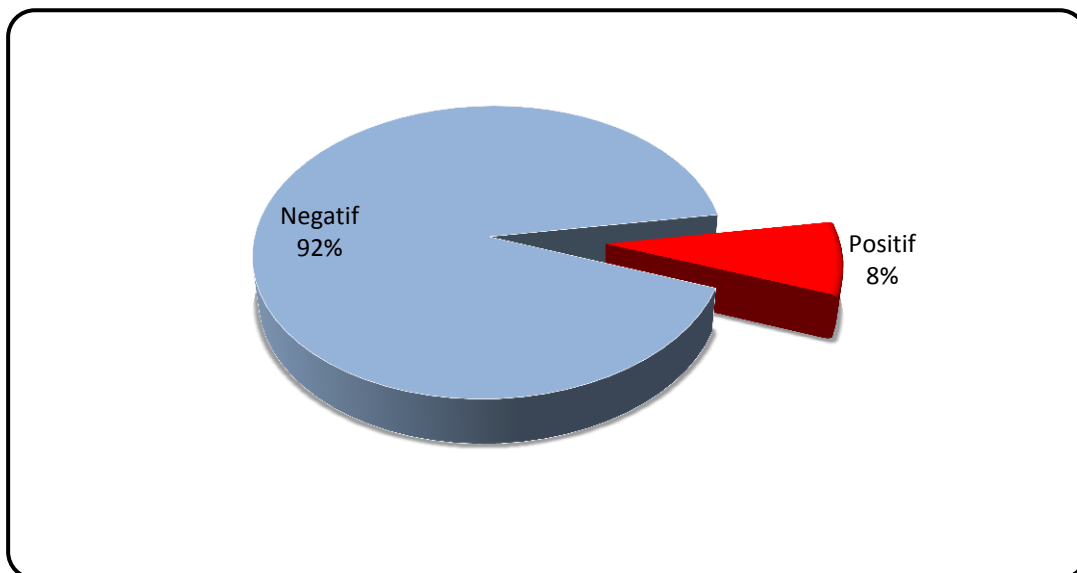


Figure 10 : Distribution des échantillons analysés en fonction des cas positifs et négatifs.

Sur les 60 prélèvements analysés, *Cryptosporidium sp* a été retrouvé dans les matières fécales de 5 singes, soit un taux de 8% positifs, 92% négatifs.

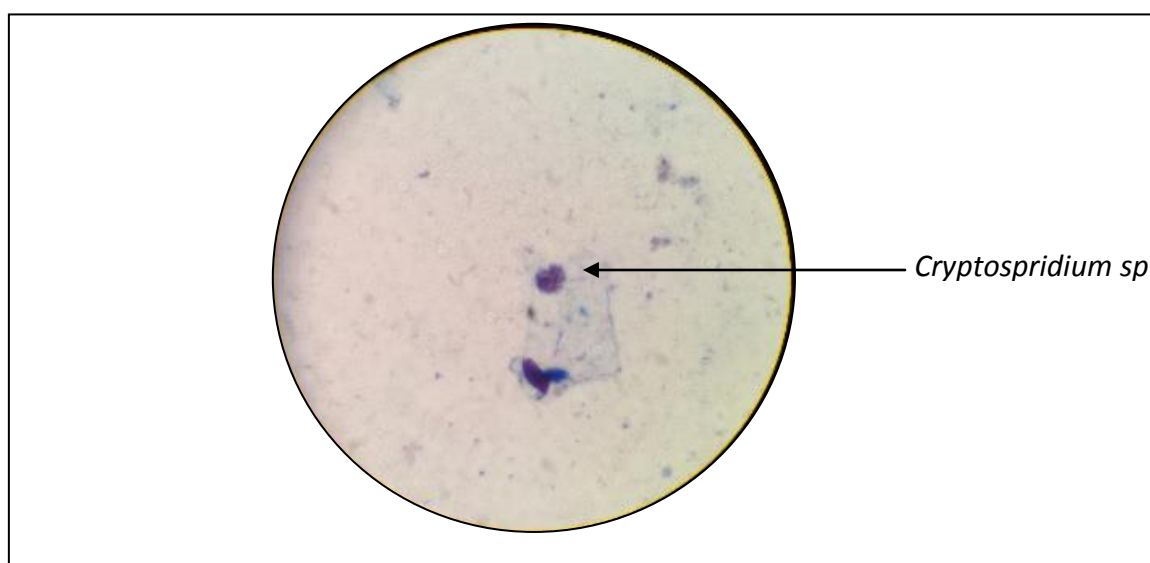


Photo 7 : Observation de *cryptosporidium* sous microscope (source personnel)

10.1.2. Discussion :

La cryptosporidiose est une affection encore méconnue chez le singe en Algérie.

Nos résultats ont montré la présence du *Cryptosporidium sp* dans la matière fécale appartenant à 5 singes au niveau de ruisseau des singes (Chrea-Blida) avec un taux de **8% positifs et 92% négatifs.**

Il est à signaler que la présence d'élevages de ruminants ; d'ovins contribue à contaminer l'environnement. Ces élevages sont des sources potentielles de cryptosporidies auquel le singe serait sensible. Nous pouvons aussi expliquer la présence du parasite chez le singe de **Chrea** dont on peut expliquer cette présence par les eaux de ruissellement comme cause principale.

Nous ne pouvons pas conclure que la consistance des fèces soit en corrélation avec la présence du parasite. Il est probable que ceci soit en relation avec les conditions d'hygiène défavorables, La présence d'autres parasites entériques ou, la promiscuité des singes avec d'autres animaux domestiques dans leur environnement quotidien.



Photo 8 : singe maguot



Photo 9 : Laisser sédimenté



Photo 10 : Versement de surnageant



Photo 11 : L'ajout de l'éther



Photo 12 : Placement des Tubes dans la centrifugeuse



Photo 13: Fixation au méthanol



Photo 14 : Coloration dans la Fuschine



Photo 15 : différencie dans acide sulfurique et contre coloré dans le vert de malachite

CONCLUSION

Notre étude, réalisée dans la région La wilaya d'Alger (Zoo du jardin d'essai EL HAMMA) et la wilaya de Blida (Chrea) , nous a permis de signaler la fréquence de la cryptosporidiose chez les singes et d'enregistrer quelques données épidémiologiques sur la cryptosporidiose chez cette espèce.

A l'issue de notre enquête, il ressort que le *Cryptosporidium sp* parasite ubiquiste est retrouvé dans des échantillons examinés sur les 60 échantillons fécaux analysés, 5% sont positifs, 3,33% sont douteux ; sachant que la cryptosporidiose est une zoonose pouvant être mortelle chez les personnes immunodéprimées.

L'infection à *Cryptosporidium sp* chez le singe est souvent asymptomatique. Son importance ne réside pas seulement dans son caractère infectieux, mais surtout dans la possibilité de contamination humaine, facilitée par la promiscuité entre ces deux espèces.

RECOMANDATIONS

La mise en œuvre des moyens de prophylaxie raisonnés, basés surtout sur la désinfection du milieu extérieur, afin d'éliminer ou de réduire la sévérité de la source d'infection est primordiale pour cela, différents gestes sont importants à imposer :

- Respecter les règles d'hygiène élémentaire en élevage, à savoir le retrait quotidien des matières fécales et nettoyage suivi d'une désinfection avec utilisation régulière de produits à base d'ammoniaque ou de procédés utilisant la chaleur.
- Effectuer de manière systématique des examens coproscopiques chez des singes présentant des diarrhées chroniques ou intermittentes.
- Rechercher les cryptosporidies chez les singes vivant au contact de personnes à risque et leur inculper les règles strictes d'hygiène (lavage des mains après le ramassage des selles ou après avoir caressé l'animal).
- La sensibilisation des visiteurs et des passagers.

Références bibliographiques :

1. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) (2002). Rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp* », -185p.
2. ATWILL, E.R., JOHNSON, E., KLINGBORG, D.J., VESERAT, G.M., MARKEGARD, G., JENSEN, W.A., PRATT, D.W., DELMAS, R.E., GEORGE, H.A., FORERO, L.C., PHILIPS, R.L., BARRY, S.J., Mc DOUGALD, N.K., GILDERSLEEVE, R.R., FROST, W.E.1999.- Age, geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds.- *American Journal of Veterinary Research*, **60**, 4, 420-5.
3. ATWILL, E.R., HARP, J.A., JONES, T., JARDON, P.W., CHECEL, S., ZYLSTRA, M.1998 .- Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection.- *American Journal of Veterinary Research*, **59**, 9, 1116-21.
4. BAROUDI D, KHELEF D, GOUCEM R, ADJOU KT, ADAMU H, ZHANG H *et al.* 2013. Common occurrence of zoonotic pathogen *Cryptosporidium meleagridis* in broiler chickens and turkeys in Algeria. *Vet. Parasitol.*, **196**(3-4), 334-340.
5. BOURDAIS-MASSENET D 2008. Étude de la prévalence de la cryptosporidiose en élevage canin. Thèse Méd. Vét., Alfort
6. CHALMERS RM, DAVIES AP 2010. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Exp. Parasitol.*, **124**, 138-146.
7. DE GRAAF, D.C., VANOPDENBOSCH, E., ORTEGA-MORA, L.M., ABBASSI, H., PEETERS, J.E.1999 .- A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals.- *International Journal for Parasitology*, **29**, 1269-87.
8. DE GRAAF DC, SPANO F, PETRY F, SAGODIRA S, BONNIN A 1999 b. Speculation on whether a vaccine against cryptosporidiosis is a reality or fantasy. *Int. J. Parasitol.*, **29**, 1289-1306.
9. Division of biology, Kansas state university (consultation le 22/05/01).

10. FAYER, R., GASBARRE, L., PASQUALI, P., CANALS, A., ALMERIA, S., ZARLENGA, D.1998 .- *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates : dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns.- *International Journal for Parasitology*, **28**, 49-56.
11. FAYER R (2004). *Cryptosporidium* : a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.*, 126, 37-56.
12. FAYER R, MORGAN U, UPTON SJ 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium* : transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, **30**, 1305-1322.
13. 12. FAYER R, UNGAR BL 1986. *Cryptosporidium spp* and cryptosporidiosis.*Microbiol. Rev.*, **50** (4), 458-483.
14. JENKINS MB, EAGLESHAM BS, ANTHONY LC, KACHLANY SC, BOWMAN DD, GHIORSE WC 2010. Significance of Wall Structure, Macromolecular Composition, and Surface Polymers to the Survival and Transport of *Cryptosporidium parvum* Oocysts.*Appl. Environ. Microbiol.*,**76**, 1926-1934.
15. JEX AR, SMITH HV, MONIS PT, CAMPBELL BE, GASSER RB 2008. *Cryptosporidium*-Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotech. Adv.*, **26**, 304-317.
16. KING BJ, MONIS PT 2006. Critical processes affecting *Cryptosporidium* oocyst survival in the environment. *Parasitology*, **134**, 309-323.
- KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY (KJP). (photo2).3.5.6
17. LCONTE M 2013. Le point sur la cryptosporidiose des Ruminants et les risques zoonotiques. Thèse Méd. Vét., Alfort.
18. LEFAY, D., NACIRI, M., POIRIER, P., CHERMETTE, R.2000 .- Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France.- *Veterinary Parasitology*, **89**, 1-9.
- MANENT-MANENT, M. 2014. Moyens de lutte thérapeutique contre la *Cryptosporidiose* : Actualités et perspectives. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
19. MERRY RJ, MAWDSLEY JL, BROOKS AE, DAVIES DR 1997. Viability of *Cryptosporidium parvum* during ensilage of perennial ryegrass.*J. Appl. Microbiol.*, **82**, 115-120.

20. MORGAN, U.M., XIAO, L., FAYER, R., LAL, A.A., THOMPSON, R.C.A.1999 .- Variation in *Cryptosporidium*: towards a taxonomic revision of the genus.-*International Journal for Parasitology*, **29**, 1733-51.
21. NACIRI, M.1994 .- Cryptosporidiose des ruminants et santé publique.- *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial « Rum SCOTT, C.A., SMITH, H.V., MTAMBO, M.M.A., GIBBS, H.A. .- An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle.- *Veterinary parasitology*, 1995, **57**, 277-288.inants et santé publique », **26**, 49-55.
22. NACIRI M, LEFAY MP, MANCASSOLA R, POIRIER P, CHERMETTE R 1999. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France.*Vet. Parasitol.*, **85**, 245–257.
23. NAJDROWSKI M, JOACHIM A, DAUGSCHIES A. 2007 b. An improved in vitro infection model for viability testing of *Cryptosporidium parvum* oocysts.*Vet. Parasitol.*, **150**, 150-154.
24. NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION (NARO)). (photo1).4
25. O'DONOGHUE PJ (1995). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals.*Int. J. Parasitol.*, **25**, 139-195.
26. PAOLETI A 2002. Données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à l'Homme. Thèse Méd. Vét., Toulouse.
27. PARAUD C, CHARTIER C 2012. Cryptosporidiosis in small ruminants. *Small Ruminant Res.*, **103**, 93-97.
28. RAMIREZ NE, WARD LA, SREEVATSAN S 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals.*Microbes Infect.*, **6**, 773–785.
29. SANTIN M, TROUT JM, FAYER R 2008. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age.*Vet. Parasitol.*, **155**, 15-23.
30. SCOTT, C.A., SMITH, H.V., MTAMBO, M.M.A., GIBBS, H.A.1995 .- An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle.-*Veterinary parasitology*, **57**, 277-288.
31. SHAHIDUZZAMAN M, DYACHENKO V, KEIDEL J, SCHMASCHKE R, DAUGSCHIES A 2010. Combination of cell culture and quantitative PCR (cc-qPCR) to assess disinfectants efficacy on *Cryptosporidium* oocysts under standardized conditions.*Vet. Parasitol.*, **167**, 43-49.

32. SKERRETT HE, HOLLAND CV 2001. Asymptomatic shedding of *Cryptosporidium* oocysts by red deer hinds and calves. *Vet. Parasitol.*, **94**, 239-46.
33. SMITH BP 2008. Large Animals Internal Medicine. 4th edition. Saint-Louis: *Mosby Elsevier*, MO, 340-357.
34. SPANO, F., CRISANTI, A. 2000. - *Cryptosporidium parvum*: the many secrets of a small genome. - *International Journal for Parasitology*, **30**, 553-65.
35. THOMPSON RC, PALMER CS, O'HANDLEY R 2008. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet. J.*, **177**, 18-25.
36. TROTZ-WILLIAMS LA, MARTIN SW, LESLIE KE, DUFFIELD T, NYDAM DV, PEREGRINE AS 2007. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, **82**, 12-28.
37. TROTZ-WILLIAMS LA, MARTIN SW, LESLIE KE, DUFFIELD T, NYDAM DV, PEREGRINE AS 2008. Association between management practices and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. *Prev. Vet. Med.*, **83**, 11-23.
38. TZIPORI, S. 1998. - Cryptosporidiosis : laboratory investigations and chemotherapy. - *Advances in Parasitology*, **40**, 187-221.
39. WARD, H., CEVALLOS, A.M. 1998. - *Cryptosporidium* : molecular basis of host-parasite interaction. - *Advances in Parasitology*, **40**, 151-85.
40. WYATT CR, RIGGS MW, FAYER R 2010. Cryptosporidiosis in neonatal calves. *Vet. Clin. Food Anim.*, **26**, 89-103.
41. XIAO L, MORGAN UM, FAYER R, THOMPSON RC, LAL AA 2000. *Cryptosporidium* systematic and implication for public health. *Parasitol. Today*, **16** (7), 287-292.

.Anonyme 1: KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY (KJP).

-Anonyme 2: NARO

.Anonym3:GHECHAM sur le site internet VETOFOCUS).

Anonyme 4 : MEYUS sur le site internet VETOFOCUS).

Anonyme 5 : CDC.