# République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Saad Dahleb Blida

Faculté des sciences agrovétérinaires et biologiques
Département des sciences vétérinaires

# Mémoire

De fin d'étude:

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

# Thème:

Recherche du Cryptosporidium. Sp dans les matières fécales des chiens (région de Boumerdes)

Présenté par : LARBI BADIA

**BOUYAHIAOUI WALID** 

Membre du jury:

Président : **Dr TRIKI YAMANI. R** ...... Maître assistant à l'USDB

Examinateur : **Dr BENSID. A** ...... Dr vétérinaire à l'USDB

Promotrice : Dr OUAKLI .N ...... Dr vétérinaire à l'USDB

**Promotion: 2010-2011** 

# Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout d'abord, Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également notre promotrice Docteur OUAKLI Nadia de nous avoir aidé, suivi et guidé tout au long de notre travail par ses conseils et ses directions avec beaucoup de patience et de gentillesse

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude aux honorables membres de jury:

Dr TRIKI-YAMANI Rachid et Dr BENSID Abdelkader pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger notre travail, hommage respectueux.

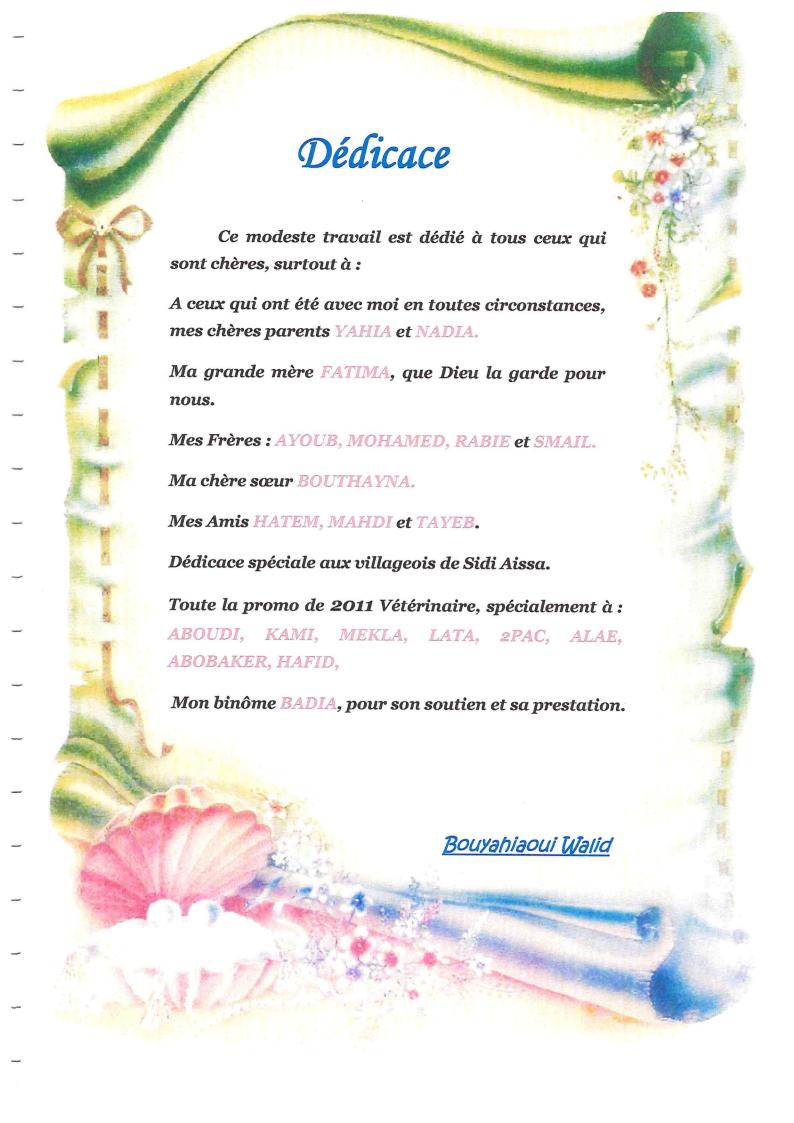
Nous exprimons également nos remerciements :

Au Dr DJOUDI Mustapha qui nous a proposé le sujet de cette thèse, profonde reconnaissance.

A tous le personnel du laboratoire de Biochimie médicale, ainsi qu'à toute l'équipe de la bibliothèque de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour leur collaboration et disponibilité.

A tous les professeurs du département des Sciences Vétérinaires de l'Université Saad DAHLEB de BLIDA et tout ceux et celles qui nous ont apporté toute l'aide, de prés ou de loin pour l'élaboration de ce mémoire: Merci!





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

C'est une zoonose occasionnant des troubles digestifs sévères pouvant entrainer la mort chez les individus immuno-déficients.

Notre étude a été réalisée dévaluer l'infection chez le chien, puisqu'il est potentiellement un réservoir du parasite. Pour se faire, des échantillons fécaux ont été prélevés sur des chiens âgés de 15 jours à 84 mois. Chaque échantillon a été identifié macroscopiquement pour déterminer la consistance et la couleur. Les ookystes du parasite ont été retrouvés aussi bien dans des échantillons diarrhéiques (84,4%) que non diarrhéiques (60%). Sur un total de 37 échantillons fécaux analysés par la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée, l'examen coprologique a révélé 30 cas positifs soit un taux de 81,08%. L'âge semble jouer un rôle important dans la cryptosporidiose. En effet, *Cryptosporidium sp* a été isolé dans toutes les tranches d'âge. Les mâles sont plus touchés que les femelles avec des taux respectivement de 85,7 % et 66,7 %.

Mots clés: Cryptosporidium sp, Espèce canine, coloration de Ziehl-Neelsen modifiée

The cryptosporidiosis is an affection still ignored in the dog in Algeria. It is a zoonosis causing severe digestive disorders being able to result in death at the individuals immunodéficients.

Our study was carried out for better understanding the infection in the dog, since it is potentially a tank of the parasite. Fecal samples were taken on some 15 days old dogs up to 84 months, each sample was identified macroscopically to determine consistency and the color. The parasit was found in the diarrheal samples (84,4%) and the nondiarrheal ones (60%). On a total of 37 fecal samples analyzed by the technique of the coloring of Ziehl Neelsen modified, the examination revealed 30 positives cases (81,1%.). The age seems to play a part in the cryptosporidiosis at the time of our study, *Cryptosporidium sp* was isolated in all the age brackets

The males are more touched than the females with rates of 85,71% and 66,66% respectively.

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

الكريبتوسبوريديوز داء ناقص التشخيص في الجزائر.

هو مرض متنقل تصاحبه اختلالات هضمية حادة قد تؤدي إلى الموت عند الأشخاص ذوي المناعة الضعيفة.

لقد قمنا بدراسة هذا الداء من أجل فهمه فهما معمق عند حيوانات الرفقة بالخصوص الكلاب لأنها مصدر محتمل لهذا المرض.

قمنا بأخذ عينات لفضلات كلاب تتراوح أعمارهم بين 15 يوم و84 شهرا, كل عينة يتم التعرف عليها أو لا بالعين المجردة من أجل تحديد صلابتها و لونها.

الطفيليات وجدت بنسبة 84,40 %في الفضلات الرخوة و بنسبة 60% في الفضلات غير الرخوة.

من مجموع 37 عينة فضلات معالجة بطريقة زيال نيلسن مغيرة, 30 منها وجدت موجبة أي ما يعادل نسبة 81.08 %.

العمر لعب دورا مهما في الكريبتوسبوريديوز. خلال دراستنا فالطفيلي وجد في كل الاعمار.

فيما يخص الجنس, وجدنا أن الطغيلي أكثر توزعا عند الذكر بالمقارنة مع الأنثى بنسبة 85.71 % و66.66 % على التوالي.

الكلمات الدالة: كريبتوسبوريديوم وسلالة الكلاب وصبغة زيال نالسن مغيرة.

PCR: Polymérase Chaine Réaction

OPG: Oocystes par gramme

J: Jours

AFSSA : Association française de la sécurité et santé animale

%: Pourcentage

OIE : Office international des épizooties

<sup>0</sup>C : degré Celsius

X 40: Grossissement 40

X 100: Grossissement 100

M: Mâle

F: Femelle

ARN: Acide Ribonucléique

PO: Per os

C. parvum: Cryptosporidium parvum

C. canis: Cryptosporidium canis

Ov:Ovin

Bv:Bovin

Cp:Caprin

ENVA: Ecole nationale vétérinaire d'alfort

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

# Liste des tableaux

Tableau I : Taxonomie et classification de Cryptosporidium sp.
Tableau II: Comparison des méthodes d'identification des oocystes de Cryptosporidium
parvum
Tableau III: Distribution des échantillons dans la population étudiée
Tableau IV : Distribution des échantillons selon le sexe    27
Tableau V : Distribution des échantillons selon la couleur des fèces.    28
Tableau VI: Distribution des échantillons selon la consistance    29
Tableau VII : Distribution des échantillons selon l'âge
<u>Liste des figures</u>
Figure 01 : Cycle de Cryptosporidium parvum dans les cellules épithéliales de l'intestin04
Figure 02: Photographies de microscopie electronique à transmission de <i>C. parvum</i>
Figure 03 : Epidémiologie de la cryptosporidiose
<b>Figure 04 :</b> Cryptosporidiose intestinale à <i>C. parvum</i> , parasites faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes
Figure 05 : Cryptosporidies après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée
Figure 06 : Comparaison de la sensibilité de différentes techniques de mise en évidence des
Oocystes de Cryptosporidium sp
Figure 07: Carte géographique de la wilaya de Boumerdes
Figure 08: Technique d'observation des lames au microscope électronique
Figure 09 : Distribution des échantillons dans la population étudiée
Figure 10 : Distribution des échantillons selon le sexe.
Figure 11 : Distribution des échantillons selon la couleur des fèces.
Figure 12 : Distribution des échantillons selon la consistance

Figure 13 : Distribution des échantillons selon l'âge	30
Liste des photos (photos personnelles)	
Photo 01: Chien de ferme	19
Photo 02: Promiscuité avec les bovins	19
Photo 03 : Promiscuité avec les caprins.	19
Photo 04 : Promiscuité avec les équidés	19
Photo 16 : Oocyste de Cryptosporidium. sp chez le chien	26
Photo 17 : Oocyste de Cryptosporidium. sp chez le chien	26
Photo 18 : Oocyste de Cryptosporidium. sp chien	27

INTRODUCTION1
<u>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</u> : Etat actuel des connaissances sur la Cryptosporidiose du chien
CHAPITRE I
I-HISTORIQUE4
II- Taxonomie
III- Cycle biologique5
III-1Excystation6
III-2 Mérogonie ou multiplication asexuée
III-3 Gamogonie ou reproduction sexué
III-4 Formation de l'oocyste et sporogonie6
CHAPITRE II
I-EPIDEMIOLOGIE9
I-1 Epidémiologie descriptive9
I-2 Epidémiologie analytique9
I-2.1 Source de parasite9
I-2.2 Réceptivité et sensibilité9
I-2.3 Resistance du parasite9
I-2.4 Mode de contamination
I-2.2.1 Contamination indirecte
I-2.2.2 Contamination directe
I-2.5 Facteurs de risques
I-2.5.1 Facteurs liés à l'animal
I-2-5.2 Conditions d'élevage
II-ETUDE CLINIQUE
II-1 Symptômes et lésions
II-2 Pouvoir pathogène et immunogène

II-3 Méthode de diagnostic
II-3.1 Eléments épidémiologiques et cliniques
II-3-2 Coproscopie
II-3-2.1 Techniques de concentrations
II-3-2.2 Techniques de coloration
II-3-2.3 Marquages immunologiques
II-3-2.4 Les marquages moléculaires
II-3-2.5 Comparaison de ces méthodes
III-METHODE DE LUTTE
III-1 Traitement spécifique
III-2 Prophylaxie sanitaire et médicale
PARTIE EXPERIMENRALE
I-OBJECTIF
I-1 Zone d'étude
I-2 Population étudiée21
II-MATERIEL ET METHODES
II-1 Matériel22
II-2 Méthodes.
II-2.1 Méthode de coloration
II-2.2 Réactifs utilisés.
II-2.3 Mode opératoire23
III-RESULTATS ET DISCUSSION29
III-1Résultats29
III-2Discussion
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS
BIBLIOGRAPHIE
ANNEXES

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'isosporose intestinale, majorent l'intensité de l'expression clinique. [15, 68]

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'oocystes. [38,15]

Il n'y a pas de prédispositions sexuelles, ni d'effet-race [13]. Les collectivités canines ne sont pas plus touchées que les chiens vivant 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. [28]

Les chiots sont plus fréquemment infectés en dessous de six mois d'âge [40] ce qui est cohérent avec les travaux en infection expérimentale [36] : 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. [51]

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 et
- Evaluer la fréquence des sujets atteints.

PREMIERE PARTIE:

Partie Bibliographique

CHAPITRE I

# I-HISTORIQUE:

- En 1895, Clark fut le premier à observer une espèce de *Cryptosporidium* qu'il décrivait comme une multitude de spores à la surface de l'épithélium gastrique de souris. [12]
- En 1907, Tyzzer décrivait clairement une petite coccidie fréquemment retrouvée dans les coupes histologiques des glandes gastriques de la souris de laboratoire et la nomme *Cryptosporidium muris*. [68]
- Trois ans plus tard, le même auteur décrit toujours chez la souris les différents stades du cycle de *C. muris*. [69]
- En 1912, il décrivait la morphologie et le cycle d'une deuxième espèce qu'il nomme C. parvum. [70]
- En 1929, Tyzzer décrit et illustre les différents stades de développement d'une espèce de *Cryptosporidium* trouvée dans l'épithélium caecal de poussins nommée *C.parvum*. [67]
- En 1955, Slavin attire l'attention des vétérinaires sur le rôle pathogène des cryptosporidies, car il rapporte des diarrhées sévères et des morts de dindons âgés de 10 à 14 jours dues à une nouvelle espèce; *C. meleagridis*[61].
- De 1961 à 1986, dix-neuf autres espèces de *Cryptosporidium* sont décrites chez des poissons, des reptiles, des oiseaux et des mammifères. [42]
- De plus, les différences de taille et de site de développement ont finalement conduit à admettre que le genre *Cryptosporidium* renfermait plusieurs espèces. Actuellement le genre *Cryptosporidium* comporte 21 espèces dont plus de 40 génotypes différents. [77,21]

#### **II-TAXONOMIE:**

La position taxonomique du Cryptosporidium est représentée dans le tableau I

Tableau I: Taxonomie et classification de Cryptosporidium sp. [35, 50,64]

Classification	Nom	Caractéristiques biologiques	
Phylum Apicomplexa		Complexe apical à l'extrémité antérieure des éléments libres (Sporozoites et mérozoites) composé d'un anneau polaire, rhoptries, conoïde, micronémes et microtubules souspelliculaire.	
Classe	Sporozoasida	Eléments libres mobiles se déplaçant par flexion, glissement ou ondulation	
Sous-classe Coccidiasina Cycle de développement comprenant mérogonie et sporogonie.		Cycle de développement comprenant une ou plusieurs mérogonie et sporogonie.	
Ordre	Eucoccidioridae	Mérogonie présente chez les vertébrés	
Sous-ordre	Eimerorina	Macrogamonte et microgamonte se développent indépendamment.	
Famille	ille Cryptosporidiidae Cryptos		
Genre	Cryptosporidium	Absence de sporocyste. L'oocyste renferme 4 sporozoites nus.	

# **III-CYCLE BIOLOGIQUE:**

Le cycle de développement de *Cryptosporidium sp* chez le chien reste à ce jour inconnu. En général, c'est un cycle monoxène dont le cycle de multiplication est très rapide (3 à 4 jours) divisé en trois phases. (Figure 1)

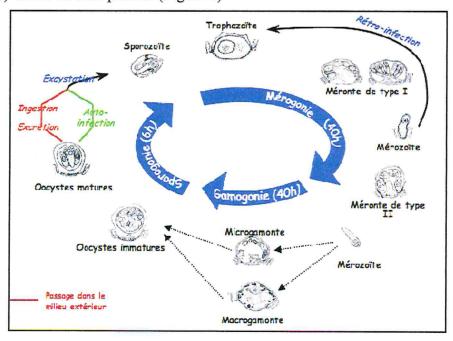


Figure 1 : Cycle de Cryptosporidium parvum dans les cellules épithéliales de l'intestin [62]

# III-1 Excystation:

L'hôte se contamine par ingestion d'oocystes de *C. parvum* présents dans l'environnement, la nourriture ou l'eau. La sortie active des sporozoïtes de l'oocyste (excystation) [62]

# III-2 Mérogonie ou multiplication asexuée (Schizogonie)

Le sporozoïte s'attache à la cellule épithéliale de l'hôte par son pôle antérieur puis la membrane de la cellule s'évagine. De fines extensions des membranes des microvillosités entourent le parasite etforment une vacuole parasitophore intra-cellulaire mais extracytoplasmique. Une zone d'attache spécifique de *Cryptosporidium* se forme à l'interface du cytoplasme de la cellule hôte et de la vacuole parasitophore. Cette zone d'attache spécifique du genre *Cryptosporidium* augmenterait la surface de contact et faciliterait les échanges entre le parasite et la cellule hôte. Dans la cellule épithéliale, le sporozoïte se différencie en un trophozoïte. Les divisions du noyau du trophozoïte correspondent à la multiplication asexuée : la mérogonie. Une première mérogonie génère un méronte de type I qui libérera 8 mérozoïtes (Figure 2). Ces mérozoïtes sont des formes libres du parasite qui peuvent aller infecter des cellules voisines et initier une mérogonie de type II ou à nouveau une mérogonie de type I ; cette rétro-infection est caractéristique de Cryptosporidium. Les mérontes de type II contiennent 4 mérozoïtes. [62]

# III-3 Gamogonie ou reproduction sexuée (Gamétogonie)

Les mérozoïtes de type II pénètrent ensuite dans les cellules épithéliales et se différencient en microgamontes ou macrogamontes pour initier la reproduction sexuée. La division du noyau des microgamontes ou gamontes mâles aboutit à la formation de 16 microgamètes dépourvus de flagelles. Le macrogamonte ou gamonte femelle formé d'un seul gros noyau central évolue en un macrogamète dans lequel pénétrera un microgamète. [62]

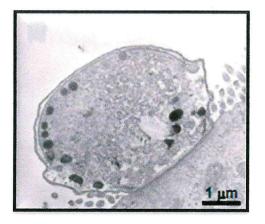
## III-4 Formation de l'oocyste et sporogonie :

Le zygote est obtenu après fusion des noyaux des gamètes mâle et femelle; il constitue le seul stade diploïde du cycle. Il s'entoure ensuite d'une coque résistante pour former deux types d'oocystes : des oocystes à paroi épaisse (80%) et des oocystes à paroi mince (20%), tous deux contenant 4 sporozoïtes. Contrairement à la plupart des coccidies, les oocystes de Cryptosporidium sporulent dans la cellule hôte avant d'être émis dans la lumière intestinale. Les oocystes à paroi épaisse représentent les formes de résistance et de dissémination du parasite. Ils sont excrétés avec les fèces dans l'environnement où ils sont directement infectants pour un hôte sensible. Les oocystes à paroi fine excystent in situ et les sporozoïtes libérés infectent de nouvelles cellules ; ces oocystes sont responsables de l'auto-infection. Les

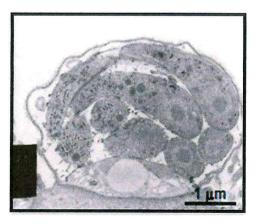
oocystes à paroi fine auto-infectants et le recyclage des mérozoïtes de type I peuvent expliquer la persistance du cycle sans nouveau contact avec le parasite. [62]



Sporozoïte pénétrant dans une cellule épithéliale



Trophozoïte



Méronte de type 1 contenant les Mérozoites.

Figure 02 : Photographies de microscopie électronique à transmission de C. parvum [62]

La période pré-patente : c'est la période entre la contamination et l'excrétion des formes infectantes, des oocystes, qui dure entre 2 et 14 jours, mais elle n'a pas encore été étudiée chez le chien. [33]

La période patente : qui correspond à la durée de l'excrétion des ookystes, elle est comprise chez le chien entre 3 et 33 jours. [33, 37,3].



#### I-EPIDEMIOLOGIE:

# I-1 Epidémiologie descriptive :

La cryptosporidiose canine tient son importance de la proximité de ces animaux avec l'homme et de la possibilité de la transmission zoonotique [51]. Cependant, le nombre d'études de prévalence de l'infection cryptosporidienne reste faible dans cette espèce et les informations sont donc parcellaires. En Californie, 2% des chiens errants prélevés excrètent des oocystes [19]. En Tanzanie, 1,8% des chiens citadins sont excréteurs et 9,2% des excréments récoltés dans les parcs publics contiennent des oocystes de *Cryptosporidium sp.* [40]. Dans une autre étude menée en Italie, *C. parvum* a été isolé chez 6 chiens et *C. canis* a été détecté chez un seul chien. [24]

# I-2-Epidémiologie analytique

# I-2.1 Source de parasite :

Les sources d'oocystes 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, flans ou périnée de la mère excrétrice, mais aussi par l'environnement, eau et alimentation [4,16]

## I-2.2 Réceptivité et sensibilité :

Les facteurs favorisant la réceptivité et/ou la sensibilité aux cryptosporidies sont liés à l'hôte, au parasite ou à des agents extérieurs (Figure 03) [11]

# I-2.3 Résistance de parasite :

Les oocystes sont remarquablement résistants dans le milieu extérieur : ils restent viables à 4°C pendant plus d'un an [46, 47, 48, 49] et leur pouvoir infectant n'est perdu qu'après 30 minutes à 65°C ou 24 heures à -18°C [9], l'eau bouillante sous pression est efficace [57]. La dessiccation à température ambiante demande 4 heures pour tuer les oocystes et les rayons ultra-violet de 15000 mW/s inactivent ceux contenus dans l'eau en 150 minutes. Le traitement des eaux de boisson est donc inadéquat Cependant, en France, le taux d'azone autorisé (0,4 mg/l pendant 6 minutes) serait suffisant pour assainir une eau contaminée contenant 104 oocystes par litre. [22]

La grande résistance de la forme de dispersion du parasite et l'absence de spécificité d'hôte de celui-ci permettent de multiples supports de contamination. [22]

#### I-2.4 Mode de contamination :

#### A/ Contamination indirecte:

Chez le chien, on constate une présence importante d'oocystes de *Cryptosporidium* dans les excréments ramassés dans les parcs. Cette forte prévalence est reliée à la consommation d'eau contaminée [29]. La possibilité de contamination par ingestion d'aliments crus (source secondaire) a été avancée comme l'une des explications à la prévalence plus forte de l'infection dans les refuges canins. [29]

#### **B/** Contamination directe:

Elle se fait par contact de promiscuité, mais elle reste limitée chez les carnivores domestiques du fait des faibles niveaux d'excrétion dans toutes les catégories d'âge.

# I-2-5 Facteurs de risques :

#### I-2-5.1 Facteurs liés à l'animal:

# A/ Age:

La majorité des cas décrits intéresse des chiens jeunes, âgés de moins d'un an. Les cryptosporidioses ont cependant été décrites chez des animaux âgés, dont les examens paracliniques permettaient de conclure à une immunodépression. [35, 11]

#### B/ Etat immunitaire

Les animaux, immunodéprimés et atteints d'une affection intercurrente (campylobacteriose, salmonellose, giardiose,) présentent des symptômes exacerbés.

Le statut immunitaire non mature des jeunes semble entrer en ligne de compte. Les animaux ayant reçu de colostrum seraient atteints moins sévèrement que les autres. [4, 23, 66, 72]

#### I-2-5.2 Conditions d'élevage:

Chez le chien, Johnston a mis en évidence un taux d'infection plus élevé dans les refuges qui peut s'expliquer par la concentration d'animaux provenant d'origines diverses, et donc une augmentation de la probabilité de rencontrer un animal excréteur et de s'infecter au sein d'un espace réduit. [29]

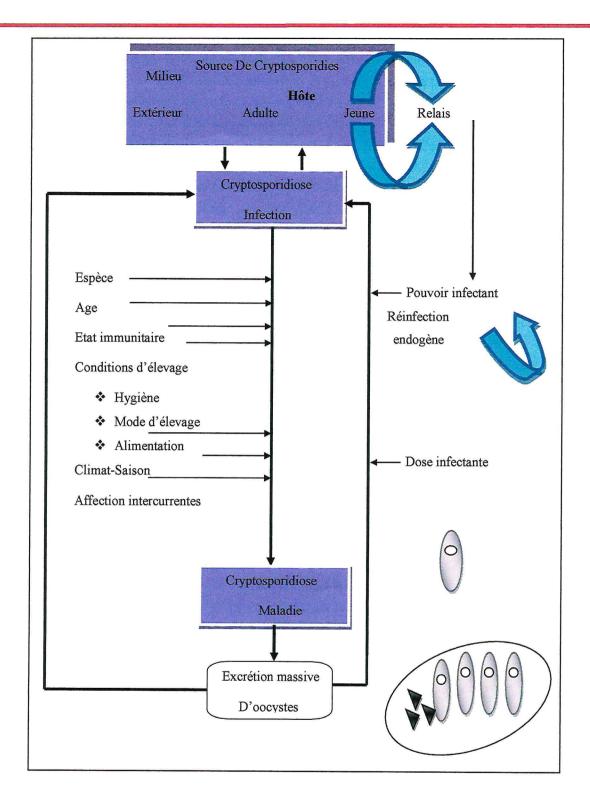


Figure 03: Epidémiologie de la cryptosporidiose [9]

# **II-ETUDE CLINIQUE:**

# II-1 Symptômes et lésions :

La cryptosporidiose est le plus souvent asymptomatique et donc sous-estimée. Lorsqu'elle est exprimée cliniquement par l'animal, les symptômes restent frustre. 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 [15, 27, 60, 36] et dans les cas sévères une dysorexie chronique [4]. Des vomissements ont été rapportés chez un chiot atteint d'une gastro-entérite cryptosporidienne [33], suivi d'une adénomégalie des nœuds lymphatiques mésentériques rarement décrite. [27]

L'examen histo-pathologique des intestins conclue à des lésions de nécrose et d'inflammation modérée [39], à un élargissement des cryptes et à une fusion des villosités [75,76]

Ces lésions intéressent l'intestin grêle, sans distinction entre ses différentes portions, duodénum, jéjunum ou iléon [75] (figure 04). Dans la forme gastro-intestinale décrite par Miller et al. (2003)[39], l'estomac ne présente pas de lésions histologiques.

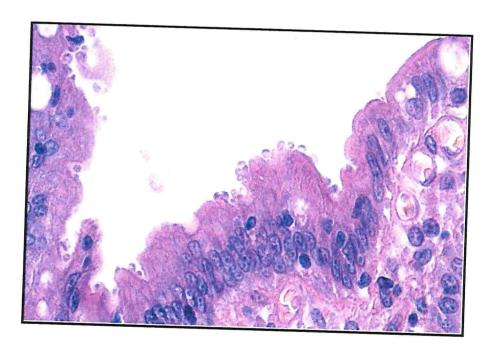


Figure 04: Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* parasite faisant sailli dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes. [16]

# II-2 Pouvoir pathogène et immunogène :

Les mécanismes par lesquels C. canis engendre des symptômes chez le chien sont à l'heure actuelle inconnus.

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 de l'épithélium mature, à l'origine d'un raccourcissement et de la fusion des villosités; cela entraine une diminution de l'absorption des fluides, des électrolytes et des nutriments. [71]

Néanmoins, les mécanismes précis par lesquels *Cryptosporidium* provoque une malabsorption, une diarrhée et un amaigrissement ne sont pas encore parfaitement élucidés. [71]

La dose infectante minimale chez le chien est inconnue. Chez l'homme, des infections expérimentales ont montré qu'entre 1 à 10 oocystes de *C. parvum* peuvent engendrer une cryptosporidiose. [71]

Des infections expérimentales avec *C.parvum* chez des singes, des agneaux nouveau-nés et des souris nus ont conduit à la même dose infectante. [8]

En conclusion, les symptômes de la cryptosporidiose chez le chien sont inexistants ou frustres quand ils sont présents. Les lésions occasionnées par cette infection entrainent des diarrhées chroniques ou intermittentes ainsi qu'un amaigrissement dont l'étiologie nécessite le recours aux examens complémentaires. [13]

# II-3 Méthodes de diagnostic:

# II-3.1 Eléments épidémiologiques et cliniques :

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

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

#### II-3-2 Coproscopie

## **II-3-2.1** Techniques de concentrations :

#### A/ Méthodes de sédimentation :

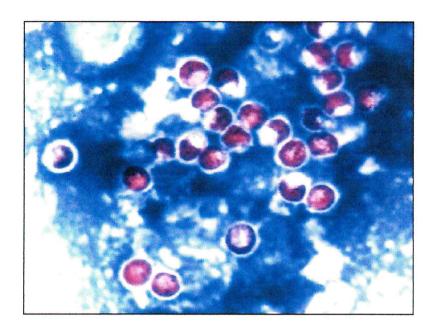
Ce sont des méthodes particulièrement intéressantes pour la recherche des éléments lourds, elles s'effectuent par une dilution fécale dans un liquide de densité inférieure à celle de ces derniers (les éléments parasitaires), qui se concentrent par décantation. [31]

## B/ Méthodes de flottation:

C'est une méthode utilisée pour la recherche des éléments parasitaires légers, qui s'effectue par dilution fécale dans un liquide à densité supérieure à celui de ces derniers, ils se concentrent à la surface [31]. Parmi lesquelles, on peut distinguer la Technique de flottation dans une solution saturée.

# II-3-2.2 Techniques de coloration :

De nombreuses techniques ont été proposées pour colorer spécifiquement les oocystes de *Cryptosporidium* au sein d'un isolement [51]. La méthode la plus utilisée aujourd'hui est la *Technique de Ziehl-Nelseen modifiée*: c'est une coloration directe basée sur les propriétés acidophiles des oocystes (figure 05) [51].



**Figure 05 :** Cryptosporidies après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (unité de parasitologie, ENVA)

Si les méthodes de concentration-coloration sont considérées comme suffisamment sensibles pour la détection des oocystes de cryptosporidies dans les prélèvements issus d'animaux [73] ou d'humains [18] cliniquement atteints, elles sont limitées dans l'analyse de prélèvements pauvres en oocystes pour lesquels on préférera les techniques de marquage immunologique. [52]

## II-3-2.3 Marquages immunologiques:

Elles sont basées sur l'utilisation d'anticorps spéciaux, mono ou polyclonaux dirigés contre des antigènes de *Cryptosporidium sp*.

A/ Technique ELISA: avec cette technique immuno-enzymatique, les anticorps anti-Cryptosporidiens IgG, IgM, IgA sont détectés, ainsi que leurs taux selon le stade d'infection. [54]. B/ Technique d'hémagglutination passive: a été développée avec le même anticorps monoclonal que celui utilisé dans le test ELISA. Un double traitement préalable de l'échantillon par la chaleur et par filtration limiterait le risque de réactions faussement positives. Cette technique non commercialisée, est rapide (40 minutes) et peu onéreuse. [20]

C/ Technique d'immunofluorescence : c'est une technique qui offre une très bonne sensibilité (10<sup>3</sup>OPG) [54] mais un cout d'équipement et une technicité élevée. Il existe également des kits commerciaux. La sensibilité de cette technique autorise son utilisation dans le diagnostic, mais aussi pour rechercher les porteurs asymptomatiques et les pollutions environnementales [73].

# II-3-2.4 Marquages moléculaires :

Ce sont des méthodes basées sur l'utilisation de sonde d'ADN ou sur l'amplification d'une séquence spécifique d'ADN (Polymérase Chain Réaction ou PCR) voire d'ARN (Reverse Transcriptase- PCR ou RT-PCR), ces méthodes possèdent une bonne sensibilité mais sont très techniques et trop onéreuses pour être utilisées en vue du diagnostic ou d'enquêtes de prévalence [73].

Pour les enquêtes épidémiologiques, leur intérêt réside essentiellement : dans la mise en évidence des pollutions environnementales dans les études moléculaires pour l'identification des différents isolats de *Cryptosporidium parvum*.

# II-3-2.5 Comparaison de ces méthodes :

A l'exception de la PCR, technique trop lourde, toutes ces méthodes sont indiquées dans la recherche des oocystes 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. [63] (Tableau II).

Tableau II: Comparaison des méthodes d'identification des oocystes de C. parvum. [63, 46]

Méthode	Simplicité	Coût	Temps	Sensibilité	Fiabilité
ZIEHL-NEELSEN	+++	+	++	++	+++
HEINE	+++	+	++	++	+++
Flottation rapide	++++	+	+	+++	+++
ELISA	+	+++	+++	+++	+++
Immunofluorescence	+	+++	+++	+++	+++

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. (Figure 06)

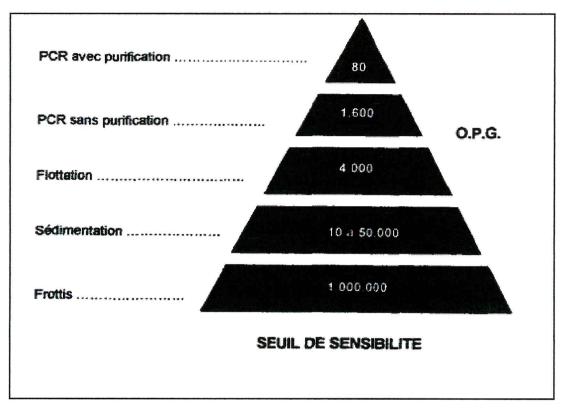


Figure 06 : comparaison de la sensibilité de différentes techniques de mises en evidence des oocystes de Cryptosporidium[10, 74]

#### **III-METHODE DE LUTTE:**

# III-1 Traitement spécifique :

Plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles d'animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante. [7]

La paromomycine (165 mg /kg PO pendant 5j) [5, 6] et le nitazoxanide (25mg /kg PO pendant 28 j) [25] ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la cryptosporidiose chez des chats, faisant disparaître l'excrétion d'oocystes et la diarrhée associée. Ces traitements ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires et peuvent être à l'origine d'insuffisance rénale aigue [26], si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcère d'estomac par exemple.

Le lactate d'halofuginone (HALOCUR®) est utilisé uniquement chez les bovins. Actif sur les formes libres de *C. parvum*, il est administré dans les 24 à 48 heures après 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. [5, 6]

La clindamycine utilisée à la posologie de 15 mg/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'oocystes [27]

La paromomycine a été utilisée chez un petit nombre de chiens atteints de cryptosporidiose .Son administration enraye l'excrétion d'oocystes en 5 jours. [5, 6]

Finalement, seules la paromomycie, disponible en France pour le traitement de la cryptosporidiose humaine, 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-autorisation de mise sur le marché et des risques de résistance que son utilisation chez nos animaux de compagnie pourrait provoquer. [27]

# III-2 Prophylaxie sanitaire et médicale :

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 à l'OO-CIDE® des équipements et locaux contaminés,
- -Elimination correcte des cadavres animaux.

# DEUXIEME PARTIE:

Partie expérimentale

## I-OBJECTIF:

Notre étude a été réalisée dans quelques régions de la wilaya de Boumerdes 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 cette pathologie.

# I-1 Zone d'étude:

Quelques fermes situées dans la wilaya de Boumerdes ont été concernées par notre étude. Nous avons effectué des prélèvements de fèces sur 37 chiens tirés au sort. Il est à signaler que la présence d'élevages de ruminants, d'ovins et de volailles contribue à contaminer l'environnement. Ces élevages sont des sources potentielles de cryptosporidies auquel le chien serait sensible.

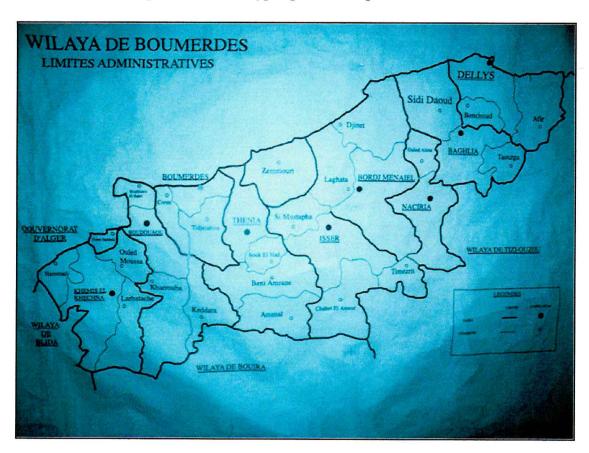


Figure 1 : Carte géographique de la wilaya de Boumerdes.

# I-2 Population étudiée:

La population cible est constituée de 37 chiens dont l'âge varie de 15 jours à 60 mois, de race Berger Allemand, Commune, Rottweiler et Pitbull, des deux sexes et, non déparasités. Ils sont nourris avec une alimentation à base de déchets de cuisine.



Photo 01: chien de ferme.



Photo 02: Promiscuité avec les bovins



Photo 03: Promiscuité avec les caprins.



Photo 04: Promiscuité avec les équidés.

(Photos personnelles, 2011)

**MATERIEL et METHODES:** 

#### **II-MATERIEL ET METHODES:**

#### 1- MATERIEL

A-Matériel: (voir annexe)

# B-Récolte des prélèvements :

Des échantillons fécaux de 37 chiens ont été récoltés une seule fois au cours du printemps. Les prélèvements ont été effectués directement dans le rectum et mis dans des boites propres et hermétiquement fermées, portant des étiquettes avec les renseignements d'identification du chien.

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

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.

#### 2- METHODES:

## 2.1 Technique de coloration:

La technique utilisée pour la coloration des oocystes, est celle de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. C'est une technique de référence, qui est sensible, spécifique, et donne des résultats fiables.

#### 2.2 Réactifs utilisés :

## a) - Fuchsine de ZIEHL:

Dissoudre 20 g de fuschine dans 200 ml de méthanol absolu et mélanger sur agitateur magnétique jusqu'à dissolution. Ajouter 125 ml de phénol liquide (GPR [80% w/w dans l'eau Distillée]) avec précaution jusqu'à un mélanger. Filtrer avant usage à travers un papier filtre Whatman n°1 pour éliminer les débris et garder dans une bouteille. Identifier, dater, confirmer. Conserver le flacon dans un endroit sombre à la température de la pièce.

Des fournitures commercialisées sont également disponibles. Souvent la concentration de la fuschine de base varie d'un niveau moyen de 1 à 3 %.Manuel terrestre de l'OIE., 2005).

## b) - Vert malachite 0,4%:

Ajouter 2g de vert de malachite à 480 ml d'eau désionisée et mélanger la solution par agitation magnétique. Filtrer à travers d'un papier filtre Whatman n°1, verser dans une bouteille, identifier, dater, confirmer. (Manuel terrestre de l'OIE., 2005).

# II-2.3Mode opératoire :

# A/ Confection d'un frottis fécal:

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

# B/Fixation et coloration du frottis:

- o Fixer le frottis au méthanol pendant 5 minutes.
- Sécher à l'air.
- Colorer dans une solution de fuschine phéniquée pendant 60 minutes.
- o Rincer la lame à l'eau du robinet.
- O Différencier avec une solution d'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes.
- O Rincer à l'eau.
- O Contre colorer avec une solution de vert malachite à 5% pendant 5 minutes.
- O Rincer à l'eau.
- O Sécher à l'air.
- o Examiner à l'objectif X100 en utilisant l'huile d'immersion.

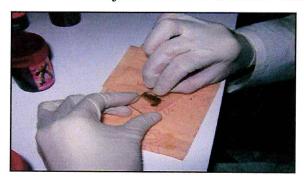


Photo 05: Etaler le frottis fécal

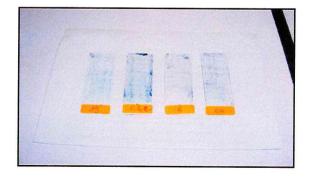


Photo 06: Laisser sécher

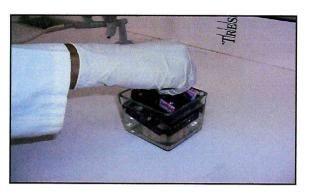
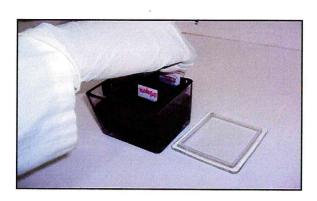


Photo 07: Fixer 5 min au méthanol



**Photo 08 :** Colorer le frottis dans la fushine De Ziehl pendant une heure

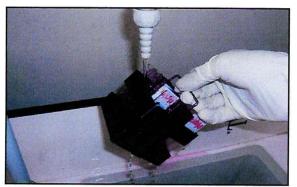
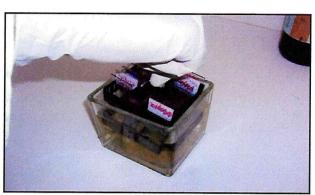


Photo 09: Rincer à l'eau du robinet



**Photo 10:** Différencier avec l'acide sulfurique pendant 60 secondes

(Photos personnelles, 2011)

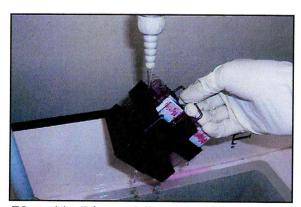
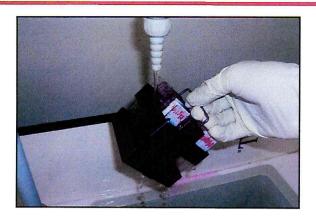


Photo11: Rincer à l'eau du robinet



Photo 12: Contre colorer au vert de malachite à 5% pendant 10 min



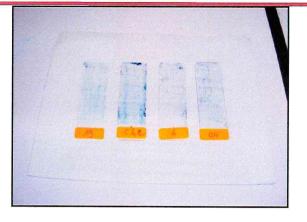


Photo 13: Rincer à l'eau du robinet

Photo 14: Laisser sécher à l'air

(Photos personnelles, 2011)



Photo 15: observation au microscope à immersion (Photo personnelle, 2011)

# C/ Lecture:

La lecture se fait au microscope optique à l'objectif G x 40 puis G x 100, avec de l'huile à immersion à l'objectif G x 100 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.

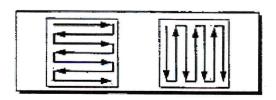


Figure 02: Technique d'observation des lames au microscope.

Cryptosporidium sp apparaît en rouge ou rose sur un fond vert, les sporozoïtes sont colorés en rouge, le corps résiduel apparaît plus foncé (photo 17). Tous les autres éléments sont colorés en vert. Les autres coccidies sont également colorés en rouge vif, mais beaucoup plus grosses.

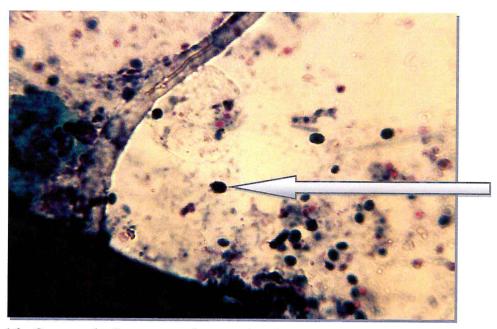


Photo 16: Oocyste de Cryptosporidium sp chez le chien. (Photo personnelle, 2011)

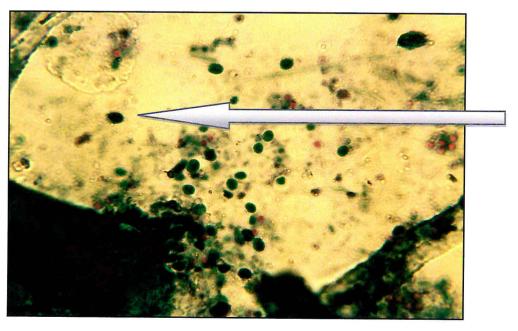


Photo 17: Oocyste de Cryptosporidium. sp chez le chien (Photo personnelle, 2011)

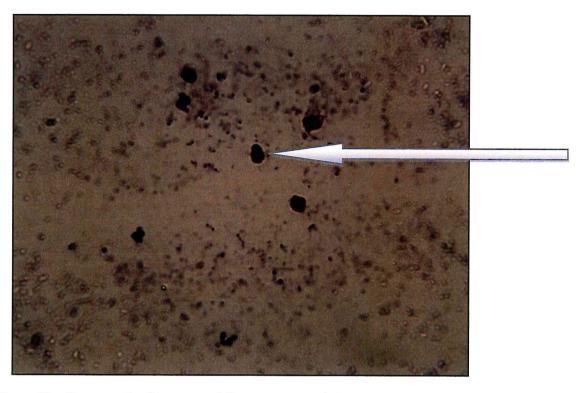


Photo 18 : Oocyste de Cryptosporidium. sp chien (Photo personnelle, 2011)

RESULTATS et DISCUSSION:

#### III- RESULTATS ET DISCUSSION:

#### 1- Résultats

Les résultats de l'analyse au laboratoire des matières fécales de chiens et l'enregistrement des renseignements sur l'identification des sujets, sont consignés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau III: Distribution des échantillons

Espèce	Prélèvements	Contact avec autre espèce	Positifs	Fréquence
Canine	37	Bovins, ovins, volailles	30	81.1%

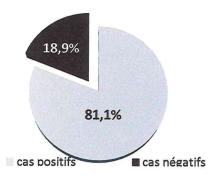


Figure 03: Distribution des échantillons analysée.

Sur les 37 prélèvements analysés, *Cryptosporidium sp* a été retrouvé dans les matières fécales de 30 chiens, soit un taux de 81.1%.

Tableau IV: Distribution des échantillons selon le sexe:

Mâle	28	24	85.7%	
Femelle	9	6	66.7%	7
	100,00% 80,00% 60,00% 40,00% 20,00%	85,7% male	femelle	- - - - - - - - - - - - - - - - - - -

Nombres Cas positifs Fréquence

Figure 04: Distribution des échantillons selon le sexe.

Il semble que les mâles soient plus touchés que les femelles avec des taux de 85,7 % et 66,7% respectivement.

Tableau V: Distribution des échantillons selon la couleur des fèces.

Cas Positif	Fréquence
12	80%
6	85.7%
8	80%
2	66.7%
2	100%
	and the second second

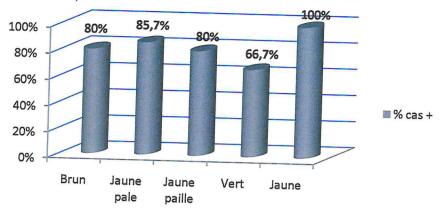


Figure 05: Distribution des échantillons selon la couleur des fèces

Les matières fécales de couleur jaune sont touchées à 100%. En outre, l'infestation est aussi plus importante pour les fèces de couleur jaune pâle, jaune paille et brune avec des taux de 85,7%, 80% et 80% respectivement et un taux de 66,7% pour les fèces de couleur verte.

Tableau VI: Distribution des échantillons selon la consistance.

		THE STATE OF THE S	onsistance.	
Consistance	Prélèvements	Cas positifs	Fréquence	
Diarrhéiques	32	27	84.4 %	
Non diarrhéiques	5	3	60 %	
	100,00% - 80,00% - 60,00% - 40,00% - 20,00% -	84,4%	60%	
		Diarrheique I	Non diarrheique	

Figure 06: Distribution des échantillons selon la consistance.

Les échantillons diarrhéiques sont plus souvent infestés que les échantillons non diarrhéiques avec des taux respectivement de 84,4 % et 60 %.

Tableau VII: Distribution des échantillons selon l'âge.

Age	Cas positifs	Fréquence
15 J- 3mois	5	83.3%
4- 6 mois	3	60%
7- 12 mois	8	88.8%
>12 mois	14	82.3%

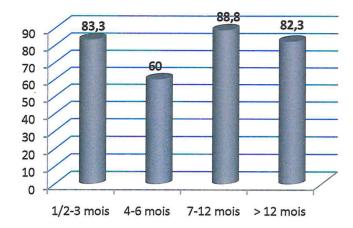


Figure 7: Distribution des échantillons selon l'âge.

La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 7 et 12 mois avec un taux de 88,8 % alors que les chiens âgés entre 15 jours et 3 mois et ceux dépassant les 12 mois sont presqu'identiquement touchés avec des taux d'infestation respectifs de 83,3 % et 82,3 %.

Par contre les chiens dont la tranche d'âge se situe entre 4 à 6 mois, sont les moins touchés (60 %)

## 2- Discussion:

Le rôle des animaux domestiques en tant que réservoir potentiel de *Cryptosporidium sp* est mal connu chez le chien en Algérie.

Selon Giangasper et al (2006), la proximité des élevages de ruminants, le mode d'élevage pratiqué, les eaux de ruissellement ainsi que la nature géologique des sols peuvent contribuer à contaminer l'environnement des élevages. Ces derniers sont des sources potentielles de Cryptosporidium sp auquel est sensible le chien. [20]

C'est pour cette raison que notre étude s'attache à rechercher le parasite dans les matières fécales des chiens de la ferme et attirer l'attention sur le danger du *Cryptosporidium sp* comme agent entéropathogène chez l'espèce canine et, *de facto* chez l'homme.

A l'issue de notre étude, il ressort que le parasite est identifié dans plusieurs fermes visitées dans la région de Boumerdes. En effet, sur les 37 échantillons fécaux prélevés et analysés après la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée, le *Cryptosporidium sp* a été retrouvé dans 30 échantillons fécaux, soit un taux de 81,1%. Nos résultats sont très élevés par rapport à ceux rapportés par Philippin G (Quebec, 2010); Rinaldi et al (Italie, 2008); Dubnà et al (République Tchèque, 2007); Abe et al (Japon, 2002); Juett et al. (Kentucky, 1996,); Causapé et al (Espagne, 1996) avec des taux entre variant entre 4,2 et 17 %. En Corée, une étude effectuée en 1998 sur des chiens de ferme par Kim et al, enregistre un taux de 6,1%. [75, 77, 69, 70, 74, 72, 71]. A l'opposé, en 2007 Thomaz et al, lors d'une étude menée sur 9 chiens au Brésil, ont trouvé une prévalence de *Cryptosporidium sp* égale à 100%. Nos résultats sont légèrement inférieurs à ceux enregistrés par ces auteurs. [79]. Les travaux de Hammes et al (2007); Mundim et al (2007) expliquent que la prévalence ne varie pas en fonction du sexe de l'animal. Dans notre échantillon, du fait qu'il y a plus de mâles que de femelles, ne nous permet de conclure sur l'effet du sexe comme facteur de réceptivité et de sensibilité de la maladie. Cependant, nous avons constaté que les mâles sont plus souvent infestés que les femelles. [24, 78]

La couleur des fèces a été étudiée lors de notre étude. Nous avons constaté 100% des échantillons de couleur jaune contenaient des ookystes mais, qu'il est difficile d'associer la présence du parasite avec la couleur des fèces car les autres couleurs ne sont pas « statistiquement » différents.

En 1996, Causapé et al, expliquent que la prévalence de ce parasite est significativement plus élevée chez les chiens diarrhéiques avec un taux de 30%, par rapport aux chiens n'ayant pas de diarrhée avec un taux de 4,2 %. [72]. A l'issue de notre étude, nous avons constaté que les échantillons diarrhéiques sont plus infestés que les non diarrhéiques avec des taux de 84,4 % et

60% respectivement. Bien que la différence semble être marquée, 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 proximité des chiens avec d'autres animaux domestiques dans leur environnement quotidien.

L'âge pourrait jouer un rôle dans l'apparition de cette zoonose. Selon Day (2007), la production des anticorps commence dès l'âge de 5 à 6 semaines, et l'animal n'est immunocompétent que vers l'âge de trois mois et, totalement protégé une fois adulte, c'est-à-dire à l'âge d'un an. [73]. Durant notre étude, les chiens âgés entre 7 et 12 mois sont plus touchés par *Cryptosporidium sp* avec un taux de 88,8%, ceux qui est bien supérieur aux résultats de Lallo et Bondan (2006) 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 [76].

La conjugaison de tous ces facteurs intrinsèques (individu, âge, statut immunitaire) et extrinsèques (niveau d'hygiène, promiscuité avec d'autres espèces animales y compris l'homme, gestion des élevages) concourent sans conteste au développement de la maladie.

# CONCLUSION et RECOMMANDATIONS

## **CONCLUSION**

Notre étude, réalisée dans la région de Boumerdes, nous a permis de préciser la fréquence de la cryptosporidiose chez l'espèce canine 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 la majorité des échantillons examinés. Sur les 37 échantillons fécaux analysés, 81.1% sont positifs. C'est un taux important, sachant que la cryptosporidiose est une zoonose, pouvant être mortelle chez les personnes immunodéprimées.

L'infection à *Cryptosporidium sp* chez le chien 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.

Les chiens âgés de moins d'une année seraient plus exposés au risque de contamination par Cryptosporidium sp. Toutefois, le nombre de chiens dans notre étude est peu élevé (n= 37), pour faire une analyse statistiquement significative. Il serait préférable de faire une recherche sur une population canine plus grande.

#### RECOMMANDATIONS

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 chiens présentant des diarrhées chroniques ou intermittentes.
- Rechercher les cryptosporidies chez les chiens vivant au contact de personnes à risque et, leur inculquer les règles strictes d'hygiène (lavage des mains après le ramassage des selles ou après avoir caressé l'animal).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ABE N.; SAWANO Y.; YAMADA K.; KINATA I.; ISEKI M. (2002):Cryptosporidium infection in dogs in Osaka, Japan. Veterinary Parasitology 108, 185-193.
- [2] ACEDO., DEL CACHA, E., 1996: Prevalence of intestinal parasites, in cluding *Cryptosporiduimparvum*, in dogs in Zaragaza city, Spain. Veterinary Parasitology 67, 161-167.
- [3] AUGUSTIN-BITCHL G., BOCH J., HENKEL G. (1984) Cryptosporidium infections in dogs and cats, Berl. Munch. Tierarztl. Wschr., 97:179-181.
- [4] BARR F. (1997) Cryptosporidiosis. J. Smallanim. Pract. 38(7):319-320.
- [5] BARR SC., 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.
- [6] BARR SC., JAMROSZ G.F., HORNBUCKLE W.F et al. (1994)Paromomycin for the treatment of Cryptosporidium in dogs and cats. J. vet. Int. Med. 8:177.
- [7] BLAGBURN B.L et SOAVE R. (1997) Prophylaxis and chemiotherapy: human and animal. In: Cryptosporidium and cryptosporidiosis, 1<sup>st</sup> Ed. CRC press, 111-128.
- [8] BLEWETT D.A, WRIGHT S.E., CASEMORE D.P., BOOTH .E. JONE C.E (1993) Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs. Water science and technology, 27:61-64.
- [9] BOURGOUIN H (1996) place de la cryptosporidiose dans les maladies néonatales du veau en corrèze. Bulletin des GTV, 2B-518. 19-41.
- [10] CHARTIER C:épidémiologie et contrôle de la cryptosporidiose chez le veau. In journées nationales des GTV, Dijon, 24-26 mai 2000. 351-359.
- [11] CHERMETTE R,. BOUFASSA-OUZROUT S. (1988):Cryptosporidiose: une maladie animale et humaine cosmopolite (2<sup>éme</sup> édition).OffideIternatonale des Epizootie. Série technique N° 5, P.127.
- [12] CLARCKE J.J (1895): A study of coccidia met with in mice. J. Microsc. Soc., 37: 277-302.
- [13] DAVID BOURDAIS-MASSENENET: these (2008)étude de la prévalence de la cryptosporidiose en elevage canin. 41 pages.
- [14] DAY, M. J., 2007:Immeme system development in the dog and cat. Journal of comparative Pathology 137, S10-S15.
- [15] DENHOLM KM, HAITJEMA H, GWYNNE BJ, MORGAN UM et IRWIN PJ(2001) concurrent *Cryptosporidium* and parvovirus in a puppy. *AustVet. J.*, **79**: 98-101.
- [16] **DEROUIN F., ELIASZEWICZ M., POUILLOT R., ROZE S. (2002)** rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : «evaluation scientifique des risque associés à *Cryptosporidiumsp.* » AFSSA [http://www.afssa.fr/Documents/EAUX-Ra-Crypto-pdf] (consulté le 13 novembre 2007).
- [17] DUBNA S.; LANGROVA I.; NAPRAVNIK JANKOVSKA I.; VADLEJCH J., LEKAR S.; FECHTNER J. (2007): The prevalence of intestinal parasites in dogs from prague, rural areas and shelters of Czech Republic. Veterinary Parasitology. p 145, 120-128.

- [18] DUHMEL C. BARBIER D.; MORAL C.; GEORGES P.:parazitologie des selles: étude de quelques opportunistes. Feuillets de Biologie, 1995, 36(204). 31-37.
- [19] EL AHRAF A.; TACAL J.V.; SOBIH M.; AMIN M.; LAWRENCE W.; WILCKE W.: prevalence of cryptosporidiosis in dogs and human beings in san Bernardino county, California. Journal of the America veterinary Medical Association, 1991, 198(4).631-633.
- [20] 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.
- [21] FAYER R. (2010): Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium.Experimental Parasitology*. 124: 90-97.
- [22] FINCH G. R. et al.: Ozone inactivation of *cryptosporidium parvum*in demand-free phosphate buffer determined by in vitro excystation and animal infectivity. Appl. Environ. Microbiol, (1993), 59 (12), 4203-4210.
- [23] FUKUSHIMA K.; HELMAN HELMAN R.G (1984): cryptosporidiosis in a pup with distemper. *Vet.Pathol.*, 21: 247-248.
- [24] GIANGASPERO A., IORIO R., PAOLETTI B., TRAVERSA (D), CAPELLI G (2006) Molecular evidence for *Cryptosporidium* infection in dogs in central Italy. *Parsitol. Res.*, 99: 297-299.
- [25] GOOKIN J.L.; LEVY M.G.; LAW J.M.; PAPICH J.M.; POORE M.F.; BREITSCHWERDT E.B. (2001) Experimental infection of cats with *Trichomonasfoetus.Am. J. Vet, Res.*, 62:1690-1697.
- [26] GOOKUN 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.
- [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] HAMNES IS, GJERDE BK, ROBERTSON L.J. (2007) A longitudinal study on te occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs during their first year of life. *Acta. Vet. Scand.* 49 (1):22.
- [29] JOHNSTON J., R.B:copro-parasitological survey of dogs in southern Victoria. *Aust. Vet. Practit.*, (1993), 23 (3). 127-131.
- [30] JUETT B. W., OTERO R.B., BISCHOFF W. H. (1996): Cryptosporidium parvum in the domestic dog population of central Kentucky. Trans. KY. Acad. Sci., 57:18-21.
- [31] KAMOUN .P et FREDJVILLE.S, (2002): Guide de laboratoire. 4<sup>ème</sup> édition Flammarion, 1438 P
- [32] KIM, J. T., Wee, S. H., Lee, C. G., 1998, Detection of Cryptosporidium oocysts in canine fecal samples by immunofluorescence assay Korean Journal of Parasitology 36, 147-149.
- [33] KIRKPATRICK C.E., DUBEY J.P (1987) enteric coccidial infections. Isospora, Sarcocystis, Cryptosporidium, Besnoitia, and Hammaondia. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., 17 (6): 1405-1420.
- [34] LALLO, M.A., BONDAN, E.F., 2006: Prevalencia de Cryptosporidiumspemcaes de instituicoesdacidale de Sao Paulo. Revista de SaudePublica 40, 1:120-125.

- [35] LEVINE N.D: Taxonomy an review of the Coccidian genus Cryptosporidium (prozoa, apicomplixa). J. Protozool., 1984, 31 (1), 94-98.
- [36] LINDSAY D.S., ZAJAC A.M. (2004) Cryptosporidium infection in cats and dogs. Compend.Cont.Educ.Pract. Vet., 26 (11): 864-874.
- [37] LLOYD S et SMITH J. (1997) Pattern of *Cryptosporidium parvum* oocyst excretion by exprementally infected dogs. *Int. J. parasitol.*, 27 (7): 799-801.
- [38] MAC REYNOLDS C.A., LAPPIN M.R., UNGAR B.; MAC REYNOLDS L.M., BRUNS C.; SPILKER M.M., THRALL M.A., REIF J.S: Regional seroprevalence of Cryptosporidium parvum-specific IgG of cats in the United States. Veterinary Parasitology, (1999), 80.187-195.
- [39] MILLER D.L, LIGGETT A., RADI Z.A., BRANCH L.O. (2003) gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. *Vet. Parasitol*, 115: 199-204.
- [40] MILSTEIN T.C.; GOLDSMITH J.M (1995) the presence of *Giardia* and other zoonotic parasites of urban dogs in Hobart, Tasmania. Aust. Vet. J. 72: 154-155.
- [41] MORGAN U., WEBER., XIAO L, SULAIMAN I., THOMPSON R.C., NDIRITU W. (2000) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolate obtained from Human immunodeficiency virus-infected individuals living in Switzerland, Kenya, and the United-States. *J. Clin.Microbiol.*, 38:1180-1183.
- [42] MORIN M. et al.: Neonatalcolfdiarrhoa : pathology and microbiology of spontaneous cases in dairy herds and incidence of the enteropathogens implicated as ethiological agents. proc. Second Intern. Symposium on neonatal diarrhea, University of Saskatchewan, Canada, 1978, 347-370.
- [43] MUNDIM, M. J. S., ROSA, L.A.G., MORTENCIO, FARIA, E.S.M., RODRIGUES, R.M., CURY, M.C., (2007) Prevalence of Giardia duodinalis and Cryptosporidium spp. Indogs from different living conditions in Uberlandia, Brazil. Veterinary Parasitology 144, 356-359.
- [44] NACIRI M., LEFAY M.P.; MANCASSOLA R; HOUGRON M; POLY L; CHERMETTE R: efficacité d'une nouvelle formulation du lactate d'halofuginone sur la cryptosporidiose du veau nouveau-né. VI journées 3R, Paris, 1-2 décembre (1999). 183-186.
- [45] NACIRI M.; HANCASSOLA R; YVORE P.; PEETERS J.E: The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves, Veterinary Parasitology, 1993, 45.199-207.
- [46] 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.
- [47] NACIRI M.; YVORE P.: efficacité du lactate d'halofuginone dans le traitement de la cryptosporidiose chez l'agneau. Receuil de medecine vétérinaire, 1989, 165(10).823-826.
- [48] NACIRI M: la cryptosporidiose des ruminants et santé publique. Le point veterinaire, 1994,26, numerospecial (ruminants et santé publique) 49-55.
- [49] NACIRI M; MANCASSOLA R., REPERANT J.M; CANIVEZ O.; QUINQUE B.; YVOR P: treatment of experimental ovine cryptosporidiosis with ovine or bovine hyper immune colostrum. Veterinary Parasitology, (1994), 53. 173-190.

- [50] NCBI, (2010): The NCBI entrez taxonomy home page: *Cryptosporidium*.http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ Taxonomy/ Browser/wwwtax.cgi.
- [51] O'DONOGHUE P.J (1995) Cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animal. International Journal for parasitology, 25 (2). 139-195.
- [52] ORTEGA-MORA L.M; WRIGHT S.E, Age –related resistance in ovine cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response. Infection and Immunity, 1994, 62 (11). 5003-5009.
- [53] ORTEGA-MORA L.M., REQUEJO-FERNANDEZ J.A.; PILAR-IZQUIERDO M.; PEREIRA-BUENO J.; Role of adult sheep in transmission of infection by *cryptosporidium* parvum to lambs: confirmation of periparturient rise. International Journal for Parasitology, 1971, 8. 479-484.
- [54] PEETERS J., VILLACORTA I: Cryptosporidium. In Guidelines on techniques in coccidiosis research. Editors: Eckert J., braun R., shirley M.W., Couder P, Biotechnology COST 89/820, Report EUR 16602 EN. European Commission. Brussels, 1995. 202-240.
- [55] PHILIPPIN G: Caractérisation de l'infection naturelle à Cryptosporidiumspp chez le chien et le chat vus en établissement vétérinaire. Université de Montréal, 2010.
- [56] POLACK B., CHERMETTE R.; SAVEY M.; BUSSIERAS J.: les cryptosporidies en france: techniques usuelles d'identifications et resultantspreliminaries d'enquetesépidemiologiques. Point Vétérinaire, 1983, 15(71), 41-46.
- [57] REYNAL P.H: Coccidioses et cryptosporidioses. Bulletin des GTV, (1991), 6 B 399, 111-123.
- [58] RINALDI, L., MAURELLI, M.P., MUSELLA, V., VENEZIANO, V., CARBONE, S., DISARNO, A., PAONE, M., GINGOLI, G., 2008: Giardia and Cryptosporidium in canine faecal samples contaminating an urban arae. Research in Veterinary Science 84, 3:413-415.
- [59] RYAN, U. M., POWER, M., XIAO, L. (2008):cryptosporidiumfayeri n. sp.(ApicomplexaCryptosporidiidae) from the RedKangaroo (Macropusrufus). J EukaryotMicrobio, 55:22-26.
- [60] 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.
- [61] SLAVIND. Cryptosporidium meleagridis (sp.nov.). J. Comp. Pathol. (1955) 65;262-266.
- [62] SONIA LACROIX-LAMANDE: rôle de l'interféron gamma dans la réponse immuniairemucosale à l'infection par Cryptosporidiumparvum chez la souris (2001).
- [63] TARTERA M.: Quand suspecter la cryptosporidiose ? La semaine vétérinaire, 2000, 971. 40-42.
- [64] TAXONOMICOM (2010): www.taxonomy. nl/taxonomicon.
- [65] THOMAZ. A. MEIRELES, M.V., SOURES, PENA, H. F.J., GENNARI, S.M., (2007)
- Molecular identification of Cryptosporidium spp from fecal semples of felines, canines and bovines in the state of Sao Paulo, Brazil. Veterinary Parasitology 150, 4:291-296.

- [66] 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.
- [67] TYZZER E.E:Cocccidiosis in gallinaceous birds. American Jornal of Hygiene.10: 269-383 (1929).
- [68] TYZZER E.E: A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse.Proc.Soc. Exp. Biol. Med., 5:12-13.(1907).
- [69] **TYZZER E.E:** An extracellular *Coccidium*, *Cryptosporidium muris* of the gasric glands of the commen mouse. F.Med. Res., (1910) 23, 487-509.
- [70] TYZZER E.E: Cryptosporidium parvum (sp.nov.) a coccidium found in the small intestine of thecommon mouse. Arch. Protistenkd., 26:394-516. (1912).
- [71] TZIPORI S, WARD H. (2002) cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*, 4: 1047-1058.
- [72] UNGAR B.L.P et al., Cryptosporidium infection in immunodeficient hosts. Infect. Immun., (1990), 58(4), 961-969.
- [73] WEBSER K.A: Molecular methods for the detection and classification of *Cryptosporidium*. Parasitology Today.1993, 9(7). 263-268.
- [74] WEBSTER K.A; SMITH H.V.; GILES M.; DAWSON L.; ROBERTSON L.J.: Detection of *Cryptosporidium parvum*oocysts in faeces: comparison of conventional coproscopical methods and the polymerase chain reaction Veterinary Parasitology, 1996,61.5-13.
- [75] WILLARD M.D., BOULEY D. 1999 cryptosporidiosis, and total colonic mucosal collapse in an immunosuppressed puppy. *J. Am. Hosp. Assoc.*, 35:405-409.
- [76] WILSON R.B, HOLSCHER M.A., LYLE S.J (1983) cryptosporidiosis in a pup J. Am. Vet. Med. Assoc, 183: 1005-1006.
- [77] XIAO L. et al.: concurrent infections of Giardia and Cryptosporidium on two Ohio farms with Calf diarrhea. Vet. Paras itol., 1993, 51, 41-48.

**ANNEXES** 

**Tableau I :** Matériel et les réactifs utilisés dans notre travail expérimental sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Matériel	Réactifs		
Récipients secs stériles.	Eau distillés.		
Lames porte objets et lamelles.	Fushine phéniquée.		
Bacs pour coloration.	Vert de malachite à 5%.		
Minuterie.	Méthanol		
Microscope optique	Acide sulfurique à 2%		
Gants.	Huile à immersion.		



Microscope optique



Lames portes objets



Lamelles couvre objets



Boite de rangement pour lames







Récipients sec et stériles



Bac pour coloration

N <sup>0</sup> : 21	24 mois	М	Berger Allemand	D	Jaune Pâle	-	Bv
N <sup>0</sup> : 22	36 mois	М	Berger Allemand	ND	Jaune Paille	+	Bv
N <sup>0</sup> : 23	60 mois	М	Berger Allemand	ND	Brune	-	Bv
Nº: 24	09 mois	М	Commune	ND	Jaune Paille	+	Bv, Ov
N <sup>0</sup> : 25	26 mois	М	Commune	ND	Brune	+	Bv, Ov
N <sup>0</sup> : 26	84 mois	М	Commune	ND	Brune	+	Bv
N <sup>0</sup> : 27	12 mois	М	Commune	ND	Jaune Pâle	+	Vollaille
Nº: 28	09 mois	М	Commune	ND	Brune	+	Vollaille
N <sup>0</sup> : 29	03 mois	M	Commune	ND	Brune	+	Bv
N <sup>0</sup> : 30	02 mois	М	Commune	ND	Jaune Paille	+ /	Bv
N <sup>0</sup> : 31	16 mois	М	Commune	ND	Jaune Pâle	+	Bv
N <sup>0</sup> : 32	10 mois	М	Commune	ND	Brune	+	Bv
N <sup>0</sup> : 33	07 mois	М	Commune	ND	Verte	+	Bv
Nº: 34	20 mois	F	Commune	ND	Jaune Pâle	+	Bv
N <sup>0</sup> : 35	24 mois	F	Commune	ND	Jaune	+	Bv
Nº: 36	05 mois	М	Commune	ND	Jaune Paille	+	Bv
Nº: 37	35 mois	М	Commune	ND	Jaune Paille	+	Bv

ND : non diarrhéique

D : diarrhéique

M : mâle

F: femelle